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 12/2019, vědecká příloha časopisu

Hlavní mediální partneři konference

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 12/2019, vědecká příloha časopisu

Editor:
Ing. Barbora Badalíková
Ing. Ivana Šindelková

Organizační výbor:
Ing. Barbora Badalíková - předseda

Ing. Pavel Kolařík
Ing. Jaroslav Lang, Ph.D.
Ing. Ivana Šindelková
Mgr. Martin Vašinka
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.
RNDr. Jan Hofbauer, CSc
Ing. Prokop Šmirous, 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

Doporučená citace příspěvků:
Autoři příspěvků: Název příspěvku. Úroda 12, roč. LXVII, 2019, vědecká příloha, s. od – do

ISSN 0139-6013

OBSAH

Nedělník J.: Úvodní slovo 9

Přednášky

Šmirous P.: Podpora české účasti výzkumných organizací agrárního sektoru v mezinárodním výzkumu 11

Sekce „Šlechtění“

Faltus M., Svoboda P., Domkářová J., Horáčková V., Zámečník J., Nesvadba, V., Bilavčík, A.: Využití metody kryoprezervace ve šlechtitelském procesu bramboru a chmele 15

Matoušková M., Trněný O., Votavová A., Piálek L.: Privátní alely dna polymorfismů komerčně chovaných čmeláků bombus terrestris v porovnání s lokální populací *Bombus terrestris terrestris* v České republice 23

Sekce „Rostlinolékařství“

Winkler J., Vaverková M. D., Adamcová D., Koda E., Osiński P.: Zastoupení rostlinolékařsky významných druhů rostlin na vybrané skládce komunálního odpadu 31

Kadlček L., Pfefr L., Horký P., Winkler J.: Vliv hustoty porostu kukuřice na zaplevelení 41

Kubíková Z., Smejkalová H., Kolaříková K.: Výsledky desikačních pokusů u jetelovin: hodnocení účinnosti zkoušených účinných látek a jejich kombinací 49

Macháč R.: Aktuální možnosti ochrany porostů trav na semeno proti plevelům 57

Sekce „Technologie pěstování plodin a ekologie“

Rožnovský J., Střeštík J.: Dynamika a trendy teploty vzduchu na území České republiky 65

Čížek M., Komárková Z., Krpálková A.: Zkušenosti s technologií aeroponie při množení sadby brambor 73

Zatloukal P., Čížková A., Zemánek P., Mašán V.: Hodnocení kompostů s důrazem na průběh procesu a výslednou kvalitu 79

Frydrych J., Polišenská I., Sedláčková I., Volková P.: Hodnocení vybraného sortimentu odrůd ozimých pšenic se zaměřením na výnos a kvalitu zrna 85

Sekce „Kvalita a zpracování produktů“

Landauf L.: Kompetence, hlavní směry kontroly, trendy a výsledky 91

Bárta J., Jarošová M., Bártová V., Švajner J.: Výlisky semen lnu a konopí a jejich zpracování na mouky a bílkovinné koncentráty 93

Švec I., Jiříčková K., Sluková M., Skřivan P.: Vliv barevných variant lnu a quinoi na kvalitu laboratorně připravených těstovin 101

Postery

Sekce „Šlechtění“

Bilavčík A., Faltus M., Zámečník J.: Stanovení mrazuvzdornosti generativních orgánů meruňky ... 107

Bryxová P., Klíma M., Fernández Cusimamani E., Ulvrová T.: Mikrosporové kultury u nových genotypů hořčice sareptské (*Brassica juncea*) 113

Černý J., Černá M., Salaš P.: Dlouhodobé skladování vegetativně množených genotypů petunia hybrida 117

Hejna O., Kopecký P. a Čurn V.: Hledání genetických zdrojů rezistence k nádorovitosti košťálovin 121

Holubec V., Leišová-Svobodová L., Matějovič M.: Spontánní hybridizace v kolekci genetických zdrojů rodu *Aegilops* 127

Jovanović I., Bucková P., Klimešová J., Středa T.: Vitalita semen pšenice v podmínkách sucha a chladu 133

Kopecký P., Duchoslav M., Hýbl M.: Hodnocení odolnosti vybraných šlechtitelských linií hlávkového zelí vůči nádorovitosti kořenů brukvovitých 139

Lošák M., Raab S., Kašparová J.: Vliv ročníku na výnosy píce genetických zdrojů trav v pětisečném pokusu 145

Palicová J., Dumalasová V., Hanzalová A.: Odolnost ozimé pšenice ke stéblolamu založená na přítomnosti genu PCH1 151

Rychlá A., Endlová L., Plachká E., Vrbovský V.: Hodnocení kvantitativních parametrů genových zdrojů kolekcí hořčice bílé, černé a sareptské 155

Salaš P., Černý J., Černá M.: Médium pro zpomalení růstu v podmínkách in vitro u petunia hybrida 161

Střalková R., Mýlová P., Mráz D.: Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů révy vinné ve výzkumné stanici vinařské v Karlštejně 165

Leišová-Svobodová L., Sovová T., Svoboda P., Dvořáček V.: Variabilita odrůd ovsa vzhledem k jejich celiakální reaktivitě 171

Leišová-Svobodová L., Svoboda J., Sovová T., Svoboda P., Koláriková L.: Testování přítomnosti genů rezistence k zymv ve vybraných genotypech rostlin čeledi *Cucurbitaceae* 177

Ulvrová T., Klíma M., Bryxová P., Kopecký P: Využití mikrosporových kultur ve šlechtění tuřínu (*Brassica napus* subsp. *Napobrassica*) 183

Vítámvás P., Kosová K., Musilová J., Nezbedová B., Cit Z., Klíma M., Prášil I. T.: Vztah akumulace dehydrinů a tolerance plodin k abiotickým stresům 191

Zámečník J., Stavělíková H. , Faltus M.: Predikce suchovzdornosti klonů česneků na základě jejich geografického původu 197

Sekce „Rostlinolékařství“

Hanzalová A.: Virulence v populaci rzi travní v české republice v letech 2017 - 2018 203

Jaklová P., Kracíková M., Hortová B.: Ověření účinnosti alternativních přípravků proti monilivé hnilobě peckovin 207

Kmoch M., Binderová D., Vacek J., Kopačka V.: Citlivost vybraných odrůd bramboru k patogenu Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum 213

Kolařík, P.: Možnosti ochrany lesknice kanárské (*Phalaris canariensis* L.) proti kohoutkům (*Chrysomelidae*) 217

Kracíková M. , Jaklová P.: In vitro testy účinnosti fungicidů proti cytospora 223

Kubíková Z., Hutyrová H.: Srovnání intenzity růstu u tří druhů Svazenek a některých druhů plevelů 229

Stehlíková D., Tonka T., Křížová L. , Čurn V.: Detekce armillaria cepistipes metodou loop-mediated isothermal amplification 237

Svoboda J., Leišová-Svobodová L., Brožová J., Parnica J., Komínek P.: Hledání zdrojů rezistence k viru žluté mozaiky cukety (zymv) ve vybraných odrůdách tykve velkoplodé, *Cucurbita maxima* . 241

Šafář J., Seidenglanz M.: Vztah mezi blýskáčky *(Brassicoghetes* spp.) a střevlíky (*Coleoptera*) v porostech ozimé řepky pomocí sadie analýzy 247

Vach M., Žabka M., Hlisnikovský L., Nerušil P.: Produkce a zdravotní stav jarního ječmene při odlišném způsobu založení porostu a použití biopreparátů 253

Žabka M.: Antifungální efekt slabě polárních sekundárních metabolitů eugenia caryophyllata a cinnamonum cassia při extrakci vodou 257

Žabka M., Pavela R.: Antifungální potenciál vybraných rostlinných extraktů 261

Sekce „Technologie pěstování plodin a ekologie“

Badalíková B., Vašinka M., Jelínek A., Roy A., Burg P., Zemánek P.: Vliv řádkové aplikace organické hmoty v meziřadí vinic a sadů na půdní vlastnosti 265

Dokulilová T., Brtnický M., Holátko J., Látal O., Kintl A.: Vliv obohaceného biouhlu na půdní vlastnosti 271

Dryšlová, T., Smutný, V., Křen, J., Procházková, B.: Vliv agrotechnických faktorů na výnos jarního ječmene (*Hordeum vulgare* L.) 279

Haberle J., Svoboda P., Kurešová G., Henzlová B.: Vliv závlahy a sucha na výnos a efektivnost využití vody odrůd pšenice 285

Horáková E., Klobásová G., Pospíšilová L., Dryšlová T., Smutný V.: Vliv technologie zpracování půdy na obsah a kvalitu humusu 289

Hutyrová H., Pelikán J., Kubíková Z., Kintl A., Kadaňková P.: Studium vlivu velikosti výsevku na produkci zelené hmoty svazenky shloučené 295

Knotová D., Pelikán J.: Hodnocení výnosů semene jetele panonského při různých způsobech zakládání porostů bez krycí plodiny 301

Knotová D., Pelikán J.: Hodnocení výnosů semene jetele panonského při různých způsobech zakládání porostů v krycí plodině 307

Kobes M., Hejna O., Peterka J, Tonka T.: Vliv systému a intenzity pastvy na porostovou skladbu, produktivitu a mimoprodukční funkce dlouhodobého pastevního porostu 313

Kováč L., Jakubová J., Hecl J.: Pestovanie moháru talianskeho (*Setaria italica* (L.) p. Beauv.) v suchých oblastiach slovenska 321

Kusá H., Růžek P., Vavera R.: Vliv různých způsobů hnojení digestátem na výnos kukuřice, dostupnost a ztráty živin 327

Lang, J.: Vliv výsevku, šířky řádků a inokulace na zapojení porostu jestřabiny východní (G*alega orientalis* Lam.) na orné půdě v suchých podmínkách 333

Látal O. , Brtnický M. , Dokulilová T. , Holátko J. , Kintl A.: Vliv přídavku biouhlu na zlepšení kvality hnoje a průběh fermentačního procesu 339

Menšík L. ml., Vik R., Pretl S., Bělohoubek J., Syrový T., Syrová L., Kubáč L., Menšík L. st.: Možnosti uplatnění internetu věcí (iot) v precizním zemědělství v ČR 347

Mezera J., Lukas V. , Elbl J. , Kintl A. , Smutný V.: Vyhodnocení variabilního přihnojování porostů pšenice ozimé systémem ISARIA 357

Mühlbachová G., Káš M.: Výnos pšenice při hnojení statkovými a minerálními hnojivy v podmínkách sucha v dlouhodobém polním pokusu 365

Smékalová K., Kaffková K., Pavela R.: Vliv agrotechniky na výnosové charakteristiky bazalky posvátné při pěstování v ČR 369

Svoboda P., Raimanová I., Duffková R., Fučík P., Haberle J.: Vliv závlahy na kořenový systém vybraných plodin 375

Svobodová A., Kasal P.: Technologie pěstování jakonu v podmínkách ČR 381

Šafář J., Seidenglanz M., Plachká E.: Komepetiční vztah mezi stonkovými krytonosci a bílou hnilobou řepky 385

Šindelková I. , Lang J. , Loučka R. , Jambor V. , Nedělník J.: Porovnání kvalitativních parametrů vojtěšky v systému stanovení chemickou analýzou a analýzou AgriNIRS 391

Vaculová K., Sedláčková I: Vliv podmínek pěstování na hospodářské charakteristiky a kvalitu zrna bezpluchého ječmene. 395

Vašinka M., Badalíková B.: Změny fyzikálních vlastností erodovaných půd 403

Vaštík L., Mašán V., Burg P., Sikora J.: Vyhodnotenie množstva nespáliteľných častí biopalív z vinohradníckej a vinárskej produkcie 407

Sekce „Kvalita a zpracování produktů“

Bártová V., Bárta J., Jarošová M., Kopecký J.: Antioxidační potenciál mouk připravených z výlisků vybravé skupiny olejnin 413

Dvořáček V., Kučerová Z.: Kvalita zrna pšenice špaldy od českých pěstitelů 419

Frydrych J., Polišenská I., Sedláčková I., Volková P.: Hodnocení vybraného sortimentu odrůd ozimých pšenic se zaměřením na výnos a kvalitu zrna 425

Huňady I., Hanuš O., Hegedüšová Z., Pozdíšek J., Seidenglanz M.: Využití luskovino-obilných směsek ve formě siláží ke krmení dojnic a jejich vliv na kvalitu mléka 431

Jágr M., Dvořáček V., Doležalová J.: Variabilita obsahu avenanthramidů u vybraných odrůd ovsa setého (*Avena sativa* L.) a ovsa nahého (*Avena nuda* L.) 437

Jarošová M., Bárta J., Bártová V.: Studium vlastností a biologických aktivit mouky lnu olejného ... 443

Kosová K., Vítámvás P., Cit Z., Dvořáček V.: Hodnocení imunoreaktivity vybraných odrůd ovsa ve vztahu k jejich potenciálnímu využití pro celiaky 447

Laknerová I.: Koření jako přírodní zdroj antioxidantů 455

Nerušil P., Menšík L., Jambor V.: Hodnocení kvality fermentovaných kukuřičných siláží pomocí NIR spektroskopie 461

Pokorná-Bartošková M., Rysová J., Vaculová K.: Stanovení thiaminu v ječmeni metodou LC-MS/MS 469

Rysová, J., Ptáčková, K., Laknerová, I., Šmídová, Z., Strohalm, J.: Využití batátů a topinambur do bezlepkového těsta 475

Rysová J., Houška M., Laknerová I., Novotná P., Strohalm J.: Aplikace kozince blanitého *Astragalus membranaceus* do potravin 481

Krátká sdělení

Nováková E., Šafránková I.: Spektrum houbových patogenů čiroku súdánského pěstovaného na Moravě 487

Úvodní slovo

Vážení čtenáři,

již několikátým rokem je pravidelnou přílohou dvanáctého čísla časopisu Úroda CD příloha, která obsahuje recenzované příspěvky mezinárodní konference pořádané společnostmi Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. a Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko. Také letos Vám nakladatelství Profi Press s r.o. a redakce časopisu Úroda přináší inovace a poznatky z celé řady vědních disciplín souvisejících s rostlinnou produkcí a navazujícími obory prezentované na 23. ročníku mezinárodní konference *Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů,* jejichž spolupořadateli kromě výše uvedených společností jsou ČAZV, AK ČR a Česká technologická platformou rostlinných biotechnologií.

Transfer výsledků aplikovaného výzkumu do uživatelské praxe je jedním ze základních atributů smysluplnosti investování veřejných prostředků do výzkumu. Bez přenosu poznatků a reflektování potřeb praxe by nemělo smysl investovat do výzkumných projektů. Uzavřen v laboratořích, schován před uživateli, to by neměla být běžná praxe výzkumníka. Jakkoliv je v některých případech obtížné výsledky transferovat, nebo transferovat v reálném čase, je potřeba poznatky aplikovat, přicházet s novým řešením, zvyšovat konkurenceschopnost českého zemědělství a podporovat rozvoj venkovských sídel. Právě toto jsou priority nové Evropské strategie bioekonomiky, jejíž cílem je efektivnější využívání biologických zdrojů, zpracování biologických produktů, které v dnešní obě možná končí jako odpady a novými metodami je možné je využít jako vstupní suroviny. Nová Evropská strategie Bioekonomiky na první místo klade zachování ekosystémů a je velkou příležitostí nejen pro české zemědělství. Rozvoj moderní společnosti je založený na inovacích. Jejich přenos do firemní praxe různými formami je nutností. Věřím, že publikované příspěvky mohou být i zajímavým podkladem pro technologické poradenství, jehož úroveň v agrárním sektoru je také k diskusi.

Každoroční uveřejňování přiloženého CD je motivováno především přesvědčením editorů o důležitosti odborných publikací psaných v národním jazyce. Opět více než 100 příspěvků zahrnujících výsledky mnohých výzkumných projektů na široké interdisciplinární bázi je dokladem práce výzkumníků pro české farmáře a šlechtitele. Nové šlechtitelské metody, využití genetických zdrojů, aktuální otázky rostlinolékařské péče a pohled na integrovanou ochranu rostlin, možnosti optimalizace pěstebních technologií polních plodin či aktuální pohled na kvalitu rostlinných produktů jsou některá z témat uvedených ve vědecké příloze.

Velké poděkování patří autorům příspěvků, kolegům z nakladatelství Profi Press s r.o. a redakci časopisu Úroda patří poděkování za dlouholetou spolupráci. Všechny příspěvky byly recenzovány členy vědeckého výboru, jimž za to patří také velký dík. A v neposlední řadě poděkování patří také všem mým kolegům podílejícím se na organizaci konference, kde příspěvky ve formě mluveného slova nebo ve formě posterů byly prezentovány. Distribuce několika tisíc CD umožňuje širokému okruhu čtenářů udělat si obrázek o zaměření zemědělského aplikovaného výzkumu.

Inovace a jejich aplikaci, nové výzkumné poznatky a efektivní transfer do zemědělské praxe jsou témata i nového programovacího období. Bez nových poznatků nebude možné udržovat konkurenceschopnost českého zemědělství, bylo by obtížné udržovat a rozvíjet krajinné celky, podporovat růst venkovských regionů a zabezpečovat potravinovou soběstačnost dlouhodobě udržitelným způsobem. Proto by zemědělský výzkum a šlechtění mělo do budoucna sehrávat ještě významnější roli než dosud.

Jan Nedělník

PODPORA ČESKÉ ÚČASTI VÝZKUMNÝCH ORGANIZACÍ AGRÁRNÍHO SEKTORU V MEZINÁRODNÍM VÝZKUMU

Support of Czech participation of agrarian sector research organizations in international research

Šmirous P.

Agritec Plant Research s.r.o.

V únoru roku 2017 zahájilo konsorcium šesti výzkumných organizací činnost na projektu „Podpora české účasti výzkumných organizací agrárního sektoru v mezinárodním výzkumu.“ Členové konsorcia, Agrovýzkum Rapotín s.r.o., Agritec Plant Research s.r.o., Agronomická fakulta Mendelovy univerzity v Brně, Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o., Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o. a Zemědělský výzkum, spol s r.o. vytvořili partnerství a během čtyřleté realizace projektu bude podporováno zapojování výzkumných a vědeckých pracovníků do mezinárodních programů výzkumu a vývoje. Budou poskytovány organizační, poradenské, propagační a další podpůrné služby pro projektové partnery i pro další zájemce z řad výzkumných a veřejných institucí, vysokých škol, podniků a odborné veřejnosti.

Projekt si klade následující cíle:

- Vznik a činnost podpůrné koordinační kanceláře pro podávání především mezinárodních projektů
- Aktivní podpora výzkumných pracovníků při přípravě a realizaci projektů mezinárodní spolupráce v zemědělství v programu Horizont 2020, v dalších programech mezinárodního výzkumu a vývoje (Inter-Action, Inter-Cost, Norské fondy atd.) a účast v mezinárodních konsorciích a jejich řízení
- Vyhledávání, sdílení a poskytování informací o možnostech mezinárodní spolupráce, o vyhlášení veřejných soutěží v oblasti vědy, výzkumu a inovací, o možnostech financování projektů a sestavování řešitelských týmů
- Zajištění informací ze souvisejících oblastí, tj. ochrany duševního vlastnictví v rámci mezinárodních konsorcií, problematika smluv a pracovně právních vztahů v mezinárodním výzkumném prostředí, ekonomické a finanční řízení projektů
- Prezentace a propagace výzkumné činnosti členů konsorcia a vyhledávání partnerů a uživatelů výsledků v zahraničí
- Podpora mezinárodních kontaktů VaV zaměstnanců pro navázání spolupráce a tvorbu projektových týmu (cesty na zahraniční VaV pracoviště, setkání s potenciálními projektovými partnery organizovaná styčnými kancelářemi pro VVI, účast na informačních dnech, konzultace se zástupci centrálních evropských institucí, relevantními úředníky Evropské komise atd.)
- Aktivity pro podporu kontaktů s nevýzkumnými partnery a přenos výsledků mezinárodních projektů do praxe (workshopy, semináře, publikace pro odbornou veřejnost, prezentace na webových stránkách, postery na mezinárodních konferencích)

V rámci projektu byly v roce 2018 konsorciem výzkumných organizací realizovány následující plánované aktivity:

Projektová kancelář koordinátora sdílela a předávala informace o výzvách, projektech a možnostech spolupráce, organizovala semináře a workshopy a zajišťovala zahraniční cesty členů řešitelského týmu.

Během roku 2018 členové konsorcia podali celkem sedm mezinárodních projektů.

Agrovýzkum Rapotín s.r.o. navrhl mezinárodní projekt "Strengthening bilateral relations between the Czech Republic and the Norwegian University of Life Sciences (The NMBU)", EHP-BF10-OVNKM-1-019-01-2018 (EHP a Norské fondy).

Společnost Agritec Plant Research s.r.o. předložila s partnery projekt COST OC-2018-1: International network for flax and hemp green circural economy.

Agronomická fakulta Mendelovy univerzity v Brně spolu s partnerskou institucí Instititute of Environmental Protection - National Research Institute, Environmental Chemistry & Risk Assessment Department, Warsaw, PL navrhly mezinárodní projekt do Horizontu 2020 pod názvem „Groundwater exposure for the organic compounds toxic for the environment and human health“, Proposal number: 841916, Horizon 2020, Call: H2020-MSCA-IF-2018.

Další partner, Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o. podal v roce 2018 návrh mezinárodního projektu do soutěže MŠMT Inter-Excellence v rámci programu Inter-Action s partnerskou institucí USDA-ARS, Fort Collins z USA.

Z Výzkumného ústavu bramborářského Havlíčkův Brod, s.r.o. byl podán návrh česko-německého mezinárodního projektu v rámci programu Inter-Eureka pod názvem „Biotechnologická produkce rostlinných zdrojů zdravotně prospěšných látek pro lidský trávicí trakt (gut brain). Tento mezinárodní projekt byl schválen k financování od 1. září 2018.

Dva mezinárodní projekty podal partner Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Oba projekty byly zaměřeny na mezinárodní spolupráci včetně partnerů z Číny. Projekt pod názvem „Breeding forage and grain legumes to increase EU’s and China’s protein self-sufficiency“ z programu H2020, podprogramu Food Security, Sustainable Agriculture and Forestry, Maritime and Inland Water Research and the Bioeconomy byl schválen a nyní probíhá jeho řešení.

Součástí plánovaných aktivit byla také účast výzkumných a vědeckých pracovníků jednotlivých spolupracujících organizací na odborných školeních. Partneři se zúčastnili celkem patnácti školení. Pracovnice Agrovýzkumu Rapotín Ing. Jana Mikisková byla vyslána 3. - 4. října 2018 na školení "Financial Management of Horizon 2020 Projects: Theoretical and Practical Approach.“ Také se 17. prosince 2018 zúčastnila Workshopu Modul 2 – Příprava rozpočtu v projektech programu Horizont 2020.

Mgr. Jiří Horáček, Ph.D. z Agritec Plant Research se zúčastnil odborného semináře 5. dubna 2018 „Novinky v oblasti vědy, výzkumu a inovací nejen v číslech.“ Následně absolvoval dne 6. června 2018 Ing. Prokop Šmirous, Ph.D. odborný seminář „Aktuální příležitosti v programu H2020 a návazných programech a inciativách podporujících mezinárodní spolupráci ve výzkumu a inovacích v Praze Uhříněves.“ Wokshopu k výzvě JU Bio-based Industries 2018 pořádaného dne 16. června 2018 se zúčastnil Mgr. Jiří Horáček, Ph.D.

Za Mendelovu univerzitu se odborného školení „Základy procesního řízení“ dne 27. února 2018 účastnil Doc. Radim Cerkal, Ph.D. Odborného semináře pořádaného Austrian Research Promotion Agency se zúčastnil Mgr. Patrik Vacek. Cílem semináře byla výměna zkušeností při podávání projektů ERC (European Resarch Council) s úspěšnými řešiteli. Ve dnech 15.-16. května 2018 se konal vzdělávací seminář „Projektové řízení krok za krokem,“ kterého se zúčastnila Ing. Lucie Janečková. Po Mikuláši, v termínu 6.-7. prosince 2018 Doc. Cerkal a Ing. Janečková absolvovali odborné školení „Audity systému řízení kvality“.

Z Holovouského Výzkumného a šlechtitelského ústavu ovocnářského se odborných školení účastnil Ing. Jiří Sedlák, Ph.D. První proběhlo 11.-12. září 2018 v Bruselu a jednalo se o

informační dny pracovního programu Horizon 2020, výzva SC5 "Klimatické akce, životní prostředí, efektivita zdrojů a suroviny" - výzvy pro rok 2019. V prosinci se zúčastnil odborného školení "Financial Management of Horizon 2020 Projects. Theoretical and Practical Approach."

RNDr. Jiří Ptáček, CSc. Z Výzkumného ústavu bramborářského se 20. září 2018 zúčastnil odborného školení GRIN Czech, které se týká mezinárodního projektu sdílení dat z jednotlivých genových bank. Ing. Jaroslav Čepl, CSc., se 12. prosince 2018 zúčastnil odborného školení „Příležitosti k zapojení do rámcového programu Horizont 2020."

Ze Zemědělského výzkumu Troubsko se Mgr. Tomáš Vymyslický, Ph.D. zúčastnil 13. listopadu a 12. prosince 2018 odborných školení zaměřených na mezinárodní spolupráci a podávání mezinárodních projektů výzkumu a vývoje v rámci výzev programu HORIZON 2020.

Získané znalosti a informace předávali jednotliví pracovníci svým kolegům a partnerům zejména formou seminářů pořádaných na jednotlivých pracovištích. V roce 2018 proběhlo šest těchto seminářů s přenosem získaných informací k tvorbě národních a mezinárodních projektů.

Zejména ze zahraničních pracovních cest (informační dny, semináře, kongresy) byly vypracovány cestovní zprávy, které jsou k dispozici na webu projektu https://www.vuchs.cz/INTER-INFORM/index.php?stranka=uskutecnene-aktivity.

Během roku 2018 partneři konsorcia uspořádali také šest workshopů. Hlavní náplň workshopů tvořily informace, jak připravit výzkumné projekty uplatnitelné ve výzvách v programu Horizont 2020. Přednášejícími byli pracovníci Technologického centra Akademie věd České republiky a další pracovníci s živými zkušenostmi z běžících projektů v rámci EU.

Partneři projektu za rok 2018 nejenže splnili všechny plánované aktivity, většinu z nich překročili. Pro rok 2019 je plánován obdobný rozsah činností jako v minulých letech. Přejeme partnerům, aby se jim podařilo získávat v roce 2019 mezinárodní projekty alespoň tak, jako v minulém roce 2018.

O projektu

Název projektu: Podpora české účasti výzkumných organizaci agrárního sektoru v mezinárodním výzkumu

Program: Program mezinárodní spolupráce ve výzkumu a vývoji INTER-EXCELLENCE

Podprogram: INTER-INFORM

Registrační číslo projektu: LTI17006

Doba realizace: 1. 2. 2017 – 31. 12. 2020

Celkové způsobilé výdaje projektu: 10 000 000 Kč

Poskytovatel dotace: Ministerstvo školství, mládeže a tělovýchovy

Příjemce: Agrovýzkum Rapotin s.r.o.

Partneři projektu: Agritec Plant Research s.r.o., Agronomická fakulta Mendelovy univerzity v Brně, Výzkumný a šlechtitelsky ustav ovocnářský Holovousy s.r.o., Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., Zemědělský výzkum, spol. s r.o.

Poděkování

Veškeré aktivity v rámci projektu Podpora české účasti výzkumných organizaci agrárního sektoru v mezinárodním výzkumu byly realizovány díky podpoře Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy a jeho programu INTER-INFORM.

MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ, MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

INTER-EXCELLENCE

VYUŽITÍ METODY KRYOPREZERVACE VE ŠLECHTITELSKÉM PROCESU BRAMBORU A CHMELE

The use of cryopreservation method in breeding process of potatoes and hops

Faltus M.[1], Svoboda P.[2], Domkářová J.[3], Horáčková V.[3], Zámečník J.[1], Nesvadba, V.[2], Bilavčík, A.[1]

[1]*Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha*
[2]*Chmelařský institut Žatec, s.r.o.*
[3]*Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.*

Abstrakt
Při šlechtitelském procesu bramboru a chmele může docházet k problémům jednak s dostupností a kvalitou pylu pro křížení a dále s udržováním rodičů vstupujících do křížení bramboru nebo samčích rostlin chmele po dobu, než dojde k ověření jejich kvality prostřednictví hodnocení výkonnosti jejich potomstva. Proto byla ověřována možnost uchování šlechtitelského materiálu bramboru a chmele ve formě explantátových kultur a pylu pomocí metody kryoprezervace. Diferenční skenovací kalorimetrie byla použita pro ověření vhodnosti vybraných genotypů bramboru a chmele pro jejich kryoprezervaci. Bylo prokázáno, že vhodný způsob dehydratace může omezit podíl zmrzlé vody v explantátech u obou testovaných druhů rostlin a zjištěné termické vlastnosti pylu potvrzují vhodnost metody kryoprezervace pro jeho uchování.
Klíčová slova: diferenční skenovací kalorimetrie, DSC, explantáty, *Humulus lupulus*, pyl, *Solanum tuberosum*, termická analýza, tkáňové kultury

Abstract
Potato and hops breeding processes may have problems with both the availability and quality of pollen and keeping parents entering the cross of potato or male hop plants until their quality is verified by evaluating the performance of their progeny. Therefore, the possibility of preserving potato and hops breeding material in the form of explant cultures and pollen was verified using the cryopreservation method. Differential scanning calorimetry was used to verify the suitability of selected potato and hops genotypes for their cryopreservation. It has been shown that a suitable method of dehydration can limit the proportion of frozen water in explants in both tested species of plants and the observed thermal properties of pollen confirm the suitability of the cryopreservation method for its preservation.
Key words: differential scanning calorimetry, DSC, explants, *Humulus lupulus*, pollen, *Solanum tuberosum*, thermal analysis, tissue culture

Úvod

Metoda kryoprezervace umožňuje dlouhodobé uchování živých organismů nebo jejich částí při ultra-nízkých teplotách, obvykle při teplotě blízké bodu varu kapalného dusíku (-196 °C). Tato metoda je využívána napříč různými obory a je využitelná i v oblasti uchování rostlin. V této oblasti je nejběžnější využití metody kryoprezervace pro uchování genetických zdrojů rostlin, a to převážně těch druhů rostlin, které nelze skladovat konvenčním způsobem ve formě semen. Jedná se o druhy rostlin vegetativně množené nebo druhy tvořící rekalcitrantní semena. Vegetativně množené druhy rostlin semena buď netvoří (česnek) nebo jejich semena nesou odlišnou genetickou informaci než původní rodičovský materiál z důvodu jeho heterozygótnosti a segregace alel při pohlavním dělení buněk. Proto je možné takový genetický

materiál uchovávat pouze prostřednictvím nepohlavního, klonového množení, což předpokládá víceméně permanentní růst somatických pletiv, který může být dočasně přerušován poměrně krátkými periodami endodormance či ekodormance.
Metoda kryoprezervace umožňuje kompletní zastavení růstu somatických pletiv bez ztráty životnosti, bez jakýchkoliv genetických změn či stárnutí, a to po velmi dlouhou dobu v řádech desítek až stovek let. Podstatou tohoto fenoménu je skutečnost, že při snížení teploty do velice nízkých hodnot může biologický materiál přejít do tzv. skelného stavu. Skelný stav představuje fázový přechod z kapalné do pevné fáze, při kterém nedochází ke změně struktury (krystalická mřížka), ale materiál zůstává v původním, neuspořádaném (amorfním) stavu. Zachování původní struktury uchovávaného materiálu je naprosto klíčové, protože umožňuje zachování i všech životních funkcí.
Uchování životaschopnosti rostlin při ultra-nízkých teplotách a zejména jejich opětovná regenerace není rutinní záležitost, vzhledem k tomu, že se rostliny během svého fylogenetického vývoje nikdy nesetkaly s působením takto nízkých teplot, a proto nemohl vzniknout žádný adaptační mechanismus, který by toto umožňoval. Některé druhy rostlin mírného pásma jsou schopné překonat působení nepříznivých podmínek zimního období ve stavu kryptovegetace, kdy maximální mrazy mohou dosahovat teplot „pouze“ -20 až -40 °C, přičemž konkrétní teplota působící přímo na rostliny je obvykle vyšší vzhledem ke sněhové pokrývce či teplotě půdy. Na druhou stranu se metody kryoprezervace využívají i pro takové druhy rostlin, které jsou citlivé vůči působení mrazu (brambor) nebo i chladu (banán). Tyto druhy rostlin nemají vytvořeny vůbec žádné adaptační mechanismy na úrovni rostlin jako takových, které by souviseli s působením mrazu.
Z hlediska odolnosti rostlin vůči působení ultra-nízkých teplot a zároveň kritickým předpokladem k dosažení skelného stavu je obsah vody, respektive té její frakce, která není vázaná na buněčné struktury a která může při snížení teploty přecházet do krystalického stavu. Pokud je obsah volné vody příliš velký, dochází k její krystalizaci a tím i k poškození buněčných struktur. Pokud se podaří snížit obsah volné vody a zároveň nezpůsobit poškození pletiv nadměrnou dehydratací, lze docílit skelného stavu a zcela eliminovat mrazové poškození pletiv při kryoprezervaci a zachovat jejich životnost. Pro ověření množství a stavu vody v pletivech je možné využít metod termické analýzy. Diferenční skenovací kalorimetrie detekuje tepelně zabarvené jevy spojené s fázovými přechody, jako jsou mrznutí, tání nebo skelný přechod. Znalost termických vlastností pletiv umožňuje modifikovat způsoby otužení a dehydratace pletiv takovým způsobem, aby bylo minimalizováno riziko tvorby ledových krystalů a s tím spojené poškození pletiv.
Kromě již zmíněného uchování genofondu vegetativně množených rostlin, by bylo vhodné využít metodu kryoprezervace i ve šlechtitelském procesu, a to jednak uchováním rodičovských genotypů a dále uchováním samčích pohlavních buněk – pylu. Tvorba nových genotypů bramboru i chmele je založena na křížení vhodných donorů, to však v případě těchto plodin naráží na určité limity související s dostupností pylu v potřebnou dobu, v potřebném množství a kvalitě. Tento problém lze do určité míry řešit uchováním sklizeného pylu v chladničce, ale ne vždy lze tento postup použít. Důležité přitom je, aby křížené genotypy kvetly přibližně ve stejnou dobu, což není vždy možné, zejména v případě planých druhů rodu *Solanum*. Naproti tomu chmel je dvoudomá rostlina, přičemž samčí rostliny se běžně nepěstují, ale využívají pouze ve šlechtitelském procesu pro křížení se samičími rostlinami. Kvalitu samčí rostliny je obtížné přesně odhadnout, protože přenáší do potomstva i znaky, které na samčí rostlině nemůžeme hodnotit (samičí hlávky – jejich výnos a kvalita). Kvalita samčí rostliny se pozná až podle získaného potomstva po zkřížení a následné kultivaci v polních podmínkách a získaných sklizní. Proto je třeba uchovávat vytypované samčí rostliny po několik let, než dojde k ověření jejich užitné hodnoty. Podobně jako u bramboru, i u chmele může dojít k odlišné době kvetení rodičovských rostlin, což komplikuje možnost získání potomstva.

Cílem této práce je, pomocí termické analýzy, ověřit možnost využití metody kryoprezervace pro uchování rodičovských genotypů ve formě rostlin a dále možnost dlouhodobého uchování pylu bez rizika poškození přítomností volné vody, která představuje riziko tvorby ledových krystalů a poškození pletiv.

Materiál a Metody

- **Kryoprezervace explantátů bramboru**

Z *in vitro* banky ve Výzkumném ústavu bramborářském Havlíčkův Brod byla vybrána modelová odrůda Judika pro otestování různých způsobů dehydratace explantátů a vliv těchto způsobů na termické vlastnosti explantátů. Kultivace a otužování *in vitro* rostlin bramboru probíhaly na modifikovaném kultivačním mediu podle Grospietsche *et al.* (1999) bez kaseinu a myoinositolu a se sníženým obsahem dusíku, 30 g l^{-1} sacharózy a 7 g l^{-1} agaru. Pětidenní nodální segmenty byly zality roztokem 2 M sacharózy a po dalších 5 až 6 dnech kultivace byly vyizolovány vzrostné vrcholy o velikosti přibližně 2 mm a umístěny do Petriho misky na filtrační papír nasycený 0,7 M roztokem sacharózy s fytohormony (0,5 mg l^{-1} kyseliny indolyl octové, 0,5 mg l^{-1} kinetinu, 0,2 mg l^{-1} kyseliny giberelové) po dobu 20 hodin při 22 °C. Byly testovány dvě metody dehydratace vzrostných vrcholů bramboru:1) suchým vzduchem nad silikagelem, 2) osmoticky kryoprotektivním roztokem. Jedna část explantátů byla umístěna na hliníkové plíšky do uzavřené skleněné nádobky se silikagelem při teplotě 22-23 °C a druhá část do kádinky s kryoprotektivním roztokem (40 % sacharózy, 40 % glycerolu v destilované vodě). Doba dehydratace oběma způsoby probíhala po dobu 2 hodin. Termické charakteristiky byly stanoveny pomocí diferenčního skenovacího kalorimetru Q2000 od firmy TA Instruments (USA) u izolovaných vzrostných vrcholů bramboru před dehydratací po sycení pomocí 0,7M roztoku sacharózy, po 2 hodinách dehydratace suchým vzduchem nad silikagelem a po 2 hodinách dehydratace pomocí kryoprotektivního roztoku (PVS). Byla stanovena teplota tání a podíl krystalické vody ve vzorcích.

- **Kryoprezervace explantátů chmele**

Z kolekce chmele v Chmelařském institutu v Žatci byl vybrán genotyp 14517, který představoval modelovou samčí rostlinu. Pro kultivaci a otužování nodálních segmentů chmele bylo použito agarové kultivační medium podle Murashige a Skooga (1964) se sníženým obsahem dusíku a bez rostlinných fytohormonů (Faltus *et al.* 2007) se 40 g l^{-1} glukosy a 7 g l^{-1} agaru. Nodální segmenty byly pěstovány při teplotě 25 °C po dobu 7-10 dní. Pak byly rostliny přeneseny do podmínek otužování nízkou teplotou při 2 °C. Po následujících 7 až 10 dnech kultivace byly nodální segmenty zality 0,7 M roztokem sacharózy po dobu 7 až 10 dní, kdy byly izolovány vzrostné vrcholy o velikosti přibližně 2 mm a umístěny na 20 hodin při teplotě 22 °C do Petriho misky na filtrační papír nasycený 0,7 M roztokem sacharózy s fytohormony (0,02 mg l^{-1} kyseliny giberelové, 0,1 mg l^{-1} kyseliny indolyl máselné, 0,01 mg l^{-1} 6-benzylaminopurinu). Následně byl testován postup dehydratace vzrostných vrcholů suchým vzduchem po dobu 2 hodin. Termické charakteristiky byly stanoveny pomocí diferenčního skenovacího kalorimetru Q2000 u izolovaných vzrostných vrcholů chmele před dehydratací po sycení pomocí 0,7M roztoku sacharózy a po 0,5, 1, 1,5 a 2 hodinách dehydratace suchým vzduchem nad silikagelem. U všech vzorků byla stanovena teplota tání a podíl krystalické vody ve vzorcích.

- **Termické vlastnosti pylu bramboru a chmele**

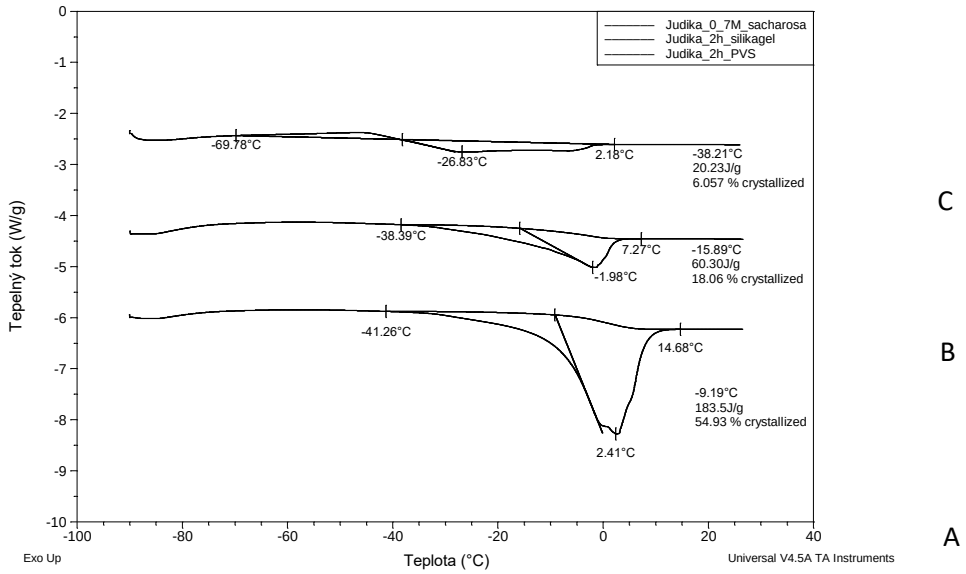
Ve Výzkumném ústavu bramborářském Havlíčkův Brod byly vybrány dvě odrůdy: Stiletto a Valfi a v Chmelařském institutu Žatec dva genotypy chmele s označením 86/4 a 12/06 pro testování termických vlastností pylu. Po dozrání prašníků byly z mateřských rostlin odebrány květenství a umístěny v laboratorních podmínkách. Po jejich zaschnutí v průběhu 2-3 dní, došlo v případě chmele prakticky ke spontánnímu uvolňování pylových zrn. Naproti tomu u bramboru byl pyl uvolňován poklepem jehlou na jednotlivé prašníky. Pyl byl následně sesypán

do plastových zkumavek a uložen v chladu (4 °C). U získaného materiálu byly stanoveny termické charakteristiky pomocí diferenčního skenovacího kalorimetru Q2000.

Výsledky a diskuze

- **Kryoprezervace explantátů bramboru**

U explantátů bramboru byla ověřována účinnost dvou způsobů dehydratace, suchým vzduchem nad silikagelem a osmotickým působením kryoprotektivního roztoku PVS (Graf 1). Počátek tání, definovaný jako tzv. onset, byl u vzrostných vrcholů před jejich dehydratací přibližně -9 °C. Po 2 h dehydratace suchým vzduchem poklesla teplota onsetu tání na -16 °C a po 2 h dehydrataci osmotickým působením kryoprotektivního roztoku PVS poklesla teplota onsetu tání na -38 °C. Kromě toho, že důsledkem dehydratace vzrostných vrcholů byl pokles teploty tání, což je důkazem zvýšení koncentrace rozpuštěných látek v intraceluláru. Tomu odpovídá i další výsledek termické analýzy a to snížení podílu zmrzlé vody v důsledku dehydratace vzrostných vrcholů bramboru. Před dehydratací byl zjištěn 55% podíl zmrzlé vody ve vzorku, po 2 h dehydrataci suchým vzduchem došlo k poklesu obsahu zmrzlé vody na 18 % a po 2 h působení kryoprotektivního roztoku na 6 %. Z těchto výsledků je patrné, že osmotického působení kryoprotektivního roztoku dehydratovalo vzrostné vrcholy s vyšší efektivitou ve srovnání s dehydratací suchým vzduchem. Výrazné snížení obsahu vody po působení kryoprotektivního roztoku vedlo rovněž k významnému posunu onsetu, ale i maxima píku tání. Navíc pík tání byl velice plochý, což naznačuje spíše existenci dvou píků, které nebyly pomocí standardní metody DSC rozlišeny. Existence dvou píků tání naznačuje přítomnost dvou fází s různou teplotou tání.

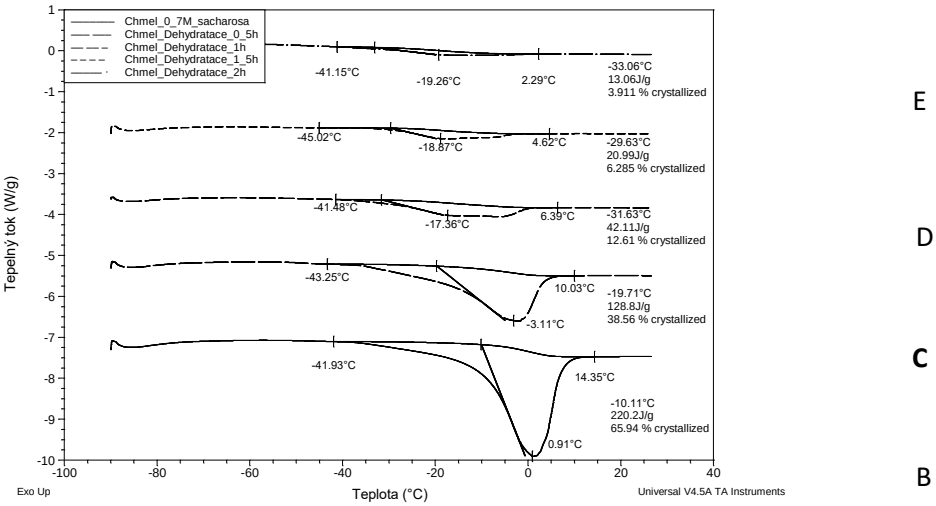


Graf 1: Termogram znázorňující pokles obsahu vody tří variant vzrostných vrcholů bramboru, odrůdy `Judika` A) po působení 0,7 M sacharózy před dehydratací, B) po 2 h dehydratace suchým vzduchem nad silikagelem a C) po 2h dehydratace působení kryprotektivního roztoku PVS. Na každé křivce jsou vyznačeny (zleva doprava) teploty charakterizující počátek tání, maximum píku a konec tání, vedle křivky je dále uvedena teplota tzv. „onsetu“ počátku tání, množství tepla představující skupenské teplo tání na jednotku hmotnosti vzorku a % podíl zmrzlé vody ve vzorku.

- **Kryoprezervace explantátů chmele**

U explantátů chmele byla ověřována optimální doba dehydratace vzrostných vrcholů suchým vzduchem nad silikagelem prostřednictvím termické analýzy (Graf 2). Před dehydratací byla zjištěna teplota tání vyjádřená jako onset píku přibližně -11 °C. V průběhu dehydratace suchým vzduchem byla zjištěna teplota tání vzrostných vrcholů chmele přibližně -20 °C po 0,5 h dehydratace, -32 °C po 1 h dehydratace, -30 °C po 1,5 h dehydratace a -33 °C po 2 hodinách dehydratace. Z toho je patrné, že k nejrychlejšímu poklesu teploty tání došlo v průběhu první hodiny dehydratace a se tento pokles prakticky zastavil. Podobné výsledky byly zjištěny dříve při dehydrataci révy vinné pomocí kryoprotektivního roztoku (Faltus *et al.* 2015). Snížení poklesu teploty mrznutí v průběhu dehydratace vzrostných vrcholů chmele ukazuje, obdobně jako u bramboru, na zvýšení koncentrace rozpuštěných látek v intracelulárním prostoru. Obdobně dochází rovněž k poklesu podílu zmrzlé vody ve vzorcích jako v případě bramboru. Před dehydratací představoval podíl zmrzlé vody ve vzorcích 66 % z celkové hmoty vzrostných vrcholů chmele. V průběhu dehydratace suchým vzduchem byl zjištěn podíl zmrzlé vody ve vzrostných vrcholech chmele přibližně 39 % po 0,5 h dehydratace, 13 % po 1 h dehydratace, 6 % po 1,5 h dehydratace a 4 % po 2 hodinách dehydratace. Z těchto výsledků vyplývá, že optimální doba dehydratace vzrostných vrcholů chmele pomocí suchého vzduchu nad silikagelem byla v rozmezí 1,5 až 2 h, kdy došlo k poklesu podílu zmrzlé vody v rozmezí 6 až 4 %., kdy je riziko poškození rostlinného materiálu tvorbou ledových krystalů velice nízké.

I když došlo v průběhu dehydratace vzrostných vrcholů chmele k poklesu onsetu tání pouze v průběhu první hodiny a dále se již významně neměnil, v případě podílu zmrzlé vody docházelo k jejímu poklesu v celém průběhu dehydratace. Po silné dehydrataci vzrostných vrcholů chmele spojené s výrazným poklesem obsahu zmrzlé vody bylo zjištěno, že při tání probíhají pravděpodobně dva endotermické jevy, podobně jako u vzrostných vrcholů bramboru. Tyto dva píky však u bramboru nebyly, na rozdíl od chmele, zjištěny po dehydrataci suchým vzduchem, ale pouze po dehydrataci kryoprotektivním roztokem. Vysvětlení pravděpodobně spočívá v míře dehydratace vzrostných vrcholů.



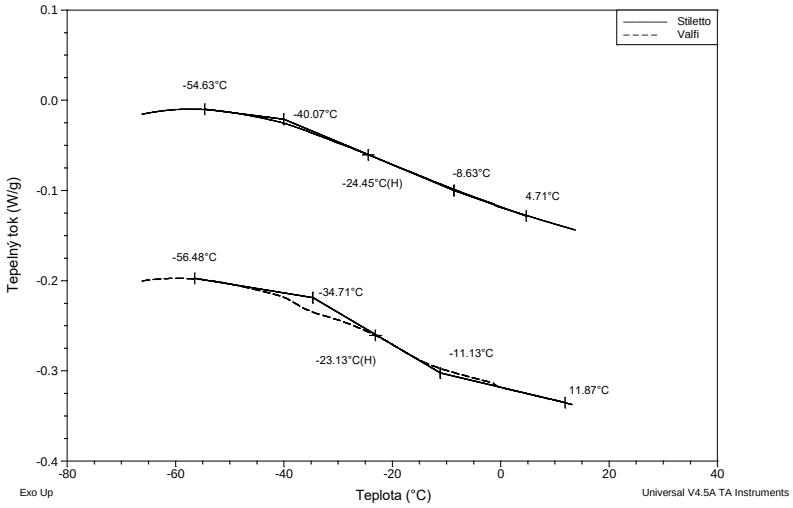
Graf 2: Termogram znázorňující pokles obsahu vody při postupné dehydrataci vzrostných vrcholů chmele, genotypu `14217`

A) po působení 0,7 M sacharózy před dehydratací, B) po 0,5 h dehydratace suchým vzduchem nad silikagelem a C) po 1 h dehydratace suchým vzduchem nad silikagelem, D) po 1,5 h dehydratace suchým vzduchem nad silikagelem a po 2 h dehydratace suchým vzduchem nad silikagelem. Na každé křivce jsou vyznačeny (zleva doprava) teploty charakterizující počátek tání, maximum píku a konec tání, vedle křivky je dále uvedena teplota tzv. „onsetu“ počátku tání, množství tepla představující skupenské teplo tání na jednotku hmotnosti vzorku a % podíl zmrzlé vody ve vzorku.

Zatímco u bramboru došlo po 2 h dehydratace suchým vzduchem k poklesu zmrzlé vody na 18 %, u chmele došlo ve stejných podmínkách k poklesu na 4% zmrzlé vody. Naproti tomu byla u chmele přítomnost dvou píků patrná již po 1 h dehydratace suchým vzduchem, přičemž došlo k poklesu podílu zmrzlé vody na 13 %. Lze proto dedukovat, že pro přítomnost či detekci dvojice píků tání nebyl rozhodující způsob dehydratace vzrostných vrcholů nebo rostlinný druh, ale míra dehydratace. Z výsledků je patrné, že přítomnost dvou píků tání lze pravděpodobně odhalit při poklesu podílu zmrzlé v intervalu mezi 18 % a 13 % zmrzlé vody. Zatímco endotermický jev, ke kterému dochází při vyšších teplotách, pravděpodobně souvisí s obsahem volné vody, vysvětlení druhého endotermického jevu není zatím zřejmé a bude nezbytné provést další výzkum pro vysvětlení tohoto poznatku.

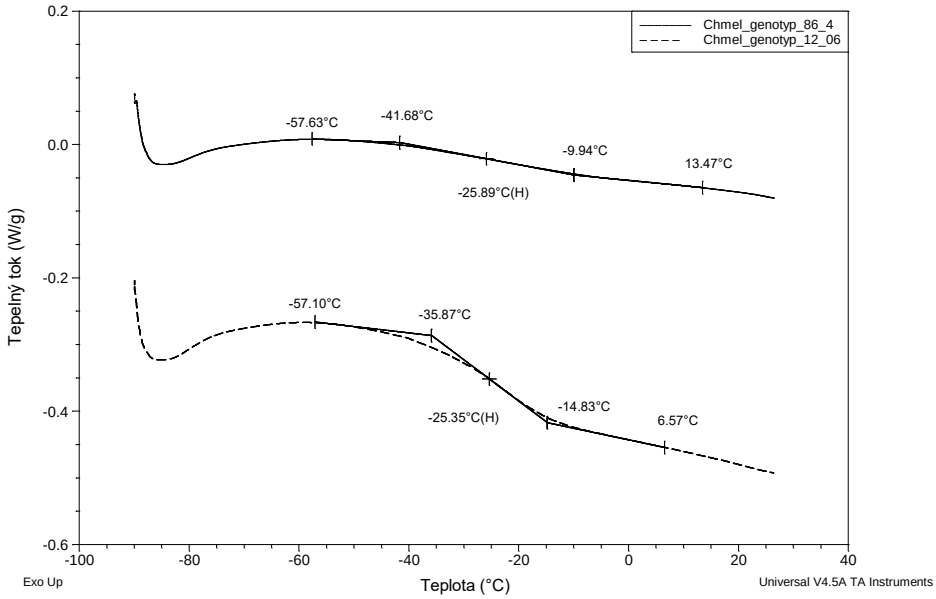
- **Termické vlastnosti pylu bramboru a chmele**

Další výzkum byl zaměřen na termické vlastnosti pylu bramboru a chmele. Termická analýza nezjistila přítomnost žádného exotermického ani endotermického jevu, které by odhalovaly přítomnost zmrzlé vody v měřených vzorcích pylu bramboru (Graf 3). Naopak byl u obou testovaných odrůd detekován skelný přechod. U odrůdy ` Stiletto ` byla střední hodnota teploty skelného přechodu -24 °C a u odrůdy` Valfi ` -23 °C. Oba skelné přechody zahrnovaly poměrně široký rozsah teplot od -55 °C do teploty v
blízkosti 0 °C a jejich střední hodnoty i celkové rozsahy jsou prakticky identické. Vzhledem k šíři skleného přechodu nelze považovat mírný rozdíl středních hodnot za významný. U chmele byla situace obdobná. Ani u jednoho z testovaných genotypů nebyla zjištěna přítomnost exotermických či endotermických jevů, které by odhalovaly přítomnost zmrzlé vody (Graf 4). Naopak byla u obou genotypů odhalena přítomnost skelného přechodu. Střední hodnota skelného přechodu u genotypu 86/4 byla -26 °C a u genotypu 12/06 -25 °C. I v případě pylu chmele byl rozsah teplot skelného přechodu velmi široký, od přibližně -55 °C do hodnot kolem 0 °C. Lze tedy konstatovat, že termická analýza neodhalila významný rozdíl termických charakteristik ani mezi genotypy v rámci rostlinného druhu ani mezi různými druhy rostlin.



Graf 3: Termogram pylu dvou odrůd bramboru (`Stilletto`, `Valfi`). Na každé křivce jsou vyznačeny (zleva doprava) teploty charakterizující počátek skelného přechodu, tzv. onset, střední hodnota definovaná jako střední výška efektu (H), dále tzv. endset a konec skelného přechodu.

Jediným poznatkem v tomto ohledu, který bude třeba ověřit v dalších experimentech je odlišná směrnice křivky skelného přechodu mezi testovanými genotypy chmele. Zatímco směrnice křivky skelného přechodu genotypu chmele 12/06 byla blízká směrnicím křivek skelného přechodu obou odrůd bramboru, u genotypu chmele 86/4 byla směrnice křivky skelného přechodu méně strmá. Tento poznatek bude ověřen v následujících letech testování u stejného genotypu, popřípadě při srovnání s dalšími testovanými genotypy. Skutečnost, že v hodnocených vzorcích pylu bramboru i chmele nebyla zjištěna přítomnost zmrzlé vody spolu s prokázáním přítomnosti skelného přechodu má obrovský význam. Tyto výsledky naznačují, že je možné s vysokou pravděpodobností uchovávat pyl pomocí metody kryoprezervace. Stanovení teplotního rozsahu skelného přechodu má zásadní význam pro stanovení bezpečné skladovací teploty pylu bez rizika ztráty jeho životnosti či klíčivosti.



Graf 4: Termogram pylu dvou genotypů chmele (`86/4`, `12/06`). Na každé křivce jsou vyznačeny (zleva doprava) teploty charakterizující počátek skelného přechodu, tzv. onset, střední hodnota definovaná jako střední výška efektu (H), dále tzv. endset a konec skelného přechodu.

Závěr

V této práci byla ověřována možnost využití metody kryoprezervace ve šlechtitelském procesu bramboru a chmele. V případě explantátů bramboru bylo zjištěno, že dehydratace vzrostných vrcholů pomocí kryoprotektivního roztoku byla účinnější ve srovnání s dehydratací suchým vzduchem. U explantátů chmele bylo zjištěno, že optimální dehydratace vzrostných vrcholů nastává v rozmezí 1,5 až 2 h, kdy byl zjištěn poklesu podílu zmrzlé vody na 6 až 4%. Při porovnání výsledků dehydratace explantátů bramboru a chmele byla zjištěna přítomnost dvou endoterm při poklesu podílu zmrzlé vody po 18 % a to bez ohledu na způsob dehydratace rostlinného materiálu a rostlinný druh. Zatímco endoterma, která byla detekována při vyšší teplotě, zřejmě souvisí s přítomností volné vody, význam druhé endotermy je nejasný a bude předmětem dalšího výzkumu. Termická analýza pylu nezjistila přítomnost zmrzlé vody u bramboru ani u chmele. U všech testovaných materiálů byla detekována přítomnost širokého skelného přechodu v rozmezí -55 °C až 0 °C se střední hodnotou přibližně -25 °C. Tento

poznatek naznačuje možnost širokého využití metody kryoprezeravce pro uchování pylu bramboru a chmele pro jeho využití ve šlechtitelském procesu.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení výzkumného projektu Ministerstva zemědělství ČR QK1910277 a institucionálního projektu MZE – RO0418.

Použitá literatura

Grospietsch M., Stodulková, E., Zámečník, J., 1999: Effect of osmotic stress on the dehydration tolerance of Solanum tuberosum shoot tips. CryoLetters 20, s. 339-346.

Faltus M., Bilavcik A., Zamecnik J. 2015:Thermal analysis of grapevine shoot tips during dehydration and vitrification. 54. 243-245.

Faltus M., Bilavčík A., Zámečník J., 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, ISSN 0394-6169, Advances in Horticultural Science, 21(4), s. 219-224.

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

Kontaktní adresa:

Ing. Miloš Faltus, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507/73
161 06 Praha 6 – Ruzyně
e-mail: faltus@vurv.cz

PRIVÁTNÍ ALELY DNA POLYMORFISMŮ KOMERČNĚ CHOVANÝCH ČMELÁKŮ *BOMBUS TERRESTRIS* V POROVNÁNÍ S LOKÁLNÍ POPULACÍ *BOMBUS TERRESTRIS TERRESTRIS* V ČESKÉ REPUBLICE

Private alleles of DNA polymorphisms of commercially bred bumblebees *Bombus terrestris* in comparison with the local population of *Bombus terrestris terrestris* in the Czech Republic

Matoušková M.[1], Trněný O.[1], Votavová A.[1], Piálek L.[2]

[1] *Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko*
[2]*Katedra zoologie, Přírodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích*

Abstrakt
Za účelem rozlišení komerčně chovaných čmeláků *Bombus terrestris* a *B. terrestris terrestris* vyskytujících se ve volné přírodě v České republice byla provedena celogenomová analýza, která vedla k identifikaci privátních alel typických vždy jen pro jednu z těchto dvou skupin čmeláků. Funkčnost vybrané privátní alely pro rozlišení čmeláků z velkochovů a volné přírody byla ověřena pomocí metody CAPS. I když tato metoda poskytuje snadný nástroj rozlišení těchto dvou skupin čmeláků, rozlišovací schopnost malého počtu markerů neumožňuje detekci jejich historické hybridizace.

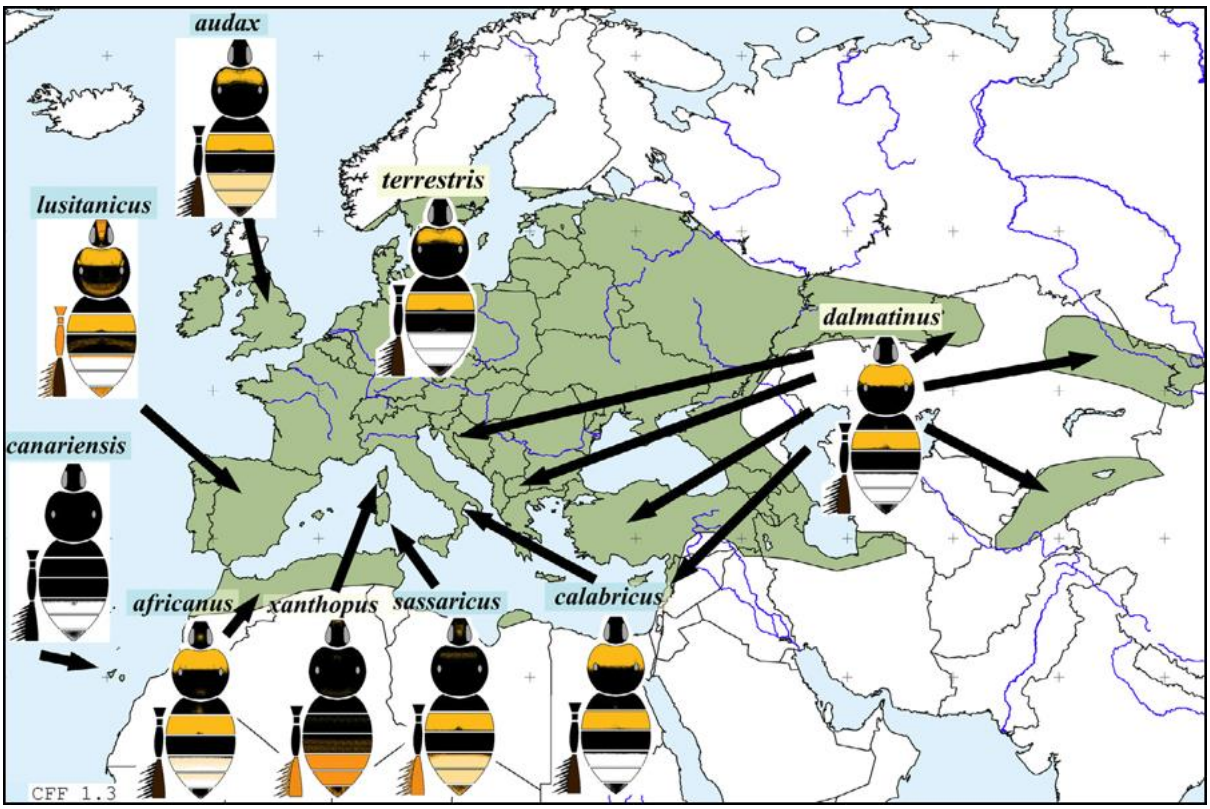
Klíčová slova: *Bombus terrestris*, čmelák zemní, privátní alely, CAPS

Abstract
To distinguish commercially bred *Bombus terrestris* and *B. terrestris terrestris* occurring in the wild in the Czech Republic, a whole-genome analysis was performed to identify private alleles typical for one of the two groups of bumblebees. The functionality of the selected allele was verified by CAPS. Even though this method provides an easy tool to distinguish these two groups of bumblebees, the small number of markers does not allow to detect their historical hybridization.
Key words: *Bombus terrestris*, bumblebee, private alleles, CAPS

Úvod

Čmeláci patří celosvětově mezi významné opylovatele celé řady plodin. V České republice se využívají zejména při opylování sadů, plantáží, polí a skleníků s rajčaty, k čemuž významně přispívají i komerčně chovaní čmeláci z velkochovů. Mezi první společnosti, které začaly využívat čmeláky pro opylování, byla v roce 1988 belgická firma Biobest. Už rok poté ji následovala holandská firma Koppert (Velthuis and van Doorn 2006). Od té doby vznikly desítky dalších společností, které masově produkují čmeláky a mezi nimi, v roce 2006, byl založena i španělská společnost Biomip, která dodává čmeláky do dalších společností, mimo jiné i do polské společnosti Agroconsult. Tyto tři společnosti jsou hlavními producenty komerčně dodávaných čmeláků pro Českou republiku. Ve velkochovech, které produkují

čmeláky do Evropy, se chová druh *Bombus terrestris*, který se v Evropě a v Severní Africe vyskytuje v 9 poddruzích (Rasmont et al. 2008) – viz Obr. **1**.



Obr. 1: Výskyt jednotlivých poddruhů Bombus terrestris v Evropě

Při zakládání prvních velkochovů v minulém století byly použity královny *Bombus terrestris terrestris*, odchycené v místě vzniku společností, tedy zejména ze severozápadní Evropy, ale kromě toho probíhal masový sběr královen i v jižní Evropě (Španělsko, Portugalsko, Sardinie, Řecko a Turecko). Velký zájem byl zejména zaměřen na poddruh *Bombus terrestris dalmatinus*, který má nejpočetnější hnízda (Velthius and van Doorn 2004). V současnosti je tento masový sběr královen z přírody již zakázán a chov je deklarován jako uzavřený, to znamená, že by už nemělo docházet k zařazování jedinců odchycených v přírodě do chovného programu. Komerčně odchovaní čmeláci, kteří jsou dováženi na území České republiky, jsou obvykle deklarováni jako poddruh *Bombus terrestris terrestris*, který se vyskytuje přirozeně na našem území, nebo jako hybrid *Bombus terrestris terrestris* a *Bombus terrestris dalmatinus*. Čmeláci z velkochovů produkují silná hnízda s velkým počtem dělnic a nových královen, které jsou větší a mohou konkurovat našim druhům čmeláků při obsazování hnízd a při konkurenci o potravní zdroje (Velthuis and van Doorn 2006). Proto jsme se v naší studii zaměřili na celogenomové porovnání komerčně chovaných čmeláků *B. terrestris* dodávaných na naše území a čmeláků *B. terrestris terrestris* odchycených při sběrech ve volné přírodě na území České republiky a identifikaci privátních alel, které jsou typické jen pro jednu z těchto dvou skupin čmeláků, za účelem jejich rozlišení.

Materiál a metody

V roce 2016 a 2017 byly provedeny sběry čmeláků *Bombus terrestris terrestris* v České republice. Pro analýzu bylo použito 72 vzorků, z nichž 62 bylo získáno odchytem na pěti lokalitách v ČR. Deset vzorků čmeláků *B. terrestris* z komerčních chovů bylo získáno v letech 2016 a 2017, kdy byla zakoupena hnízda společností Koppert (pobočka Nové Zámky na

Slovensku; 4 vzorky), Biobest (deklarovaný jako *Bombus terrestris dalmatinus*; 3 vzorky) a Biomip (Polsko, firma Agroconsult; 3 vzorky).

Izolace DNA a příprava ddRADseq sekvenační knihovny

Izolace DNA byla provedena z tkání končetin nebo trupu pomocí kitu DNeasy Blood & Tissue (QIAGEN, UK) dle standardního postupu uváděného výrobcem. Vzorky DNA s minimální koncentrací 10 ng/µl byly zpracovány podle upraveného protokolu pro přípravu ddRADseq knihovny dle Peterson et al. (2012). Objem DNA vzorku s obsahem 300 ng genomové DNA byl štěpen dvěma restrikčními enzymy *Sph*I a *Mlu*CI v reakci o celkovém objemu 30 µl. Oligonukleotidové „flex“ adaptéry P1 a P2 byly ligovány ke 100 ng DNA produktu štěpení v reakci o objemu 40 µl. Produkty ligace 48 vzorků lišících se v sekvenci adaptérů byly smíchány do podknihovny. Celkově byly připraveny dvě podknihovny. Pořadí vzorků v podknihovnách a mezi podknihovnami bylo znáhodněno. Pro každou podknihovnu byl proveden velikostní výběr fragmentů v rozsahu 220-370 bp pomocí přístroje Pippin Prep s využitím kitu Pippin Prep 2010 (Sage Science, Beverly, MA, USA). PCR amplifikace fragmentů s primery rozšířenými o sekvence indexů pro rozlišení podknihoven a sekvence P5 a P7 Illumina sekvenačních adaptérů byla provedena pro každou podknihovnu v reakci o objemu 50 µl. Produkty PCR byly přečištěny pomocí magnetických kuliček AMPure XP a ekvimolární množství podknihoven bylo smícháno do finální sekvenační knihovny. Sekvenování proběhlo v režimu párového čtení 125 bp na přístroji HiSeq 2500 (Illumina) v EMBL Genomic Core Facility, Heidelberg, Germany.

Roztřídění sekvencí do podknihoven a na vzorky proběhlo pomocí skriptu process_radtags z balíku Stacks v2.3 (Catchen et al. 2011). Kvalita i kvantita čtení sekvencí pro jednotlivé podknihovny i vzorky byly zkontrolovány pomocí FastQC v0.10.1 (Andrews 2010). Jako referenční sekvence byla použita sekvence druhu *Bombus terrestris* (Sadd et al. 2015). Sekvence byly kvalitativně filtrovány a sestříhány a po přiložení k referenční sekvenci byly vyvolány alelické varianty SNP a InDel polymorfismů pomocí skriptů z balíku BBTools, (https://jgi.doe.gov/data-and-tools/bbtools/). Pro následnou práci byly použity pouze polymorfismy s vysokou kvalitou vyvolání, s podílem chybějících genotypů v genotypované populaci méně než 50 % a frekvencí minoritní alely větší než 5 %.

Výběr polymorfismů pro PCR a restrikční štěpení

Pro určení privátních alel byl pro každý z 15 429 polymorfismů spočítán Chí-kvadrát test dobré shody mezi alelickým stavem polymorfismu a příslušností jedince ke skupině komerčně chovaných čmeláků *B. terrestris*, či skupině *B. terrestris terrestris* získaných při sběru ve volné přírodě v České republice. Výsledky testu byly porovnány s hodnotou pro hladinu významnosti 0,05.

Následně byla provedena CAPS (**C**leaved **A**mplified **P**olymorphic **S**equence) detekce vybraných privátních alel. U alel, které byly na dané hladině významnosti vyhodnoceny jako rozdílné, byly pomocí aplikace Benchling (benchling.com) nalezeny restrikční endonukleázy, které rozpoznávají sekvenci pro restrikci v místě detekovaných polymorfismů. V našem případě byla vybrána endonukleáza BssSαI-v2 (New England BioLabs, UK), která selektivně štěpí sekvenci detekovanou u *B. terrestris* z komerčních chovů:

```
C|A C G A G
G T G C T|C
```

Následně byly pomocí aplikace Benchling navrženy primery pro amplifikaci úseků zahrnujících sekvenci s daným polymorfismem vhodným pro štěpení určenou restrikční

endonukleázou (forward primer: 5´-ATCGAACAAACGGGCGCCAAGT-3´, reverse primer: 5´-TGATGATGTTCAGCGTGCATGCG-3´).
Následná analýza byla provedena na 10 vzorcích komerčně chovaných čmeláků *B. terrestris* a na 10 vzorcích *B. terrestris terrestris* pocházejících z odchytů ve volné přírodě v České republice náhodně vybraných z celkových 62 sekvenovaných vzorků. S využitím navržených primerů byla provedena polymerázová řetězová reakce (PCR) v reakci o objemu 25 µl, která obsahovala 12,5 µl 2x PPP Master Mix (Top-Bio, ČR), 9,5 µl ultračisté vody, 1 µl každého primeru a 1 µl vzorku DNA. Optimalizované parametry PCR byly: denaturace 94 ºC, 5 min; 35x (94 ºC, 30 s; 55 ºC, 35 s; 72 ºC, 50 s); finální elongace 72 ºC, 7 min.
Získané amplikony byly štěpeny restrikční endonukleázou BssSαI-v2 při 37 ºC po dobu 1 hodiny v 15µl reakci, která obsahovala 10 µl PCR produktu, 1,5 µl CutSmart Buffer (New England BioLabs, UK), 10 U BssSαI-v2 (New England BioLabs, UK) a 2,5 µl ultračisté vody. Produkty štěpení byly zobrazeny pomocí agarózové gelové elektroforézy na 1% gelu, barvení MIDORI Green Advance (NIPPON Genetics EUROPE, Německo).

Výsledky a diskuze

Čmelák zemní (*Bombus terrestris*) je chráněný druh a důležitý opylovatel. Používání čmeláků z velkochovů sebou přináší několik aspektů, které je nutné zvážit při jejich dovozu na území ČR. Jednak se jedná o masivní protěžování jednoho druhu na úkor ostatních opylovačů, navíc, jak již bylo uvedeno, čmeláci z velkochovu produkují silnější hnízda než čmeláci ve volné přírodě, díky čemuž mohou být úspěšnější v konkurenci o místa pro hnízda a potravu. Při hybridizaci s našimi čmeláky je také možné, že dojde k introdukci nepůvodních alel genů.

Pomocí sekvenování a následné bioinformatické analýzy bylo v analyzovaných 72 vzorcích DNA čmeláků *B. terrestris* zjištěno 15 429 jednonukleotidových polymorfismů (SNP) nebo inzerce / delece (InDel). Celková délka kontigů referenčního genomu je 250 Mbp (Sadd et al. 2015). Průměrně byl zachycen jeden polymorfismus přibližně na 16 kbp.
V Tabulce 1 je uveden příklad deseti SNP s přiléhající sekvencí a jejich pozice na daném kontigu genomu *B. terrestris.*

Tab. 1: Pozice SNP a k nim přiléhající část sekvence na kontigu genomu *B. terrestris*: nukleotidy v závorce jsou uvedeny v pořadí [referenční genom *B. terrestris* / *B. terrestris* z komerčních chovů] (referenční genom: Sadd et al. 2015)

Kontig_pozice	SNP
GL899909.1_848816	ATTTTAAATATACTTGACGGTTTTCAACAGCGAGATATCTCGTTATTCG[A/**T**]GCAAACCAACCAACCTCTACATAAACCACGACAAAGCTTGTCAAATACAG
GL900043.1_786003	GTCCAAGACAATTAATAATTACATATTTATTGAATCTAATGATATTTTT[G/**A**]CCAGACAGACTCGATGAGTATACAGCCATCAACATTATTGTTAAAAAGAA
GL899385.1_128450	ATTTTAAGCGATTAATTAAATTACCATTTAAGGACGCGAAGAGAGCGAA[A/**G**]CAACGCAGGAAACATCGGCCAAAAACATCGGCGATCCGCGTGAGGATCGC
GL899385.1_128459	GATTAATTAAATTACCATTTAAGGACGCGAAGAGAGCGAAACAACGCAG[G/**A**]AAACATCGGCCAAAAACATCGGCGATCCGCGTGAGGATCGCGATCGATAA
GL899385.1_128468	AATTACCATTTAAGGACGCGAAGAGAGCGAAACAACGCAGGAAACATCG[G/**A**]CCAAAAACATCGGCGATCCGCGTGAGGATCGCGATCGATAAGCTGGACGC
GL899909.1_105360	GATATGTTTATTTTCACCATATTTCAACGCCTCGTCTCTTTCCTTTCAA[G/**A**]AAAATAGAAAATAGTTCTTTAATATGGAATAAACAAATTATGTAACCGAC
GL899909.1_303859	ATCCTTATTCATAAAATCATTCTAAATGTGGACTCTGTGAAACTCAGAT[A/**G**]ACAGTAATGATAGGAAATAAATCGTGACATTGTCTATATACATAAATATC
GL899909.1_1112326	AATAATAAATGTCATATTGTTAAATCAAATAAATATCGTTATTTATTTA[T/**C**]TACTTTTTCTTTCAGCATCATATGACGTAGAGTAAATCGTAATGCATGCT
GL899909.1_451455	CAACACGCGCGTTGCACGTGCATAATCGCATGTGGTTTGGATGCACCTC[A/**G**]TGTACACATAGTCGTGGAGACGCATGCAACATGGGAATCGATCGACCGCT
GL899909.1_1112355	TAAATATCGTTATTTATTTATTACTTTTTCTTTCAGCATCATATGACGT[A/**C**]GAGTAAATCGTAATGCATGCTGCAGTTCTGTTTAACGTACCTAAAAATGT

Statistická analýza polymorfismů 10 vzorků komerčně chovaných čmeláků *B. terrestris* a 62 vzorků čmeláků *B. terrestris terrestris* získaných odchytem ve volné přírodě v ČR pomocí Chí kvadrát testu dobré shody identifikovala 998 privátních alel, které byly na hladině významnosti 0,05 vyhodnoceny jako odlišné mezi těmito dvěma skupinami. Z celkového počtu 15 429

polymorfních lokusů tedy privátní alely tvoří 6,5 %. Na Obr. **2** je zobrazena ukázka analýzy deseti privátních alel na deseti vzorcích *B. terrestris* z komerčních chovů (1-10K) a *B. terrestris terrestris* z volné přírody v ČR (1-10CR).

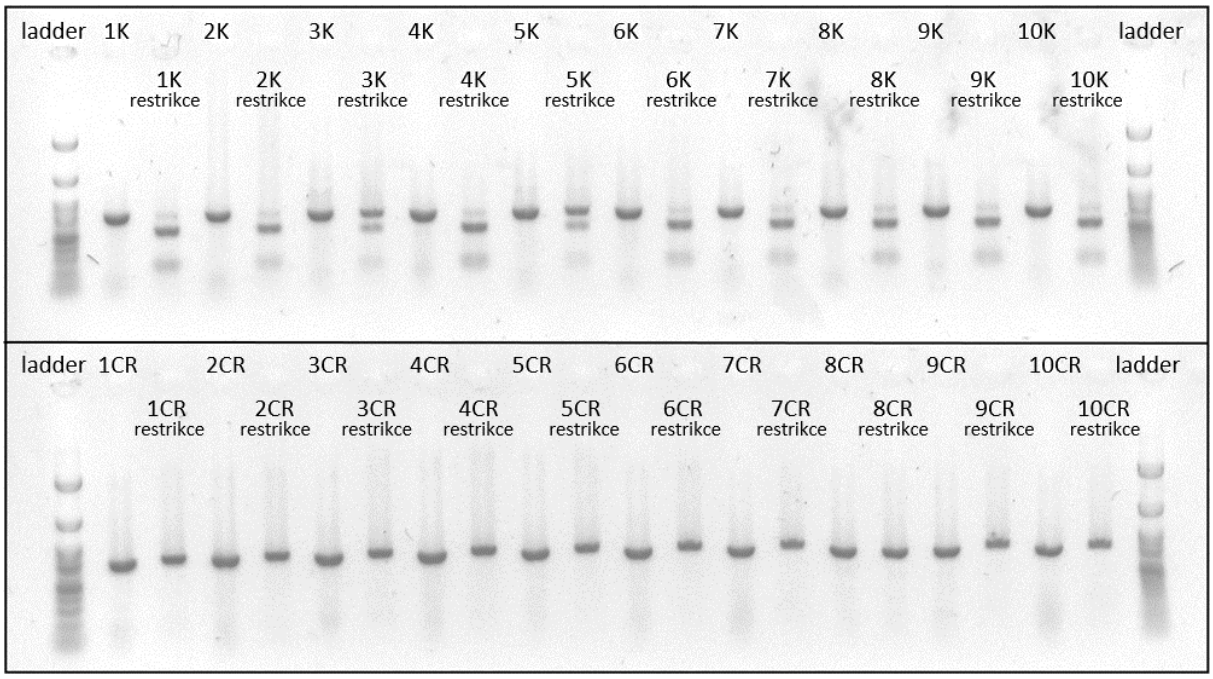
Kontig_pozice	***B. terrestris* – komerční chovy**										***B. terrestris terrestris* – odchyt ve volné přírodě v ČR**									
	1 K	**2 K**	**3 K**	**4 K**	**5 K**	**6 K**	**7 K**	**8 K**	**9 K**	**10 K**	**1 CR**	**2 CR**	**3 CR**	**4 CR**	**5 CR**	**6 CR**	**7 CR**	**8 CR**	**9 CR**	**10 CR**
GL899909.1_848816	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	**0**	**0**
GL900043.1_786003	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GL899385.1_128450	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GL899385.1_128459	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GL899385.1_128468	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GL899909.1_105360	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GL899909.1_303859	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GL899909.1_1112326	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GL899909.1_451455	1	1	2	NA	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
GL899909.1_1112355	1	1	2	1	2	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Obr. 2: Statisticky významně rozdílné varianty alel a jejich pozice na daném kontigu u *B. terrestris* z komerčních chovů (vzorky 1-10K) *a B. terrestris terrestris* z volné přírody v ČR (vzorky 1-10CR): 0 (žlutá) – homozygotní stav referenční alely, 1 (zelená) – homozygotní stav alternativní alely, 2 (červená) – heterozygotní stav, NA (bílá) – neurčeno.

Dále analýza ukázala, že některé privátní alely jsou u komerčně chovaných jedinců v heterozygotním stavu, což bylo prokázáno i dodatečnou validací (Obr. **3**, vzorky 3K restrikce a 5K restrikce). Toto zjištění může mít různá odůvodnění. Buď jsou tyto heterozygotní polymorfismy důsledkem hybridizace čmeláku v komerčních chovech s čmeláky původními, nebo jsou tyto heterozygotní polymorfismy pozůstatkem ancestrálního polymorfismu. Protože se heterozygotní polymorfismy vyskytují mezi privátními polymorfismy ve větším množství lokusů u některých jedinců, můžeme vyloučit vznik těchto polymorfismů *de novo*.

Otázkou, která zatím zůstává nezodpovězena, je možnost rychlé PCR detekce hybridů a jejich potomků mezi jedinci z komerčních chovů a z volné přírody v ČR. Následkem hybridizace a introgrese se může nepůvodní genotyp objevit u sledovaného jedince pouze v jisté části jeho genetické informace, a tím se znemožní objektivní posouzení na základě malého počtu polymorfismů. Pro správné určení míry příbuznosti jedince musíme proto vycházet z výsledků celogenomového genotypování. Navíc i když při sekvenaci byli zachyceni jedinci z velkochovů s privátními alelami v heterozygotním stavu (Obr. **2** – červená políčka s číslicí 2), absence referenční ancestrální populace komerčně chovaných jedinců a nedostupnost genomu *B.*

terrestris mapovaného po chromosomech nedovoluje vyvodit jasný závěr, zda se jedná o přímý následek hybridizace, a případně v jakém rozsahu je v jedinci přítomen nepůvodní genotyp. Následná analýza pomocí restrikčního štěpení PCR produktu enzymem BssSαI-v2 byla zacílena na privátní alelu typickou pro čmeláky z komerčních chovů, kteří se v ní liší od *B. terrestris terrestris* z volné přírody v SNP, který je rozeznáván použitou restrikční endonukleázou štěpící privátní alelu zjištěnou právě u *B. terrestris* z komerčních chovů. Analýza byla provedena na deseti vzorcích *B. terrestris* z komerčních chovů a deseti vzorcích náhodně vybraných z 62 vzorků *B. terrestris terrestris* ze sběrů v ČR. Jak je patrné z Obr. **3**, restrikce proběhla pouze u vzorků z komečních chovů (1-10K restrikce), zatímco u vzorků ze sběrů ve volné přírodě (1-10CR restrikce) zůstal PCR produkt neštěpený.



Obr. 3: Výsledek agarózové gelové elektroforézy restrikčního štěpení polymorfního lokusu u *B. terrestris* z komerčních chovů (1-10K) a z odchytů ve volné přírodě (1-10CR). Pruhy označené 1-10K a 1-10CR jsou produkty PCR, pruhy 1-10K restrikce a 1-10CR restrikce jsou produkty štěpení restrikční endonukleázou BssSαI-v2, která selektivně štěpí sekvenci detekovanou u *B. terrestris* z komečních chovů

Tento výsledek je v souladu s výstupy celogenomového genotypování ddRADseq, které vedly k identifikaci privátních alel typických vždy jen pro čmeláky z velkochovů, nebo z volné přírody. CAPS detekce této privátní alely jaderného genotypu v kombinaci s dříve publikovanými výsledky CAPS detekce polymorfismu mitochondriální sekvence COI (Komzáková et al. 2016) poskytují nástroj k rozlišení genotypu nepůvodního *B. terrestris* z velkochovů společností, jejichž vzorky byly v této analýze použity, a *B. terrestris terrestris* z volné přírody v ČR, případně i hybridů v F1 populaci. Detekce malého počtu polymorfismů však nelze pokládat za kompletní rozbor původu genotypu jedince, vzhledem k možnosti náhodné segregace alel či introgresi nepůvodního genotypu v následných generacích po hybridizaci.

Závěr

Účelem této studie bylo porovnání komerčně chovaných čmeláků *B. terrestris* se čmeláky *B. terrestris terrestris* získané odchytem ve volné přírodě v České republice na celogenomové úrovni. Součástí analýzy byla identifikace privátních alel, ve kterých se tyto dvě skupiny

čmeláků liší. Zhodnocení bylo provedeno statistickou analýzou polymorfních lokusů u 72 vzorků *B. terrestris*. Analýza potvrdila výskyt privátních alel typických vždy jen pro jedince z velkochovů, nebo pro jedince pocházející z volné přírody. Vybraná privátní alela jednonukleotidového polymorfismu typická pro čmeláky z komerčních chovů byla ověřena pomocí metody CAPS na deseti vzorcích čmeláků z velkochovů i z volné přírody.
CAPS detekce privátních alel poskytuje jednoduchý a vysoce kapacitní nástroj k rozlišení genotypu nepůvodního *B. terrestris* z velkochovů společností a *B. terrestris terrestris* z volné přírody v ČR. Rozlišovací schopnost malého počtu markerů nám však neumožní věrohodnou detekci historické hybridizace.
V současnosti je nutné využívat čmeláky z velkochovů pro opylování v zemědělství, ale při povolování jejich vypouštění bychom měli být velmi obezřetní. Zároveň by společnosti zabývající se komerčním chovem čmeláků měly být podpořeny v založení chovných linií, které budou geneticky co nejpodobnější čmelákům vyskytujícím se ve střední Evropě.

Dedikace
Příspěvek byl zpracován v rámci řešení projektu DKRVO, číslo MZE-RO1719, financovaného Ministerstvem zemědělství.

Použitá literatura

Andrews, Simon. 2010. “Babraham Bioinformatics - FastQC A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data.” http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/ (September 9, 2019).

Catchen, Julian M et al. 2011. “Stacks: Building and Genotyping Loci De Novo From Short-Read Sequences.” *G3: Genes, Genomes, Genetics* 1(3): 171–82. http://creskolab.uoregon. (September 4, 2019).

Komzáková, Olga, Tereza Sabolová, Alena Votavová, and Oldřich Trněný. 2016. “Využití Molekulárních Metod k Sledování Šíření Nepůvodního Poddruhu Komerčně Chovaného Čmeláka Bombus Terrestris Dalmatinus Na Území České Republiky.” *Úroda* 12(vědecká příloha): 241–44.

Peterson, Brant K. et al. 2012. “Double Digest RADseq: An Inexpensive Method for de Novo SNP Discovery and Genotyping in Model and Non-Model Species.” *PLoS ONE* 7(5).

Rasmont, Pierre, Audrey Coppee, Denis Michez, and Thibaut De Meulemeester. 2008. “An Overview of the Bombus Terrestris (L. 1758) Subspecies (Hymenoptera: Apidae).” *Annales de la Societe Entomologique de France* 44(2): 243–50.

Sadd, Ben M. et al. 2015. “The Genomes of Two Key Bumblebee Species with Primitive Eusocial Organization.” *Genome Biology* 16(76).

Velthius, Hayo H. W., and Adriaan van Doorn. 2004. “The Breeding, Commercialization and Economic Value of Bumblebees.” In *Solitary Bees - Conservation, Rearing and Management for Pollination*, eds. Breno M. Freitas and Julio Otávio P. Pereira. Ceará, Brazil: Universidade Federal do Ceará, 135–51.

Velthuis, Hayo H.W., and Adriaan van Doorn. 2006. “A Century of Advances in Bumblebee Domestication and the Economic and Environmental Aspects of Its Commercialization for Pollination.” *Apidologie* 37(4): 421–51.

Kontaktní adresa:

Mgr. Ing. Michaela Matoušková
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.,
Zahradní 1, 664 41 Troubsko
+420 547 138 810,
e-mail: matouskova@vupt.cz

ZASTOUPENÍ ROSTLINOLÉKAŘSKY VÝZNAMNÝCH DRUHŮ ROSTLIN NA VYBRANÉ SKLÁDCE KOMUNÁLNÍHO ODPADU

High abundance of plant protection-relevant weed species grows on municipal waste landfill

Winkler J. [1,3], Vaverková M. D. [2], Adamcová D. [2], Koda E. [3], Osiński P. [3]

[1] *Ústav biologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně*
[2] *Ústav aplikované a krajinné ekologie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně*
[3]*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*

Abstrakt
Hodnocení vegetace proběhlo na uzavřené skládce komunálního odpadu ve městě Otwock (Warszawa, Polsko) a to v letech 1999 a 2019. Celkem bylo nalezeno 123 druhů rostlin. Významný byl vysoký podíl invazivních neofytů (*Acer negundo, Solidago canadensis, Conyza canadensis, Erigeron annuus, Galinsoga parviflora, Iva xanthiifolia, Reynoutria sachalinensis, Robinia pseudacacia*) a také druhů s vysokým potenciálem se šířit na zemědělskou půdu nebo na jiná člověkem ovlivňovaná stanoviště (*Artemisia vulgaris, Calamagrostis epigeios, Elytrigia repens, Tanacetum vulgare, Oenothera biennis*), tedyvegetace vyskytující se na skládce je potenciálním rizikem pro okolní ekosystémy.
Klíčová slova: flóra, synantropní stanoviště, komunální odpad

Abstract
The vegetation assessment was carried out in a closed municipal waste landfill in Otwock (Warszawa, Poland) in the years 1999 and 2019. A total of 123 plant species were found. Significant high proportion of invasive neophytes (*Acer negundo*, *Solidago canadensis*, *Conyza canadensis*, *Erigeron annuus*, *Galinsoga parviflora*, *Iva xanthiifolia*, *Reynoutria sachalinensis*, *Robinia pseudacacia*) as well as species with a high potential to spread to agriculture land or other human-affected habitats (*Artemisia vulgaris*, *Calamagrostis epigeios*, *Elytrigia repens*, *Tanacetum vulgare*, *Oenothera biennis*) were found. Landfill spontaneous vegetation is a potential risk for surrounding ecosystems.
Key words: flora, synanthropic vegetation, municipal waste landfill

Úvod

Mezi nejrozšířenější způsob nakládání s odpady na celém světě patří skládkování (Wong a kol., 2015; Hamid a kol. 2018). Skládkování má řadu negativních dopadů na životní prostředí a to v podobě degradace půdy (polutanty uvolňované z uložených odpadů, průsakové vody) a to může vést ke kontaminaci půdy a vody (Dąbrowska a kol., 2018; Koda a kol., 2018; Vaverková a kol., 2018). Skládky komunálního odpadu mohou tedy mít závažný dopad na kvalitu a zdraví půdy (D'Amato a kol., 2018; Wright a kol., 2018). Kontaminovaná půda může následně znečišťovat vodu (Keesstra et al. 2016).

Existence skládek odpadů je vážným problémem ve vyspělých i v rozvojových zemích. Dokládá to řada vědeckých prací. Např. výzkum provedený v Německu, Rakousku (Allgaier a Stegmann, 2006), Irsku (Doak a kol., 2007), Francii (Biotto a kol., 2009), Itálii (Silvestri a Omri, 2008) a Srbsku (Vasiljevićet al., 2012). Degradace půdy se může projevit na složení vegetace rostoucí na skládkách komunálního odpadu (Mao et al., 2018).

Na místech, kde jsou umístěny skládky odpadů, lze nalézt řadu netypických druhů rostlin, celkově lze skládku charakterizovat jako stanoviště s typickou synantropní flórou (Bryant et al., 2017). Podle Wania a kol. (2006) takovéto lokality, které jsou ovlivněné lidskou činností, bývají obvykle kolonizovány rostlinnými druhy ze skupiny neofytů a archeofytů.
Druhové složení vegetace na skládkách je také závislé na složení uloženého odpadu a na stádiu jeho rozkladu. Samotný odpad může být zdrojem invazivních druhů rostlin, jako jsou *Atriplex* sp., *Chenopodium* sp., *Amaranthus* sp., *Sisymbrim* sp. (Jehlík, 1998).

Existence skládek odpadů je ve většině zemí environmentálním problémem. Současné studie o skládkách odpadů jsou zaměřeny především na geografické aspekty nebo na příčiny jejich vzniku (Jordá-Borrell a Ruiz-Rodrígez, 2014; Di Fiore a kol., 2017; Carriero a kol., 2018; Wright a kol., 2018), ale tato studie je zaměřena na vyhodnocení druhového složení vegetace na vybrané skládce a zhodnocení výskytu druhů významných z pohledu rostlinolékařského, tedy se za měřením na výskyt invazivních druhů a druhů, které mohou být polními plevely. Dále se zaměřuje na změny v druhovém složení vegetace, které proběhly mezi dvěma roky sledování.

Materiál a metody

Hodnocení vegetace proběhlo na uzavřené skládce komunálního odpadu v městě Otwock (Warszawa, Polsko). Skládka se nachází v západní části města na konci ulice Warsztatowa, která byla původní přístupovou cestou ke skládce. Skládka byla uvedena do provozu v roce 1961 jako nelegální skládka. Z počátku byly odpadem vyplňovány místní terénní deprese v blízkosti jezer Jagodzianka a Świder. Později byl objekt skládek legalizován jako skládka komunálního odpadu pro obce Otwock, Karczew, Józefów, Wiazowna a Celestynów.

Komunální odpad byl na skládku navážen až do roku 1991. V roce 1992 byl zpracován projekt na rekultivaci uzavřené skládky.
Stavební práce související s rekultivací skládky odpadů byly zahájeny až v roce 1996. V rámci rekultivačních prací bylo provedeno tvarování těla skládky (vytvoření svahů s vhodnými sklony a jejich pokrytí vyrovnávací vrstvou písku a pak vrstvou kompostu), úprava přístupu na skládku z východní strany, zajištění pasivního odplyňovacího systému, vytvoření příkopu kolem skládky a vysetí travní směsi. Rekultivační práce byly dokončeny v listopadu 1998.

V současné době se skládka rozkládá na ploše cca 2,8 ha. Těleso skládky je vyvýšeno nad okolní oblast cca o 12,5 m a v jižní části cca o 5,5 m v severní části. Plocha skládky je využívána místními obyvateli pro motokros a přes těleso skládky vede několik používaných pěšin.
Skládka je uzavřená a považována za rekultivovanou. Velkým problémem skládky je chybějící ochrana proti úniku znečišťujících látek a skládka tedy může být potenciálním zdrojem znečištění pro podzemní vody.

Složení vegetace na dané skládce bylo zaznamenáváno pomocí floristického soupisu nalezených druhů. Monitoring výskytu druhů rostlin byl proveden v průběhu července v roce 2019. Na ploše skládky byly stanoveny trasy určené k průchodu. Během průchodu byly zapisovány nalezené druhy rostlin. Po dokončení průchodu byl výskyt každého druhu zhodnocen tříbodovou stupnicí:

3 – velmi hojný druh s dominantním výskytem (dominantní druh)
2 – běžný druh s hojným výskytem jen v některé části skládky (subdominantní druh)
1 – vzácný druh s malým a ojedinělým výskytem

Druhou metodou hodnocení byla metoda fytocenologických snímků. Sledování proběhlo v červenci v roce 1999 a také v červenci v roce 2019. Velikost fytocenologických snímků byla 25 m^2. Pokryvnost nalezených druhů byla odhadovaná přímo v procentech. Celkem bylo zapsáno 8 fytocenologických snímků v každém roce sledování. Snímky byly zapisovány na přibližně stejných místech. Vědecké názvy jednotlivých druhů plevelů byly použity podle Kubáta (Kubát et al., 2002).

Získané údaje o výskytu druhů rostlin byly následně zpracovány pomocí mnohorozměrné analýzy ekologických dat. Použita byla kanonická korespondenční analýza (CCA). Při testování průkaznosti pomocí testu Monte-Carlo bylo propočítáno 999 permutací. Data byla zpracována pomocí počítačového programu Canoco 5.0. (Ter Braak, Šmilauer 2012).

Výsledky

Na základě monitoringu byl vytvořen floristický soupis druhů a na skládce bylo nalezeno 123 druhů rostlin. Mezi druhy rostlin s dominantním výskytem byly zařazeny: *Acer negundo, Calamagrostis epigejos, Lolium perenne, Polygonum aviculare* a *Sambucus nigra*.

Druhy s hojným výskytem (subdominantní druhy) jsou: *Agrostis stolonifera, Achillea millefolium, Ailanthus altissima, Arctium tomentosum, Artemisia campestris, Artemisia vulgaris, Ballota nigra, Berteroa incana, Bromus inermis, Carduus acanthoides, Centaurea stoebe, Conium maculatum, Convolvulus arvensis, Dactylis glomerata, Elytrigia repens, Erigeron annuus, Humulus lupulus, Chelidonium majus, Plantago lanceolata, Plantago major, Poa annua, Populus nigra, Potentilla argentea, Reynoutria sachalinensis, Robinia pseudacacia, Sisymbrium loeselii, Solidago canadensis, Tanacetum vulgare, Taraxacum sect. Ruderalia* a *Tragopogon orientalis.*

Mezi druhy s malým a ojedinělým výskytem patří: *Agrostis gigantea, Alliaria petiolata, Allium angulosum, Amaranthus retroflexus, Anthriscuc sylvestris, Arctium lapa, Arrhenatherum elatius, Artemisia absinthium, Atriplex oblongifolia, Atriplex patula, Calystegia sepium, Cannabis ruderalis, Capsella bursa-pastoris, Carex hirta, Cichorium intybus, Cirsium arvense, Cirsium vulgare, Consolida regalis, Conyza canadensis, Corylus avellana, Daucus carota, Descurainia sophia, Echinochloa crus-galli, Echium vulgare, Eryngium planum, Euphorbia cyparissias, Euphorbia helioscopia, Fallopia convolvulus, Festuca rubra, Galeopsis tetrahit, Galinsoga parviflora, Galium aparine, Geranium pusillum, Geranium robertianum, Geum urbanum, Glechoma hederacea, Helianthus tuberosus, Heracleum sphondylium, Hylotelephium maximum, Hypericum perforatum, Chenopodium album, Chenopodium hybridum, Iva xanthiifolia, Lactuca serriola, Lamium album, Lathyrus latifolius, Leonurus cardiaca, Lepidium ruderale, Lotus corniculatus, Malus sylvestris, Malva neglecta, Medicago falcata, Medicago lupulina, Melica nutans, Melilotus albus, Melilotus officinalis, Myosoton aquaticum, Oenothera biennis, Onopordum acanthium, Oxalis fontana, Parhenocissus quinquefolia, Persicaria lapathifolia, Phragmites australis, Phragmites australis, Phragmites australis, Phragmites australis, Poa pratensis, Poa trivialis, Potentilla erecta, Prunus avium, Prunus insititia, Pyrus pyraster, Quercus robur, Ranunculus repens, Rosa canina, Rubus sp., Rumex acetosella, Rumex obtusifolius, Salix alba, Salix caprea, Saponaria officinalis, Setaria pumila, Silene latifolia, Stellaria media, Trifolium arvense, Trifolium repens, Tripleurospermum inodorum, Tussilago farfara, Urtica dioica, Verbascum thapsus, Vicia angustifolia* a *Xanthium strumarium.*

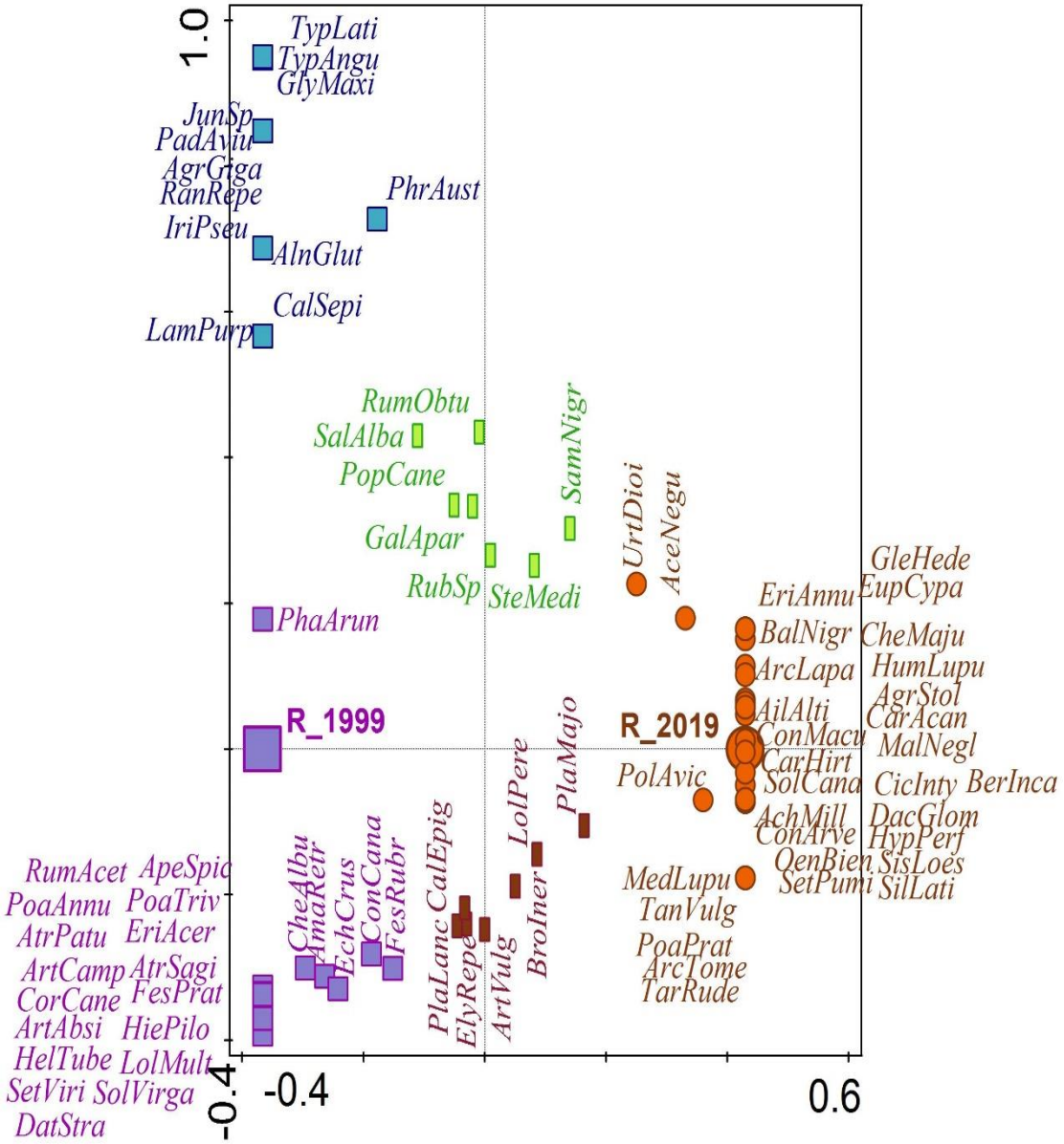
Na základě hodnocení vegetace metodou fytocenologických snímků bylo nalezeno 48 druhů rostlin v roce 1999 a 52 druhů v roce 2019. V Tab. 1 jsou uvedeny průměrné pokryvnosti druhů rostlin nalezených na skládce v roce 1999 a v roce 2019.
Pokryvnost nalezených druhů rostlin ve sledovaných letech byly zpracovány analýzou DCA. Délka vypočteného gradientu, zjištěná pomocí DCA, byla 5,34. Na základě tohoto výpočtu byla k dalšímu zpracování zvolena kanonická korespondenční analýza CCA. Analýza CCA vymezuje prostorové uspořádání jednotlivých druhů rostlin ve sledovaných letech, které je následně graficky vyjádřeno pomocí ordinačního diagramu (Obr. 1).
Výsledky analýzy CCA, která hodnotila pokryvnost druhů rostlin ve sledovaných letech, je signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0{,}001$ pro všechny kanonické osy. Na základě analýzy CCA (Obr. 1) je možné nalezené druhy plevelů rozdělit do pěti skupin.
První skupina byla zastoupena především v roce 1999, spíše u paty tělesa skládky. Jedná se také o druhy zastoupené v původní vegetaci.
Patří sem *Agrostis gigantea, Alnus glutinosa, Calystegia sepium, Glyceria maxima, Iris pseudacorus, Juncus sp., Lamium purpurreum, Padus avium, Phalaris arundinacea, Phragmites australis, Ranunculus repens, Typha angustifolia* a *Typha latifolia.*

Druhá skupina je tvořena druhy, které byly zastoupeny především v roce 1999 a vyskytovaly se spíše v horní části skládky. Jedná se o tyto druhy: *Amaranthus retroflexus, Apera spica-venti, Artemisia absinthium, Artemisia campestris, Atriplex patula, Atriplex sagittata, Conyza canadensis, Corynephorus canescens, Datura stramonium, Echinochloa crus-galli, Erigeron acer, Festuca pratensis, Festuca rubra, Helianthus tuberosus, Hieracium pilosella, Chenopodium album, Lolium multiflorum, Poa annua, Poa trivialis, Rumex acetosa, Setaria viridis* a *Solidago virga-aurea.*

Tab. 1 Průměrná pokryvnost nalezených druhů rostlin ve fytocenologických snímcích

Druh	Zkratka	Rok sledování		Druh	Zkratka	Rok sledování	
		1999	2019			1999	2019
Acer negundo	*Ace negu*	1,3	18,8	*Humulus lupulus*	*Hum lupu*	0,0	3,3
Agrostis gigantea	*Agr giga*	1,5	0,0	*Hypericum perforatum*	*Hyp perf*	0,0	0,8
Agrostis stolonifera	*Agr stol*	0,0	2,0	*Chelidonium majus*	*Che maju*	0,0	8,5
Achillea millefolium	*Ach mill*	0,0	1,8	*Chenopodium album*	*Che albu*	3,3	0,1
Ailanthus altissima	*Ail alti*	0,0	5,6	*Iris pseudacorus*	*Iri pseu*	2,5	0,0
Alnus glutinosa	*Aln glut*	6,9	0,0	*Juncus sp.*	*Jun sp.*	1,1	0,0
Amaranthus retroflexus	*Ama retr*	4,9	0,4	*Lamium purpurreum*	*Lam purp*	0,4	0,0
Apera spica-venti	*Ape spic*	4,8	0,0	*Lolium multiflorum*	*Lol mult*	1,9	0,0
Arctium lapa	*Arc lapa*	0,0	0,9	*Lolium perenne*	*Lol pere*	4,9	5,3
Arctium tomentosum	*Arc tome*	0,0	0,6	*Malva neglecta*	*Mal negl*	0,0	0,4
Artemisia absinthium	*Art absi*	0,8	0,0	*Medicago lupulina*	*Med lupu*	0,0	0,1
Artemisia campestris	*Art camp*	1,3	0,0	*Oenothera biennis*	*Oen bien*	0,0	1,0
Artemisia vulgaris	*Art vulg*	4,0	2,5	*Padus avium*	*Pad aviu*	0,1	0,0
Atriplex patula	*Atr patu*	1,1	0,0	*Phalaris arundinacea*	*Pha arun*	9,9	0,0
Atriplex sagittata	*Atr sagi*	5,1	0,0	*Phragmites australis*	*Phr aust*	3,9	0,6
Ballota nigra	*Bal nigr*	0,0	1,0	*Plantago lanceolata*	*Pla lanc*	1,4	0,6
Berteroa incana	*Ber inca*	0,0	2,8	*Plantago major*	*Pla majo*	1,6	3,6
Bromus inermis	*Bro iner*	1,3	1,6	*Poa annua*	*Poa annu*	2,6	0,0

Calamagrostis epigeios	*Cal epig*	7,1	4,8	*Poa pratensis*	*Poa prat*	0,0	2,9
Calystegia sepium	*Cal sepi*	1,3	0,0	*Poa trivialis*	*Poa triv*	2,3	0,0
Carduus acanthoides	*Car acan*	0,0	0,6	*Polygonum aviculare*	*Pol avic*	0,3	5,5
Carex hirta	*Car hirt*	0,0	0,4	*Populus canescens*	*Pop cane*	3,9	3,8
Cichorium intybus	*Cic inty*	0,0	0,8	*Ranunculus repens*	*Ran repe*	0,9	0,0
Conium maculatum	*Con macu*	0,0	14,9	*Rubus sp.*	*Rub sp.*	1,9	1,4
Convolvulus arvensis	*Con arve*	0,0	1,0	*Rumex acetosa*	*Rum acet*	0,5	0,0
Conyza canadensis	*Con cana*	7,4	1,3	*Rumex obtusifolius*	*Rum obtu*	1,0	0,6
Corynephorus canescens	*Cor cane*	1,0	0,0	*Salix alba*	*Sal alba*	3,8	1,3
Dactylis glomerata	*Dac glom*	0,0	1,9	*Sambucus nigra*	*Sam nigr*	2,5	5,4
Datura stramonium	*Dat stra*	0,1	0,0	*Setaria pumila*	*Set pumi*	0,0	0,1
Echinochloa crus-galli	*Ech crus*	1,9	0,1	*Setaria viridis*	*Set viri*	6,0	0,0
Elytrigia repens	*Ely repe*	7,8	7,9	*Silene latifolia*	*Sil lati*	0,0	0,5
Erigeron acer	*Eri acer*	5,3	0,0	*Sisymbrium loeselii*	*Sis loes*	0,0	1,0
Erigeron annuus	*Eri annu*	0,0	0,6	*Solidago canadensis*	*Sol cana*	0,0	5,8
Euphorbia cyparissias	*Eup cypa*	0,0	0,1	*Solidago virga-aurea*	*Sol virga*	2,5	0,0
Festuca pratensis	*Fes prat*	3,8	0,0	*Stellaria media*	*Ste medi*	0,4	0,4
Festuca rubra	*Fes rubr*	5,0	1,9	*Tanacetum vulgare*	*Tan vulg*	0,0	1,4
Galium aparine	*Gal apar*	0,6	0,3	*Taraxacum sect. Ruderalia*	*Tar Rude*	0,0	0,6
Glechoma hederacea	*Gle hede*	0,0	1,9	*Typha angustifolia*	*Typ angu*	4,1	0,0
Glyceria maxima	*Gly maxi*	4,8	0,0	*Typha latifolia*	*Typ lati*	3,8	0,0
Helianthus tuberosus	*Hel tube*	0,1	0,0	*Urtica dioica*	*Urt dioi*	1,4	9,8
Hieracium pilosella	*Hie pilo*	2,8	0,0	Celková pokryvnost		81,9	85,6



Obr. 1 Ordinační diagram vyjadřující vztah nalezených druhů rosltin a termínů pozorování (celková vysvětlená variabilita = 21,2; F-ratio = 4,8; P-value = 0,001)
Vysvětlivky: R_1999 symbol pro rok 1999; R_2019 symbol pro rok 2019

Třetí skupina je tvořena druhy, které byly zastoupeny v obou sledovaných letech a vyskytovaly se spíše u paty tělesa skládky. Jedná se o tyto druhy: *Galium aparine, Populus canescens, Rubus sp., Rumex obtusifolius, Salix alba, Sambucus nigra* a *Stellaria media.*

Čtvrtá skupina je tvořena druhy, které byly zastoupeny v obou sledovaných letech a vyskytovaly se spíše v horní části tělesa skládky. Jedná se o tyto druhy: *Artemisia vulgaris, Bromus inermis, Calamagrostis epigeios, Elytrigia repens, Lolium perenne, Plantago lanceolata* a *Plantago major*. Pátá skupina je tvořena druhy, které byly zastoupeny především v roce 2019. Jedná se o tyto druhy: *Acer negundo, Agrostis stolonifera, Achillea millefolium, Ailanthus altissima, Arctium lapa, Arctium tomentosum, Ballota nigra, Berteroa incana, Carduus acanthoides, Carex hirta, Cichorium intybus, Conium maculatum, Convolvulus*

arvensis, Dactylis glomerata, Erigeron annuus, Euphorbia cyparissias, Glechoma hederacea, Humulus lupulus, Hypericum perforatum, Chelidonium majus, Malva neglecta, Medicago lupulina, Oenothera biennis, Poa pratensis, Polygonum aviculare, Setaria pumila, Silene latifolia, Sisymbrium loeselii, Solidago canadensis, Tanacetum vulgare, Taraxacum sect. Ruderalia a *Urtica dioica.*

Diskuze

Specifické prostředí rekultivované skládky komunálního odpadu vytváří nové prostředí pro rostliny. Některé druhy jsou schopny podmínky skládky snášet jen po určitou dobu, jiné se podmínkám přizpůsobí a některým druhům mohou tyto podmínky dokonce vyhovovat.

Na základě získaných výsledků je zřejmé, že vegetace rostoucí na sledované skládce se mění a druhové spektrum se v čase vyvíjí. V prvních letech po rekultivaci skládky jsou rozdíly v druhovém spektru viditelné na různých místech tělesa skládky. Ve spodních partiích tělesa skládky byly častěji nalezeny druhy původní a vázané na vyšší hladinu podzemní vody. V horních částech byly častěji zaznamenány druhy nitrofilní a druhy, které jsou běžnými polními plevely, a také druhy záměrně vyseté.

Po dvaceti letech od rekultivace je patrné, že rozdíly ve vegetaci v různých částech nejsou tak zřetelné a začíná se vytvářet specifické společenstvo rostlin. Výrazné zastoupení zde mají druhy invazivní a druhy ruderální. Dominantním druhem je *Acer negundo* doprovázený dalšími víceletými nitrofilními druhy (*Conium maculatum, Urtica dioica, Chelidonium majus, Elytrigia repens, Solidago canadensis*). Naopak řada jednoletých nitrofilních druhů zaznamenala výrazný úbytek ve srovnání s prvním rokem sledování (*Amaranthus retroflexus, Apera spica-venti, Atriplex patula, Atriplex sagittata, Datura stramonium, Echinochloa crus-galli, Chenopodium album*). Převaha nitrofilních druhů v druhovém spektru indikuje, že těleso skládky komunálního odpadu je i po 20 letech výrazným zdrojem dusíku.

Při rekultivaci skládky byla na její povrch vyseta travní směs, její složení nelze bohužel dohledat. Ovšem zastoupení některých trav nám může složení této směsi napovědět (naznačit). Z nalezených druhů trav to byly *Festuca pratensis, Festuca rubra, Lolium multiflorum, Lolium perenne* a *Poa pratensis.* Některé z těchto druhů však byly nalezeny pouze v prvním roce hodnocení (*Festuca pratensis, Festuca rubra, Lolium multiflorum*). Naopak druh *Lolium perenne* byl zaznamenán v obou letech a druh *Poa pratensis* byl častěji zaznamenán v roce 2019. Tyto dva druhy trav tedy můžeme doporučit k rekultivaci i jiných skládek.

Z rostlinolékařského hlediska je problematický výskyt invazivních neofytů. Z těchto druhů jsou problematické především *Acer negundo, Solidago canadensis, Conyza canadensis* a *Erigeron annuus*. Ve floristickém soupisu byly zaznamenány další druhy invazivních neofytů *Galinsoga parviflora, Iva xanthiifolia, Reynoutria sachalinensis* a *Robinia pseudacacia.* Ovšem problematický může být také výskyt dalších invazivních druhů *Artemisia vulgaris, Calamagrostis epigeios, Elytrigia repens, Tanacetum vulgare* a *Oenothera biennis*. Výskyt těchto druhů na skládkách je dobrým předpokladem pro jejich další šíření do přirozených ekosystémů nebo na zemědělskou půdu. Podle Mooney (2005) invazivní druhy mění fungování ekosystémů a narušují konkurenci mezi druhy, což může vést ke snížení biodiverzity nebo ztrátě původních druhů.

Další rizikem vegetace na skládkách je transport nebezpečných látek uvolněných z odpadu do nadzemních částí rostlin, především do květů, plodů a semen. Tyto části se pak mohou stát potravou živočichů. Laflamme (2007) uvádí, že rostliny jsou útočištěm a zdrojem potravy pro řadu druhů mikroorganismů, hmyzu a obratlovců, proto je vegetace základní složkou ekosystému a je důležitá pro jeho fungování a pro zachování fauny. Prostřednictvím rostlin mohou nebezpečné látky z odpadů kontaminovat celou potravní síť nebo dojí k jejich bioakumulaci

Vegetace skládek vytváří základ nového typu ekosystému, který je ovšem potenciálním rizikem pro své okolí. Prvním rizikem je vysoké zastoupení invazivních druhů rostlin a druhým rizikem je kontaminace rostlinných částí nebezpečnými látkami uvolněnými z odpadů.

Závěr

Druhové složení vegetace sledované skládky během dvacetiletého období prodělalo výrazné změny. Rostlinná sukcese, která zde proběhla, má velmi specifický průběh. Ustoupily jednoleté nitrofilní druhy a některé druhy z původní vegetace. Dominantní postavení převzaly invazivní druhy a vytrvalé nitrofilní druhy. Specifické podmínky skládky komunálního odpadu spoluvytvářejí velmi specifické druhové složení vegetace. Vysoký podíl mají především invazivní neofyty (*Acer negundo, Solidago canadensis, Conyza canadensis, Erigeron annuus, Galinsoga parviflora, Iva xanthiifolia, Reynoutria sachalinensis, Robinia pseudacacia*), ale je zde také vysoké zastoupení druhů, které se mohou šířit na zemědělskou půdu nebo na jiná člověkem ovlivňovaná stanoviště (*Artemisia vulgaris, Calamagrostis epigeios, Elytrigia repens, Tanacetum vulgare, Oenothera biennis*).

Vegetace skládek je potenciálním rizikem pro své okolí. Důležité je zde provádět pravidelný monitoring a případně vhodný management péče o rekultivovanou skládku vedoucí k regulaci výskytu invazivních druhů rostlin.

Poděkování

Práce vznikla za podpory a také jako výsledek stáže organizované Domem zahraniční spolupráce (MŠMT ČR) a NAWA (Narodowa Agencja Wymiany Akademickiej).

Literatura

Allgaier, G., Stegmann, R., 2006. Old landfills in the focus of the urban land management. Workshop on Landfill Reclamation and Remediation Technologies, 7-9. June, International Waste Working Group and University of Padova – Ed. CISA, Environmental Sanitary Centre, Cagliari, Italy.

Biotto, G., Silvestri, S., Gobbo, L., Furlan, E., Valenti, S., Rosselli, R., 2009. GIS, multi-criteria and multi-factor spatial analysis for the probability assessment of the existence of illegal landfills. Int. J. Geogr. Inf. Sci. 2 (10), 1233-1244. https://doi.org/10.1080/13658810802112128.

Bryant, G. L., Kobryn, H. T., St J Hardy, G. E., Fleming, P.A., 2017. Habitat islands in a sea of urbanisation. Urban For. Urban Green. 28, 131-137. https://doi.org/10.1016/j.ufug.2017.10.016.

Carriero, G., Neri, L., Famulari, D., Di Lonardo, S., Piscitelli, D., Manco, A., Espost, A., Chirico, A., Facini, O., Finardi, S., Tinarelli, G., Prandi, R., Zaldei, A., Vagnoli, C., Toscno, P., Magliulo, V., Ciccioli, P., Baraldi, R., 2018. Composition and emission of VOC from biogas produced by illegally managed waste landfills in Giugliano (Campania, Italy) and potential impact on the local population. Sci. Total Environ. 640-641, 377-386. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.318

D'Amato, A., Mazzanti, M., Nicolli, F., Zoli, M., 2018. Illegal waste disposal: enforcement actions and decentralized environmental policy. Socio-Econ. Plan. Sci. https://doi.org/10.1016/j.seps.2017.12.006. In press

Dąbrowska, D., Witkowski, A., Sołtysiak, M., 2018. Representativeness of the ground-water monitoring results in the context of its methodology: case study of a municipal and fill complex in Poland. Environ. Earth Sci. 77, 266. https://doi.org/10.1007/s12665-018-7455-x

Di Fiore, V., Cavuoto, G., Punzo, M., Tarallo, D., Casazza, M., Guarriello, Lega, S. M., 2017. Integrated hierarchical geo-environmental survey strategy applied to the detection and investigation of an illegal landfill: a case study in the Campania Region(Southern Italy). Forensic Sci. Int. 279, 96-105. https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2017.08.016.

Doak, M., Khan, S., Kelly, G., Silvestri, S., 2007. The use of remote sensing to map illegal and fills at the border of Ireland/Northern Ireland. In: Proceedings of 11th International Waste Management and Landfill Symposium, Ed. CISA, Environmental Sanitary Centre. Cagliari, Italy, Sardinia, Italy. pp. 747-748.

Hamid, H., Li, L. Y., Grace, J. R., 2018. Review of the fate and transformation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in landfills. Environ. Pollut. 74-84. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.030.

Jehlík, V., 1998. Alien Expansive Weeds of the Czech Republic and the Slovak Republic. Academia.

Jordá-Borrell, R., Ruiz-Rodrígez, F., 2014. Factor analysis and geographic information system for determining probability areas of presence of illegal landfills. Ecol. Indic. 151-160. https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.10.001.

Keesstra, S.D., Bouma, J., Wallinga, J., Tittonell, P., Smith, P., Cerdà, A., Montanarella, L., Quinton, J.N., Pachepsky, Y., van der Putten, W. H., Bardgett, R. D., Moolenaar, S., Mol, G., Jansen, B., Fresco, L. O., 2016. The significance of soils and soil science to-wards realization of the United Nations Sustainable Development Goals. Soil 2,111-128. https://doi.org/10.5194/soil-2-111-2016.

Koda, E., Miszkowska, A., Sieczka, A., Osiński, P., 2018. Heavy metal contamination within a restored landfill site. Environ. Geotech. https://doi.org/10.1680/jenge.18.00031.

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

Laflamme, M., 2007. Vegetation, 1st ed. Book Locker, USA.

Mao, D., Wang, Z., Wu, B., Zeng, Y., Luo, L., Zhang, B., 2018. Land degradation and restoration in the arid and semiarid zones of China: quantified evidence and implications from satellites. Land Degrad. Dev. https://doi.org/10.1002/ldr.3135.

Mooney, H., 2005. Invasive Alien Species: A New Synthesis (Scientific Committee on Problems of the Environment (SCOPE) Series) None Edition

Silvestri, S., Omri, M., 2008. A method for the remote sensing identification of uncontrolled landfills: formulation and validation. Int. J. Remote Sens. 29 (4), 975-989. https://doi.org/10.1080/01431160701311317.

Ter Braak, C. J. F., Šmilauer, P., 2012: Canoco reference manual and user's guide: software for ordination (version 5.0). Microcomputer Power, Ithaca

Vasiljević, T., Srdjević, Z., Bajčetić, R., Miloradov, M., 2012. GIS and the analytic hierarchy process for regional landfill site selection in transitional countries: a case study from Serbia. Environ. Manage. 49 (2), 445-458. https://doi.org/10.1007/s00267-011-9792-3

Vaverková, M. D., Elbl, J., Radziemska, M., Adamcová, D., Kintl, A., Baláková, L., Bartoň, S., Hladký, J., Kynický, J., Brtnický, M., 2018. Environmental risk assessment and consequences of municipal solid waste disposal. Chemosphere 208, 568-578. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.026

Wania, A., Kühn, I., Klotz, S., 2006. Plant richness patterns in agricultural and urban landscapes in Central Germany – Spatial gradients of species richness. Landsc. Urban Plan. 97-110. https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2004.12.006.

Wong, J. T. F., Chen, X. W., Mo, W. Y., Man, Y. B., Ng, C. W. W., Wong, M. H., 2015. Restoration of plant and animal communities in a sanitary landfill: a 10-year case study in Hong Kong. Land Degrad. Dev. https://doi.org/10.1002/ldr.2402

Wright, B., Smith, L., Tull, F., 2018. Predictors of illegal dumping at charitable collection points. Waste Manag. 75, 30-36. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.01.039

Kontaktní adresa:

Ing. Jan Winkler, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta, Ústav biologie rostlin
Zemědělská 1
613 00 Brno
e-mail: winkler@mendelu.cz

VLIV HUSTOTY POROSTU KUKUŘICE NA ZAPLEVELENÍ

Influence of maize stand density on weeds

Kadlček L.[1], Pfefr L.[1,3], Horký P.[2], Winkler J.[1,4]

[1] *Ústav biologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně*
[2] *Ústav výživy zvířat a pícninářství, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně*
[3] *Agrospol, agrární družstvo Knínice*
[4]*Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie*

Abstrakt
Cílem práce bylo vyhodnotit zaplevelení a vliv hustoty porostu na výskyt plevelných rostlin u vybraných širokořádkových plodin na pozemcích zemědělského podniku Agrospol, a. d. Knínice. Zaplevelení bylo hodnoceno v porostech kukuřice seté. Zjišťování zaplevelení bylo prováděno v provozních podmínkách využitím početní metody. Výsledky byly dále zpracovány kanonickou korespondenční analýzou (CCA). Během monitoringu zaplevelení bylo nalezeno 29 druhů plevelů, průměrný počet jedinců plevelů byl 12,3 ks.m^{-2}. V řidších porostech kukuřice seté byly nalezeny především druhy *Amaranthus retroflexus, Avena fatua, Cirsium arvense, Elytrigia repens* a *Mercurialis annua.*
Klíčová slova: zaplevelení, kukuřice, hustota plodin, *Mercurialis annua*

Abstract
The aim of this thesis was to assess the weed infestation and the effect of crop density on the occurrence of weeds in selected wide-row crops on the land of the agricultural holding Agrospol, a. d. Knínice. The weed infestation was assessed in the crops of maize. The weed infestation rate was determined in field conditions using the calculation method. The results were further processed by canonical correspondence analysis (CCA). During weed monitoring we found 29 weed species, the average number of weed individuals was 12.3 pc.m^{-2}. Species such as Amaranthus retroflexus, Avena fatua, Cirsium arvense, Elytrigia repens and Mercurialis annua were found in fields with sparse maize crop.
Key words: weed infestation, maize, crop density, *Mercurialis annua*

Úvod

Založení kvalitního porostu kukuřice je základem k dosažení požadované produkce a kvality. Při špatném založení porostu kukuřice již není možné požadovat vysoké výnosy a následnými opatřeními už nelze tyto nedostatky napravit. Nepodaří-li se dosáhnout požadovaného počtu rostlin na jednotku plochy, je poté výrazně ovlivněn výnos i kvalita kukuřice (Zimolka, 2008). Kukuřice nemá schopnost snížený počet rostlin v porostu kompenzovat, neboť není schopna zvýšit počet odnoží. Díky této vlastnosti je možné organizaci porostu přesně regulovat výsevkem (Petřík a kol., 1987).

Termín výsevu kukuřice je závislý na teplotě půdy. Ideální podmínky pro klíčení kukuřice jsou v případě, že teplota půdy dosahuje 8–10 °C. Těchto podmínek bývá v České republice dosaženo obvykle ve druhé polovině dubna. Setí by v našich podmínkách mělo být ukončeno v první polovině května (Zimolka, 2008). Při časnějším výsevu často dochází ke zpožděnému vzcházení, což má za následek nevyrovnanost porostu, a změna teplot může způsobit vyšší náchylnost porostu vůči chorobám a škůdcům (Chloupek a kol., 2009).

Naopak pozdní výsev kukuřice v druhé polovině května často významně snižuje výnos porostu a sklizeň porostu je oddálena o několik dnů (Zimolka, 2008). Výsev kukuřice je prováděn přesnými secími stroji, vzdálenost řádků je v rozmezí 0,45–0,8 m a výsev se dle stanoviště a

ranosti hybridu pohybuje v rozmezí od 70 do 110 tis. zrn na ha (Hejduk, 2014). Vrzal a Novák (1995) uvádějí, že na chladnějších a vlhkých stanovištích může být vyšší hustota porostu a při stanovení výsevku je nutné řídit se doporučením výrobců jednotlivých hybridů. Zvýšení pracovní rychlosti secího stroje může způsobit nedodržení výsevní hloubky, nepravidelné rozmístění zrn v řádku a nekvalitní zahrnutí osiva půdou (Prokeš, 2012).

Zimolka (2008) uvádí, že meziřádková vzdálenost 0,7 až 0,75 m umožňuje prohřívání půdy a porost má tak dostatek světla pro fotosyntézu. Tato meziřádková vzdálenost má významný vliv na minimalizaci sklizňových ztrát při použití řádkových adaptérů. Rostliny kukuřice je možné vysévat i do užších řádků, avšak šířce řádků je nutné přizpůsobit i sklizňovou mechanizaci (Hejduk, 2014). Snížení meziřádkové vzdálenosti na 0,35, 0,375, 0,45 či 0,5 m, popř. výsev do dvojřádků vede ke zvýšení výsevku přibližně o 10 %. Rostliny však mohou lépe využít vodu, živiny a sluneční záření, protože dochází ke zvýšení vzdálenosti mezi rostlinami v řádku a rovnoměrnějšímu uspořádání rostlin (Fuksa, 2018). Hloubka setí je závislá na vlhkosti půdy a pohybuje se v rozmezí od 0,05 do 0,09 m (Vrzal a Novák, 1995).

V současnosti je možné volit mezi několika způsoby technologií zakládání porostu. Prvním a nejčastěji využívaným způsobem je založení porostů do půdy připravené klasickou či minimalizační metodou zpracování půdy. Mezi nejnovější technologie zakládání porostů však řadíme přímé setí do mulče, nezpracované půdy či meziplodiny (Zimolka, 2008). Procházková (2008) uvádí, že výsev prováděný do nezpracované půdy mohou provázet problémy s kvalitou založení porostu, vyšším zaplevelením a pomalejším prohříváním půdy, a proto považuje setí do nezpracované půdy za krajní variantu. Omezení vodní a větrné eroze, snížení nákladů na přípravu půdy a šetření půdní vláhou jsou považovány za výhody přímého výsevu kukuřice do nezpracované půdy. Nevýhodný se přímý výsev jeví z pohledu zvýšení nákladů na chemické ošetření, zvýšeného výskytu škůdců a houbových chorob či problematického zapravení osiva do půdy (Prokeš, 2012).

Využití technologie výsevu kukuřice do meziplodiny je vhodné na erozně ohrožených půdách. Výsev je prováděn do vymrzající, nebo chemicky likvidované meziplodiny. Rostlinné zbytky ponechané na pozemku snižují riziko eroze, avšak kvůli pokryvu půdy se půda pomaleji prohřívá, což může oddálit termín setí a působit problémy s regulací plevelů na pozemku (Procházková, 2008).

Pomalý růst kukuřice na počátku její vegetace výrazně snižuje její konkurenceschopnost vůči plevelům. Plečkováním lze kvalitně hubit plevele v první polovině vegetace kukuřice (Kazda a kol., 2010).

Od zasetí do zapojení porostu je kukuřice vystavena tlaku plevelných rostlin, a proto je vhodné provést jejich regulaci vláčením lehkými bránami, nebo s využitím plečkování. Plečkování provádíme většinou dvakrát. Poprvé provedeme plečkování do hloubky výsevu, druhé plečkování by mělo být již pouze mělké, aby nebyly poškozeny kořeny kukuřice. Tlak plevelů je však většinou tak silný, že pouze jejich mechanická regulace je nedostatečná, a proto jsme nuceni využít také herbicidní ošetření (Zimolka, 2008).

Široká nabídka herbicidů, kterými lze účinně regulovat plevele v kukuřici, umožňuje udržet čistý porost bez plevelných rostlin až do sklizně (Kazda a kol., 2010). Aplikace herbicidů a střídání plodin mají významný vliv na zaplevelení a výrazně tak snižují půdní zásobu semen plevelných druhů (Dvořák a Smutný 2011). V porostech kukuřice se nejčastěji vyskytují vytrvalé plevele, jako je např. pýr plazivý či pcháč oset, a také plevele pozdně jarní, z nichž nejčastěji se vyskytujícím plevelem je ježatka kuří noha.

Dále je také pozorován vysoký výskyt merlíku bílého či laskavce ohnutého. Velmi problematická je regulace durmanu obecného, který se v posledních letech vyskytuje v teplejších oblastech České republiky, neboť klíčí při vyšších teplotách než ostatní plevele. Jelikož se jedná o plevel jedovatý, může jeho výskyt výrazně znehodnotit kukuřici určenou k silážování (Smutný a Winkler, 2008).

Cílem práce je stanovit vliv hustoty porostu kukuřice na druhové složení a intenzitu zaplevelení v podmínkách běžné zemědělské praxe. Počet rostlin kukuřice má zásadní vliv na konkurenční schopnost kukuřice, na kterou ovšem různé druhy plevelů reagují odlišně. Dalším cílem práce je stanovit reakci nalezených druhů plevelů.

Materiál a metody

Hodnocené porosty kukuřice byly vysety na pozemcích Agrospol, agrární družstvo Knínice, který má sídlo v obci Knínice nedaleko Boskovic (Jihomoravský kraj, ČR). Podnik obhospodařuje 2 359 ha zemědělské půdy (2 059 ha orné půdy, 208 ha travních porostů a 92 ha sadů). Převážná většina pozemků je řazena do chladné řepařské výrobní oblasti. V této lokalitě je průměrná roční teplota přibližně 8 °C a průměrný úhrn srážek 600–700 mm. Nadmořská výška se v této oblasti pohybuje v rozpětí 370–460 m n. m. a oblast je zařazena do třetího, teplého a mírně vlhkého klimatického regionu. Část pozemků se nachází také v okrese Prostějov v Olomouckém kraji. Tyto pozemky jsou zařazeny do bramborářské výrobní oblasti. Zde se průměrná roční teplota pohybuje v rozmezí 6–7 °C a průměrný roční úhrn srážek je v rozmezí 650–750 mm. Nadmořská výška této oblasti je 570–660 m. n. m. Jedná se tedy o sedmý, mírně teplý a vlhký klimatický region (Quitt, 1971). Přehled hodnocení pozemků a jejich charakteristika jsou uvedeny v Tab. 1.

Tab.1: Charakteristika hodnocených pozemků

Rok sledování	Název pozemku	Výměra	Katastrální území	Předplodina	Pěstovaná plodina	Výsevek kukuřice (počet semen.ha^{-1})	Počet odečtů pro vyhodnocení zaplevelení
2015	Čechův díl	4,93 ha	Pamětice na Moravě	kukuřice na zrno	kukuřice silážní	88 900	2
	Dlouhá Světlá	16,32 ha	Světlá	ječmen jarní	kukuřice silážní	88 900	4
	Příhon Světlá	8,98 ha	Světlá	ostropestřec mariánský	kukuřice silážní	88 900	2
	Tlučenina	19,4 ha	Drválovice	pšenice ozimá	kukuřice silážní (11,47 ha), oves nahý (7,93 ha),	88 900	2
2018	Čechův díl	4,93 ha	Pamětice na Moravě	kukuřice silážní	kukuřice silážní	88 900	2
	Čtvrtě	25,07 ha	Sudice	kukuřice silážní	kukuřice zrnová	83 300	5
	Kopalka	48,63 ha	Knínice	pšenice ozimá	kukuřice zrnová (9,12 ha), ječmen jarní (34,17 ha)	88 900	2
	Mezcestí	16,88 ha	Sudice	kukuřice zrnová	kukuřice silážní	88 900	4
	Přední díl	26,32 ha	Vanovice	pšenice ozimá	kukuřice silážní (4,14 ha), řepa cukrová (22,18 ha)	88 900	1
	Stráně spodek	7,28 ha	Drválovice	kukuřice zrnová	kukuřice silážní	88 900	2

Hodnocení zaplevelení na vybraných pozemcích bylo provedeno početní metodou. Každá odečtová plocha měla velikost 1 m^2 a po dobu pozorování byly plochy v porostu vyznačeny barevnými kolíky. Jedna odečtová plocha představovala přibližně 4 ha plochy vybraného pozemku oseté kukuřicí. Odečtové plochy byly na pozemku rozmístěny náhodě po celém pozemku. Při každém pozorování byli sečteni všichni jedinci každého druhu, který se na daném místě vyskytoval, a také byly spočítány rostliny kukuřice. Termíny hodnocení byly čtyři. První termín byl 5–6 dní od výsevu kukuřice, druhý 14–16 dní od výsevu, třetí 26–28 dní od výsevu a čtvrtý 40–42 dní od výsevu. Hodnocení zaplevelení probíhalo vždy na stejných místech. České a latinské názvy jednotlivých druhů plevelů byly použity podle Kubáta a kol. (2002). Klíční rostliny byly identifikovány podle práce Kühna (1974).
Statistickým zpracováním byl hodnocen vztah počtu jedinců kukuřice na výskyt jednotlivých druhů plevelů. Získané údaje byly zpracovány mnohorozměrnou analýzou ekologických dat. Výběr optimální analýzy se řídil délkou gradientu (Lengths of Gradient), zjištěného segmentovou analýzou DCA (Detrended Correspondence Analysis). Dále byla použita kanonická korespondenční analýza (Canonical Correspondence Analysis, CCA). Při testování průkaznosti pomocí testu Monte-Carlo bylo propočítáno 999 permutací.
Data byla zpracována pomocí počítačového programu Canoco 45.0 (Ter Braak a Šmilauer, 2012).

Výsledky

Během monitoringu zaplevelení bylo nalezeno 29 druhů plevelů. Průměrný počet jedinců plevelů byl 12,3 ks.m^{-2}. Průměrné počty plevelů jednotlivých druhů a průměrné počty rostlin kukuřice v průběhu jednotlivých termínů sledování jsou uvedeny v Tab. 2.
Bylo provedeno také hodnocení vlivu počtu rostlin plodiny na výskyt plevelných druhů. Dle segmentové analýzy (DCA) v porostech kukuřice seté byla zjištěna délka gradientu 6,09. Dále byla využita kanonická korespondenční analýza (CCA). Tato analýza vymezuje prostorové uspořádání jednotlivých druhů a hustoty porostu. Výsledky analýzy CCA jsou signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0{,}002$. Výsledky jsou tedy statisticky vysoce průkazné. Podle ordinačního diagramu (Obr. 1) můžeme druhy plevelů rozdělit do dvou skupin.
První skupina plevelných druhů se vyskytovala především v řidších porostech kukuřice seté. Jednalo se o druhy: *Aethusa cynapium, Amaranthus retroflexus, Anagallis arvensis, Atriplex patula, Avena fatua, Beta vulgaris, Bides tripartita, Cirsium arvense, Elytrigia repens, Euphorbia helioscopia, Fallopia convolvulus, Galium aparine, Geranium pusillum, Helianthus annuus, Chenopodium album, Lamium purpureum, Mercurialis annua, Sinapis arvensis, Thlaspi arvense, Veronica persica, Viola arvensis.*
Druhá skupina plevelných druhů se objevovala v porostech s vyšším počtem jedinců kukuřice seté. Jednalo se o tyto druhy: *Echinochloa crus-galli, Equisetum arvense, Chenopodium polyspermum, Malva neglecta, Persicaria lapathifolia, Polygonum aviculare, Silybum marianum, Triticum aestivum*.

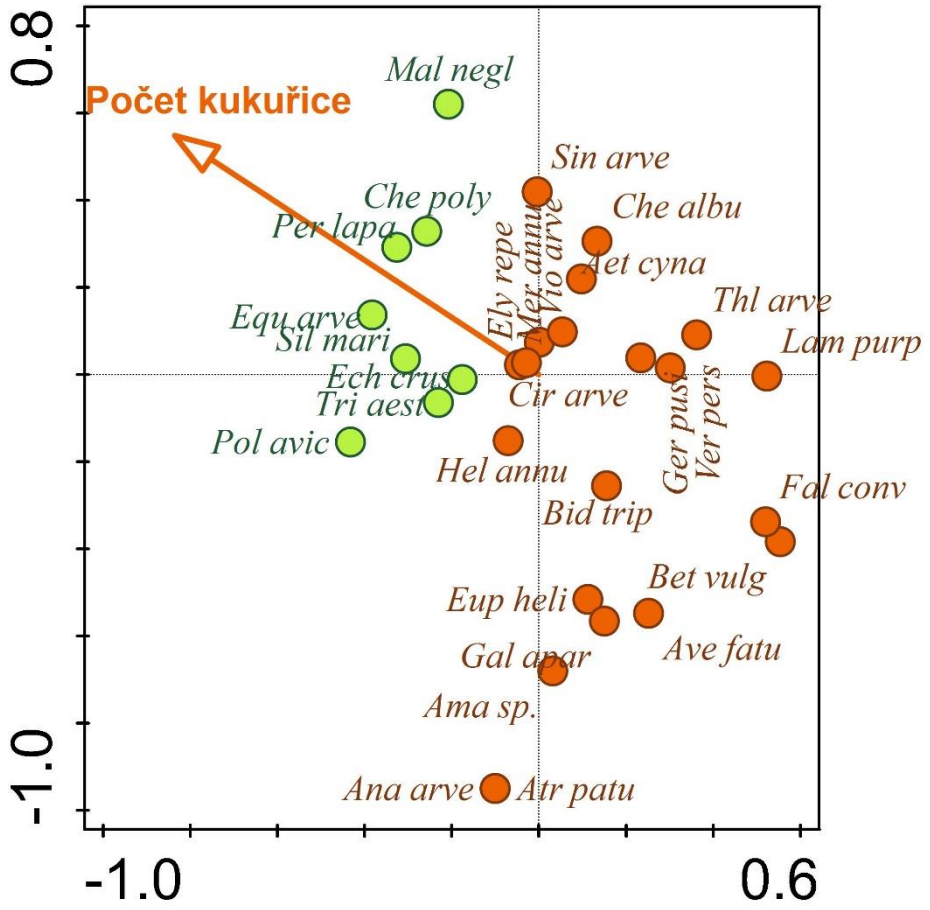
Diskuze

Z výsledků je zřejmé, že kukuřice s optimální hustotou porostu vytváří dostatečný konkurenční tlak na většinu druhů plevelů. Ovšem tomuto konkurenčnímu tlaku jsou některé druhy schopny úspěšně vzdorovat. Mezi tyto druhy patří ježatka kuří noha a přeslička rolní. Pšenice setá a ostropestřec mariánský jako výdrol předplodiny jsou schopny se prosadit dle našeho pozorování v porostu kukuřice.
V porostech kukuřice seté byla nejčastěji vyskytujícím se druhem ježatka kuří noha. Tento druh byl zaznamenán na všech sledovaných pozemcích. Dle Smutného a Winklera (2008) je ježatka kuří noha nejčastěji se vyskytujícím plevelem v porostech kukuřice seté. Jursík a kol. (2018) tvrdí, že v porostech kukuřice seté, slunečnice roční a řepy cukrové se často vyskytují stejné

druhy plevelů, a také uvádí, že jedna rostlina tohoto plevelného druhu je schopna vyprodukovat vysoké množství obilek. Tuto teorii podporují také Kneifelová a Mikulka (2003), kteří uvádí, že tomuto plevelnému druhu vyhovují širokořádkové plodiny, a pro její regulaci doporučují dodržování zásad správného střídání plodin, neboť hustě seté plodiny její výskyt omezují.

Tab.: 2 Průměrné počty jedinců plevelů a kukuřice

Druh	Rok a termín pozorování							
	2015				2018			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
Počet rostlin kukuřice	1,8	8,5	10,6	10,1	7,0	12,1	11,8	11,9
Aethusa cynapium		0,1						
Amaranthus		0,2		0,5				
Anagallis arvensis				0,1				
Atriplex patula				0,1				
Avena fatua	0,1	0,1	0,5	0,3				
Beta vulgaris		0,1						
Bides tripartita	0,1	0,2	0,2	0,2				
Cirsium arvense	0,5	0,4	0,2	0,4		0,1	0,1	
Echinochloa crus-galli	0,2	3,7	12,9	8,0	8,4	8,3	8,8	6,8
Elytrigia repens	0,2	0,2	0,5	0,5	0,1	0,1	0,1	
Equisetum arvense			1,2					
Euphorbia helioscopia		0,1		0,1				
Fallopia convolvulus		0,2		0,1	0,1			
Galium aparine			0,1					
Geranium pusillum	0,1	0,1		0,1	0,1	0,1		
Helianthus annuus					0,1	0,1	0,1	0,2
Chenopodium album				0,5	2,8	0,1	0,1	
Chenopodium polyspermum						0,1	0,1	
Lamium purpureum	0,4	2,1			0,2			
Malva neglecta						0,1		
Mercurialis annua					0,1			0,1
Persicaria lapathifolia						0,2	0,1	0,1
Polygonum aviculare			0,1	0,1				
Silybum marianum			0,1					
Sinapis arvensis					0,2	0,1		0,1
Thlaspi arvense	2,0	19,1			0,2			
Triticum aestivum						0,1	0,1	0,1
Veronica persica	1,0	0,9		0,1		0,3	0,1	0,1
Viola arvensis	0,1	0,1		0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Průměrný počet jedinců všech druhů plevelů	4,7	27,6	15,8	11,2	12,4	9,5	9,6	7,4



Obr. 1: Ordinační diagram vyjadřující vztah výskytu nalezených druhů plevelů a počtu rostlin kukuřice (výsledky analýzy CCA; pseudo F = 2,0; p =0,002)

Vysvětlivky zkratek použitých v diagramu:
Aet cyna – Aethusa cynapium, Ama sp. – Amaranthus retroflexus, Ana arve – Anagallis arvensis,
Atr patu – Atriplex patula, Ave fatu – Avena fatua, Bet vulg – Beta vulgaris, Bid trip – Bides tripartita, Cir arve – Cirsium arvense, Ech crus – Echinochloa crus-galli, Ely repe – Elytrigia repens, Equ arve – Equisetum arvense, Eup heli – Euphorbia helioscopia, Fal conv – Fallopia convolvulus, Gal apar – Galium aparine, Ger pusi – Geranium pusillum, Hel annu – Helianthus annuus, Che albu – Chenopodium album, Che poly – Chenopodium polyspermum, Lam purp – Lamium purpureum, Mal negl – Malva neglecta, Mer annu – Mercurialis annua, Per lapa – Persicaria lapathifolia, Pol avic – Polygonum aviculare, Sil mari – Silybum marianum, Sin arve – Sinapis arvensis, Thl arve – Thlaspi arvense, Tri aest – Triticum aestivum, Ver pers – Veronica persica, Vio arve – Viola arvensis

Mikulka (2014) dokonce uvádí, že ježatka kuří noha je označována za jeden z nejškodlivějších plevelných druhů světa. Jelikož se jedná o pozdně jarní plevel, dal se výskyt tohoto druhu předpokládat. Mikulka (2014) dále uvádí, že obilky ježatky kuří nohy jsou schopny klíčit 8–10 let. Je tedy pravděpodobné, že její vysoký výskyt na sledovaných pozemcích je způsoben vysokou půdní zásobou semen.

Mezi velmi obtížně hubitelné druhy plevelů patří také vytrvalé druhy, jako jsou pýr plazivý a pcháč oset. Porosty kukuřice díky odlišným biologickým nárokům neumožňují těmto druhům se ve větší míře prosadit. Toho je v praxi často využíváno a na pozemky se silným zaplevelením těmito druhy je vysévána právě kukuřice. Ovšem z našich výsledků je patrné, že pýr i pcháč se dokážou prosadit na místech s nižším počtem jedinců kukuřice. Pokud chceme tyto druhy skutečně omezit, musíme zajistit kvalitní založení porostu s optimální hustotou jedinců kukuřice.

Porosty s nižším počtem jedinců kukuřice vytvářejí podmínky pro zaplevelení především druhy ze skupiny přezimujících druhů a časně jarních druhů. Porosty s nižší konkurenční schopností vytvářejí podmínky také pro výskyt netypických druhů nebo druhů invazivních. Takovými druhy jsou např. bažanka roční a laskavec ohnutý.

Závěr

Na základě našeho pozorování můžeme konstatovat, že optimální počet jedinců kukuřice vytváří podmínky pro omezení výskytu většiny druhů plevelů. Ovšem některé druhy plevelů jsou i přesto schopny kukuřici konkurovat. Jedná se především o ježatku kuří nohu.

Nekvalitní založení porostů kukuřice nebo špatné vzcházení, jehož důsledkem je řídký porost kukuřice, vede k rozvoji vytrvalých druhů plevelů a k šíření nových invazivních druhů.

Kvalitní agrotechnická opatření a podpora konkurenceschopnosti kukuřice může vést k udržení míry zaplevelení na přijatelné úrovni a také k omezení spotřeby herbicidů.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem AF-IGA-2018-tym001: Porovnání dopadu klimatické změny na rostliny s C3 a C4 cyklem fotosyntézy využívaných ve výživě hospodářských zvířat.

Použitá literatura

Dvořák, J., Smutný, V., 2008: Herbologie – Integrovaná ochrana proti plevelům. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 184 s., ISBN 978-80-7157732-4.

Fuksa, P., 2018: Vliv organizace porostu silážní kukuřice na produkci bioplynu. Agromanuál, roč. 13 (7), s. 99–103. ISSN 1801-7673.

Hejduk, S., 2014: Kukuřice setá (*Zea mays* L.), s. 19–37, In: Skládanka, J., a kol., Pícninářství. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 367 s. ISBN 978-80-7509-1116.

Chloupek, O., Procházková, B., Hrudová, E., 2009: Pěstování a kvalita rostlin. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 172 s. ISBN 978-80-7157-897-0.

Jursík, M., Holec, J., Hamouz, P., Soukup, J., 2018: Biologie a regulace plevelů. České Budějovice: Kurent, s.r.o., 359 s. ISBN 978-80-87111-71-0.

Kazda, J., Mikulka, J., Prokinová, E. 2010: Encyklopedie ochrany rostlin: polní plodiny. Praha: Profi Press, 399 s. ISBN 978-80-86726-34-2.

Kneifelová, M., Mikulka, J., 2003: Významné a nově se šířící plevele. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 59 s. ISBN 80-7271-142-3.

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

Kühn, F., 1974: Klíční polní plevele. Brno: Acta univ. Agric, fac. Agron. XXII, č. 2, s. 289–312.

Mikulka, J., 2014: Plevele polních plodin. Praha: Profi Press, 179 s. ISBN 978-8086726-60-1.

Petřík, M. a kol., 1987: Intenzivní pícninářství. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 480 s.

Procházková, B., 2008: Kukuřice, s. 147–154, In: Hůla, J., Procházková, B., a kol., Minimalizace zpracování půdy. Praha: Profi Press, 248 s. ISBN 9788086726-28-1.

Prokeš, K., 2012: Agrotechnické požadavky a krmivářské charakteristiky silážní kukuřice, s. 82–92, In: Doležal, P. a kol., Konzervace krmiv a jejich využití ve výživě zvířat. Olomouc: Baštan, ISBN 978-80-87091-33-3.

Quitt, E., 1971: Klimatické oblasti Československa. Praha: Academia, Studia Geographica 16, GÚ ČSAV v Brně, 73 s.

Smutný, V., Winkler, J., Plevele v kukuřici a jejich regulace, s. 102–110, In: Zimolka, J., a kol., 2008: Kukuřice – hlavní a alternativní užitkové směry. Praha: Profi Press, 200 s. ISBN 978-80-86726-31-1.

Ter Braak, C. J. F., Šmilauer, P., 2012: Canoco reference manual and user's guide: software for ordination (version 5.0). Microcomputer Power, Ithaca.

Vrzal, J., Novák, D. 1995: Pěstování kukuřice a jednoletých pícnin. Praha: Institut výchovy a vzdělávání Ministerstva zemědělství ČR, 32 s. ISBN 807105-097-0.

Zimolka J. a kol., 2008: Kukuřice – hlavní a alternativní užitkové směry. Praha: Profi Press, 200 s. ISBN 978-80-86726-31-1.

Kontaktní adresa:

Ing. Leoš Kadlček
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav biologie rostlin
Zemědělská 1
613 00 Brno
Česká republika
e-mail: leos.kadlcek@mendelu.cz

VÝSLEDKY DESIKAČNÍCH POKUSŮ U JETELOVIN: HODNOCENÍ ÚČINNOSTI ZKOUŠENÝCH ÚČINNÝCH LÁTEK A JEJICH KOMBINACÍ

The results of desiccation experiments in legumes: evaluation of efficacy of the tested active substances and their combinations

Kubíková Z.[1], Smejkalová H.[1], Kolaříková K.[2]

[1]*Zemědělský výzkum, spol. s r. o.*
[2]*Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r. o.*

Abstrakt
V roce 2019 byly u tří druhů jetelovin provedeny pokusy zaměřené na nové možnosti desikace semenných porostů jetelovin. Jednalo se o jetel nachový (inkarnát), jetel luční a čičorku pestrou. Byla srovnávána účinnost *dikvátu*, *pyraflufen-ethylu*, *flumioxazinu*, *fluroxypyru*, *karfentrazon-ethylu*, *bromoxynilu* a *kys. pelargonové* v kombinaci se smáčedlem, hnojivem DAM a případně lepidly. U jetelovin byla hodnocena míra zasychání listové plochy, stonků a plodenství, a také rozpad plodenství a obrůstání rostlin. Současně byla sledována účinnost na nejčastější plevele. Ve srovnání s *dikvátem* byl u ostatních účinných látek pozorován pomalejší účinek, jejich účinnost byla také nižší, avšak ve srovnání s neošetřenou kontrolou došlo ke zlepšení zasychání rostlin jetelovin. Účinnost na plevele byla u většiny nově zkoušených látek nižší, s výjimkou *pyraflufen-ethylu*, který dobře účinkoval na heřmánkovec a merlíky.
Klíčová slova: desikace, jetel, čičorka, semenné porosty

Abstract
The desiccation experiments with three species of legumes (crimson clover, red clover and crown vetch) were carrying out in the year 2019. The efficacy of *diquat*, *pyraflufen-ethyl*, *flumioxazine*, *fluroxypyr*, *carfentrazone-ethyl*, *bromoxynil* and *pelargonic acid* in combination with surfactant, adhesives and fertilizer DAM was compared. The desiccation efficacy in legume species and most common weeds was evaluated. Compared to *diquat*, a slower effect was observed with other active substances and their effectiveness was also lower, but compared to the untreated control, the drying of clover plants was improved. The efficacy on weeds was lower for most of the new test substances, with the exception of *pyraflufen-ethyl*, which had an effect on scentles mayweed and goosefoots.
Key words: desiccations, clover, crown vetch, seed stands

Úvod

Jeteloviny jsou významné zlepšující plodiny a zhruba 10 % celkového osevu jetelovin u nás tvoří právě porosty pěstované na semeno. Pro usnadnění sklizně se u nich využívá tzv. desikace. Doposud se k ní využívala účinná látka *dikvát*. Na začátku roku 2020 skončí registrace této účinné látky a tím i možnost jejího používání (nařízení Komise EU 2018/1532 ze dne 12. října 2018). S jejím zrušením vyvstává otázka její náhrady. Z 27 skupin herbicidů rozdělených podle účinku (Mallory-Smith, Retzinger 2003) jsou k desikaci nejvhodnější inhibitory PS I systému, kam patří *dikvát* a *paraquat*, které u nás nejsou/nebudou k dispozici. *Paraquat* od 90. let, *dikvát* pak od roku 2020. Výhodou těchto látek je jejich univerzálnost, rychlost působení a široké spektrum účinku. Také působí kontaktně, takže nepoškozují kořenový systém a mají poměrně malý vliv na pozdější obrůstání porostu a kvalitu osiva (Comendant, Davies 2018). Nevýhodou je jejich vysoká toxicita.

K desikaci byly u bobovitých zkoušeny další herbicidy např. s účinnými látkami *bromoxynil*, *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin*, *pyraflufen-ethyl*, *fluroxypyr*, *glyfosát* aj. (Tavares *et al.* 2016,

Soltani *et al.* 2013, McNaughton *et al.* 2015a, McNaughton *et al.* 2015b, Pereira *et al.* 2015a, Pereira *et al.* 2015b, Kirk *et al.* 2017, Moyer *et al.* 1996). Další možností jsou organické kyseliny např. *kys. pelargonová* (Nguyen *et al.* 2016) nebo minerální hnojiva, která mohou způsobit popálení porostů (Knoop 1976). Jejich nevýhodou je ve srovnání s *dikvátem* a *paraquatem* pomalejší, méně razantní účinek a nižší univerzálnost. Velkou výhodou *dikvátu*, který se využívá od padesátých let (Akhavein, Linscott 1968), byla i dobře propracovaná technologie používání. U jiných látek je působení odlišné a informací o možnostech jejich využití k desikaci je poměrně málo.
V této práci byly zkoušeny vybrané účinné látky v kombinaci se smáčedly a hnojivem DAM s cílem zjistit jejich účinnost na dozrávající rostliny u tří druhů jetelovin a také jejich vliv na nejčastěji zastoupené plevele.

Materiál a metody

Jednalo se o maloparcelkové pokusy s velikostí parcel 12,5 m^2, ve třech opakováních s náhodným uspořádáním, u jednotlivých jetelovin bylo zkoušeno celkem 12 až 13 variant (viz tabulka 2). Pokusy probíhaly v roce 2019. Byly vyměřovány v Troubsku a okolí v provozních plochách porostů jetelovin určených na semeno případně na píci. Porost čičorky pestré byl v katastru obce Troubsko, porost jetele nachového byl v Nové vsi a porost jetele lučního v Javůrku.
Přezimování porostů na všech plochách bylo dobré. Porosty jetelů byly dobře zapojené, v jeteli nachovém bylo mírné zaplevelení heřmánkovcem. Porost čičorky byl mírně mezerovitý a bylo zde více plevelů - vyskytoval se zejména heřmánkovec, dále pcháč obecný a merlíky. V jeteli lučním bylo zaplevelení velmi nízké, nejvíce se vyskytovaly merlíky, turanka a locika. Údaje o průběhu počasí v roce 2019 ze stanice v Troubsku jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1: Průměrná měsíční teplota, vlhkost vzduchu a úhrn srážek v roce 2019

Měsíc	Průměrná teplota	Průměrná vlhkost vzduchu	Suma srážek
Leden	-0,9	78,8	23,0
Únor	2,4	75,3	17,2
Březen	6,7	67,6	26,5
Duben	11,1	56,2	16,9
Květen	12,2	70,7	78,1
Červen	22,0	64,1	65,4
Červenec	20,3	61,0	60,4
Srpen	20,8	67,3	55,9

V průběhu měsíce července, kdy dozrával jetel nachový, bylo počasí velmi teplé, což značně urychlilo jeho přirozené dozrávání a zasychání. V průběhu dozrávání jetele nachového byly tři silné bouřky s přívalovým deštěm (dne 6. 6., 20. 6. pozdě večer a 22. 6.). První z těchto bouřek způsobila polehnutí porostu a poslední, těsně před sklizní, předčasný rozpad a vypadání hlávek. Pokusné přípravky byly u jetele nachového aplikovány ve třech termínech (A 17. 6., B 20. 6., C 19. 6.). Seznam variant je uveden v tabulce 2. Byla hodnocena účinnost na jetel a na heřmánkovec a violku (jako nejčastější plevele), rozpad hlávek a obrůstání. Hodnocení proběhlo ve čtyřech termínech (17. 6., 20. 6., 24. 6., 28. 6.).
Čičorka pestrá dozrávala ve druhé polovině července a na začátku srpna. Počasí bylo v této době také teplé a poměrně suché s několika mírnými srážkami. V průběhu dozrávání byla pouze jedna silnější bouřka s přívalovým deštěm (30.7.), která neovlivnila stav porostu. Pokusné přípravky byly u čičorky pestré aplikovány ve dvou termínech (A 28. 7., B 1. 8.). Seznam variant je uveden v tabulce 2. Byla hodnocena účinnost na čičorku a na heřmánkovec, pcháč obecný a merlíky (nejčastější plevele), rozpad plodenství a obrůstání. Hodnocení proběhlo ve čtyřech termínech (26. 7., 30. 7., 5. 8., 9. 8.).

U jetele lučního proběhla sklizeň semene ze druhé seče. První seč proběhla 22.5. U druhé seče dozrávala semena v průběhu měsíce srpna. Počasí bylo poměrně teplé a suché. Mírné srážky v druhé polovině měsíce nastartovaly obrůstání jetele, které bylo u tohoto druhu velkým problémem. Pokusné přípravky byly u jetele lučního aplikovány ve dvou termínech (A 12. 8., B 19. 8.). Seznam variant je uveden v tabulce 2. Byla hodnocena účinnost na jetel a na merlíky, turanku a lociku (nejčastější plevele) a obrůstání. K rozpadu hlávek u jetele lučního nedocházelo. Hodnocení bylo provedeno ve čtyřech termínech (12. 8., 15. 8., 19. 8., 23. 8.).

Tab. 2: Seznam variant

Jetel nachový					
Varianta	Přípravky	Účinná látka	Termín ošetření	Dávka přípravku v l (g) na ha	Náklady v kč/ha
1	Kontrola bez ošetření	-	-	-	0
2	Reglone	dikvát bromid	B	3,5	2312
3	Kabuki + Dash HC + DAM	pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 10	1687
4	Kabuki + Starane forte + Dash HC + DAM	pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 0,6 + 1 + 10	2516
5	Spotlight + Dash HC + DAM	karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10	1163*
6	Spotlight + Dash HC + Spodnam DC + DAM	karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	B	1 + 1 + 1 + 10	2538*
7	Spotlight + Dash HC + DAM - dvě aplikace	karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM (2x)	A,B	2x 1 + 1 + 10	2326*
8	Sumimax + Dash HC + DAM	flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	142 g + 1 + 10	2163
9	Starane Forte + Dash HC + DAM	fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	1,5 + 1 + 10	1975
10	Pardner + Kayak + Designer + DAM	bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	2 + 1 + 0,1 + 10	1810
11	Beloukha + Dash HC + DAM	kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	8 + 1 + 10	5351
12	DAM 1:1 + Dash HC	DAM 1:1 + smáčedlo	B	200 + 1	3281
13	Reglone + DAM + Dash HC	dikvát bromid + smáčedlo + DAM	C	3 + 0,5 + 100	3622
Jetel luční					
Varianta	Přípravky	Účinná látka	Termín ošetření	Dávka přípravku v l (g) na ha	Náklady v kč/ha
1	Kontrola bez ošetření	-	-	-	0
2	Reglone	dikvát bromid	B	3,5	2312
3	Kabuki + Dash HC + DAM	pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 10	1687
4	Kabuki + Starane forte + Dash HC + DAM	pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 0,6 + 1 +10	2516
5	Spotlight + Dash HC + DAM	karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10	1163*
6	Spotlight + kayak + Spodnam DC + DAM	karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	1 + 0,5 + 1 + 10	2538*
7	Spotlight + Kabuki + Dash HC + DAM	karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 0,8 + 1 + 10	2533*
8	Sumimax + Dash HC + DAM	flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	142 g + 1 + 10	2163
9	Roudup	glyfosát	A	3,5	769
10	Pardner + Kayak + Designer + DAM	bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	2 + 1 + 0,1 + 10	1810
11	Beloukha + Dash HC + DAM	kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	8 + 1 + 10	5351
12	DAM 1:1 + Dash HC	DAM 1:1 + smáčedlo	B	200 + 1	3281
Čičorka pestrá					
Varianta	Přípravky	Účinná látka	Termín ošetření	Dávka přípravku v l (g) na ha	Náklady v kč/ha
1	Kontrola bez ošetření	-	-	-	0
2	Reglone	dikvát bromid	B	3,5	2312
3	Kabuki + Dash HC + DAM	pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 10	1687
4	Kabuki + Starane forte + Dash HC + DAM	pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 0,6 + 0,3 + 10	2516
5	Spotlight + Dash HC + DAM	karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10	1163*
6	Spotlight + Kabuki + kayak + Spodnam DC	karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	0,8 + 1 + 0,5 + 10	3671*
7	Spotlight + Kabuki + Dash HC + DAM	karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 0,3 + 10	2533*
8	Sumimax + Kabuki + Dash HC + DAM	flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	142 g + 0,8 + 1 + 10	3533
9	Roundup	glyfosát	A	3,5	769
10	Pardner + Kayak + Designer + DAM	bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	2 + 0,1 + 0,5 + 10	1810
11	Beloukha + Dash HC + DAM	kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	8 + 1 + 10	5351
12	DAM 1:1 + Dash HC	DAM 1:1 + smáčedlo	B	200 + 0,3	3281

První pokusnou variantou byla u všech druhů kontrola bez ošetření, další kontrolní varianta byla ošetřena účinnou látkou *dikvát* (přípravek Reglone). Dále byly zařazeny varianty s herbicidními přípravky určenými k desikaci (účinné látky *pyraflufen-ethyl* a *kys. pelargonová*) a dalšími herbicidy, které jsou u nás používané a registrované k jiným účelům než k desikaci (účinné látky *karfentrazon-ethyl*, *fluroxypyr* a *bromoxynil*). Pro zvýšení a urychlení účinku byly přípravky kombinovány se smáčedlem (Dash HC) a tekutým hnojivem DAM. K některým variantám bylo přidáváno lepidlo, které mělo omezit rozpad hlávky při dozrávání. U čičorky a jetele lučního byla zkoušena také účinná látka *glyfosát*. U všech tří druhů byla zkoušena také varianta pouze s vysokou dávkou hnojiva DAM (200 l/ha) v poměru 1:1 s vodou a v kombinaci se smáčedlem. V tabulce 2 jsou u jednotlivých variant, jako doplňující informace, uvedeny také přibližné cenové náklady na hektar.

Hodnocení bylo prováděno vizuálně. Byl hodnocen podíl odumřelých/zaschlých/hnědých pletiv v procentech pro jednotlivé části rostlin (listy, stonky, plodenství). U plevelů bylo hodnoceno pouze celkové poškození rostliny v procentech. U rozpadu plodenství byl hodnocen podíl odrolených částí v procentech. U obrůstání byla hodnocena pokryvnost nově obrostlých rostlin na parcele v procentech. Poslední hodnocení vždy proběhlo těsně před sklizní. Výsledky byly vyhodnoceny v programu Statistica 12 metodou analýzy rozptylu a následným testováním Tukeyho testem na hladině α 0,05.

Výsledky

Zasychání/odumírání/hnědnutí listů, stonků a hlávek u jetele nachového

U jetele inkarnátu bylo vzhledem k počasí zasychání listů velmi rychlé. V termínu první aplikace byly zaschlé tři čtvrtiny listové plochy. V době sklizně bylo u všech variant zaschlých 100 % listů. U neošetřené kontroly bylo zasychání listů mírně pomalejší. Nejrychleji pak listy zasychaly u *dikvátu* v kombinaci se smáčedlem a hnojivem DAM (var. 13) a pak u *bromoxynilu* v kombinaci s *cypronidilem* (var. 10). Byl zde statisticky průkazný rozdíl ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Výsledky uvádí tabulka 3.

Tab. 3: Zasychání listové plochy, stonků a hlávek u jetele nachového

Listy										
		Datum hodnocení:	17.6.		20.6.		24.6.		28.6.	
Varianta	Přípravek	Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
1	Kontrola bez ošetření	-	75,0	a	93,3	a	99,5	a	100,0	a
2	Dikvát bromid	B	75,0	a	95,7	ab	100,0	b	100,0	a
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	75,0	a	97,0	ab	100,0	b	100,0	a
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	75,0	a	97,0	ab	100,0	b	100,0	a
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	75,0	a	95,7	ab	100,0	b	100,0	a
6	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	B	75,0	a	92,7	a	100,0	b	100,0	a
7	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM (2x)	A,B	75,0	a	96,3	ab	100,0	b	100,0	a
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	75,0	a	96,3	ab	100,0	b	100,0	a
9	Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	75,0	a	97,0	ab	100,0	b	100,0	a
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	75,0	a	99,0	b	100,0	b	100,0	a
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	75,0	a	94,3	ab	100,0	b	100,0	a
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	75,0	a	94,0	ab	100,0	b	100,0	a
13	Dikvát bromid + smáčedlo + DAM	C	75,0	a	93,3	a	100,0	b	100,0	a
Stonky										
		Datum hodnocení:	17.6.		20.6.		24.6.		28.6.	
Varianta	Přípravek	Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
1	Kontrola bez ošetření	-	47,5	a	72,0	a	81,3	a	91,8	a
2	Dikvát bromid	B	46,7	a	81,7	bc	91,0	cd	98,0	cd
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	46,7	a	80,0	abc	87,0	abcd	96,3	bc
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	46,7	a	81,7	bc	87,7	bcd	96,0	bc
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	46,7	a	81,7	bc	85,0	ab	95,0	abc
6	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	B	46,7	a	76,7	abc	86,0	abc	95,3	bc
7	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM (2x)	A,B	46,7	a	81,7	bc	87,7	bcd	95,0	abc
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	46,7	a	80,0	abc	89,3	bcd	96,0	bc
9	Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	46,7	a	80,0	abc	87,7	bcd	94,3	ab
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	46,7	a	83,3	c	92,0	d	98,0	cd
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	46,7	a	77,7	abc	87,7	bcd	94,3	ab
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	47,5	a	72,5	a	85,0	ab	95,5	bc
13	Dikvát bromid + smáčedlo + DAM	C	47,5	a	72,0	a	100,0	e	100,0	d
Hlávky										
		Datum hodnocení:	17.6.		20.6.		24.6.		28.6.	
Varianta	Přípravek	Termín aplikace	Hlávky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
1	Kontrola bez ošetření	-	88,5	a	96,5	a	99,0	a	100,0	a
2	Dikvát bromid	B	88,0	a	98,3	abc	100,0	b	100,0	a
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	88,0	a	99,0	abc	100,0	b	100,0	a
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	88,0	a	99,0	abc	100,0	b	100,0	a
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	88,0	a	98,7	abc	100,0	b	100,0	a
6	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	B	88,0	a	95,7	abc	100,0	b	100,0	a
7	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM (2x)	A,B	88,0	a	98,3	abc	100,0	b	100,0	a
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	88,0	a	97,3	abc	100,0	b	100,0	a
9	Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	88,0	a	97,3	abc	100,0	b	100,0	a
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	88,0	a	99,0	abc	100,0	b	100,0	a
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	88,0	a	96,3	bc	100,0	b	100,0	a
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	88,5	a	96,0	c	100,0	b	100,0	a
13	Dikvát bromid + smáčedlo + DAM	C	88,5	a	96,5	c	100,0	b	100,0	a

* písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Zasychání stonků bylo výrazně pomalejší než zasychání listů a hlávek. V termínu první aplikace bylo zaschlých téměř 50 % stonků. Vzhledem k počasí bylo zasychání stonků poměrně rychlé a v době sklizně bylo zaschlých 92 % stonků u neošetřené kontroly. Zaschnutí stonků u ošetřených variant se pohybovalo od 94 do 100 %. Nejlepší zasychání bylo u varianty č. 13 (100 %), dále u varianty č. 10. Výsledky uvádí tabulka 3.

Zasychání hlávek bylo ještě rychlejší než zasychání listů a v termínu první aplikace byly hlávky zaschlé téměř z 90 %. V době sklizně bylo u všech variant zaschlých 100 % hlávek. Kontrolní varianta bez ošetření zasychala mírně pomaleji než ošetřené varianty. Výsledky uvádí tab. 3.

Zasychání/odumírání/hnědnutí listů, stonků a hlávek u čičorky pestré

U čičorky pestré bylo v termínu první aplikace zaschlých 10 % listové plochy. V době sklizně bylo u kontroly zaschlých 78 % listové plochy. U většiny variant byl v zasychání listové plochy průkazný rozdíl ve srovnání s kontrolou. U *dikvátu*, *pyraflufen-ethylu*, *pyraflufen-ethylu*

v kombinaci s *fluroxypyrem* a u *bromoxynilu* (var. 2, 3, 4 a 10) bylo zaschlých 100 % listů. U ostatních variant pak přes 90 %. Pouze u *glyfosátu* (var. 9) bylo zaschlých 83 % a nebyl zde průkazný rozdíl ve srovnání s kontrolou. Výsledky uvádí tabulka 4.
Podobné to bylo u stonků, kde byla větší variabilita a menší průkaznost rozdílů. U kontroly bylo při sklizni zaschlých pouze 10 % stonků. Na všech ošetřených variantách bylo zaschnutí stonků vyšší. Průkazný rozdíl byl u variant 2 až 8. Nejvyšší účinnost byla u *dikvátu* a pak u *pyraflufen-ethylu* a nejnižší u *glyfosátu*. Výsledky uvádí tabulka 4.
Dozrávání a zasychání plodenství bylo poměrně homogenní, ale na všech variantách s výjimkou *kys. pelargonové* (var. 11) bylo průkazně rychlejší než na kontrole. V termínu sklizně bylo u všech variant zaschlých 100 % struků. Výsledky uvádí tabulka 4.

Tab. 4: Zasychání listové plochy, stonků a hlávek u čičorky pestré

Listy										
		Datum hodnocení:	26.7.		30.7.		5.8.		9.8.	
Varianta	Přípravek	Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
1	Kontrola bez ošetření	-	10	a	37	b	62	b	78	c
2	Dikvát bromid	B	13	a	40	b	100	a	100	a
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	13	a	65	a	94	a	100	a
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	13	a	42	b	96	a	100	a
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	13	a	68	a	89	a	94	a
6	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	12	a	67	a	92	a	98	a
7	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	13	a	68	a	95	a	98	a
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	13	a	72	a	96	a	99	a
9	Glyfosát	A	12	a	37	b	68	b	83	bc
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	10	a	68	a	98	a	100	a
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	13	a	52	ab	88	a	91	ab
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	13	a	37	b	88	a	93	ab
Stonky										
		Datum hodnocení:	26.7.		30.7.		5.8.		9.8.	
Varianta	Přípravek	Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
1	Kontrola bez ošetření	-	5	a	5	b	10	d	10	c
2	Dikvát bromid	B	5	a	7	ab	88	e	99	f
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	5	a	13	a	53	c	62	b
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	5	a	7	ab	37	abc	47	be
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	5	a	10	ab	40	bc	40	abde
6	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	5	a	13	a	35	abc	45	abe
7	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	5	a	13	a	52	c	57	b
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	5	a	13	a	35	abc	43	abe
9	Glyfosát	A	5	a	7	ab	15	ad	17	cd
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	5	a	12	ab	28	abd	30	acde
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	5	a	10	ab	20	abd	20	acd
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	5	a	5	b	18	abd	20	acd
Plodenství										
		Datum hodnocení:	26.7.		30.7.		5.8.		9.8.	
1	Kontrola bez ošetření	-	77	a	86	ab	98	b	100	a
2	Dikvát bromid	B	77	a	84	b	100	a	100	a
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	75	a	90	ab	100	a	100	a
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	77	a	86	ab	100	a	100	a
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	77	a	90	ab	100	a	100	a
6	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	78	a	93	a	100	a	100	a
7	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	77	a	91	ab	100	a	100	a
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	77	a	92	a	100	a	100	a
9	Glyfosát	A	77	a	86	ab	100	a	100	a
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	77	a	93	a	100	a	100	a
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	77	a	91	ab	99	ab	100	a
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	77	a	86	ab	100	a	100	a

* písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Zasychání/odumírání/hnědnutí listů, stonků a hlávek u jetele lučního

U jetele lučního byla v termínu první aplikace zaschlá necelá polovina listové plochy. V době sklizně bylo u kontroly zaschlých 84 % listové plochy. Průkazný rozdíl ve srovnání s kontrolou byl u *dikvátu* (var. 2), kde bylo zaschlých 100 % listů a u *kys. pelargonové* (var. 11), kde bylo zaschlých 95 % listové plochy. U ostatních variant nebyl průkazný rozdíl, i když většina variant vykazovala oproti kontrole mírné zvýšení. Výsledky uvádí tabulka 5.
U stonků bylo zasychání ještě pomalejší a byla zde mnohem vyšší variabilita. Průkazně vyšší zaschnutí stonků oproti neošetřené kontrole bylo pouze u *dikvátu* (var.2), i když určité zlepšení v zasychání stonků bylo pozorováno na většině variant. V zasychání hlávek nebyly zjištěny průkazné rozdíly mezi ošetřenými variantami a neošetřenou kontrolou. Výsledky uvádí tab. 5.

Tab. 5: Zasychání listové plochy, stonků a hlávek u jetele lučního

Listy										
		Datum hodnocení:	12.8.		15.8.		19.8.		23.8.	
Varianta	Přípravek	Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
1	Kontrola bez ošetření	-	42	a	42	ab	73	cd	84	a
2	Dikvát bromid	B	42	a	42	ab	77	acd	100	c
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	42	a	52	ab	85	ab	91	abc
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	40	a	40	a	72	d	86	ab
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	40	a	40	a	79	abcd	86	ab
6	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	42	a	42	ab	75	acd	83	a
7	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	42	a	48	ab	78	abcd	86	ab
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	42	a	47	ab	85	ab	89	ab
9	Glyfosát	A	40	a	40	a	83	abc	89	ab
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	42	a	50	ab	85	ab	93	abc
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	42	a	63	b	88	b	95	bc
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	42	a	53	ab	83	abc	91	abc
Stonky										
		Datum hodnocení:	12.8.		15.8.		19.8.		23.8.	
Varianta	Přípravek	Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
1	Kontrola bez ošetření	-	25	a	28	a	32	a	56	a
2	Dikvát bromid	B	23	a	28	a	37	ab	99	b
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	25	a	37	a	50	ab	80	ab
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	23	a	27	a	37	ab	55	a
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	25	a	32	a	40	ab	63	a
6	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	25	a	35	a	38	ab	66	a
7	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	25	a	33	a	43	ab	67	a
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	25	a	35	a	45	ab	68	a
9	Glyfosát	A	25	a	30	a	47	ab	75	ab
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	25	a	38	a	55	ab	83	ab
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	25	a	43	a	57	b	76	ab
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	25	a	40	a	43	ab	65	a
Hlávky										
		Datum hodnocení:	12.8.		15.8.		19.8.		23.8.	
Varianta	Přípravek	Termín aplikace	Hlávky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
1	Kontrola bez ošetření	-	85	a	87	a	94	abc	97	abc
2	Dikvát bromid	B	83	a	85	a	94	abc	100	b
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	85	a	88	a	91	ab	99	ab
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	85	a	87	a	96	abc	95	ac
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	85	a	90	a	90	a	98	abc
6	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	83	a	85	a	94	abc	99	ab
7	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	85	a	87	a	94	abc	99	ab
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	85	a	88	a	97	abc	99	ab
9	Glyfosát	A	85	a	87	a	97	bc	99	ab
10	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	85	a	87	a	96	abc	99	ab
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	85	a	92	a	98	c	99	ab
12	DAM 1:1 + smáčedlo	B	85	a	87	a	93	abc	94	c

* písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Rozpad plodenství

U jetele lučního k rozpadu hlávek nedocházelo. U jetele nachového se hlávky začaly rozpadat ve druhém termínu hodnocení (cca týden před sklizní) a rozpadání hlávek bylo rovnoměrné okolo 1 %. O čtyři dny později byl rozpad hlávek následkem bouřky poměrně značný a pohyboval se mezi 20 a 30 %. Před sklizní byl rozpad hlávek 40 až 55 %. Nejvyšší rozpad hlávek byl u varianty s *dikvátem* v kombinaci se smáčedlem a hnojivem DAM, kde byl porost nejlépe proschlý. U ostatních variant nebyl průkazný rozdíl oproti neošetřené kontrole.

U čičorky byl rozpad plodenství zaznamenán také cca týden před sklizní. Odrolení struků bylo v rozmezí 10 až 18 procent a mezi jednotlivými variantami nebyly průkazné rozdíly.

Obrůstání a účinnost na plevele

U jetele nachového a čičorky bylo obrůstání rostlin minimální a nepřesahovalo 5 procent obrostlých rostlin v porostu. Největším problémem bylo obrůstání u jetele lučního, kdy před sklizní semen byla pokryvnost nově obrostlého zeleného porostu až 60 %. Obrost byl nižší než sklízený desikovaný porost a dosahoval okolo 10 cm. Byla zde poměrně vysoká variabilita a mezi variantami nebyly průkazné rozdíly.

U jednotlivých druhů jetelovin byla hodnocena účinnost na nejvýznamnější plevele zastoupené v porostu. U jetele nachového se nejvíce vyskytoval heřmánkovec a v menší míře také violka. Heřmánkovec byl nejvýznamnějším plevelem také u čičorky. Dále se u čičorky vyskytoval pcháč obecný a merlíky. U jetele lučního byly nejvíce zastoupeny merlíky a ojediněle také locika. Na violku nezabírala žádná varianta s výjimkou kombinace *dikvátu* se smáčedlem a hnojivem DAM, kde violka zaschla stejně jako všechno ostatní. Účinnost na heřmánkovec byla

kromě *dikvátu* pozorována také u *pyraflufen-ethylu*. Na pcháč obecný účinkoval kromě *dikvátu* nejlépe *bromoxynil* v kombinaci s *cypronidilem* a lepidlem. Na merlíky působil *pyraflufen-ethyl* a *pyraflufen-ethyl* v kombinaci s *fluroxypyrem*. Tato kombinace účinkovala také na lociku.

Diskuze

K nejlepšímu zasychání rostlin docházelo u jetele nachového. U všech účinných látek a jejich kombinací se projevil příznivý vliv na zasychání jetele nachového. Příznivý vliv na urychlení zasychání rostlin se u většiny přípravků projevil i u čičorky, která celkově zasychala mnohem pomaleji než jetel nachový. U jetele lučního byl příznivý vliv u většiny účinných látek méně průkazný než u jetele nachového a čičorky. U všech tří jetelovin působily ostatní účinné látky ve srovnání s *dikvátem* výrazně pomaleji. U *dikvátu* se maximální účinek projevoval po 4 až 7 dnech. U ostatních účinných látek byl nástup účinku cca o týden pomalejší. McNaughton *et al.* (2015b) srovnávali účinky působení *dikvátu*, *karfentrazonu* a *flumioxazinu* na dozrávání jedlých fazolí. Podobně jako v naší práci tu *dikvát*, *karfentrazon* i *flumioxazin* urychlovaly dozrávání a zasychání rostlin oproti neošetřené kontrole. Také v této práci bylo zasychání listů a plodů rychlejší než zasychání stonků. Nejvyšší desikační účinek měl podobně jako v našich pokusech *dikvát*. Dobře účinkoval také *flumioxazin*. *Karfentrazon* měl oproti *flumioxazinu* nižší účinnost. V našich pokusech se rozdíly v účinnosti u těchto dvou látek u jetelovin nepotvrdily.

Účinnost *glyfosátu*, *dikvátu*, *karfentrazon-ethylu* a *flumioxazinu* u jedlé fazole ve své práci sledovali Soltani *et al.* (2013). Zjistili, že účinnost *glyfosátu*, je poměrně nízká a srovnatelná s kontrolou. Podobně tomu bylo i v naší práci u jetele lučního a čičorky pestré. *Dikvát* účinkoval stejně jako v naší práci ze všech studovaných látek nejrychleji. *Karfentrazon-ethyl* a *flumioxazin* účinkovaly pomaleji. *Flumioxazin* měl po osmi dnech vyšší účinnost než *karfentrazon-ethyl*, což se nám u jetele a čičorky nepotvrdilo.

Rozdíly v účinnosti *glyfosátu* a *dikvátu* u jetele lučního studovali Kirk *et al.* (2017). Po aplikaci *glyfosátu* nebyl po 15 dnech od aplikace průkazný rozdíl ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Naopak *dikvát* průkazně snížil vlhkost rostlin už po 9 dnech. Podobné výsledky byly získány i v našich pokusech.

Soltani *et al.* (2013) studovali desikační účinnost *glyfosátu*, *flumioxazinu*, *karfentrazon-ethylu* a *dikvátu* na nejčastější plevele (laskavec, ambrózii, merlík a bér) v porostu. Podobně jako v našich pokusech *dikvát* velmi dobře účinkoval na všechny druhy plevelů a jeho účinnost byla ve srovnání s kontrolou i dalšími účinnými látkami průkazně vyšší.

Závěr

Zasychání rostlin bylo ve srovnání s účinky *dikvátu* v ostatních zkoušených variantách pomalejší, a proto je zde předpoklad nutné dřívější aplikace přípravků ve srovnání s aplikací *dikvátu*. U jetele nachového byl u všech ošetřených variant pozorován příznivý vliv na zasychání porostů, ale rozdíly byly vzhledem k celkově rychlému zasychání porostu poměrně malé. Podobné závěry vyplynuly i u čičorky, kde bylo zasychání rostlin pozvolnější a byly zde větší rozdíly mezi zkoušenými variantami a neošetřenou kontrolou. Jedinou účinnou látkou, která u čičorky neměla průkazný vliv na zasychání listů byl *glyfosát*. Všechny ostatní účinné látky měly u čičorky průkazně příznivý vliv na zasychání listů. *Pyraflufen-ethyl* a jeho kombinace s *karfentrazon-ethylem* nebo *fluroxypyrem*; *flumioxazin*, *bromoxynil* a *karfentrazon-ethyl* průkazně podporovaly nejen zasychání listů, ale i zasychání stonků. U jetele lučního byla účinnost zkoušených účinných látek nižší než u jetele nachového a čičorky. Významným faktorem bylo nejen zasychání jetelovin, ale také plevelů. Z tohoto hlediska se jeví nejperspektivnější účinná látka *pyraflufen-ethyl*, která poměrně dobře účinkovala na heřmánkovec a také na merlíky, které byly v porostech jetelovin nejvýznamnějšími plevely.

Poděkování
Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1719

Použitá literatura

Akhavein A. A., Linscott D. L. (1968) The dipyridylium herbicides, paraquat and diquat. In: Gunther F. A. (eds) Residue Reviews / Rückstands-Berichte. Residue Reviews, vol 23. Springer, New York, NY

Comendant C., Davies P. (2018): Economic assessment of paraquat use in New Zealand. https://www.epa.govt.nz/assets/FileAPI/hsno-ar/APP203301/c34071b227/APP203301-Appendix-B-Sapere-economic-and-benefits-assessment.pdf

Kirk S., Yoder C. and Gauthier T. (2017): A three year comparative study of desiccant use on red clover seed crops in the Peace River region. The Seed Head Fact sheet 14: 1-4

Knoop W. (1976): Why a fertilizer burns. Weeds trees nad turf/November: 14-15

Mallory-Smith C. A., Retzinger E. J. (2003): Revised Classification of Herbicides by Site of Action for Weed Resistance Management Strategies. Weed Technology. 2003. Volume 17: 605–619

McNaughton K. E., Blackshaw R. E., Waddell K. A., Gulden R. H., Sikkema P. H., Gillard Ch. L. (2015a): Effect of application timing of glyphosate and saflufenacil as desiccants in dry edible bean (Phaseolus vulgaris L.). Can. J. Plant Sci. 95: 369-375. Doi:10.4141/CJPS-2014-157

McNaughton K. E., Blackshaw R. E., Waddell K. A., Gulden R. H., Sikkema P. H., Gillard Ch. L. (2015b): Effect of five desiccants applied alone and in combination with glyphosate in dry edible bean (Phaseolus vulgaris L.). Can. J. Plant Sci. 95: 1235-1242, doi:10.4141/CJPS-2015-098

Moyer J. R., Acharya S. N., Fraser J., RiChards K. W., Foroud N. (1996): Desiccation of alfalfa for seed production with diquat and glufosinate. Can. J. Plant Sci. 435-439

Nguyen C., Chemin A., Vincent G. (2016): Beloukha, Noveau defanant, Dessiccant naturel a effet desherbant. https://www.cabdirect.org/cabdirect/FullTextPDF/2017/20173254429.pdf

Pereira T., Coelho C. M. M., Sobiecki M., Souza C. A. (2015a): Physiological quality of soybean seeds depending on the preharvest desication. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 33, n. 3, p. 441-450, Doi: 10.1590/S0100-83582015000300007

Pereira T.; Coelho C. M. M.; Souza C. A.; Mantovani A.; Mathias V. (2015b): Chemical desiccatin for early harvest in soybean cultivars. Doi: 10.5433/1679-0359.2015v36n4p2383

Soltani N., Blackshaw R. E., Gulden R. H., Gillard C. L., Shropshire Ch., Sikkema P. H. (2013): Desiccation in dry edible beans with various herbicides. Can. J. Plant Sci. 93: 871-877. Doi :10.4141/CJPS2013-061

Tavares C. J., Sousa M. S., Araújo A. C. F., Jekelaitis A., Resende O. (2016): Yield, specific mass and coloration of azuki seeds after desiccation and storage. J. Braz. Assoc. Agri. Eng. 36 (5): 858-865. Doi:http://dx.doi.org/10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v36n5p858-865/2016

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

AKTUÁLNÍ MOŽNOSTI OCHRANY POROSTŮ TRAV NA SEMENO PROTI PLEVELŮM

Current possibilities of weed management in grass seed crops

Macháč R.

OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.

Abstrakt

Ochrana porostů trav na semeno je jednou z nedůležitějších součástí agrotechniky. Nadměrné zaplevelení porostu trav je důvodem pro zamítnutí semenářského porostu inspektory ÚKZÚZu. V současné době lze v travách úspěšně regulovat většinu dvouděložných plevelů. Velkým problémem je však regulace trávovitých plevelů, jejíž přítomnost v semenářských porostech trav neustále roste. Základem úspěšné strategie ochrany travosemenných porostů proti plevelům je tak celkový systém odplevelování v rámci osevního postupu – systém střídání plodin, využití nechemických i chemických způsobů regulace plevelů, zejména trávovitých (použití graminicidů) v předplodinách. Přímá ochrana porostů trav pak kombinuje mechanické a chemické způsoby regulace především dvouděložných plevelů.

Klíčová slova: trávy, herbicidy, plevele, graminicidy

Abstract

Weed management is one of more important part of agronomical practices in grass seed crops. Excessive weed infestation of grass seed crop is reason for disallowance its certification. Currently it is possible in grasses successfully regulate most of dicotyledonous weed species. However, great problem is control of graminaceous weed, whose presence is increasing in grass seed crops. Principle of success strategy of weed control is a general weeding system within cropping pattern – crop rotation, usage non-chemical and chemical way of weed control, in particular graminaceous (graminicide application) in preceding crops. Direct weed control in grass seed crop then combines mechanical and chemical ways of regulation especially dicotyledonous weeds.

Key words: Grasses, Herbicides, Weed

Úvod

Travní semenářství má v České republice již téměř stoletou tradici. Rozsahem ploch sice patří mezi malá, nicméně významná odvětví zemědělské produkce. České travní semenářství pokrývá ve většině druhů potřeby domácího zemědělství a je současně významným producentem osiv, které jsou vyváženy do zahraničí. Plochy trav na semeno mají poměrně kolísavou tendenci a pohybují se mezi 10–20 tis. ha, z toho přibližně 75–80 % tvoří plochy tzv. zahraničního množení. Důvodů, proč české travní semenářství nedosahuje výnosů a produkce srovnatelné s významnými evropskými pěstiteli je několik. Prvním důvodem jsou odlišné půdně-klimatické podmínky. Trávy patří mezi rostliny s výraznými nároky na dostatek vláhy. V přímořských státech (Dánsko, Nizozemí, Anglie, Francie) je vláhová jistota podstatně vyšší než v České republice. Dalším faktorem je skutečnost, že jsou trávy v ČR pěstovány více v oblastech s nižší úrodností a i v těchto oblastech jsou často zařazovány na horší pozemky. Velmi významným faktorem je absence účinných technologických postupů ochrany travosemenných porostů zejména vůči trávovitým plevelům. Chemické firmy nemají zpravidla z ekonomických důvodů zájem registrovat nové přípravky do trav na semeno a tak probíhá registrace nových přípravků v režimu tzv. menšinového použití. Zde je však problémem časové hledisko, neboť je možno zkoušet pouze přípravky, které jsou již registrovány v nějaké jiné

plodině (zpravidla obiloviny) a tudíž jsou oproti testování v nosných plodinách zkoušeny až o 4-5 let později.
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, např. Rolston & Hare (1986) uvádějí, že každé 1 % plevelného pokryvu snižuje výnos semen srhy laločnaté v průměru o 0,9 %. Ovšem přesně stanovit škody způsobené zaplevelením je velmi složité. Záleží na druhu kulturní trávy i složení plevelného spektra. Např. v porostech jílků, založených letním výsevem, jsou dle Cagaše *et al.* (2006) velmi problematickým plevelem hluchavky, které mohou významně potlačit pěstované trávy a zároveň zvýšit riziko napadení sněžnou plísňovitostí. Semenářské porosty lipnic, psinečků a jiných tzv. „jemnosemenných trav“ je dle Macháče (2010) nutno chránit před plevely, které produkují z těchto druhů obtížně čistitelná semena (heřmánky, rmeny apod.). Vyhláškou je limitován především výskyt šťovíku kadeřavého (*Rumex crispus* L.) a tupolistého (*R. obtusifolius* L.). Tyto plevele by se však při dnešních možnostech ochany neměly v semenářských porostech vůbec vyskytovat (Macháč & Macháč, 2010). Velký problém způsobují v travách na semeno trávovité plevele: lipnice roční (*Poa annua* L.), lipnice obecná (*Poa trivialis* L.), pýr plazivý (*Elytrigia repens* L.), oves hluchý (*Avena fatua* L.) a v poslední době se šířící mrvka myší ocásek (*Vulpia myuros* (L.) K.C. Gmel.). V souvislosti se změnou klimatu se v travách na semeno rozšiřují i sveřepy (*Bromus* ssp.) a C_4 plevele jako je ježatka kuří noha (*Echinochloa crus-galli* (L.) P.B.). Tyto plevele nejen konkurují pěstovaným travám, ale jsou z osiva trav velmi obtížně čistitelné a často jsou důvodem pro zamítnutí semenářského porostu nebo partie osiva (Cagaš *et al.*, 2006). Podobně Rolston *et al.* (1997) referují o obtížném čištění travních osiv od semen plevelů jiných, osinatých, trav (mrvka, sveřepy). Titíž autoři uvádějí snížení výnosu osiva jílku vytrvalého při každém čištění o 10 %.

Materiál a Metody

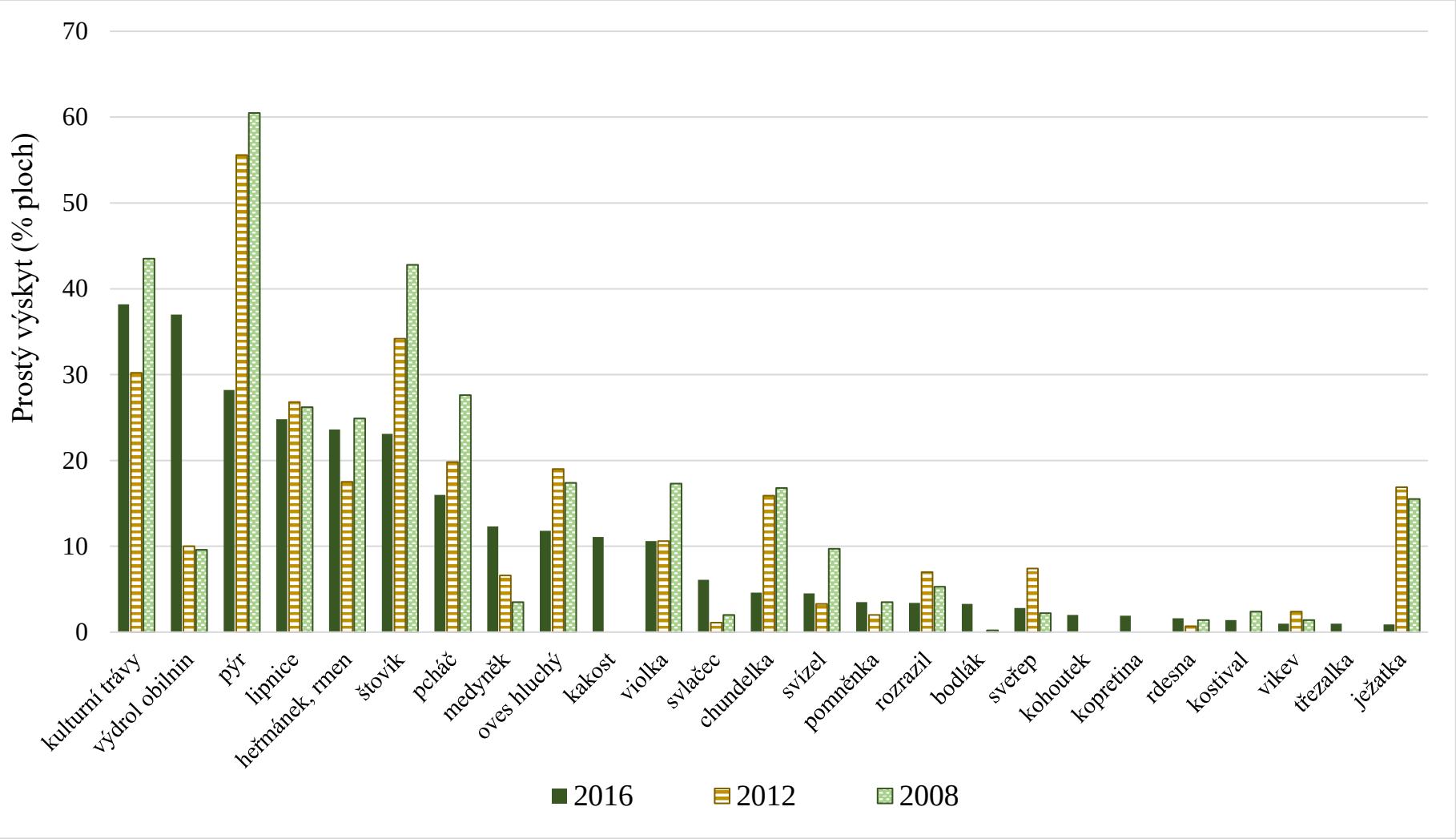
Monitoring výskytu plevelů v semenářských porostech trav

Pracovníci Výzkumné stanice travinářské v Zubří každoročně hodnotí výskyt škodlivých činitelů v porostech trav na semeno i v přírodním osivu dovezeném na čisticí stanice osiv. Podkladem pro monitoring jsou jarní prohlídky porostů, kdy pracovníci VST Zubří zhodnotí 700–1000 ha semenářských porostů trav. Dalším podkladem jsou výsledky přehlídek semenářských porostů trav, provedených inspektory ÚKZÚZ. Monitoring na této úrovni představuje 20–30 % ploch trav na semeno v České republice. Údaje o výskytu plevelných druhů v porostech trav na semeno ze zápisů o prohlídkách porostů a protokolů o přehlídkách porostů jsou zadány do databáze a souhrnně zpracovány.

Ochrana trav na semeno proti plevelům

V tomto příspěvku jsou souhrnně zpracovány aktuální možnosti ochrany porostů trav na semeno. Podkladem jsou: Metodická příručka integrované ochrany rostlin proti chorobám, škůdcům a plevelům, Polní plodiny, část Plevele trav pěstovaných na semeno (Macháč, 2013), Metodika ochrany trav na semeno proti plevelům (Macháč, 2018) a přehled přípravků na ochranu rostlin (POR) povolených do trav na webových stránkách Ministerstva zemědělství, resp. ÚKZÚZ: http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx. Ve výše uvedených publikacích byly shrnuty výsledky výzkumných projektů v oblasti travního semenářství a ochrany trav na semeno proti škodlivým činitelům.

Graf 1: Vývoj výskytu plevelů v množitelských porostech trav 2008-2016



Výsledky a diskuze

Monitoring výskytu plevelů v semenářských porostech trav

Pravidelný monitoring výskytu plevelů v semenářských porostech trav je základním předpokladem pro získání esenciálních informací pro směřování výzkumné činnosti v této oblasti. Jak je patrno z grafu 1, největším problémem jsou v současnosti trávovité plevele. Pozitivní je snížení počtu ploch, na kterých se vyskytoval pýr plazivý. Zatímco v roce 2008 to bylo přes 60 % a v roce 2012 56 %, tak v roce 2016 se výskyt pýru snížil na 28 % ploch. Jiné kulturní trávy byly zaznamenány na 30–40 % ploch a kolísání je spíše ročníkovou záležitostí. Naopak nárůst zaplevelení byl pozorován u výdrolu obilnin z 10 % v roce 2008 na 37 % v roce 2016. Výskyt plevelných lipnic je stabilně okolo 25 % ploch. Pozitivní trend byl pozorován u šťovíku a pcháče, kdy došlo k poklesu zaplevelení. Heřmánky a rmeny jsou častým i plevely v travách na semeno, v průměru se vyskytují na 18–25 % ploch. Stále je zaznamenáván relativně vysoký výskyt ovsa hluchého, který by se v porostech trav na semeno neměl vůbec vyskytovat. Ostatní plevele se vyskytují na plochách do 5 % a jsou spíše regionální záležitostí. Výskyt ježatky kuří nohy je ročníková záležitost, vyšší výskyt bývá v létech, které nejsou optimální pro růst kulturních trav.

Ochrana trav na semeno proti plevelům

Ochrana porostů trav proti škodlivým činitelům je základním předpokladem pro uznání porostu inspektory ÚKZÚZu. Plevele konkurují pěstovaným trávám v boji o světlo, vláhu a živiny. Ochrana proti plevelům je jedním ze základních pilířů pro úspěšné pěstování trav na semeno. Základem pro efektivní ochranu proti plevelům je dodržování zásad integrované ochrany rostlin v rámci celého podniku, kdy dochází k udržení míry zaplevelení pozemků na přijatelné úrovni. Dodržování osevních postupů, nebo alespoň sledu střídání plodin je důležité zejména pro eliminaci vytrvalých plevelů, jako je pýr plazivý, pcháč oset a také širokolisté šťovíky. Tyto plevele je nutno regulovat již v předplodinách, neboť v porostech trav je jejich regulace většinou velmi obtížná a také velmi nákladná. Ochrana proti pýru plazivému je u většiny druhů nemožná. Proto již v rámci střídání plodin je zapotřebí kombinovat chemické i nechemické způsoby regulace plevelů tak, aby došlo k potlačení výskytu vytrvalých plevelů na přijatelnou úroveň a zároveň došlo k vyčerpání zásoby semen plevelů v půdě. Je nutno správně ošetřovat statková hnojiva, aby se organickým hnojením nezvyšovalo zaplevelení. V rámci střídání plodin je vhodné využívat mělké podmítky k aktivaci vzcházení plevelů a jejich následného ničení orbou nebo jiným mechanickým způsobem. Také ochrana proti trávovitým plevelům musí být zakomponována především v předplodinách. Použití graminicidu je možné především v dvouděložných plodinách jako je řepka, brambory nebo řepa. Mnoho účinných graminicidu lze aplikovat rovněž v kukuřici nebo pšenici ozimé. Velmi důležitým opatřením je použití graminicidu v plodině, která následuje po trávě na semeno (nejčastěji řepka nebo ozimá pšenice). Výdrol trávy v následné plodině, který není likvidován, bývá zdrojem zaplevelení na delší dobu a může významně zaplevelit i trávy, které jdou na pozemek za několik let.

Významným opatřením v ochraně travosemenných porostů vůči plevelům je zvýšení konkurenční schopnosti trav. Tu je nutno podpořit především při zakládání porostů trav na semeno – pečlivá příprava půdy, dodržení doporučené hloubky setí, volby výsevku a meziřádkové vzdálenosti. Dobře založený, vyrovnaný porost je základem pro úspěšné konkurování plevelům (Cagaš *et al.*, 2010). U vzešlých porostů podpoříme konkurenční schopnost vyrovnaným hnojením.

Možnosti přímé ochrany travosemenných porostů vůči plevelům jsou nechemické a chemické. Z přímých nechemických způsobů regulace plevelů je to především vláčení plecími branami nebo plečkování širokořádkových kultur. Tyto metody mají uplatnění především u porostů v ekologickém systému hospodaření (Macháč & Smočková, 2013). Trsy trav jsou odolné poškození vibrujícími pruty bran, které naopak poškodí vzcházející plevele. Působením plecích

bran dochází i k provzdušnění a prosvětlení přízemní vrstvy a podpoří se tak odnožování trav. Jarní vláčení plecími branami však může mít za následek i snížení počtu plodných stébel pěstovaných trav (Macháč, 2015). Trávy jako vytrvalé rostliny umožňují eliminaci zaplevelení jednoletými plevely častým sekáním. Proto je důležité ihned po sklizni krycí plodiny, nebo v produkčních létech po semenné sklizni trav, odklidit slámu a porost osekat na nízké strniště. Trávy podpořit přihnojením dusíkem, popř. dalšími živinami. Do poloviny září provést otavoseč a znovu osekat ještě před ukončením vegetace. Tyto opatření pomohou nejen regulovat plevele, ale rovněž podpoří odnožování trav a tím i konkurenční schopnost trav a také jsou účinnými opatřeními pro nechemickou regulaci chorob a škůdců. Odstraní se tak i úkryty pro hlodavce, kteří tak mohou být snadněji loveni dravci a jinými predátory.

V porostech jílků vysévaných letním výsevem po ozimých obilninách bývá častým plevelem výdrol. Výdrol ozimých obilovin lze v porostech jílků regulovat osečením porostu v časném jaru, v období odnožování. Jílek vytrvalý a hybridní je nutno osekat co nejdříve, v případě jílku mnohokvětého italského můžeme osekat i později (v prvé polovině dubna). Ozimé obiloviny jsou v jarním vývoji zpravidla ranější a dříve přecházejí do generativní fáze. Osečením v době před sloupkováním jílku neomezíme metání jílku, ale v případě obilovin se metání značně omezí. Herbicidní způsoby omezení výdrolu jsou v současnosti v našich podmínkách neúspěšné (nižší účinnost na výdrol, vyšší fytotoxicita na jílky).

Při vyšším zaplevelení pýrem plazivým lze u jílku mnohokvětého italského a jednoletého přistoupit k posekání první seče na píci a provedení semenné sklizně z druhé seče, neboť pýr do druhé seče nemetá. V tomto případě je nutno prvou seč provést co nejdříve, ale i tak je nutno počítat pouze se 60–80 % očekávaného semenářského výnosu z první seče. Čím dříve provedeme první seč, tím je snížení výnosu ve srovnání s výnosem v první semenářské seči nižší. U jílku hybridního a vytrvalého tento způsob uplatnit nelze, neboť tyto druhy jsou ozimého charakteru a do druhé seče metají jen ojediněle.

Nejčastěji používanými způsoby regulace zaplevelení jsou i nadále chemické způsoby – aplikace herbicidů. Proti dvouděložným plevelům je do trav registrováno poměrně dost herbicidů, bohužel s počtem účinných látek je to již horší. Navíc často je ukončena registrace některého z herbicidů, aniž by za něj byla účinná náhrada. Podobně je to u nových formulací herbicidů, které byly původně do trav registrovány, ale nová formulace již registrovaná není (např. Stomp Aqua). Do všech travních druhů tak lze použít celkem 27 herbicidů, ale pouze s 7 účinnými látkami (viz tab. 1). Pokud nebereme v potaz tzv. generické přípravky, máme k dispozici pouze 8 přípravků. Herbicidů s druhovým omezením máme bez generických přípravků dalších 11, některé z nich jsou však omezeny na použití pouze v jednom nebo dvou druzích, např. Targa 10 EC (*quizalofop-P-ethyl*), Callisto (*mesotrione*).

Nejčastěji používanými herbicidy v minulosti byly především přípravky s úč. látkou *MCPA* v kombinaci s Lontrelem 300 (*clopyralid*) a Starane 250 EC (*fluroxypyr*). Tato tzv. trojkombinace je účinná proti většině dvouděložných plevelů a lze ji použít ve všech travních druzích. Uvedená kombinace je poměrně drahá, ale často se využívá v prvém užitkovém roce, kdy odstraní většinu plevelů a v dalších létech již většinou u dobře zapojených porostů není nutno dále herbicidy používat. Dalšími herbicidy, často využívanými v travním semenářství je Mustang (*2,4-D + florasulam*), Grodyl 75 WG (*amidosulfuron*), Arrat (*dicamba+tritosulfuron*) a další. Tyto přípravky však mají registraci jen do některých druhů. V posledních 5 letech byl do trav zaregistrován pouze přípravek Fragma Delta (*diflufenican + florasulam*), který lze použit do všech travních druhů. Dále byl zaregistrován herbicid s graminicidním účinkem Attributt SG 70 (*propoxacarbazon*), jenž má registraci pouze do kostřavy červené, k. luční a bojínku lučního. Bohužel již skončila registrace Granstaru 75 WG (*tribenuron-methyl*), Aurory Super (*carfentrazone-ethyl + mecoprop*), Arkemu (*metsulfuron-methyl*) a dalších. Skončila také registrace Husaru (*iodosulfuron*), který lze zatím použít do spotřebování zásob.

Tab. 1: Účinné látky a počet herbicidů pro použití v porostech trav na semeno k 30.9.2019

účinná látka	počet herbicidů registrovaných do všech druhů trav		počet herbicidů registrovaných pouze do některých druhů	
	samostatně	kombinace	samostatně	kombinace
2,4-D	-	-	-	4
Amidosulfuron	-	-	4	-
Bentazone	5	-	-	-
Bromoxynil	-	-	1	-
Clopyralid	8	1	-	-
Dicamba	-	-	-	1
Diflufenican	-	2	-	-
Fenoxaprop-ethyl	-	-	4	-
Florasulam	2	2	-	4
Fluroxypyr	1	1	3	-
Chlorsulfuron	-	-	7	-
Iodosulfuron	-	-	1*)	-
MCPA	6	1	-	-
Mecoprop	1	-	-	-
Mesotrione	-	-	1	-
Pendimethalin	-	-	9	-
Propoxycarbazone	-	-	3	-
Quizalofop-P-ethyl	-	-	2	-
Tritosulfuron	-	-	-	1

*) jen do spotřebování zásob

V kostřavě červené lze mimo Attributu použít pro regulaci metání pýru i přípravek Targa 10 EC v dávce 0,5 $l.ha^{-1}$. V této dávce však přípravek pouze omezí metání pýru a nedochází k jeho hubení. Naopak většinou se pýr v porostu kostřavy dále šíří a zkracuje tak dobu, po kterou je možno porost využívat. Dalším graminicidem použitelným v jílcích a kostřavě červené je Puma super (*fenoxaprop-ethyl*), která se používá zejména při zaplevelením ovsem hluchým. Tento plevel je často limitován nulovým obsahem v osivech pro zahraniční kontrakty.

Při aplikaci herbicidů je však nutno postupovat velice obezřetně a dodržovat všechny zásady a postupy pro bezpečnou aplikaci. Trávy na semeno se nejčastěji ošetřují proti plevelům na jaře, nicméně často účinnější a méně nákladnější je ochrana již na podzim, kdy jsou plevele v nižších růstových fázích. Podzimní ošetření je nutné především u raných druhů trav, jako je např. psárka luční. Ošetření herbicidy je zpravidla nutno provést v době odnožování do počátku sloupkování. U psárky luční dochází ke sloupkování nebo dokonce i metání velmi brzy a často je nemožné kvůli povětrnostním a půdním podmínkám v této době aplikovat herbicidy. Před vlastní aplikaci je nutno provést důkladnou agrobiologickou kontrolu porostu. Na základě vyskytujících se druhů plevelů a míry jejich pokryvnosti zvolit optimální herbicid, který účinkuje na dané plevele a je tolerantní vůči pěstovanému travnímu druhu. Zde je potřeba upozornit na rozdílnou citlivost k herbicidům mezi kostřavou luční a kostřavou červenou. Kostřava červená je tolerantní k většině herbicidů povolených do trav, naopak kostřava luční je velmi citlivá a poškozují ji i některé herbicidy s účinkem na dvouděložné plevele – např. sulfonylmočoviny. Velkou pozornost je třeba věnovat odplevelení v prvých létech. Dobře zapojený porost trav často postačí herbicidně ošetřit v prvém užitkovém roce. Konkurenčně silný, dobře zapojený porost pak neumožní vzcházení a vývoj plevelů. Ojedinělý výskyt plevelů

pak je snadnější eliminovat mechanickými zásahy, popř. ošetřit environmentálně šetrnějšími herbicidy. Obecně se herbicidy aplikují na porost 15–25 cm vysoký. Výjimkou je aplikace pendimethalinu, kdy před aplikací musíme porost osekat na co nejnižší strniště a důkladně odstranit posekanou hmotu. Aplikace pendimethalinu se pak provádí na povrch půdy, kde přípravek vytvoří ochranný film, který ničí vzcházející plevele. Pokud před aplikací herbicidů s pendimethalinem nedojde k osečení porostu a důkladném vyhrabání a odvozu hmoty, pak většina herbicidu ulpí na travní biomase a nevytvoří tak ochranný povlak na povrchu půdy. Aplikace je pak nerentabilní a nepřinese žádaný účinek. Tento herbicid je jedním z mála přípravků, kterým můžeme regulovat trávovité plevele, zejména plevelné lipnice. Působí ovšem i na řadu dvouděložných plevelů. Proti plevelným lipnicím je optimální pendimethalin aplikovat v prvé polovině září. Ovšem aplikace pendimethalinu může být jen na dobře vyvinutý porost, v žádném případě nelze tento přípravek aplikovat v travách preemergentně!

Závěr

Současné možnosti přímé ochrany porostů trav na semeno nejsou příliš široké. Herbicidů, použitelných v travách je stále méně a chybí především herbicidy s graminicidním účinkem. Základem ochrany tak musí být důsledný systém regulace plevelů napříč osevním sledem – využití chemických i nechemických metod regulace zejména vytrvalých a trávovitých plevelů. Nepomíjitelnou součástí agrotechniky následné plodiny by rovněž měla být regulace výdrolu trávy, jakožto potencionálního zdroje zaplevelení dalších plodin. Významným prvkem v strategii ochrany je založení a organizace porostu. Optimální hustota, dobré zapojení porostu a vyřazení konkurence plevelů v prvém roce pěstování jsou základem pro vysokou konkurenční schopnost travního porostu. V praxi jsou často opomíjeny mechanické způsoby regulace zaplevelení (vláčení plecími branami, osekávání porostů), které mají mimo proti plevelného působení příznivý vliv na zvýšení obecné konkurenční schopnosti trav. Využití všech dostupných metod je cestou k udržení plevelných populací pod hranicí škodlivosti a dosažení vysokých výnosů travních semen.

Dedikace

Příspěvek vznikl díky příspěvku MZe na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZe RO-1818.

Použitá 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.

Cagaš B., Macháč J., Frydrych J., Macháč R., 2006: Occurence of biotic harmful agents in Czech grass seed production (1995-2004). *Plant Protection Science*, 42: s. 58-65.

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. (2015) Ekologické travní semenářství. *Pícninářské listy* XXI. s. 32-34.

Macháč R., 2010: Problematické plevele v travách na semeno a možnosti jejich regulace. *Rostlinolékař* 3, 2010. s. 18-20.

Macháč R., 2013: Plevele trav pěstovaných na semeno. In: *Metodická příručka integrované ochrany rostlin proti chorobám, škůdcům a plevelům, Polní plodiny*. Česká společnost rostlinolékařská, 2013, s. 305-307.

Macháč R., 2018: Ochrana trav na semeno vůči plevelům. Certifikovaná metodika 2/2018, Zubří, 28 s.

Macháč R., Smočková M. 2013: Vliv způsobu výživy a ošetřování na zaplevelení porostů trav na semeno v ekologickém zemědělství. *Úroda* 12, 2013, vědecká příloha, s. 304-307.

Registr přípravků na ochranu rostlin, *Dostupné on line:* http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?type=0&vyhledat=A&stamp=1570436738665, ÚKZÚZ Brno

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, Rowarth J.S., Young W.C. III., Mueller-Warrant G.W., 1997: Grass Seed Crop Management. In: Fairey, D.T., Hampton, J.G. (eds.) *Forage Seed Production, Volume 1: Temperate Species*. CAB International, Wallingford, UK. 105-126 s.

Kontaktní adresa:

Ing. Radek Macháč, Ph.D.
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.
Hamerská 698, 756 54 Zubří
machac@oseva.cz

DYNAMIKA A TRENDY TEPLOTY VZDUCHU NA ÚZEMÍ ČESKÉ REPUBLIKY

Dynamics and trends of air temperature in the Czech Republic

Rožnovský J.[1,2], Střeštík J.

[1]*Český hydrometeorologický ústav, Brno*
[2]*Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta, Lednice*

Abstrakt
Současné podnebí je stále dynamičtější, což se projevuje častějšími výskyty meteorologických extrémů, navíc s rostoucí intenzitou. Průběh počasí v roce 27019 potvrdil, že výskyty vysokých teplot vzduchu na našem území pokračují. Z analýzy technických řad teploty vzduchu za období 1961 až 2017 vyplývá, že se zvyšují teploty vzduchu ve všech obdobích roku. Přitom v Čechách o něco více než na Moravě. Výskyty teplot vzduchu pod bodem mrazu na počátku a konci vegetace, tedy výskyty tzv. vegetačních mrazů, byly vždy v našich klimatických podmínkách nebezpečím. Vzhledem k tomu, že teplota vzduchu je rozhodujícím meteorologickým prvkem pro hodnoty evapotranspirace, zvyšuje se deficit vláhové bilance.
Klíčová slova: změna klimatu, teplota vzduchu, dlouhodobé změny, oteplování, mráz

Abstract
Current climate is more and more dynamic and consequences of this are more frequent meteorological extremes, which also tend to be more intense. Course of the weather in 2019 proved that extremes of air temperature occurrence in the Czech Republic continues. Analysis of air temperature technical series for the period between 1961 and 2017 showed that air temperatures are rising in all seasons, slightly more in Bohemia than in Moravia. Air temperatures below 0°C, the so-called vegetation period frosts, have always been a problem in the climate conditions of the Czech Republic. Given the fact that air temperature is the key meteorological parameter for the amount of evapotranspiration,
Keywords: climate change, air temperature**,** long-term change, warming, frost

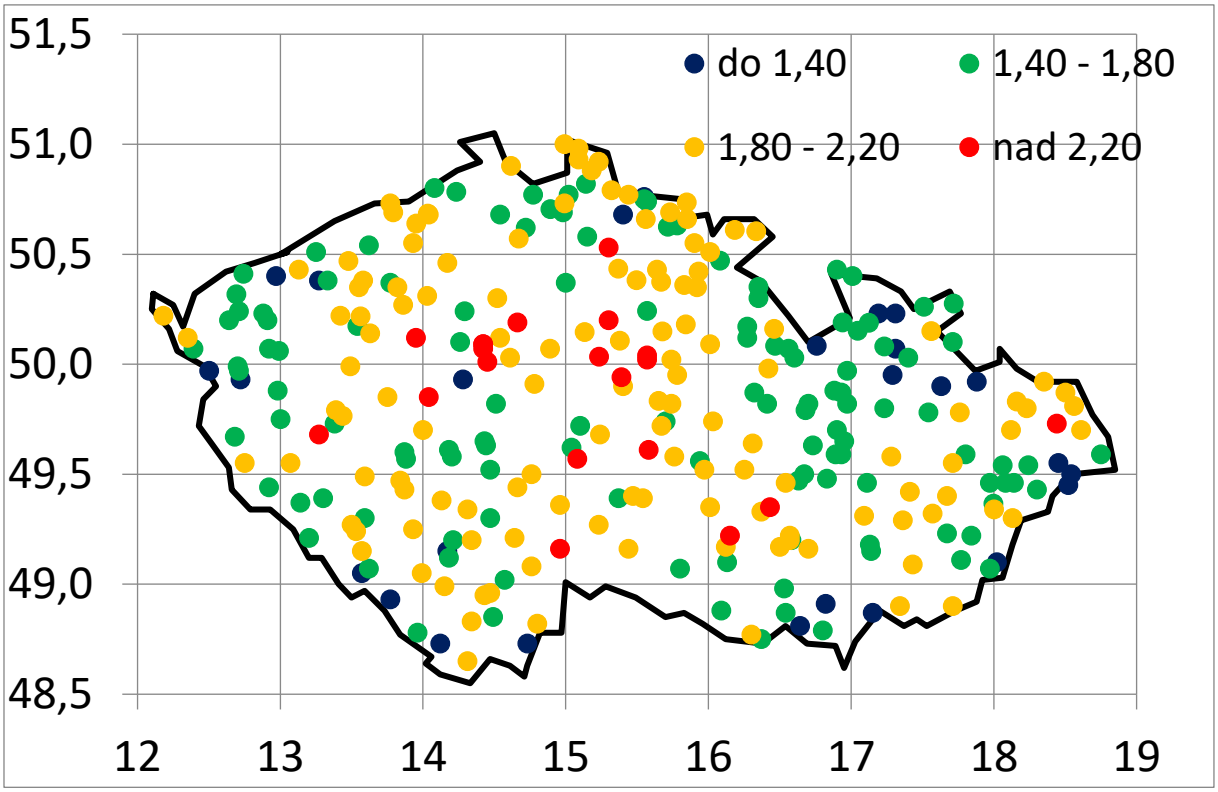
Úvod

Změnou klimatu se vědci zabývají již několik desetiletí. V posledních několika letech jsou projevy změny klimatu naší společností daleko více vnímány, než tomu bylo dříve. Pojem změna klimatu slyšíme stále častěji, je to určitě dáno tím, že se velké části naší společnosti dotkly výskyty sucha. Je obecně známo, že nejen pro lidi a přírodu, ale i pro hospodářství jsou škodlivé výskyty extrémních hodnot meteorologických prvků. K nim patří jak extrémně vysoké, tak nízké teploty vzduchu. Problematika vývoje podnebí na Zemi je předmětem studia mnoha klimatologů a dalších odborníků. Jejich výsledky jsou však určitými skupinami jiných odborníků zpochybňovány. Jak vyplývá z různých studií, tyto změny jsou příčinou zvyšující se četnosti výskytů extrémních stavů počasí. Probíhající změna klimatu je nejčastěji dokládána zvyšováním teploty vzduchu, hovoříme o tzv. globálním oteplování (Rožnovský, 2019).
Proměnlivost našeho podnebí je dána geografickou polohou a reliéfem našeho území. Jsme součástí mírného klimatického pásu, ovšem v oblasti přechodného klimatu středoevropského (Kolektiv autorů 1958). Významnou roli sehrávají cirkulační a geografické poměry. Po převážnou část roku u nás převládá vzduch mírného pásma, ale na našem území se projevuje v krátkých obdobích i vzduch tropický, ale také vzduch arktický. Atlantický oceán způsobuje, že oceanita našeho podnebí je vyšší v Čechách, kde jsou častěji mírnější zimy a chladnější léto,

srážky jsou rozděleny rovnoměrněji. Naopak kontinentalita je oproti Čechám vyšší na Moravě a ve Slezsku, kde jsou také větší teplotní amplitudy.
Z geografických podmínek mají vliv naše hory, které vytvářejí tzv. klimatické přehrady, kdy zčásti zabraňují vpádům studeného vzduchu od severu více v Čechách, ale vzhledem k západnímu proudění vyvolávají dešťový stín. Významnou roli pro naše počasí má cyklonální činnost, která ovlivňuje přechody atmosférických front přes naše území, a tím výskyt srážek. V Atlasu podnebí Československa (1958) a Podnebí ČSSR - Tabulky (1960) jsou uvedeny výstupy zpracování za období 1901 až 1950. Mapy klimatických prvků v Atlasu podnebí Česka (Tolasz et al., 2007) byly vypracovány z meteorologických údajů za období 1961 až 2000.
Od 80. let 20. století je pozorován významný nárůst teplot vzduchu a to ve všech sezónách s výjimkou podzimu (Střeštík et al., 2014). Převážný počet roků v posledním desetiletí měl extrémně vysoké teploty vzduchu. Jde o roky 2012, 2015, 2017, 2018, ale také 2019.
Ovšem pro naše podnebí jsou typické výskyty mrazů nejen v zimě, ale i na počátku a konci vegetačního období (Podnebí – Tabulky, 1961). V agroklimatologických hodnoceních jsou výskyty mrazů vždy zařazeny (Kurpelová et al., 1975). V letech 2011, 2015, 2017 a 2019 byly poškozeny rozsáhlé plochy ovocných sadů jarními mrazy. Ovšem projevy mrazů jsou významně ovlivněny mikroklimatem porostů (Rožnovský a Litschmann, 2003). Vysoké teploty vzduchu tedy nevylučují výskyty mrazů. Jejich škodlivost se naopak zvyšuje dřívějším nástupy vegetačního období (Zahradníček et al., 2017). Možné dopady změn našeho podnebí jsou studovány v širokých souvislostech již od devadesátých let minulého století, jak dokládají mnohé rozsáhlé studie (Brázdil a Rožnovský et al., 1995).

Materiál a metody
Výchozím materiálem byly hodnoty teploty vzduchu z klimatologických stanic Českého hydrometeorologického ústavu a jejich zpracování do tzv. technické řady zahrnující 268 stanic na území ČRPro tuto studii jsme vyhodnotili průměrné měsíční teploty vzduchu z 268 klimatologických stanic na území ČR za období 1961 až 2018. Stanoveny byly běžné statistické charakteristiky včetně trendové analýzy. V rámci studie jsme se zaměřili na výskyt vegetačních mrazů.

Výsledky
Dlouhodobá průměrná roční teplota vzduchu je nejčastěji používanou charakteristikou teplotních poměrů na našem území. Za období 1961 až 2010 se pohybovala od 0 °C (vrcholové polohy) až po 10 °C na jižní Moravě. Ovšem je nutné uvést, že teplejší než jižní Morava je centrální část Prahy, vlivem tepelného ostrova. Nejvyšší maximum teploty vzduchu na území ČR bylo naměřeno 20. 8. 2012 v Dobřichovicích, a to 40,4 °C. Nejnižší minimum teploty vzduchu, - 42,2 °C se vyskytlo v Litvínovicích u Českých Budějovic 11. února 1929. V průměru je nejchladnějším měsícem roku leden, nejteplejším měsícem červenec. Z analýzy průměrných ročních a měsíčních teplot vzduchu za období 1961 až 2010 vyplývá, že teploty vzduchu na našem území rostou.
Za sledované období se prokázal statisticky významný vzestup teploty vzduchu na celém území ČR, ovšem je odlišný v jednotlivých oblastech, v podstatě od zvýšení o 1,3 °C až přes 2,2 °C (Obr. 1). Nárůst teploty vzduchu je prokazatelný u všech měsíců v roce, takže i v jednotlivých ročních obdobích. Nejvyšší vzestup teploty vzduchu je v letním období, nejnižší potom na jaře a na podzim. Z hlediska dopadů změn klimatu je významný vzestup teploty v zimě. Je však nutné zdůraznit, že růst teploty vzduch vykazuje velkou dynamiku mezi jednotlivými roky, ale také v průběhu jednotlivých let, kdy jsou mnohé měsíce velmi rozdílné. Není výjimkou, že v roce jako celku velmi teplém jsou extrémní teploty minimální a v létě naopak maximální, např. rok 2003.



Obr. 1: Zvýšení průměrné roční teploty vzduchu (°C) na území ČR za obdob 1961 až 2017

Hlavně letní vzestup teploty vzduchu se podílí na růstu extrémních teplot vzduchu. Dochází ke zvýšení počtu tropických dnů, tedy denních maximálních teplot 30 °C a výše. Jejich počet v posledních letech překračuje dvojnásobek výskytů oproti průměrům za období 1961 až 2000. Zde je nutné zdůraznit, že je velký rozdíl mezi extrémy teploty vzduchu ve volné krajině a ve městech.

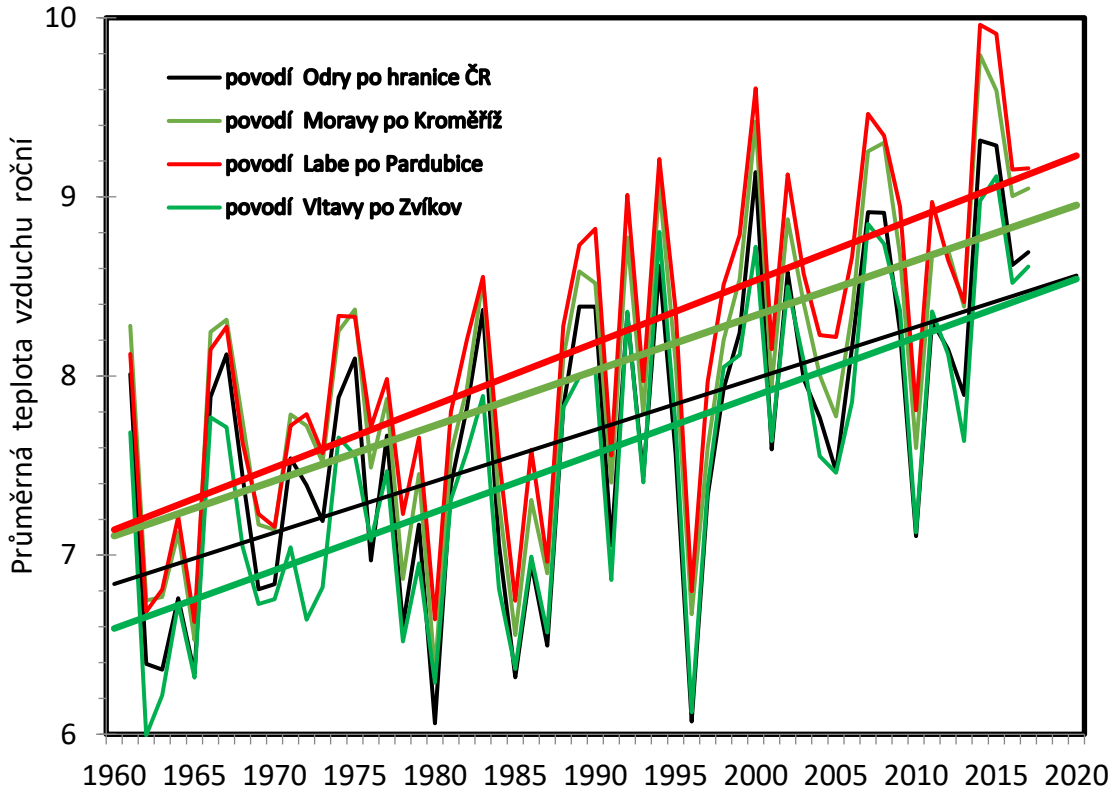
Průměrné hodnoty všech veličin uvádí Tabulce 1. V průměrné nadmořské výšce stanic nejsou velké rozdíly mezi povodími. Průměrným nadmořským výškám odpovídá i průměrná roční teplota vzduchu, která je nejvyšší v povodí Labe a nejnižší v povodí Vltavy, rozdíly jsou však jen něco přes půl stupně.

Tab. 1: Průměrné hodnoty teploty vzduchu v jednotlivých povodích

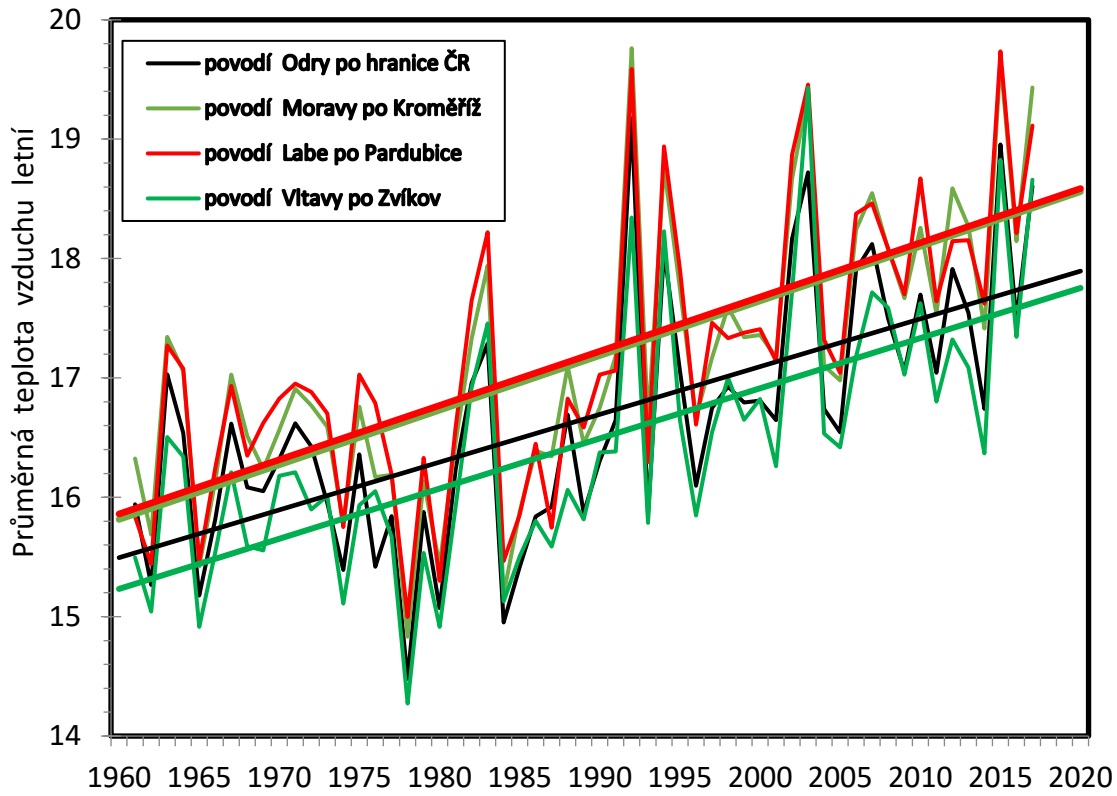
Průměrné hodnoty 1961–2017		Povodí Moravy	Povodí Odry	Povodí Labe	Povodí Vltavy
Nadmořská výška (m)		389	457	355	511
Teplota vzduchu (°C)	Roční Letní	8,00 17,14	7,67 16,65	8,15 17,14	7,55 16,41

Teplota vzduchu v průběhu sledovaného období roste na celém našem území, ale ne rovnoměrně. Více v Čechách než na Moravě, z toho nejméně v povodí Odry (Obr. 2). Letní teploty rostou více než celoroční, regionální rozdíly jsou menší (Obr. 3).

Hrozbou jsou výskyty extrémně vysokých teplot vzduchu, ale také extrémně nízkých teplot v průběhu zimy, hlavně při malé či žádné sněhové pokrývce, ale také vegetační mrazy. Vpády arktického vzduchu jsou příčinou škod působených mrazy jak v zimním, tak v jarním, méně v podzimním období. Prokazatelné oteplování, statistickými analýzami potvrzené, se projevuje i v zimním období, takže dochází k přerušení období vegetačního klidu a nástupu vegetace.



Obr. 2: Průběh průměrných ročních teplot vzduchu v povodích



Obr. 3: Průběh průměrných letních teplot vzduchu v jednotlivých povodích.

Potom následné vpády arktického vzduchu působí velké škody na porostech, ale také v průmyslu a dopravě. Dokladem je prudké ochlazení v závěru února roku 2003. Škody, hlavně v době kvetení ovocných stromů, vyvolaly vegetační mrazy v letech 2011, 2015 a 2017. Zde je nutné vnímat souvislosti s globálním oteplováním, kdy však vyšší teploty vzduchu a půdy vyvolávají časnější nástupy vegetace, ale také současně větší zranitelnost náhlým a silným ochlazením.

V České republice patří poslední roky v dlouhodobých teplotních řadách k těm nejteplejším. Díky velmi teplým zimám a i začátkům jarních měsíců se nám posouvá vegetační sezóna na dřívější období a díky tomu vegetace začíná rychleji svůj cyklus. V letech 2014 až 2019 podobně jako roky, patří i zimy k nejteplejším od roku 1800, takže i počátek vegetačního období byl v těchto letech dřívější. Zima 2015–2016 patřila mezi 4 nejteplejší zimy od roku 1800. Díky klimatické změně a dřívějšímu nástupu vegetačního období je vegetace v dubnu dále ve svém vývojovém stadiu, než tomu bylo například před 50 lety. Do toho se dostavuje často opakující se meteorologická singularita, jako je příliv velmi chladného arktického vzduchu od severu. Na změnu této meteorologické situace nemá klimatická změna přímý vliv, proto se tento jev bude opakovat nadále i při dalším oteplování zimních a jarních měsíců. Tím se stává pozdní jarní mráz čím dál větším rizikem pro naše zemědělce, protože může způsobit dalekosáhlejší fatální škody než v minulosti bylo zvykem.

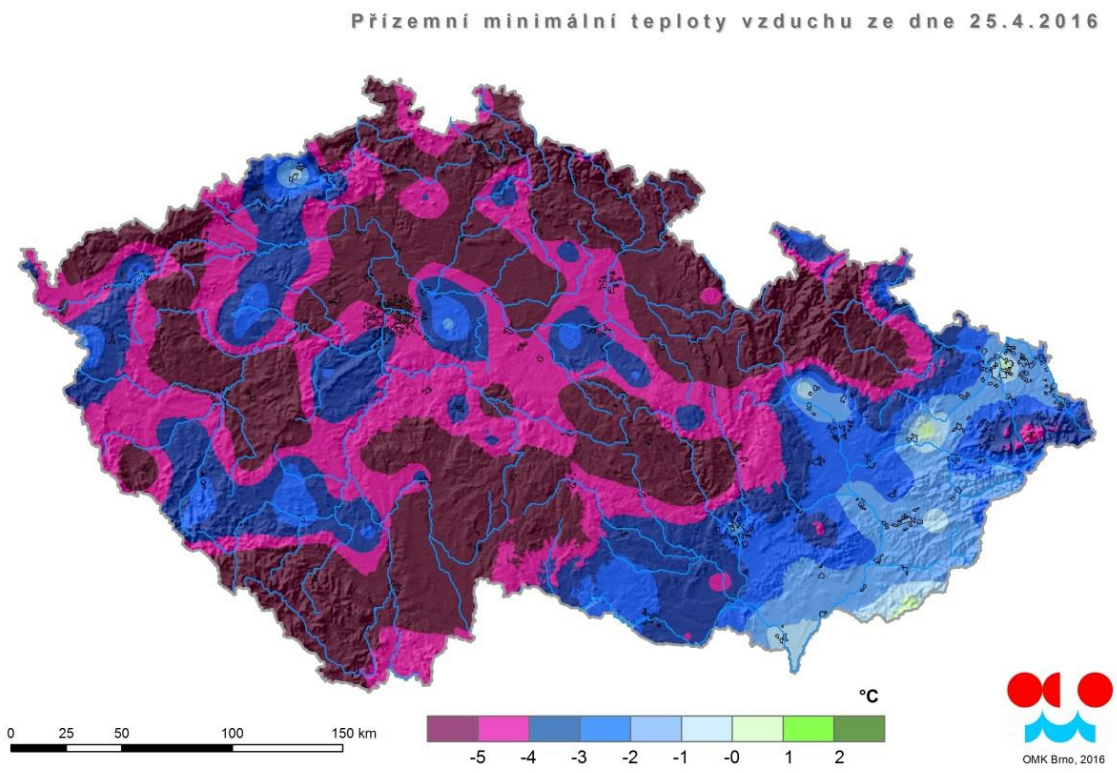
To nastalo i koncem dubna 2016, kdy po velmi teplé zimě a počátku jara přišel v posledních třetině dubna, tedy již relativně pozdě, příliv velmi studeného vzduchu ze severu. Přízemní minimální teploty vzduchu a i minimální teploty vzduchu měřené ve 2 metrech klesaly výrazně pod bod mrazu.

Následkem tohoto průběhu počasí došlo ke značným škodám v zemědělství, které podle odhadů byly o něco nižší než v roce 2011, kdy bylo zničeno 60 % všech ovocnářských výsadeb, a škody dosahovaly půl miliardy korun. Mezi nejvíce poškozené oblasti patřila v roce 2016 hlavně jižní Morava. Celkový odhad škod mrazy v roce 2016 činil 394 mil. Kč. Mezi nejpoškozenější odrůdy patřily meruňky, třešně, drobné ovoce a réva vinná.

Tab. 2: Procento plochy území ČR s výskytem různých kategorií minimálních a přízemních teplot vzduchu v období od 25–30. 4. 2016

Teplota	Minimální teplota vzduchu							Přízemní minimální teplota vzduchu						
vzduchu	25.4	26.4	27.4	28.4	29.4	30.4	MIN	25.4	26.4	27.4	28.4	29.4	30.4	MIN
< -5°C	2.5	3.3	0.1	0.3	2.7	1.0	6.4	38.6	41.1	1.3	36.9	66.3	17.6	85.8
-5°C až -4°C	3.4	5.0	0.4	0.8	4.5	1.1	10.1	25.6	12.3	4.9	25.2	21.5	19.1	11.6
-4°C až -3°C	7.1	12.5	5.2	5.0	22.8	3.1	35.1	17.6	16.2	18.9	22.2	9.0	27.9	2.4
-3°C až -2°C	27.2	19.2	3.7	27.2	34.8	4.7	37.3	9.5	15.4	27.3	12.6	2.2	22.4	0.2
-2°C až -1°C	37.9	14.3	8.0	36.5	28.3	14.4	9.8	7.1	8.6	13.6	2.9	0.8	9.4	0.0
-1°C až 0°C	14.6	19.4	20.9	19.8	6.0	27.3	1.1	1.4	4.9	12.7	0.2	0.2	2.0	0.0
0°C až 1°C	5.6	17.4	33.9	8.5	0.6	27.0	0.1	0.2	1.2	11.1	0.0	0.0	1.4	0.0
1°C až 2°C	1.7	8.0	18.8	1.7	0.2	15.1	0.0	0.0	0.2	5.8	0.0	0.0	0.2	0.0
> 2°C	0.0	0.9	8.9	0.2	0.0	6.2	0.0	0.0	0.0	4.3	0.0	0.0	0.0	0.0
< 0°C	**92.6**	**73.7**	**38.4**	**89.5**	**99.1**	**51.7**	**99.9**	**99.8**	**98.6**	**78.8**	**100.0**	**100.0**	**98.3**	**100.0**
> 0°C	**7.4**	**26.3**	**61.6**	**10.5**	**0.9**	**48.3**	**0.1**	**0.2**	**1.4**	**21.2**	**0.0**	**0.0**	**1.7**	**0.0**

Dne 25. 4. 2016 klesla minimální teplota vzduchu na 92 % území ČR pod bod mrazu a nejčastěji byla mezi -1 až -3°C (tab. 2). Nejnižší minima byla podle předpokladu na horách. Naopak moravské nížiny a úvaly si ještě udržovaly minimální teploty nad bodem mrazu. Naopak přízemní teplota vzduchu klesla na více než polovině území ČR pod -4°C a na celém území ČR byly hodnoty pod bodem mrazu (Obr. 4).



Obr. 4: Přízemní minimální teplota vzduchu ze dne 25. 4. 2016 na území České republiky

Dne 26. 4. 2016 se situace obrátila. Nižší minimální teploty vzduchu byly na Moravě než v Čechách. Celkově 74 % území ČR mělo nižší minima než 0°C. Nad bodem mrazu se ještě udržovaly teploty vzduchu hlavně v Polabí a závětrné straně Krušných hor. Naopak na Moravě většinou minimální teploty klesly mezi -2 až -3°C. To se projevilo i v rozložení přízemní teplot vzduchu, kdy byl zjištěn výrazný rozdíl mezi Moravou a Čechy. Prakticky na celé Moravě spadly přízemní minimální teploty pod -5°C.

Závěr

Předložená analýza teploty vzduchu dokládá, že na našem území se prokazatelně teplota vzduchu zvyšuje, a to jak roční průměry, tak jednotlivých měsíců, takže i ve všech ročních obdobích. Jistě, že jsou mezi měsíci i roky dílčí rozdíly v hodnotách zvýšení. Na všech obrázcích je však vidět silné kolísání mezi jednotlivými roky, které je často mnohem větší než dlouhodobá změna. Růst teploty vzduchu byl všude aproximován přímkou, která prokazuje statisticky významný růst. Je tedy třeba počítat s tím, že naznačené trendy budou pokračovat dál i v příštích desetiletích.

Lze konstatovat, že:

a) Průběh průměrné roční teploty vzduchu za období 1961 až 2017 má vzestupný trend.

b) Narůstá dynamika teplot vzduchu, typickým příkladem je rok 2003, který měl v únoru mimořádný výskyt holomrazů, ale jako celek byl velmi až mimořádně teplý.

c) Zvyšování teploty vzduchu se liší v jednotlivých ročních obdobích. Nejvíce se teplota zvyšuje v létě (0,4 ^{o} C/10 let), naopak pro podzim je vzestup malý (méně než 0,1 ^{o} C/10 let). Roční nárůst průměrné teploty vzduchu představuje za období 1961 až 2010 necelé 0,3 ^{o} C/10 let.

d) Přes naše malé území, jsou regionální rozdíly. V letních měsících se teplota zvyšuje nepatrně rychleji na území Moravy, v zimě a na jaře na území Čech.

e) Zvyšováním teploty vzduchu dochází k výskytu vyšších teplotních extrémů, roste počet letních dnů, ale i dnů tropických. Přes snižování počtu dnů mrazových a ledových však nelze vyloučit výskyty dnů arktických, a tím vysoké škody na porostech.

S prokazatelným růstem teploty vzduchu musíme počítat i do budoucna. Dojde také zákonitě i ke změnám hodnot dalších meteorologických prvků. Musíme si však uvědomit, že teplota vzduchu ovlivňuje vzdušnou vlhkost, ale také evapotranspiraci. Jejím nárůstem bude docházet ke stále většímu rozdílu mezi množstvím srážek a evapotranspirací, tedy ke stálejším výskytům sucha.

Poděkování

Příspěvek vychází z řešení projektu Technologické agentury České republiky „Revitalizace zemědělské půdy v oblastech ČR ohrožených suchem“, TH02030073 a Národní agentury zemědělského výzkumu, projekt registrační číslo QK1720285 „Metody korekce vláhových potřeb plodin zohledňující scénáře změn klimatu území ČR pro optimalizaci managementu závlah“

Použitá literatura

Kolektiv autorů, 1958: Atlas podnebí Československé republiky. Ústřední správageodézie a kartografie, Praha.

Kolektiv, 1961: Podnebí ČSSR - Tabulky. HMÚ Praha 1961, 379 s.

Kurpelová M., Coufal L., Čulík, J., 1975: Agroklimatické podmienky ČSSR. Bratislava, Príroda, 270 s.

Střeštík, J., J. Rožnovský, P. Štěpánek A P. Zahradníček, 2014: Increase of annual and seasonal air temperatures in the Czech Republic during 1961-2010. In: Rožnovský, J. a T. Litschmann eds. Mendel and Bioclimatology. Conference proceedings, Brno, 3rd-5rd Sep. 2014 [CD]. Brno: 2014. ISBN 978-80-210-6983-1.

Štěpánek, P., Zahradníček, P., 2008: Experiences with quality control and homogenization of daily series of various meteorological elements in the Czech Republic, 1961-2007. Genova: In: Proceedings of the Sixth seminar for homogenization and quality control in climatological databases (Budapest, 25. - 30. May 2008), WCDMP,WMO, 2008. p

TOLASZ, R., et al., 2007: Atlas podnebí Česka. Český hydrometeorologický ústav, Univerzita Palackého v Olomouci, 255 s. ISBN 978-80-86690-26-1 (CHMI), 978-80-244-1626-7 (UP).

Zahradníček, P., J. Rožnovský, P. Štěpánek A F. Chuchma, 2017: Výskyt silných mrazů koncem měsíce dubna 2016 s ohledem na škody způsobené v ovocnářství. In: *Mrazy a jejich dopady – sborník abstraktů z mezinárodní konference, Hrubá Voda 26.–27. 4. 2017*. Praha: Český hydrometeorologický ústav, 2017. ISBN 978-80-87577-69-1.

Kontaktní adresa:

RNDr. Ing. Jaroslav Rožnovský, CSc.
Český hydrometeorologický ústav, pobočka Brno
Kroftova 43
616 67 Brno
mobil: 724 185 617, e-mail: jaroslav.roznovsky@chmi.cz

ZKUŠENOSTI S TECHNOLOGIÍ AEROPONIE PŘI MNOŽENÍ SADBY BRAMBOR

Experience with aeroponic technology in potato propagation

Čížek M., Komárková Z., Krpálková A.

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod

Abstrakt

Aeroponie je metoda pěstování rostlin ve vzdušném nebo mlžném prostředí bez použití půdy nebo agregovaného živného média (Farran and Mingo-Castel, 2006). Jedná se o alternativní metodu kultivace bez půdy v kontrolovaném prostředí. U brambor se uplatňuje zejména při novošlechtění a množení sadby bramboru. Důvodem je snaha o minimalizaci počtu cyklů polního množení kvůli jeho nízké efektivitě a riziku infekce sadby původci chorob spojené s mnoha cykly polního přemnožování (Chiipanthenga et al., 2013). V tomto příspěvku jsou uvedeny zkušenosti s využitím technologie aeroponie pro produkci sadbových minihlízek bramboru. Po dvou letech provozu aeroponické jednotky ve VÚB Havlíčkův Brod byl zjištěn statisticky průkazný vliv živného roztoku a odrůdy bramboru na délku kořenů rostlin bramboru (0,40 – 0,65 m; 0,65 – 0,85 m). Počet hlíz byl výrazně ovlivněn složením živného roztoku a odrůdou pouze v roce 2018. Statistické průkaznosti bylo dosaženo u obou živných roztoků a odrůd Adéla a Zuza. Hmotnost hlíz nebyla statisticky průkazně ovlivněna ani odrůdou, ani složením živného roztoku. Délka stolonů byla hodnocena pouze v roce 2019; statisticky průkazně byla ovlivněna odrůdou a složením živného roztoku (0,10 – 0,23 m; 0,17 až 0,23 m).

Klíčová slova: aeroponie, minihlízky, kořeny, stolony, aeroponická jednotka

Abstract:

Aeroponics is the method of growing plants in an air or foggy environment without the use of soil or nutrient media (Farran and Mingo-Castel, 2006). It is an alternative method of cultivation without soil in a controlled environment. For potatoes it is used especially for the breeding and multiplication of potato seed. The reason for this is to minimize the number of field propagation cycles due to its low efficiency and the risk of plant disease infection associated with many cycles of field overgrowth (Chiipanthenga et al., 2013). This paper presents experience with the use of aeroponic technology for the production of seed potato mini-tubers. After two years of operation of the aeroponic unit in VUB Havlíčkův Brod, a statistically significant effect of nutrient solution and potato variety on the root length of potato plants (0.40 - 0.65 m; 0.65 - 0.85 m) was found. The number of tubers was significantly influenced by the composition of the nutrient solution and the variety only in 2018 year. Statistical conclusiveness was achieved in both nutrient solutions and varieties Adéla and Zuza. The weight of the tubers was not statistically significantly affected by the variety or composition of the nutrient solution. The length of stolons was evaluated only in 2019; it was statistically significantly influenced by the variety and composition of the nutrient solution (0.10 till 0.23 m; 0.17 - 0.23 m).

Keywords: aeroponics, minitubers, roots, stolons, aeroponic unit

Úvod

Aeroponické systémy mají následující výhody: vyšší efektivitu využití vody a živin, snadno sledovatelné kořeny, prostorové omezení růstu a zvýšené okysličování kořenového systému a vyšší produktivitu kvalitních minihlízek (Muthoni and Kabira, 2014). Za účelem optimalizace aeroponických systémů bylo studováno mnoho faktorů ovlivňujících růst rostlin, jako je teplota kořenové zóny, pH, vodní stres, přívod dusíku, elektrická vodivost živného roztoku, hustota rostlin a intervaly sklizně a přerušení dodávky živin (Farran a Mingo-Castel, 2006). Aeroponie je však také omezena vyšší citlivostí ke změnám teploty a vlhkosti, poruchami, ke kterým může dojít v důsledku zablokování postřikovacího systému, usazováním přebytečných solí, selháním kontrolního systému a úplnou ztrátou produkce (Tierno et al., 2014). Délka pěstebního cyklu u brambor je odrůdově specifická, minimálně 4 měsíce. Je přibližně o 1 -2 měsíce delší, než při pěstování v polních podmínkách (Otazú, V., 2010). V průběhu roku je možné realizovat více aeroponických cyklů. Aeroponický cyklus u brambor je možné orientačně rozdělit na výsadbu výchozích rostlin; aklimatizaci rostlin bez viditelného růstu nadzemních orgánů (0 – 3 týdny po výsadbě); intenzivní tvorbu biomasy; počátek tuberizace; intenzivní tuberizace starších porostů. Hlízy jsou postupně sklízeny po dosažení požadované velikostní kategorie. Pěstování brambor v aeroponii je odrůdově specifické (zejména rané a polorané odrůdy, Tierno et al., 2014), což potvrzují i výsledky z provozu aeroponických jednotek ve Výzkumném ústavu bramborářském.

Materiál a metody

Vstupním rostlinným materiálem byly v letech 2018 a 2019 ve Výzkumném ústavu bramborářském tři odrůdy brambor. Jedná se o odrůdy Adéla (raná, dále R), Ornella (polopozdní, dále PP) a Zuza (poloraná, dále PR). Dostatečný počet *in vitro* rostlin byl získán metodou nodálního řízkování v podmínkách *in vitro* a kultivací na médiu. Tkáňové kultury byly vysazeny do perlitu, po dostatečném zakořenění rostliny byly přesazeny do aeroponické jednotky ve sponu 0,25 x 0,25 m, v počtu 80 ks každé odrůdy (21 dní po vysazení). V aeroponické jednotce byly sklizeny hlízy o hmotnosti nad 1 g (velikosti 1 – 3 cm) až do doby přestárnutí porostů (80 – 108 dní po sázení). V roce 2018 proběhla pouze jedna finální sklizeň, zatímco v roce 2019 to bylo 4 (Ornella), 5 (Zuza) a 6 sklizní (Adéla) v týdenních intervalech.

Stejně jako v roce 2018, i v následném roce byly aplikovány speciální roztoky živin určené přímo pro aeroponii, pro porovnání pak byl připraven živný roztok, jehož složení bylo upraveno dle Otazú, V., 2010. Během aeroponického cyklu bylo průběžně upravováno pH roztoku (průměrně 5,8) a konduktivita (na začátku cyklu 0,9 mS/cm, později 1,2 mS/cm a na počátku tvorby minihlízek zvýšení na hodnotu na 1,8 mS/cm). Vliv odrůdy a živných roztoků byl sledován u kořenů (délka v m), počtu minihlízek (ks), hmotnosti minihlízek (g) a délky stolonů (m). Vzhledem k odlišné délce aeroponického cyklu a počtu sklizní byly roky 2018 a 2019 hodnoceny zvlášť.

Výsledky a diskuse

Kořeny: délka kořenů byla měřena u každé odrůdy ve čtrnáctidenních intervalech; byla sledována reakce na složení živného roztoku (nádrž 1 a 2) a podle odrůd (Obr. 1a a 1b). Hodnocena byla podle vlastní stupnice hodnocení (uvedena v příloze). V roce 2018 dosahovala v živném roztoku nádrže 1 hodnot 3,5 (0,40 – 0,50 m až 4,2 (0,65 m), u všech tří odrůd bylo

výsledky statisticky průkazné. V živném roztoku nádrže 2 byly kořeny výrazně delší, v rozmezí hodnot 4,7 (0,75 m) až 5,3 (0,85 m). Statistické průkaznosti bylo dosaženo mezi odrůdami Adéla a Zuza, průkazné bylo i prodloužení kořenů vlivem složení živného roztoku (nádrž 1 a 2). V roce 2019 bylo dosaženo statistické průkaznosti mezi vlivem složení živného roztoku na délku kořenů u odrůdy Ornella. V živném roztoku nádrže 1 byly kořeny u odrůdy Ornella průkazně delší, než u odrůd Adéla a Zuza. Délka kořenů se pohybovala v rozsahu 1,74 (0,34 m) a 6,00 (více než 1,00 m); v živném roztoku nádrže 2 byla délka kořenů od 1,38 (0,28 m) do 6,00 (více než 1,00 m). Při hodnocení vlivu odrůdy na délku kořenů, průkazný vliv byl prokázán u odrůdy Ornella oproti odrůdám Adéla a Zuza. Závěry Wang et al. (2017), že délka kořenů je různá podle složení živného roztoku a podle stupně ranosti odrůdy bramboru, se tak potvrdily v obou letech sledování.

Hmotnost hlíz: na hmotnost hlíz měly v roce 2018 vliv především odrůdy, rozdíly mezi živnými roztoky byly pouze tendenční ve prospěch nádrže 2 (Obr. 2a a 2b). Nejvyšší hmotnosti minihlízek na 1 sklizeň dosáhla odrůda Ornella (51,5 g), nejmenší odrůda Adéla v obou živných roztocích (10,0, respektive 20,6 g). Statistické průkaznosti bylo dosaženo mezi odrůdami, zejména mezi odrůdami Adéla a Zuza. V roce 2019 nebyl prokázán statisticky průkazný vliv odrůdy bramboru a živného roztoku na hmotnost hlíz na 1 sklizeň. Nejvyšších hmotností hlíz dosahovala odrůda Adéla do čtvrté sklizně (21,0 – 27,6 g), nejhůře hodnocena byla odrůda Ornella (7,7 – 16,1 g). Složení živného roztoku nemělo vliv na hmotnost minihlízek. Z prací Farran et al. (2006) a Mateus-Rodríguez et al. (2012) mj. vyplývá, že výnos minihlízek se pohyboval v rozmezí od 27,7 do 42,1 g na rostlinu při opakovaných sklizních po 14 dnech. Autoři dále uvádí, že mezi odrůdami existuje značná variabilita, pokud jde o jejich reakci a pěstování v aeroponickém systému za stejných podmínek.

Počet hlíz na 1 sklizeň: byl v roce 2018 výrazně ovlivněn složením živného roztoku a odrůdou (Obr. 3a a 3b). Nejvíce minihlíz měly odrůdy Zuza a Ornella, zatímco Adéla pouze 1,6. Statistické průkaznosti bylo dosaženo u obou živných roztoků a odrůd Adéla a Zuza. V roce 2019 nebyl prokázán statisticky průkazný vliv odrůdy bramboru ani složení živného roztoku na počet minihlízek. Nejvíce minihlízek vytvořily odrůdy Adéla a Ornella (61,3 – 77,5) v obou živných roztocích, zatímco odrůda Zuza v živném roztoku v nádrži 1 pouze 45,2 minihlízek. Tierno et al. (2014) rovněž uvádí rozdíly mezi odrůdami (Agria, Monalisa, Zorba), se zvýšením počtu minihlíz o 60 – 70 % oproti klasické technologii.

Délka stolonů: byla statisticky hodnocena pouze v roce 2019 (Obr. 4). Statistické průkaznosti bylo dosaženo u živného roztoku nádrže 1 mezi odrůdami Ornella (0,33 m) a Adéla (0,30 m) oproti odrůdě Zuza (0,46 m); u živného roztoku nádrže 2 mezi odrůdami Ornella (0,17 m) a Zuza (0,20 m) oproti odrůdě Adéla (0,42 m). Dá se tedy konstatovat, že na délku stolonů má vliv jak složení živného roztoku, tak i odrůda bramboru. Pathania et al. (2016) k tomu uvádí, že mezi odrůdami byly pozorovány rozdíly v době tvorby stolonů a počtu vytvořených stolonů.

Závěry

Technologie aeroponie je dle Wanga et al. (2017) nejlepší dostupnou technologií pro produkci sadbových hlíz (minihlízek). Technologie bez použití půdy vylučují riziko nemocí přenášených v půdě, což vytváří vysokou poptávku po těchto sadbových bramborách. Ve dvou letech provozu aeroponické jednotky ve VÚB Havlíčkův Brod byl statisticky prokázán vliv živného

roztoku na délku kořenů, v roce 2019 i na délku stolonů. Živný roztok speciálně určený pro aeroponii měl statisticky průkazně vyšší vliv než roztok připravený dle Otazú, 2010. Stejně tak byl statisticky průkazně vyhodnocen vliv odrůdy bramboru na sledované parametry. U hmotnosti hlíz na 1 sklizeň nebyl prokázán statisticky průkazný vliv složení živného roztoku a odrůdy bramboru; počet minihlízek byl průkazně ovlivněn odrůdou a složením živného roztoku pouze v roce 2018.

Poděkování

Tento příspěvek je součástí řešení výzkumného projektu č. TH03010504 (Integrace technologie aeroponie do produkce vybraných zemědělských plodin) financovaným Technologickou agenturou ČR.

Literatura

Chiipanthenga, M., Maliro, M., Demo, P., Njoloma, J., Khumar, N.: Performance of different potato genotypes under aeroponics system. Society for the Advancement of Horticulture, Lucknow, India, Journal of Applied Horticulture (Lucknow), 2013, Vol. 15, No. 2, pp. 142-146.

Farran, I., Mingo-Castel, A. M.: Potato minituber production using aeroponics: effect of plant density and harvesting intervals. Potato Association of America, Orono, USA, American Journal of Potato Research, 2006, Vol. 83, No. 1, pp. 47-53.

Otazú, V., 2010: Manual on quality seed potato production using aeroponics. International Potato Center (CIP), Lima, Peru. 44 p.

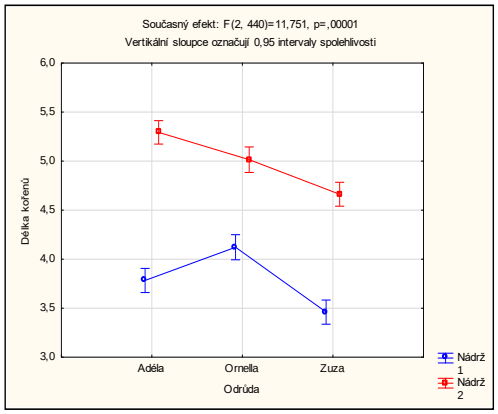
N. Pathania, P. Trevorrow, M. Hughes and E. Jovicich, 2016. Optimization of aeroponic technology for future integration in quality potato seed production systems in tropical environments. Acta Horticulturae (1118), pp. 31-38. ISSN 0567-7572.

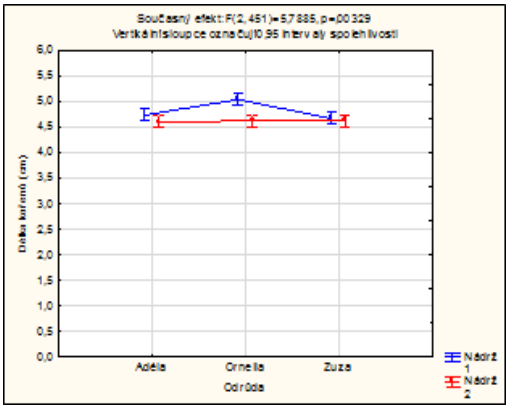
Muthoni, J., and J. Kabira. 2014. Multiplication of seed potatoes in a conventional potato breeding programme: A case of Kenya's national potato programme. Australian Journal of Crop Science 8 (8): 1195–1199.

Tierno, R., Carrasco, A., Ritter, E., Ruiz de Galarreta, J. I.: Differential growth response and minituber production of three potato cultivars under aeroponics and greenhouse bed culture. Springer Science + Business Media, Inc (Springer), New York, USA, American Journal of Potato Research, 2014, Vol. 91, No. 4, pp. 346-353.

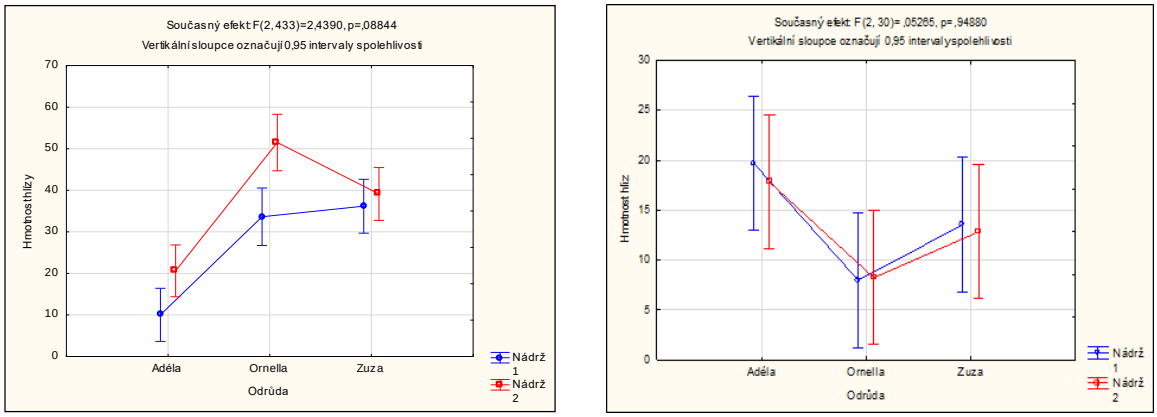
Wang, K., W. He, Y. Ai, J. Hu, K. Xie, M. Tang, Y. Wang, and P. Vander Zaag. 2017. Optimizing seed potato production by aeroponics in China. Philippine Journal of Crop Science 42: 54–59.

Obr. 1a, b: Vliv odrůdy a živného roztoku na délku kořenů brambor v technologii aeroponie (2018, 2019)

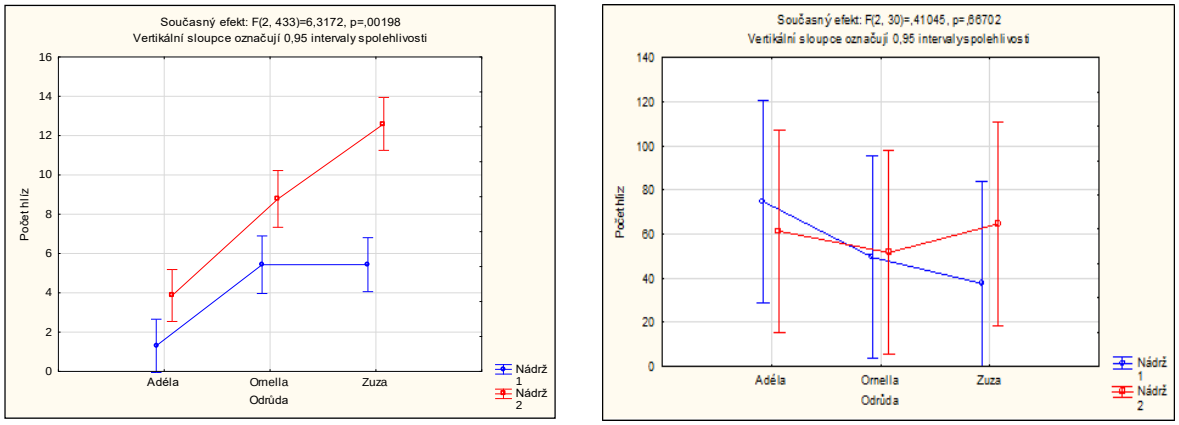




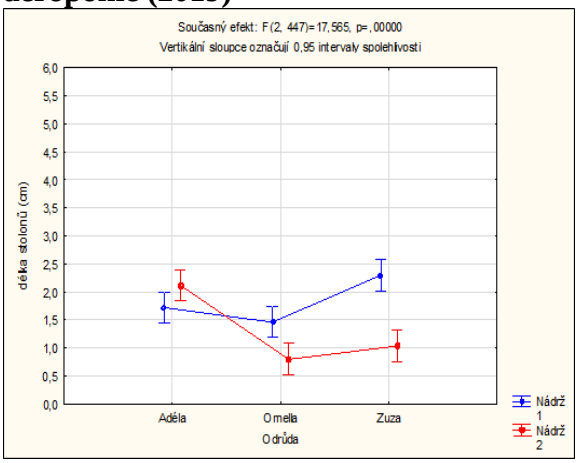
Obr. 2a a b: Vliv odrůdy a živného roztoku na hmotnost minihlízek brambor v technologii aeroponie (2018, 2019)



Obr. 3a a b: Vliv odrůdy a živného roztoku na počet minihlízek brambor v technologii aeroponie (2018, 2019)



Obr. 4: Vliv odrůdy a živného roztoku na délku stolonů brambor v technologii aeroponie (2019)



Příloha:

Stupnice pro hodnocení rostlin v aeroponii (délka kořenů, stolonů, m):

1: 0 – 0,20
2: 0,21 – 0,40
3: 0,41 – 0,60
4: 0,61 – 0,80
5: 0,81 – 1,00
6: více než 1,00

Kontaktní adresa:

Ing. Milan Čížek, Ph.D.
Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod
Dobrovského 2366
58001 Havlíčkův Brod
Tel.: 569466215, 776156327
e-mail: cizek@vubhb.cz

HODNOCENÍ KOMPOSTŮ S DŮRAZEM NA PRŮBĚH PROCESU A VÝSLEDNOU KVALITU

Ratings composts with the emphasis on the process and the final quality

Zatloukal P., Čížková A., Zemánek P., Mašán V.

Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta Lednice

Abstrakt

Práce se zabývá problematikou optimalizace a ověření receptur kompostových zakládek s různým zastoupením dostupných zahradnických odpadů (matoliny, odpad ze zeleniny, travní hmota, sláma a piliny) s důrazem na průběh kompostovacího procesu a výslednou kvalitu kompostu vyjádřenou obsahem živin. Získané výsledky odpovídají požadavkům normy pro průmyslové komposty ČSN 46 5735 a dokládají, že komposty mohou být z hlediska obsahu živin adekvátní náhradou nedostatkových organických hnojiv.

Klíčová slova: kompostování, receptura zakládky, kvalita kompostu

Abstract

The contribution deals with the optimization and verification of compost fill recipes with various content of available garden waste (marc, vegetable waste, grass matter, straw and sawdust) with an emphasis on the composting process and the resulting quality of compost expressed in nutrient content. The results obtained comply with the requirements of the standard for industrial composts ČSN 46 5735 and show that composts can be an adequate substitute for scarce organic fertilizers in terms of nutrient content.

Keywords: composting, compost filling recipes, quality of compost

Úvod

Problematika biologicky rozložitelných odpadů (BRO) je v současnosti aktuální především díky Směrnici Rady 1999/31/ES, o skládkách odpadů, která ukládá členským státům EU omezit množství biodegradabilního odpadu ukládaného na skládky a pro biologicky rozložitelný komunální odpad (BRKO) stanovuje pro dané časové intervaly procentuální snížení množství skládkovaného BRKO. Důvody pro tato omezení jsou zcela jasné – „skládková“ Směrnice EU považuje omezení množství sládkovaného BRKO za klíčovou strategii při snižování emisí metanu a omezování škodlivých průsaků ze skládek.

Účelnou a efektivní přeměnu zbytkové biomasy představuje kompostování, které je z celospolečenského hlediska nejpřirozenější a ekologicky nejvhodnější formou přeměny a zhodnocení různých druhů organického materiálu. Kompostovací proces významně zrychlí tlení zpracovávané biomasy a vytvoří materiál důležitý pro zlepšování půdních vlastností. (Plíva et al., 2005)

Surovinová skladba kompostovací zakládky je jedním ze základních předpokladů správného průběhu kompostování. Zastoupení jednotlivých surovin může zásadním způsobem ovlivnit zejména fyzikální a chemické vlastnosti výsledného kompostu i délku kompostovacího procesu (Spiers, Fietje, 2000). Surovinová skladba může rovněž výrazně ovlivnit průběh hlavních faktorů kompostovacího procesu. Jedná se zejména o teplotu a vlhkost zakládek. Zastoupení surovin je proto nutné optimalizovat tak, aby byly splněny hygienizační aspekty a výsledný kompost svým účinkem dlouhodobě zvyšoval úrodnost půdy (Ribero et al., 2000).

Cílem práce byl návrh a ověření receptur kompostových zakládek s různým podílem vybraných zahradnických odpadů při současném hodnocení hlavních parametrů ovlivňujících průběh rozkladného procesu a kvalitu výsledného kompostu.

Materiál a metody

Experimentální zákládky

Pro potřeby experimentálních měření byly vstupní suroviny formovány do pásových zakládek trojúhelníkového profilu se šířkou základny 1,5 m a výškou 0,6 m. Délka každé zakládky podle hodnocených variant byla 15 m. Překopávání zakládek bylo realizováno pomocí traktorového překopávače Euro Bagging HP 2,5 v agregaci s traktorem Zetor Crystal 8011.

Surovinové složení zakládek

Receptura zakládek byla navržena ve třech variantách respektujících množství a dostupnost zahradnických odpadů. Tyto varianty byly vhodně doplněny o ostatní složky v různém poměru, tak aby byl dosažen optimální poměr C:N = 35:1, jak naznačuje Tab. 1. Zastoupení obsahových látek bylo stanoveno laboratorně.

Tab. 1: Surovinové složení zakládek

Surovina	Obsah látek				Podíl suroviny dle varianty (%)		
	Vlhkost (%)	Org. látky (% sušiny)	N (% sušiny)	P_2O_5 (% sušiny)	I	II	III
Matoliny	75,2	91,5	1,8	0,4	10	30	50
Odpad ze zeleniny	88,4	89,2	1,7	0,9	30	20	10
Travní hmota	60,5	90,4	1,0	0,6	35	25	15
Sláma	14,3	94,5	0,5	0,1	20	20	20
Piliny	44,7	98,3	0,1	0,1	5	5	5
Poměr C:N	-	-	-	-	35,5:1	35,2:1	35,7:1

Měření a hodnocení faktorů kompostovacího procesu

Teplota byla v průběhu kompostovacího procesu měřena vždy ve stejném místě pomocí zapichovacího teploměru SANDBERGER GTH 1150. Od založení zakládky byla teplota měřena v týdenních intervalech. Teplota byla měřena vždy ve středu profilu v hloubce 0,25 a 0,50 od koruny zakládky.

Sledování vlhkosti

Vlhkost kompostu byla snímána v hloubce 0,4 m od koruny zakládky pomocí snímače VIRRIB. Snímače v jednotlivých zakládkách byly napojeny na registrační zařízení naměřených dat VIRRIBLOGGER. Při poklesu vlhkosti v zakládkách pod 40 % byla provedena úprava vlhkosti prolitím vodou.

Rozbor živin

Stanovení obsahu živin proběhlo podle normy pro průmyslové komposty ČSN 46 5735 a v souladu s vyhláškou ÚKZÚZ č. 475/2000 Sb. Vlastní rozbor probíhá z důvodů velkého množství organických látek podle Morgana. Při stanovení dusíku (N) se čerstvý vzorek kompostu o hmotnosti 10 g se zalije 30 ml koncentrovanou kyselinou sírovou, přidá se peroxid vodíku a spaluje se na mineralizátoru do odbarvení vzorku. Poté se převede do 250 ml odměrných baněk, doplní destilovanou vodou a měří se destilací vodní parou dle Kjeldahla na přístroji Vapodest. Při stanovení dalších živin se z důvodů velkého množství organických látek

postupuje podle Morgana. Pro rozbory byla využita analýza směsných vzorků o hmotnosti 10 g v kombinaci s Gohlerovým roztokem (octan sodný a kyselina octová) a aktivním uhlím. Po naředění se roztok měří na atomovém absorpčním spektrometru (Mg, K) a spektrofotometru (P).

Stanovení pH

Do Erlenmeyerovy baňky se vloží 10 g vzorku kompostu a zalije 50 ml $CaCl_2$ poté se tato směs 60 minut třepe na třepačce a následně je výluh měřen pomocí pH metru.

Stanovení C_{ox} a humusu

Do 150 ml kádinky se naváží 0,2 g pomletého vzorku kompostu, ke kterému se přidá 10 ml chromsírové směsi a obsah se společně lehce krouživým pohybem promíchá tak, aby kompost neulpěl na stěnách. Současně se do třech kádinek odměří 10 ml chromsírové směsi jako slepý vzorek. Všechny čtyři kádinky se přikryjí hodinovými sklíčky a na podnosu vloží po dobu 45 minut do sušárny při 125 °C. Po vyjmutí ze sušárny se nechají kádinky cca 10 minut vychladnout a obsah každé z nich je následně zředěn destilovanou vodou na objem cca 70 ml. Zředěný vzorek včetně slepých vzorků je následně titrován 0,1M roztokem Mohrovy soli do šedého zbarvení.

Vzorec pro výpočet C_{ox}:

$$\boldsymbol{C_{ox} = \frac{(a-b)\cdot f \cdot 0,03}{m}} \quad (\%)$$

kde: a - spotřeba 0,1M roztoku Mohrovy soli u slepého vzorku - průměr tří hodnot (ml)
b - spotřeba 0,1M roztoku Mohrovy soli u stanovovaného vzorku (ml)
f - faktor Mohrovy soli
m - průměrná délka kořínků kontroly (mm)

Vzorec pro výpočet obsahu humusu:

$$\% \boldsymbol{humusu = 1,724 \cdot C_{ox}}$$

Metody statistického vyhodnocení

K vyhodnocení průkaznosti rozdílů mezi hodnocenými variantami byly použity základní statistické ukazatele tj. aritmetický průměr, směrodatná odchylka, analýza variance (hladina významnosti α = 0,05). Jako metoda následného testování byl použit Tukeyův test na hladině významnosti α = 0,05. Uvedené metody statistického vyhodnocení byly aplikovány pomocí počítačového softwaru 'Statistica 12.0' (StatSoft Inc., USA).

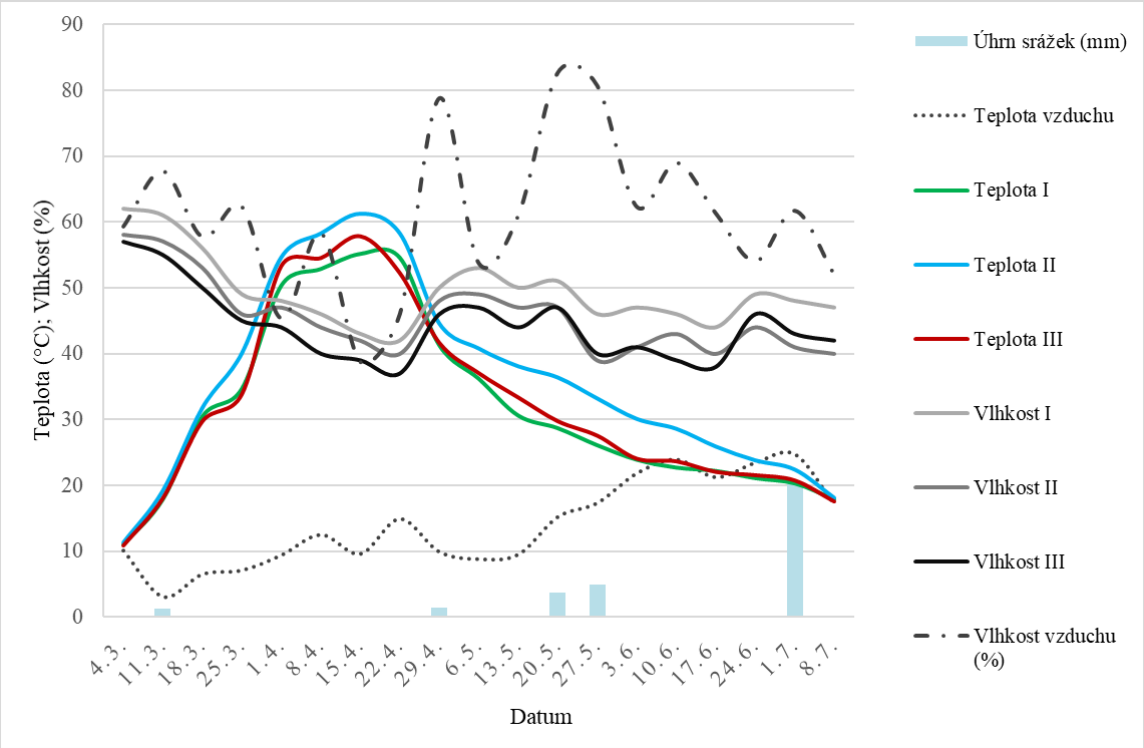
Výsledky a diskuze

V grafu 1 je znázorněn průběh teploty a vlhkosti u jednotlivých variant zakládek, společně s hlavními meteorologickými faktory tj. úhrn dešťových srážek, teplota a vlhkost vzduchu.
Ranalli et al. (2001) uvádí, že teplota představuje jeden z nejvýznamnějších monitorovacích parametrů kompostovaího procesu, protože má přímou vazbu na rozvoj a aktivitu mikroorganismů, které se podílejí na rozkladu surovin. Norma ČSN 46 5735 pro průmyslové komposty vyžaduje pro dosažení hygienizace vstupních surovin teploty vyšší než 45 °C po dobu delší než 5 dní. Z hodnot uvedených v Grafu 1 je zřejmé, že u všech variant byly tyto požadavky splněny. Mezi hodnocenými variantami bylo dosaženo teplotní maximum u varianty II
(61,3 °C). Agnew a Leonard (2003) uvádí, že průběh teploty v kompostových zakládkách může být ovlivněn řadou faktorů jako např. surovinovou skladbou, zrnitostí vstupních surovin, objemovou hmotností, četností překopávek, ale také teplotami okolního prostředí. Podle

výsledků, které uvádí Haug (1993) by teplota při kompostování neměla překročit 70 °C, jinak může dojít k usmrcení užitečných mikroorganismů. Z hodnot je zřejmé, že také tento požadavek byl u všech hodnocených variant splněn.

Dalším faktorem, který může významným způsobem ovlivnit průběh kompostovacího procesu je vlhkost zakládek. Např. Ranalli et al. (2001) uvádí, že vlhkost zakládek v průběhu kompostovacího cyklu pozvolna klesá, což přímo souvisí s odpařováním vody zejména v důsledku teplotního nárůstu. Z hodnot uvedených v Grafu 1 je zřejmé, že se vlhkost u hodnocených variant kompostových zakládek pohybovala přibližně mezi 40–60%. Zhang a Sun (2014) uvádí, že se vlhkostní optimum u kompostových zakládek nachází mezi 40–50%. Při vyšších vlhkostech dochází ke zpomalení, nebo zastavení rozkladného procesu v důsledku anaerobních podmínek. V případě pokusných variant však skladba surovin, se zastoupením nasákavých materiálů (piliny, sláma) a materiálu s dostatečnou vlhkostí (matolina, travní hmota) vytvořila vhodný předpoklad pro zajištění příznivých vlhkostních poměrů.

Graf 1: Průběh kompostovacího procesu



V Tab. 2 jsou uvedeny výsledné hodnoty vybraných parametrů a obsahu hlavních živin obsažených v hodnocených variantách zakládek, vyhodnocené pomocí statistické analýzy.

Tab. 2: Obsah živin

Varianta pokusu	K ($mg \cdot kg^{-1}$)	Mg ($mg \cdot kg^{-1}$)	P ($mg \cdot kg^{-1}$)	Ca ($mg \cdot kg^{-1}$)	N_c (%)	C_{ox} (%)	pH (-)
I	26517,0±4,2^{c}	1683,0±2,8^{c}	1118,5±2,1^{c}	5835,5±6,4^{c}	2,7±0,01^{b}	6,2±0,1^{a}	8,5±0,1^{a}
II	21449,5±2,1^{b}	1142,5±3,5^{b}	990,0±1,4^{b}	3434,5±6,4^{b}	2,7±0,02^{ab}	6,5±0,01^{b}	8,2±0,1^{a}
III	20799,5±0,7^{a}	853,0±2,8^{a}	866,0±5,7^{a}	3115,0±7,1^{a}	2,6±0,04^{a}	7,5±0,01^{c}	7,5±0,1^{a}

Hodnoty uvedené v tabulce představují průměr ± SD, n = 2; odlišná písmena v jednotlivých sloupcích vyjadřují statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti α = 0,05

Z výsledků rozborů zaměřených na stanovení obsahu živin u jednotlivých variant kompostových zakládek vyplývá, že kompost představuje kvalitní organické hnojivo. Tuto skutečnost dokládá poměrně vysoký obsah dusíku (2,6–2,7%). Jak dokládají výsledky statistického hodnocení, rozdílné zastoupení vstupních surovin ovlivňuje rozdíly ve výsledném obsahu živin, které splňují požadavek normy ČSN 46 5735 „Průmyslové komposty“. Epstein (1996) uvádí, že obsah živin v kompostech závisí na použitých vstupních surovinách, ze kterých byl kompost vyroben. Diaz et al. (2007) uvádí, že kvalitní kompost by měl běžně obsahovat 0,1–0,2% fosforu, 0,5–1,3% draslíku a nad 0,5% hořčíku. Optimální pH dle normy ČSN 46 5735 pro průmyslové komposty má být s ohledem na mikroflóru v rozmezí od 6,0 do 8,5. V pokusných zakládkách byly laboratorními rozbory zjištěny hodnoty pH v rozmezí 7,5–8,5, což odpovídá hodnotám optima.

Závěr

Dostupné zahradnické odpady, jako jsou listí, matoliny, zelinářské odpady, travní hmota, aj. s doplňkovým využitím slámy, drcených náletových rostlin, dřevní štěpky ale i pilin, jsou v současné době hlavními složkami kompostových zakládek na komunitních kompostárnách.
Výsledné komposty takto získávané mohou být z hlediska obsahu živin adekvátní náhradou organických hnojiv. Cílem práce bylo, vedle návrhu vhodného složení zakládek z těchto odpadů, především hodnocení hlavních parametrů průběhu kompostovacího procesu a dosažená kvalita výsledného kompostu z hlediska obsahu makroprvků. Výsledky sledování ukázaly, že parametry teplotního průběhy i vlhkosti zakládky splňovaly požadované podmínky (hygienizace) včetně délky kompostovacího cyklu kolem 12 týdnů. Z výsledků stanovení obsahu makroprvků u jednotlivých variant kompostových zakládek vyplynulo, že varianty vykazovaly obsah dusíku 2,6–2,7 %, obsah draslíku 2,0–2,5 %, obsah fosforu 0,08–1,11 % a obsah hořčíku 0,8–1,6 %. Komposty s uvedeným obsahem makroprvků lze považovat za kvalitní organické hnojivo odpovídající požadavkům normy pro průmyslové komposty ČSN 46 5735.

Poděkování

Příspěvek vychází z řešení projektu IGA-ZF/2019-AP011 s názvem Hodnocení stupně rozpadu částic při kompostování a projektu: CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002334 Výzkumná infrastruktura pro mladé vědce.

Použitá literatura

Agnew, J.M., Leonard, J.J. 2003. The Physical Properties of Compost. Compost Science & Utilization, 11(3): 238–264.

ČSN 46 5735 „Průmyslové komposty“

Diaz, L.F., Bertoldi, M., Bidlingmaier, W. 2007. Compost Science and Technology Boston, MA: Elsevier.

Epstein, E. 1996. The science of composting. 1.ed. Technomic Publishing Company., Inc., Lancaster, 487 p. ISBN 1-56676-478-5

Haug, R.T. 1993. The Practical Handbook of Compost Engineering. Lewis Publishers, Boca Raton.

Plíva, P., Altman, V., Jelínek, A., Kollárová, M., Stolařová, M. 2005. Technika pro kompostování v pásových hromadách. VÚZT, Praha, ISBN 80-86884-02-3.

Ranalli, G. et al. 2001. Composting of solid and sludge residues from agricultural and food industries. Bioindicators of monitoring and compost maturity. Journal of Environmental Science and Health. Part A, 36(4): 415–436.

Ribero, H.M. et al. 2000. Fertilisation of potted geranium with a municipal solid waste compost. Bioresource Technology, 73(3): 247–249.

Směrnice Rady 1999/31/ES o skládkách odpadu.

Spiers, T.M., Fietje, G., 2000. Green waste compost as a component in soilless growing media. Compost Science and Utilization, 8(1): 19–23.

Zhang, L., Sun, X. 2014. Effects of rhamnolipid and initial compost particle size on the two-stage composting of green waste. Bioresource Technology [Online]. 163: 112–122. Available at: http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S096085241400546X. [2019-09-21].

Kontaktní adresa:

Ing. Patrik Zatloukal
Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta, Ústav zahradnické techniky
Valtická 337
691 44 Lednice
Česká republika
tel.: + 420 519 367 373
e-mail: zatloukalpatrik@gmail.com

HODNOCENÍ VYBRANÉHO SORTIMENTU ODRŮD OZIMÝCH PŠENIC SE ZAMĚŘENÍM NA VÝNOS A KVALITU ZRNA

Evaluation of selected assortment of winter wheat varieties focusing on yield and quality of grain

Frydrych J.[1], Polišenská I.[2], Sedláčková I.[2], Volková P.[1]

[1] *Oseva vývoj a výzkum s.r.o., Zubří*
[2]*Agrotest fyto, spol. s r.o., Kroměříž*

Abstrakt
Na pracovišti Osevy vývoj a výzkum s.r.o. Zubří byly založeny a sklizeny maloparcelkové polní pokusy s šesti odrůdami ozimé pšenice různé kvality 'Dagmar' (A), 'Genius' (E), 'Julie' (E), 'Lear' (C/K), 'Matchball' (A) a 'Tobak' (E). Pokusy byly sklizeny ve sklizňových letech: 2016, 2017 a 2018. V Zubří byl stanoven výnos zrna a z hlediska kvalitativních rozborů objemová hmotnost (OH) a hmotnost tisíce zrn (HTZ). V Agrotestu fyto spol. s r.o. byl stanoven obsah deoxynivalenolu. Nejvyšší rozdíl ve výnose zrna mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou byl zaznamenán u odrůdy 'Matchball' a 'Tobak' u průměru tří let. Nejvyšší napadení DON bylo zaznamenáno u odrůdy 'Tobak' ve všech sklizňových letech, nejnižší u odrůdy 'Dagmar' na stanovišti v Zubří v letech 2016, 2017 a 2018. V inokulované variantě byla zaznamenána nižší objemová hmotnost a nižší hmotnost tisíce zrn oproti neinokulované variantě testovaných odrůd.
Klíčová slova: výzkum, pokusy, odrůdy, výnos zrna, kvalita zrna

Abstract
At the department of Oseva Development and Research Ltd. in Zubří were established and harvested small-field trials with six varieties of winter wheat of different quality 'Dagmar' (A), 'Genius' (E), 'Julie' (E), 'Lear' (C/K), 'Matchball' (A) and 'Tobak' (E). The trials were harvested in the harvest years 2016, 2017 and 2018. In Zubri, was determined grain yield and in terms of qualitative analyzes the bulk density (OH) and the weight of one thousand grains (HTZ). The content of deoxynivalenol was determined in the Agrotest fyto Ltd. The highest difference in grain yield between inoculated and uninoculated variations was noted for 'Matchball' and 'Tobak' at an average of three years. The highest DON infestation was recorded in the 'Tobak' variety in all harvest years, the lowest in the 'Dagmar' variety in Zubri in 2016, 2017 and 2018. The inoculated variation showed a lower bulk density and lower weight of a thousand grains compared to the uninoculated variant of the tested varieties.
Keywords: research, trials, varieties, grain yield, grain quality

Úvod

Cílem projektu „Technologie a metody pro zachování kvality, bezpečnosti a nutriční hodnoty rostlinných surovin“ bylo vytvořit nástroje a vypracovat systémy posklizňových úprav a skladování vybraných potravinářských rostlinných produktů pro zachování jejich nutriční, technologické a hygienické kvality. Dále vypracovat vhodné metody a postupy pro kontrolu těchto procesů a získané výsledky uplatnit v praxi. Navrhovaný projekt se zaměřil na vybraný okruh problémů, pro jejichž řešení buď nejsou k dispozici dostatečné teoretické poznatky a/nebo tyto poznatky nejsou k dispozici ve vhodné formě pro uživatele. Patogeny *Fusarium* způsobují u obilovin zejména ztráty na výnose, kontaminaci zrna mykotoxiny a zhoršení technologické kvality zrna. Po napadení *Fusariem* může dojít ke změně vzhledu zrna, ale i složení. Důsledkem napadení zrna je kontaminace mykotoxiny jako metabolity

mikroskopických hub. Nejčastěji se u nás vyskytujícím mykotoxinem je DON (deoxynivalenol). V našich podmínkách se může dále vyskytovat z toxinů nivalenol, T-2 a HT-2 toxin, zearalenon, enniatiny a mnoho dalších. Vlivem napadení obilnin *Fusariem* dochází ke změnám v obsahových látkách zrna, jako jsou bílkoviny a sacharidy (škrob, celulóza a hemicelulóza). Houby tyto zásobní látky využívají jako zdroj vlastní výživy a pro zlepšení jejich využitelnosti produkují enzymy, kterými je modifikují a rozkládají (Polišenská a kol. 2018). Cílem výzkumu bylo zjistit, jak inokulace patogenem *Fusarium culmorum* ovlivní výnos u testovaného sortimentu odrůd ozimé pšenice různé pečivárenské kvality (E, A, B, C/K), technologickou kvalitu a jaká bude úroveň napadení mykotoxinem DON u obou testovaných variant bez inokulace (neošetřeno Tab. 1–5) a s inokulací (ošetřeno Tab. 1–5) testovaných odrůd.

Materiál a metody

Na pracovišti Osevy vývoj a výzkum s.r.o. Zubří byly založeny a sklizeny maloparcelkové polní pokusy (10 m^2, 4 opakování) s šesti odrůdami ozimé pšenice různé kvality 'Dagmar' (A), 'Genius' (E), 'Julie' (E), 'Lear' (C/K), 'Matchball' (A) a 'Tobak' (E). Pokusy byly založeny na podzim v roce 2015, 2016 a 2017. Inokulace byla prováděna postřikem vodní suspenzí spor *Fusarium culmorum*, a to jednou na počátku květu u ozimé pšenice a podruhé za tři až čtyři dny, různě pro jednotlivé odrůdy podle doby jejich květu v letech 2016, 2017 a 2018. Ošetření herbicidy, insekticidy a regulátory růstu bylo provedeno podle zásad integrované ochrany rostlin pro danou lokalitu. Celková dávka dusíku byla v Zubří 94 $kg.ha^{-1}$ (před setím 40 $kg.ha^{-1}$, regenerační 54 $kg.ha^{-1}$). Pokusy na stanovišti v Zubří byly sklizeny maloparcelkovým kombajnem. V Zubří byl stanoven výnos zrna u jednotlivých variant a přepočítán na standardní 14% vlhkost, dále byla stanovena objemová hmotnost a hmotnost tisíce zrn. Zrno pšenice ozimé bylo analyzováno na obsah DONU (ELISA) v laboratoři Agrotestu fyto spol. s r.o. Kroměříž. V pokuse byly srovnány varianty s odrůdami pšenic inokulovanými *Fusariem culmorum* a varianty bez inokulace.

Popis pokusné lokality

Pozemky Osevy vývoj a výzkum s.r.o. leží v nadmořské výšce 345 m. Dlouhodobá průměrná roční teplota je 7,5 °C a dlouhodobý roční úhrn srážek činí 864,5 mm. Dlouhodobá průměrná teplota za vegetační období je 14,3 °C a dlouhodobý úhrn srážek za vegetační období činí 546,8 mm. Pozemky na stanici se nacházejí v klimatickém regionu 7 – mírně teplém.

Výsledky a diskuse

Tab. 1: Výnosy zrna a průměrný výnos zrna v letech 2016–2018 u vybraného sortimentu odrůd (Zubří) – 14% vlhkost ($t.ha^{-1}$)

Odrůda	Výnos 2016 neošetřeno	Výnos 2016 ošetřeno	Výnos 2017 neošetřeno	Výnos 2017 ošetřeno	Výnos 2018 neošetřeno	Výnos 2018 ošetřeno	Průměr 2016-18 neošetřeno	Průměr 2016-18 ošetřeno	Rozdíl ve výnose
Tobak	10,04	9,60	8,75	8,64	7,03	6,13	8,61	8,12	0,49
Dagmar	9,82	10,36	8,18	8,18	5,03	5,04	7,68	7,86	-0,18
Genius	10,65	10,36	7,68	7,86	6,06	5,51	8,13	7,91	0,22
Julie	10,37	10,33	8,00	8,37	4,60	4,10	7,66	7,60	0,06
Lear	10,60	9,93	8,31	8,46	5,98	6,89	8,30	8,43	-0,13
Matchball	10,88	10,53	8,22	7,68	7,72	6,70	8,94	8,30	0,64

Jednotlivé odrůdy reagovaly z hlediska výnosu v jednotlivých letech rozdílně. Nejvyšší rozdíly mezi variantou inokulovanou a bez inokulace byly zaznamenány v letech 2016 a 2018. V roce 2016 byl nižší výnos zrna u všech inokulovaných variant mimo odrůdu 'Dagmar'. U všech

testovaných variant v roce 2016 byl stanoven obsah deoxynivalenolu. V Zubří měl v roce 2016 nejvyšší obsah DON 'Tobak' (2 336 µg.kg^{-1}), pak 'Lear' (1 661 µg.kg^{-1}) a 'Julie' (521 µg.kg^{-1}). Nejnižší kontaminaci měla v roce 2016 odrůda 'Dagmar' a 'Matchball'. V Zubří v roce 2017 v inokulovaných variantách byl 'Tobak' 347 µg.kg^{-1} srovnatelný s odrůdou 'Genius' (346 µg.kg^{-1}) dále následovala odrůda 'Lear' (137 µg.kg^{-1}). V roce 2017 měly nejnižší kontaminaci odrůdy 'Dagmar' a 'Julie'. Mimo odrůdu 'Tobak' a 'Matchball' nebyly v roce 2017 zaznamenány významné rozdíly ve výnose zrna u inokulované a neinokulované varianty. V roce 2018 byly u všech variant testovaných odrůd nižší výnosy inokulované varianty mimo odrůdu 'Dagmar'.
V roce 2018 měl v Zubří nejvyšší hodnotu DONU 'Tobak' 646 µg.kg^{-1} a nejnižší měla odrůda 'Dagmar' 94 µg.kg^{-1}. Nejvyšší rozdíl v průměrném výnosu zrna mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou měla za tři užitkové roky odrůda 'Tobak' 0,49 t.ha^{-1} a odrůda 'Matchball' 0,64 t.ha^{-1}. Nejvyšší napadení DON bylo zaznamenáno u odrůdy 'Tobak' ve všech sklizňových letech, nejnižší u odrůdy 'Dagmar' na stanovišti v Zubří v letech 2016, 2017 a 2018.

Tab. 2: Zhodnocení výnosu zrna podle varianty ošetření (průměr odrůd, průměr let 2016–2018)

Varianta	Výnos (t.ha^{-1})	Statistická průkaznost	
		p < 0,05	p < 0,01
neošetřeno	8,22	a	A
ošetřeno	8,04	b	B

Efekt varianty ošetření měl na výnosy zrna statisticky vysoce průkazný vliv ($p < 0,01$). Výnos zrna ve variantě neošetřené byl v průměru všech odrůd a tří sklizňových let statisticky průkazně větší ($p < 0,01$) než výnos ve variantě ošetřené.

Tab. 3: Zhodnocení výnosu zrna podle odrůdy a varianty ošetření (průměr let 2016–2018)

Odrůda	Varianta	Výnos (t.ha^{-1})	Statistická průkaznost	
			p < 0,05	p < 0,01
Tobak	neošetřeno	8,60	ab	ab
	ošetřeno	8,12	cdef	bcde
Dagmar	neošetřeno	7,67	efg	E
	ošetřeno	7,86	defg	de
Genius	neošetřeno	8,13	cde	bcde
	ošetřeno	7,91	defg	cde
Julie	neošetřeno	7,66	fg	E
	ošetřeno	7,60	g	E
Lear	neošetřeno	8,30	bcd	bcd
	ošetřeno	8,43	bc	abc
Matchball	neošetřeno	8,94	a	A
	ošetřeno	8,30	bcd	bcd

Efekt interakce faktorů odrůda a varianta ošetření měl na výnosy zrna statisticky vysoce průkazný vliv ($p < 0,01$). U odrůdy 'Tobak' byl ve variantě neošetřené statisticky průkazně ($p < 0,05$) větší výnos zrna než ve variantě ošetřené. U odrůdy 'Matchball' byl ve variantě neošetřené statisticky vysoce průkazně ($p < 0,01$) větší výnos zrna než ve variantě ošetřené. U ostatních odrůd nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl ve výnosu zrna mezi variantami ošetření.

Tab. 4: Objemová hmotnost OH u zrna testovaných odrůd (kg.hl^{-1})

Odrůda	OH 2016 neošetřeno	OH 2016 ošetřeno	OH 2017 neošetřeno	OH 2017 ošetřeno	OH 2018 neošetřeno	OH 2018 ošetřeno	Průměr 2016-18 neošetřeno	Průměr 2016-18 ošetřeno	Rozdíl ve výnose
Tobak	69,25	67,60	73,40	73,36	81,90	81,10	74,85	71,94	2,91
Dagmar	77,50	76,85	76,40	75,96	85,50	84,60	79,80	77,54	2,26
Genius	76,90	75,85	77,20	74,60	83,90	83,6	79,33	76,59	2,74
Julie	77,30	76,15	78,32	77,48	83,50	80,7	79,71	77,78	1,93
Lear	70,45	69,75	75,80	75,25	77,60	80,2	74,62	73,21	1,41
Matchball	70,70	69,35	75,88	76,52	81,80	80,8	76,13	74,00	2,13

Ve všech sklizňových letech se projevilo snížení objemové hmotnosti zrna u testovaných variant. V roce 2016 bylo snížení objemové hmotnosti zaznamenáno u všech odrůd. Nejnižší objemovou hmotnost měla odrůdy 'Tobak' 67,70 kg.hl^{-1} v inokulované variantě. V roce 2017 bylo snížení objemové hmotnosti zaznamenáno rovněž u všech inokulovaných variant mimo odrůdu 'Matchball'. V roce 2018 byla objemová hmotnost nižší u všech variant mimo odrůdu 'Lear'. Nejvyšší rozdíl u průměru tří let u testovaných odrůd vykázala odrůda 'Tobak' mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou 2,91 kg.hl^{-1}.

Tab. 5 Hmotnost tisíce zrn v gramech u testovaných odrůd v roce 2016–2018

Odrůda	HTZ 2016 neošetřeno	HTZ 2016 ošetřeno	HTZ 2017 neošetřeno	HTZ 2017 ošetřeno	HTZ 2018 neošetřeno	HTZ 2018 ošetřeno	Průměr 2016-18 neošetřeno	Průměr 2016-18 ošetřeno	Rozdíl ve výnose
Tobak	37,1538	37,4703	43,6095	42,596	49,6256	41,8406	43,4628	40,6356	2,8272
Dagmar	45,8151	45,7600	46,9153	45,969	47,5775	48,0041	46,7693	46,5777	0,1916
Genius	43,1653	42,7645	42,9438	39,7329	45,5219	49,1923	43,8770	43,8965	-0,0195
Julie	51,3868	48,6689	46,0185	48,4002	50,4780	49,2272	49,2944	48,7654	0,5290
Lear	39,8201	39,3240	41,3049	41,1343	49,4310	48,6507	43,5186	43,0363	0,4823
Matchball	38,3738	38,3240	39,2475	39,4063	41,6991	41,8406	39,7734	39,8569	-0,0835

Snížení hmotnosti tisíce zrn se projevilo nejvíce v roce 2016 snížením HTZ u všech odrůd mimo odrůdy Tobak. V roce 2018 byl největší rozdíl v HTZ mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou u odrůdy 'Tobak' současně u této odrůdy byl i největší rozdíl u tříletého průměrného rozdílu mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou 2,8272 g.

Závěr

V pokuse byl prokázán vliv aplikace patogena *Fusarium culmorum* na výnos a kvalitu zrna. V souvislosti s nejvyšším napadením byl prokázán i nejvyšší rozdíl ve výnosu zrna u inokulované a neinokulované varianty odrůd ozimých pšenic na stanovišti v Zubří zejména u odrůdy 'Tobak'. Nejvyšší rozdíl ve výnose zrna mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou byl zaznamenán u odrůdy 'Matchball' a 'Tobak' u průměru tří let. Nejvyšší napadení DON bylo zaznamenáno u odrůdy 'Tobak' ve všech sklizňových letech, nejnižší u odrůdy 'Dagmar' na stanovišti v Zubří v letech 2016, 2017 a 2018. V inokulované variantě byla zaznamenána nižší objemová hmotnost a nižší hmotnost tisíce zrn oproti neinokulované variantě. Perspektivně nejvýznamnějším způsobem ochrany proti napadením klasů patogeny *Fusarium* je odolná odrůda (Polišenská a kol. 2018). V současnosti není k dispozici žádná plně odolná odrůda, rozdíly v citlivosti existují, což udávají výsledky výzkumu na stanovišti OSEVY vývoj a výzkum s.r.o. v Zubří.

Dedikace

Publikace je realizována na základě podpory projektu NAZV QJ1510204 Technologie a metody pro zachování kvality, bezpečnosti a nutriční hodnoty rostlinných surovin.

Použitá literatura

Meyer, D., Wepert, D., Mielke, H., 1986: Beeinflussung der Qualität von Weizen durch den Befahl mit Fusarium culmorum, Getraide , Mehl und Brot, 40, 35–39.

Polišenská, I., Jirsa, O., Sedláčková, I., 2018: Vliv klasových fuzarií na kvalitu odrůd pšenice. *Úroda*. 2018, r. 66, č. 10, s. 14–18. ISSN 0139-6013.

Polišenská, I., Jirsa, O., Sedláčková, I., 2017: Kvalita potravinářské pšenice sklizně 2017 v České republice. *Mlynářské noviny*, 28, 2017, 3, 6–9. ISSN 1214-6374.

Spanic, V., Marcek, T., Abicic, I., Sarkanj, B., 2018: Effects of fusarium Head Blight on Wheat Grain and Malt Infected by *Fusarium culmorum*. Toxins. 2018: 10(1):17. DOI 10.3390/toxins 10010017.

Kontaktní adresa:

Ing. Jan Frydrych
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.
Hamerská 698,
756 54 Zubří
e-mail: frydrych@oseva.cz

KOMPETENCE, HLAVNÍ SMĚRY KONTROLY, TRENDY A VÝSLEDKY

Competence, main direction for control, trends and results

Landauf L.

Státní zemědělská a potravinářská inspekce, Ústřední inspektorát

SZPI je v České republice jediným dozorovým orgánem, který má kontrolu potravin a tabákových výrobků jako svoji hlavní a jedinou kompetenci. S ohledem na důležitost zachovat na českém trhu vysokou míru bezpečnosti potravin a jejich kvalitu, umožnuje specializace SZPI soustředit veškeré její síly a prostředky pouze do výše uvedené oblasti a využívat je nejen k úřední kontrole, ale také se intenzivně věnovat vývoji nových kontrolních postupů a metod.
Komplexní úřední kontrola potravin je SZPI vykonávána jak ve výrobě, tak v průběhu celého obchodního řetězce a také v oblasti společného stravování.

Zvláštní okolností, ovlivňující zaměření kontrolní činnosti, je postupné a sílící povědomí spotřebitelů v České republice o kvalitě a bezpečnosti českých potravin. Kontrola pravdivosti údaje o místě výroby je běžnou součástí kontrolní praxe, která je zaměřena především na komodity, kde jsou stále zjišťovány nedostatky. Namátkově lze uvést víno nebo ovoce a zeleninu, zvláště pak český česnek nebo jahody a meruňky.

Výsledky úředních kontrol dlouhodobě poukazují na stabilně vysokou úroveň českých výrobců potravin.
V roce 2018 provedli inspektoři SZPI celkem 43 401 vstupů do provozoven potravinářských podniků, provozoven společného stravování, celních skladů a internetových obchodů. Bylo provedeno 25 067 kontrol v maloobchodní síti, 14 290 v provozovnách společného stravování, 5 868 ve výrobě, 1 876 ve velkoskladech, 599 v prvovýrobě a 1 041 v ostatních místech (např. při přepravě, v celních skladech apod.).
V roce 2018 bylo zjištěno celkem 3 514 nevyhovujících šarží potravin a ostatních výrobků. Rozdělení počtu nevyhovujících šarží podle místa kontroly je následující: v maloobchodní síti bylo zjištěno 2 744 šarží, ve výrobě nevyhovělo 126 šarží, ve velkoobchodě 99 šarží a na ostatních místech bylo jako nevyhovující hodnoceno 545 šarží.
S ohledem na zemi původu byl nejnižší podíl nevyhovujících šarží zjištěn u potravin z České republiky (13 % nevyhovujících šarží) a poněkud vyšší podíl u produkce pocházející ze zemí EU (16,9 % nevyhovujících šarží). Vyšší procento bylo zjištěno u produkce dovezené ze třetích zemí (25,1 % nevyhovujících šarží). Z pohledu jednotlivých komodit byla nejvyšší procenta nevyhovujících šarží zjištěna u čokolád a cukrovinek (53,9 %), medu (46,3 %), škrobu a škrobových výrobků (45,5 %), dehydratovaných výrobků, tekutých ochucovadel, dresinků, soli a hořčice (44,3 %), ostatních potravin včetně potravin zmrazených (43,8 %), přídatných a aromatických látek (37,5 %), kávy, kávovin a čajů (34 %), nealkoholických nápojů (31,6 %), vajec a vaječných výrobků (30,3 %), zmrzliny a mražených krémů (29,5 %), skořápkových plodů (28,2 %), přírodních sladidel (25 %), vína (23,9 %), těstovin (23,9 %), zpracované zeleniny a zpracovaných hub (22,3 %), jedlých tuků a olejů (21,7 %).

Kontaktní adresa:
Ing. Lukáš Landauf, Květná 15, Brno
lukas.landauf@szpi.gov.cz

VÝLISKY SEMEN LNU A KONOPÍ A JEJICH ZPRACOVÁNÍ NA MOUKY A BÍLKOVINNÉ KONCENTRÁTY

Flaxseed and Hempseed cakes and their processing into meals and protein concentrates

Bárta J., Jarošová M., Bártová V., Švajner J.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

Abstrakt

Výlisky semen lnu resp. nažek konopí (získané z lisování olejů) byly upraveny na tři druhy práškových materiálu – výliskovou mouku (M), frakce mouky s velikostními částicemi menšími než 250 µm (F) a bílkovinný koncentrát (K) získaný isoelektrickým srážením. Získané prášky se u obou druhů lišily v obsahu vstupních komponent. Stupeň zpracování ve směru M – F – K vedl u materiálů obou olejnatých druhů k postupnému zvýšení obsahu dusíkatých látek: 28,46 – 33,71 – 63,47 % pro len a 28,25 – 45,62 – 67,81 % pro konopí. Výlisková mouka lnu i konopí má v porovnání s vyššími stupni zpracování vyšší obsah celkový polyfenolů a vyšší antioxidační aktivitu. Výlisková mouka má také vyšší schopnost vázat vodu, naopak vazba tuku byla nejvyšší u bílkovinných koncentrátů obou druhů. Lněná výlisková mouka vázala výrazně více vody než konopná mouka, lněný bílkovinný koncentrát vázal výrazně více tuku než konopný koncentrát.

Klíčová slova: len, konopí, mouka, bílkovinný koncentrát, obsah bílkovin, funkční vlastnosti

Abstract

Oilseed cakes, obtained during oils extraction from flax and hemp seeds, were modified to three types of powder material – cakes meal (M), fraction of meal with particle of size below 250 µm (F) and protein concentrate (K) obtained by using isoelectric precipitation. Obtained powders varied in contents of basic components. Processing of oilseed cakes in direction M-F-K resulted in the case of both oilseed species to graduate increasing of N matters: 28.46-33.71-63.47% for flax and 28.25-45.62-67.81 % for hemp. Flax and hemp meal had higher level of polyphenolic matters and antioxidant activity in comparison with other variants of oilseed cakes processing. The meal had also higher ability for water holding capacity, however, oil holding capacity was examined on higher level for both species protein concentrates. Flax meal hold significantly higher amount of water than hemp meal and flax protein concentrate hold significantly higher amount of oil than hemp concentrate.

Key words: flax, hemp, meal, protein concentrate, protein content, functional properties

Úvod

Len setý (*Linum usitatissimum* L.) a konopí seté (*Cannabis sativa* L.) jsou historicky důležitými hospodářskými rostlinami s multifunkčním charakterem. V ČR jsou pěstovány minoritně (pěstitelské plochy olejného lnu se pohybují do 2 tisíc ha – Zehnálek, Kraus (2019), pěstitelské plochy konopí setého se pohybují do 1,5 tis. ha – Tošovská, Buchtová (2010)), zejména pro semena resp. nažky obsahující vysoká množství oleje o specifické hodnotě. Semena olejné formy lnu setého obsahují 38 - 44 % oleje s vysokým podílem nenasycených mastných kyselin. Jde zejména o α-linolenovou kyselinu, která se podle odrůdy může vyskytovat ve spektru mastných kyselin lněného oleje ve třech hladinách zastoupení – do 5, kolem 30 a mezi 50 – 60 % (Moudrý et al., 2011; Šmirous et al., 2015). Konopná nažka obsahuje 25 - 35 % oleje, ve kterém opět převažují nenasycené mastné kyseliny, α-linolenová kyselina je zastoupena asi 20

%. Pro vylisování oleje se stávají převažující složkou ve zbytcích semen bílkoviny (Wang, Xiong, 2019).
Bílkoviny jsou v semenech lnu zastoupeny kolem 20 %; ve výliscích a mouce asi 30 % (i více). Nejvíce jsou zastoupeny globuliny (40 – 80 %), nazývané **linin**. Linin zahrnuje bílkovinné podjednotky 11 – 12S o molekulových hmotnostech (MW) 24,6; 30; 35,2 a 50,9 kDa. Významný je i obsah albuminů (20 – 40 %), které jsou souhrnně nazývány **conlinin**: jde o bílkovinné podjednotky 1,6 – 2S o MW 16 – 18 kDa (Ayad, 2010; Shim et al., 2014). V nažkách konopí setého je obsaženo 20 - 25 % bílkovin, ve výliscích kolem 30 % (i více). Nejvíce je zastoupena frakce globulinů nazývaných **edestin** (uváděno 60 až 80 %); jedná se o hexamer – každý monomer má MW 50 – 54 kDa (tvořen z kyselé podjednotky o MW 34 kDa a bazické podjednotky o MW 18 – 20 KDa). Zbylou část (asi 25 %) představují albuminy (Wang, Xiong, 2019). Je známo, že lněné i konopné bílkoviny mají dostatečné zastoupení esenciální aminokyselin a vykazují také zajímavé funkční vlastnosti, které zvyšují potenciál jejich uplatnění ve výživě lidí a v potravinářství (Mattila et al., 2018).
Produkce bílkovinných koncentrátů (izolátů) z rostlinných materiálů bohatých na bílkoviny je nejčastěji prováděna pomocí kombinace alkalické solubilizace a isoelektrické precipitace. Uplatněn může být i efekt iontové síly v kombinaci s dialýzou či jinými membránovými technikami, uváděny jsou i jiné principy a techniky (Hadnađev et al., 2017). Již samotná kombinace způsobu mletí a prosetí výliskové mouky na sítech o vhodné velikosti ok, vede k oddělení osemení či oplodí od vnitřní části semene, což jsou části, které obsahující rozdílné zastoupení N látek, a může proto dojít k tvorbě frakcích s vyšším obsahem N látek než má původní výlisková mouka.
K cenným složkám semene lnu a nažek konopí nepatří jen tuk a bílkoviny, ale také vláknina, polyfenoly a další příznivě působící látky, které vzájemně spolupůsobí na vytváření finálních vlastností produkovaných mouk, jejich frakcí a bílkovinných koncentrátů (Shim et al., 2014; Wang, Xiong, 2019).
Cílem tohoto příspěvku je modelová demonstrace využití semenných výlisků lnu a konopí na produkci výliskové mouky, její velikostní frakce a bílkovinného koncentrátu. Součástí tohoto experimentu je také analýza vybraných vlastností těchto produktů.

Materiál a Metody

Rostlinný materiál a jeho úprava. Lněné a konopné výlisky byly dodány firmou AGRO-EL Znojmo. Jedná se o výlisky vzniklé lisováním semen resp. nažek za studena na potravinářské oleje. Výlisky v podobě granulí byly pomlety na nožovém mlýnu (Grindomix GM 200, Retsch, Německo) při výkonu 10 000 ot./min. po dobu 1 min. Vážkovým proséváním pomletých výlisků na sítu o velikosti ok 250 µm byla získána frakce mouky s velikostí částic menších než 250 µm. Z navážek byl zjištěn podíl propadu. Tímto způsobem vznikly dva druhy hodnocený položek – výlisková mouka **M** (pomleté výlisky) a frakce mouky s částicemi pod 250 µm **F**.
Příprava bílkovinného koncentrátu. Bílkovinný koncentrát **K** byl připraven pomocí isoelektrického srážení. K naváženému množství frakce mouky pod 250 µm byla přidána voda v poměru 1:6 (w/v) a směs byla míchána na magnetické míchačce 30 minut při pokojové teplotě. Po této době byla odstraněna tuková svrchní vrstva pomocí pipety. Následně byla u směsi upravena reakce na pH 10 pomocí 1M NaOH a bylo pokračováno v míchání dalších 30 minut. Následovalo odstředění pomocí centrifugy (Rotina 420 R, Hettich, Německo), 4740 g, 20°C, 10 min. Získaný supernatant byl slit a uchován a pelet byl postupně 2x promyt vodou. K peletu byla v obou případech přidána voda v množství 1/3 původního objemu, pelet byl rozmíchán a směs byla opět odstředěna stejným způsobem. Získané 2 promyvné supernatanty byly spojeny s původním supernatantem. U výsledného supernatantu byla upravena reakce na pH 4,5 pomocí 1M HCl. Po následném odstředění (stejné podmínky uvedené výše) byl supernatant odstraněn, pelet rozmíchán v ½ původního extrakčního objemu vody a reakce byla

upravena na pH 7. Směs byla zmrazena a vysušena na lyofilizátoru (ALPHA 1-4 LSC, Martin Christ, Německo), -50°C, 0,420 mBar, 48 hod. Získaný lyofilizát byl zvážen a následně homogenizován.
Analýzy. **Obsah vody** byl stanoven vážkově vysušením materiálu v sušárně při 105°C po dobu 3 hod. **Obsah N látek** byl stanoven instrumentálně pomocí přístroje Rapid N Cube (Elementar, Německo), který pracuje na principu modifikované Dumasovy metody (stanoven dusík a přepočet na N látky byl proveden pomocí koeficientu 6,25). **Obsah tuku** byl stanoven pomocí extraktoru XT10 (Ankom, USA) dle manuálu výrobce. **Obsah popelovin** byl stanoven vážkově vyžíháním vzorku v muflové peci při teplotě 550°C po dobu 6 hod. **Obsah ostatních látek** byla stanoven dopočtem do 100 %. **Výtěžnost frakce mouky pod 250 µm** a **výtěžky bílkovin** byly vypočteny z hodnot vážkově vedené přípravy materiálu a z hodnot obsahu N látek.

Extrakce bílkovin a **elektroforéza SDS-PAGE**. Bílkovinné extrakty pro elektroforézu byly připraveny následujícím způsobem – k 50 mg mouk či koncentrátu bylo přidáno 500 µl extrakčního pufru (0.0625 M Tris-HCl, pH 6.8, 2% SDS), extrakce probíhala na ledu podobu 4h. Po centrifugaci (10 000 g, 4°C, 10 min.) byl získaný supernatant smíchán v poměru 4:1 s nanášecím pufrem obsahujícím 2-merkaptoetanol, povařen (2 min) a následně separován pomocí diskontinuální deskové denaturační elektroforézy na polyakrylamidovém gelu (SE 600, Hoefer, USA) - 4% zaostřovací gel (pH 6,8) a 12% separační gel (pH 8,8) - v prostředí Tris-glycinového pufru (Laemmli 1970). Bílkoviny byly na gelu detekovány pomocí roztoku barviva Coomassie Blue. Digitalizace elektroforeogramů byla provedena pomocí zařízení GelDoc (Bio-Rad, USA). Blue Protein Ladder s rozpětím 5 – 245 kDa (Central European Biosystems) byl použit jako hmotnostní standard.
Světlost (lightness, L) byla měřena pomocí kolorimetru ColorEye® XTH (X-Rite, USA), který pracuje v systému CIE a naměřené hodnoty vyjadřuje v systému Lab hodnot.

Obsah celkových polyfenolů byl stanoven spektrofotometricky s využitím Folin-Ciocalteauova činidla po předchozí extrakci polyfenolů z lyofilizované sušiny pomocí 80% ethanolu. Jako standard byla použita gallová kyselina a výsledky byly vyjádřeny jako mg jejích ekvivalentů (GAE – ekvivalenty gallové kyseliny) na 1 g sušiny mouky (Lachman a kol., 2006).

Antioxidační aktivita byla měřena v etanolovém extraktu vzorků mouk či koncentrátů s využitím radikálu DPPH (1,1'-difenyl-2-pikrylhydrazyl); stanovení bylo prováděno dle postupu uvedeného v práci Šulc a kol. (2007). Standardem byla L-askorbová kyselina a hodnota antioxidační kapacity byla vyjádřena jako ekvivalentní miligramy L-askorbové kyseliny v přepočtu na g sušiny vzorku.
Stanovení funkčních vlastností **vazba vody** a **vazba tuku** bylo provedeno vážkově s využitím vody a řepkového oleje podle postupu uvedeném v práci Bárta et al. (2018).
Zpracování dat. Všechny způsoby přípravy mouk a koncentrátů a veškeré analýzy byly prováděny ve třech opakováních. Získaná data byla statisticky vyhodnocena pomocí programu STATISTICA CZ, verze 12 (StatSoft, Inc.).

Výsledky a diskuze

Základní složení výliskové mouky odvozené z výlisků semen lnu a konopí je uvedeno v tabulce 1. Zatímco obsah N látek byl u obou druhově odlišných vzorků výliskové mouky velmi podobný (statisticky neprůkazný), hodnoty ostatních charakteristik již byly průkazně rozdílné na hladině významnosti $P<0,05$. Velmi výrazný byl vysoký obsah zbytkového tuku ve výliscích lnu - přes 16 %.

Tab. 1: Základní složení výliskové mouky odvozené z výlisků semen olejného lnu a konopí setého

Výlisková mouka	Obsah vody (%)	Obsah N látek (%)	Obsah tuku (%)	Obsah popelovin (%)	Obsah ostatních látek (%)
Len	8,92 a	28,46 a	16,16 a	4,73 b	41,74 b
Konopí	7,56 b	28,25 a	8,61 b	5,34 a	50,23 a

Pozn.: Rozdílná písmena u hodnot v sloupcích znamenají statisticky významný rozdíl na hladině významnosti P<0,05 (Fisher LSD test).

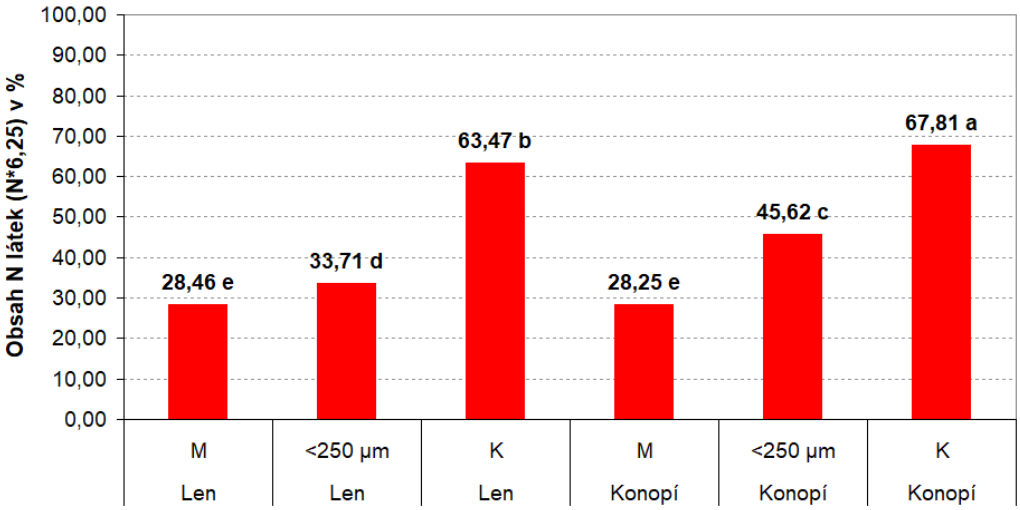
Jak ukazuje tabulka 2, výtěžek bílkovin v podobě bílkovinného koncentrátu ve vztahu k vstupnímu materiálu byl průkazně (P<0,05) vyšší u lnu než u konopí. Výtěžnost frakce mouky s velikostními částicemi pod 250 µm odvozená z výliskové mouky prosetím byla průkazně (P<0,05) vyšší u lnu než u konopí (viz tabulka 2). Tato operace má značný praktický význam, protože umožňuje částečné oddělení osemení resp. i oplodí (konopí) od jádra semene či plodu. Osemení (oplodí) a jádro semene (plodu) má rozdílné zastoupení N látek a tak může být tato relativně jednoduchá pracovní operace levným způsobem zakoncentrování obsahu N látek ve frakci pod 250 µm. Zejména u konopí je tento process výhodný. Jak je patrné z obr. 1 má frakce mouky pod 250 µm obsah N látek 45,62 %, což je statisticky průkazně (P<0,05) více, než u vstupní výliskové mouky (ta má „jen“ 28,25 %). Pro úplnost u frakce mouky nad 250 µm byl nalezen obsah N látek 18,37 %. Obsah N látek přes 45 % u frakce mouky pod 250 µm se tak přibližuje běžně komerčně nabízeným „konopným proteinovým koncentrátům“ u kterých je uváděn obsah N látek kolem 50 % (např. Anonym, 2019).

Tab. 2: Výtěžnost frakce mouky pod 250 µm a výtěžek získaných bílkovin v koncentrátu

Materiál	Výtěžnost frakce mouky pod 250 µm (%)	Výtěžek bílkovin ve frakci mouky pod 250 µm (%)	Výtěžek bílkovin koncentrátu ve vztahu k frakci mouky pod 250 µm (%)	Výtěžek bílkovin koncentrátu ve vztahu k výliskové mouce (%)
Len	45,15 a	53,49 a	47,06 a	25,10 a
Konopí	35,20 b	56,88 a	21,92 b	12,52 b

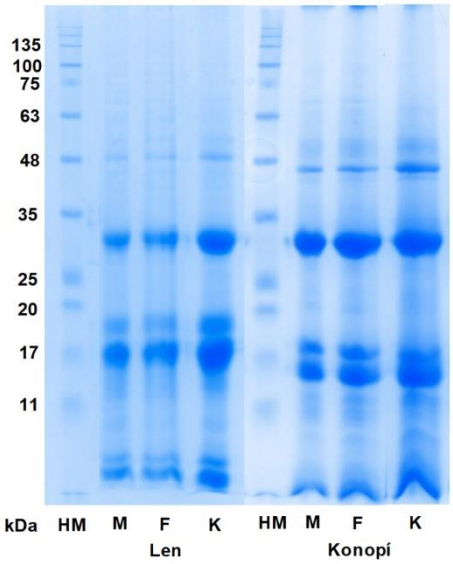
Pozn.: Rozdílná písmena u hodnot ve sloupcích indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti P<0,05 (Fisher LSD test).

Obrázek 1 ukazuje postupné navyšování obsahu bílkovin podle stupně zpracování ve směru „mouka – frakce mouky – koncentrát“. Charakterizace bílkovin jednotlivých práškových materiálů byla provedena pomocí elektroforézy SDS-PAGE v redukčních podmínkách (za přítomnosti 2-merkaptoetanolu).



Obr. 1: Obsah N látek (N*6,25) v % ve výliskové mouce (M), frakci pod 250 µm a v bílkovinném koncentrátu (K)
Pozn.: Rozdílná písmena u hodnot indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti P<0,05 (Fisher LSD test).

Z obr. 2 vyplývá, že si všechny tři typy materiálů u obou olejnin zachovávají přibližně stejný charakter s mírnými rozdíly v intenzitě zastoupení jednotlivých bílkovinných podjednotek. Nedochází tak vlivem stupně zpracování k výrazným změnám bílkovinných profilů. Profily lněných vzorků mají dvě výrazné zóny bílkovinných podjednotek – oblast kolem 30-32 kDa a oblast kolem 17-20 kDa a minoritní zónu kolem 50 kDa, což přibližně odpovídá literárně deklarovaným podjednotkám lininu (Ayad, 2010). Třetí majoritní zónu představují bílkovinné podjednotky s MW nižší než 11 kDa. Profily bílkovin konopných vzorků zahrnují zejména podjednotky v oblasti kolem 18 kDa, což odpovídá bazickým podjednotkám monomeru edestinu a podjednotky v oblasti 32-34 kDa, které by měly odpovídat kyselým podjednotkám monomeru edestinu.



Obr. 2: Bílkovinné profily výliskové mouky (M), frakce pod 250 µm (F) a bílkovinného koncentrátu (K) u lnu a konopí po denaturační elektroforéze (SDS-PAGE).
HM – hmotnostní bílkovinný standard (Blue Protein Ladder, Central European Biosystems)

Z tabulky 3 je patrné, že lněný bílkovinný koncentrát je průkazně (P<0,05) nejsvětlejší, výliskové mouky mají v důsledku přítomnosti osemení a oplodí tmavší barvu. Důležitý je obsah celkových polyfenolů, který je průkazně vyšší u lnu, něž u konopí a u obou olejnin je nejvyšší u výliskové mouky. Hladina antioxidační aktivity byla nalezena v korelaci s obsahem celkových polyfenolů (mezi oběma parametry byla zjištěna pozitivní korelace s r=0,935; P<0,001). Podobné rozdíly vykazují i dva hodnocené funkční parametry – vazba vody a vazba tuku. Vododržná funkce je statisticky průkazně větší u lněných materiálů než u konopných. U konopí byl nalezen velký rozdíl mezi moukou či frakcí pod 250 µm a samotným bílkovinným koncentrátem, který byl v tomto ohledu nejslabší. Naopak schopnost vázat tuk je v případě obou druhů průkazně (P<0,05) vyšší u bílkovinných koncentrátů než u mouky a její frakce. Vyšší schopnost vázat vodu u vzorků lnu a u mouky a frakce konopí se dá vysvětlit vyšším obsahem vlákniny. U lnu hraje v tomto ohledu roli specifická skupina vlákniny, která je známá jako lněný sliz (flaxseed soluble gum). Ten má obecně velmi vysokou schopnost vázat vodu (Liu et al., 2018).

Tab. 3: Hodnocení vybraných charakteristik výliskové mouky (M), frakce pod 250 µm (F) a bílkovinného koncentrátu (K) lnu a konopí

materiál	světlost (%)	obsah TPC (mg GAE/g suš.)	antioxidační aktivita (mg AAE/g suš.)	vazba vody (g vody/g)	vazba tuku (g tuku/g)
Len M	62,43 c	6,73 a	2,58 a	4,37 a	0,97 bc
Len F	66,88 b	3,94 b	2,02 b	3,43 b	0,91 bcd
Len K	77,61 a	4,51 b	2,11 b	3,86 ab	1,91 a
Konopí M	51,92 e	2,94 c	1,79 c	1,82 c	0,77 d
Konopí F	58,22 d	2,83 c	1,35 d	2,02 c	0,83 cd
Konopí K	58,01 d	1,16 d	0,81 e	0,96 d	1,05 b

Pozn.: TPC – obsah celkových polyfenolů, GAE – ekvivalenty gallové kyseliny, AAE – ekvivalenty askorbové kyseliny. Rozdílná písmena u hodnot ve sloupcích indikují statisticky významný rozdíl na hladině významnosti P<0,05 (Fisher LSD test).

Z uvedeného je zjevné, že výlisky semen resp. plodů olejnin lze zpracovatelsky zhodnocovat na výrobky s různými vlastnostmi – např. vyšší obsah N látek, rozdílné zastoupení vlákniny, rozdílné zastoupení polyfenolů apod. a využívat tak vliv změny zastoupení látek na změnu funkčních vlastností – např. vyšší schopnost vázat vodu či tuk, ale i další funkční vlastnosti (zde neprezentované ve výsledkové podobě) jako např. emulgační schopnost, gelotvorná funkce apod. Mouky či bílkovinné koncentráty lnu a konopí by tak mohly být využívány pro přípravu masných a mléčných výrobků nebo pekařských výrobků či práškových směsí pro jejich přípravu (Waszkowiak, Rudzińska, 2014; Malomo, Aluko, 2015; Wang, Xiong, 2019). Pro některé výše zmíněné potravinářsky uplatnitelné funkce je potřeba získat bílkoviny v koncentrované podobě naopak pro nutriční využití (např. přímý či lehce upravený konzum) může být vhodnější komplexní pojetí v podobě mouky či její frakce. V oblasti využití výlisků semen olejnin pro lidskou výživu a potravinářské aplikace zbývá řešit mnoho problémů, např. oxidační stabilitu mouk a jejich frakcí (vzhledem k vysokému obsahu zbytkových tuků), podmínky rozpustnosti bílkovin v získaných koncentrátech či obsah antinutričních faktorů a rizikových látek.

Závěr

Na základě provedené modelové demonstrace zpracování semenných výlisků lnu a konopí na výliskovou mouku, její frakci s částicemi pod 250 µm a bílkovinný koncentrát lze vyvodit následující závěry:

- výlisky semen lnu a konopí představují cenný materiál, který je sám o sobě využitelný v podobě výliskové mouky nebo pro přípravu derivátů – velikostních frakcí mouk s rozdílných obsahem významných látek či bílkovinných koncentrátů (izolátů)
- stupeň zpracování ve směru „mouka – frakce s částicemi pod 250 µm – bílkovinný koncentrát“ zvyšuje obsah dusíkatých látek.
- získané koncentráty bílkovin lnu a konopí mají schopnost vázat více tuku než výliskové mouky
- výliskové mouky lnu a konopí mají vyšší schopnost poutat vodu než z nich odvozené bílkovinné koncentráty a také mají vyšší zastoupení celkových polyfenolů a vykazují vyšší antioxidační aktivitu než bílkovinné koncentráty
- frakce mouky s velikostí částic pod 250 µm vykázala významnou schopnost koncentrovat konopné N látky resp. bílkoviny z počáteční výliskové mouky (z obsahu 28 % na obsah 45 %)
- výlisková mouka její frakce či odvozené bílkovinné koncentráty disponují významným potenciál pro přímou lidskou výživu nebo jako suroviny pro produkci potravinářských výrobků

Dedikace

Příspěvek vznikl v rámci řešení výzkumného projektu MZe NAZV QK1910302. Autoři děkují za finanční podporu.

Použitá literatura

Anonym (2019): https://www.canah.com/product/protein-powder/ (dostupné on-line: 05. 11. 2019)

Ayad A. A. (2010): Characterization and properties of flaxseed protein fractions. Ph.D. thesis, McGill University, Montreal, 151 p.

Bárta J. et al. (2018): Charakteristika mouky ze salátové řepy (*Beta vulgaris* var. *conditiva*) a její antioxidační aktivita. Úroda 66(12): 397-400. (ISSN 0139-6013)

Hadnađev M., Dapčević Hadnađev T. R., Pojić M. M., Šarić B. M., Mišan A. Č., Jovanov P. T., Sakač M. B. (2017): Progress in vegetable proteins isolation techniques: a review. Food and Feed Research 44: 11 – 21.

Lachman J., Hamouz K., Čepl J., Pivec V., Šulc M., Dvořák P. (2006): Vliv vybraných faktorů na obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu hlíz brambor. Chemické Listy 100: 522-527.

Laemmli U. K. (1970): Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227: 680-685.

Liu J., Shim Y. Y., Tse T. J., Wang Y., Rwandy M. J. T. (2018): Flaxseed gum a versatile natural hydrocolloid for food and non-food applications. Trends in Food Science and Technology 75: 146-157.

Malomo S. A, Aluko R. E. (2015): Conversion of a low protein hemp seed meal into a functional protein concentrate through enzymatic digestion of fibre coupled with membrane ultrafiltration. Innovative Food Science and Emerging Technologies 31: 151-159.

Mattila P., Mäkinen S., Eurola M., Jalava T., Pihlava J.-M., Hellström J., Pihlanto A. (2018): Nutritional value of commercial protein-rich plant products. Plant Foods for Human Nutrition 73: 108-115.

Moudrý J. et al. (2011): Alternativní plodiny. ProfiPress, Praha, 142 p. (ISBN 978-80-86726-40-3)

Shim Y. Y., Gui B., Arnison P. G., Wang Y., Reaney M. J. T. (2014): Flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) bioactive compounds amd peptide nomenclature: A review. Trends in Food Science and Technology 38: 5-20.

Šmirous P., Bjelková M., Souček J. (2015): Metodická příručka pro pěstování olejného lnu. Agritec Plant Research s.r.o., Šumperk, 57 p.

Šulc M., Lachman J., Hamouz K., Orsák M., Dvořák P., Horáčková V. (2007): Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení anti-oxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. Chemické Listy 101: 584-591.

Tošovská M., Buchtová I. (2010): Situační a výhledová zpráva – len a konopí. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha, 49 s. (ISBN 978-80-7084-900-7)

Wang Q., Xiong Y. L. (2019): Processing, Nutrition, and Functionality of Hempseed Protein: A Review. Comprihensive Reviews in Food Science and Food Safety 18: 936 – 952.

Waszkowiak K., Rudzińska M. (2014): Effect of flaxseed and extracts on lipid stability in stored meat products. Journal of American Oil Chemist Society 91: 979-987.

Zehnálek P., Kraus P. (2019): Přehledy odrůd řepky olejky jarní, hořčice bílé, máku setého, lnu olejného a kmínu kořenného 2019. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v Brně, Brno, 125 s. (ISBN 978-80-7401-169-6)

Kontaktní adresa:

doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Rostlinná výroba
Na Sádkách 1780
370 05 České Budějovice
e-mail: barta@zf.jcu.cz
web: http://rv.zf.jcu.cz

VLIV BAREVNÝCH VARIANT LNU A QUINOI NA KVALITU LABORATORNĚ PŘIPRAVENÝCH TĚSTOVIN

Influence of colour variants of linseed and quinoa on quality of laboratory prepared pasta

Švec I., Jiříčková K., Sluková M., Skřivan P.

Ústav sacharidů a cereálií, VŠCHT Praha

Abstrakt

Základní receptura jednovaječných pšeničných těstovin podle metodiky Cereální laboratoře VŠCHT Praha byla modifikována 10 a 20% přídavky celozrnné mouky ze zlatého a hnědého lnu, resp. žluté, červené a černé quinoi. Technologický potenciál kontrolní pšeničné mouky polohrubé těstárenské a deseti uvedených vzorků byl hodnocen pomocí profilu retenčních kapacit (metoda SRC). Z naměřených hodnot je patrné, že retenční kapacity byly zvýšeny pouze přídavky lněných mouk, a to více než dvakrát. Při výrobě kolínek se varianty se lnem a quinoou odlišovaly lisovatelností, rychlost odřezávání (vyšší pro těstoviny s quinoou). Vliv přítomnosti tří druhů quinoi a dvou typů semen lnu na technologické vlastnosti byl kromě nižší ztráty varem se významněji neprojevil ve vaznosti a bobtnavosti. V senzorickém hodnocení nebyly vyrobené vzorky významněji odlišné od kontrolních, největší rozdíly byly zaznamenány v barvě sušených podle míry obohacení. Nejvyšší obsah celkové vlákniny (TDF) byl stanoven ve výrobku s černou quinoou a hnědou lněnou moukou (7,2 a 11,3 %).

Klíčová slova: těstoviny, len, quinoa, vláknina, barva

Abstract

Basic formula for one-egg wheat pasta preparation according to method of the Cereal Laboratory of the ICT Prague was modified by 10% or 20% additions of wholemeal flour from golden and brown linseed, or from yellow, red and black quinoa seeds. Technology potential of semi-fine wheat flour control as well as of ten mentioned samples was evaluated by the SRC procedure. Measured data shown that retention capacities were increased by both linseed flours at least twice. During elbow-pasta pressing, dough machinability was different – speed of cutting knife was clearly higher for quinoa-containing counterparts. Presence of three types of quinoa and two types of linseed was reflected in lower cooking loss, not in water absorption or swelling rate. Within sensory testing, enriched pasta variants were not significantly different form the control, the highest diversity was found into dry pasta colour according to fortification rate. The highest dietary fibre content (TDF) was determined into the final product containing black quinoa or brown linseed flour (7.2 and 11.3%, respectively).

Key words: pasta, flax, quinoa, dietary fibre, colour

Úvod

Pšeničné těstoviny patří k základním potravinám se snadnou kulinární úpravou a širokým spektrem možných pokrmů ať již na sladko, tak na slano. V základním rozdělení lze v rámci Evropy rozlišit vaječné a bezvaječné – semolinové, krátké a dlouhé druhy, zavářkové a přílohové. Spotřeba na evropském kontinentu je průměrně kolem 6 kg/os/rok, ale značné kolísá – v Irsku či Dánsku je zájem spotřebitelů minimální, zatímco v Řecku a Itálii patři těstoviny k téměř každodenně požívaným potravinám (spotřeby 1 a 2 kg/os/rok, resp. 11 a 26 kg/os/rok; IPO 2012). V posledních pěti letech se na trhu objevily těstoviny z celozrnných obilných mouk, jednou z posledních inovací ve výrobě je použití bronzových matric bez teflonové vložky. Těstoviny vyrobené na takovýchto matricích mají méně hladký, jakoby pomoučený povrch – mají se snadněji spojovat s omáčkami. Základní složky pro výrobu jsou pšeničná mouka a voda a z tohoto důvodu je velmi snadné zvýšit nutriční hodnotu těstovin – povoleny jsou pouze přírodní suroviny, v praxi jsou používané mouky z netradičních plodin a zeleninové pudry s barevným efektem. Cílem je nejen rozšíření nabízeného sortimentu, ale i dotace nutričně deficitních složek typu aminokyselin a bílkovin, nenasycených mastných kyselin a vlákniny.

Netradiční plodiny typu pohanky, konopí, sóji ale i quinoi jsou rovněž používány při výrobě bezlepkových těstovin. Např. pro sójové těstoviny s 5% podílem mouky ze semen quinoi výrobce udává 38 % bílkovin a 19 % vlákniny (www.maxsport.sk).
Standardizovaný těstárenský pokus umožňuje laboratorní výrobu těstovin ve formě kolínek jak pšeničných vaječných, tak semolinových a bezlepkových s přídavky různých netradičních plodin – v tomto případě byly pšeničné jednovaječné obohaceny 10 a 20 % celozrnných mouk ze zlatých a hnědých semen lnu, resp. bílých, červených a černých semen quinoi. Hlavním důvodem obohacení bylo zvýšení obsahu dietní vlákniny – v lněné mouce se obsah pohybuje okolo 28 % (Honců et al., 2013), v semenech např. bílé quinoi kolem 12 % (Jiříčková, 2019). Cílem práce bylo jak posouzení technologického potenciálu připravených dvousložkových směsí profilem čtyř retenčních kapacit a obsahem dietní vlákniny (TDF), tak výroba a hodnocení vyrobených těstovin v sušeném a uvařeném stavu. Významným bodem práce je analýza rozptylu a vztahů analytických parametrů a jakostních znaků hotových kolínek pomocí Tukeyova testu a lineárních korelací.

Materiál a metody

Základní pšeničná mouka polohrubá těstárenský byla vyrobena ze sklizně 2019 v průmyslovém mlýně Perner Svijany (ČR). Všech pět vzorků netradičních plodin bylo zakoupeno v kamenné prodejně Country Life CZ ve formě semen, která byla na celozrnnou mouku semleta standardizovaným postupem na nožovém mlýnku Concept KM-5001 (Hofmanová et al. 2014). Testované dvousložkové směsi obsahovaly 10, resp. 20 hm. % netradiční suroviny jako náhrady základní mouky. Zkratky vzorků jako např. M+20QR zahrnují standard M, přídavek (10, 20 hm. %) a druh netradiční suroviny (LZ, LH – zlatý a hnědý len; QW, QR, QB – bílá, červená a černá quinoa).
Profil retenčních kapacit (Solvent Retention Capacity profile) je mezinárodně uznaná metoda k popisu absorpční schopnosti pentozanů, poškozeného škrobu a bílkovin pomocí roztoků sacharozy, uhličitanu sodného a kyseliny mléčné plus celkovou vaznost pomocí demineralizované vody, zahrnující příspěvek všech uvedených složek (Kweon et al. 2011). Lze takto rozlišit primárně vzorky odrůd i komerční pšenice a ročníků sklizně, stejně jako technologickou kvalitu kompozitních mouk např. s konopnou, tef nebo chia moukou (Hrušková et al. 2013). Laboratorní těstárenský pokus podle metodiky Cereální haly VŠCHT Praha zahrnuje šaržovou výrobu těstovin v podobě kolínek, kdy je možno za cca 8-10 h vyrobit šest recepturních variant (sušení na vlhkost 14,0 %). Základní receptura zahrnuje 750 g polohrubé mouky (nebo směsi mouk), 10,5 g vaječné melanže (Zeelandia CZ, ČR), 5,0 g (tj. 0,6 hm. % na mouku) chloridu sodného p.a. (Penta, ČR) a 280 ml destilované vody o teplotě 26 °C. Postup výroby těstovin pomocí těstárenského listu Korngold TR-70 (Korngold AG, AUS) a hodnocení v sušeném a uvařeném stavu dříve zveřejnily Hrušková a Vítová (2007). Hodnocení kvality zahrnuje jak objektivní znaky (vaznost, bobtnavost, sediment), tak hedonickou senzorickou analýzu (znaky očkovitost, celistvost povrchu, barva, vůně, chuť). Vzorky sušených těstovin o hmotnosti cca 20 g byly semlety na mlýnku KM4 (OZAP Praha, ČR) s prosevem na sítě 0,485 mm, kdy pro stanovení obsahu dietní vlákniny byl použit propad.
Pro statistickou analýzu získaných dat byl použit program Statistica 13.0 (Statsoft, USA) na hladině pravděpodobnosti P = 95 %, zahrnující metody ANOVA a lineární korelace.

Výsledky a diskuze

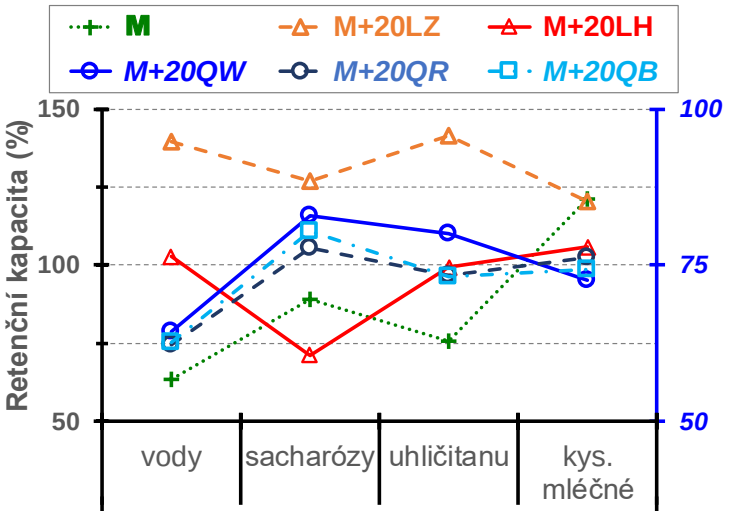
Analytické hodnocení kompozitních mouk

Profil retenčních kapacit (Obr. 1) ukazuje je významné vzájemné rozdíly jednak mezi standardem – pšeničnou moukou polohrubou a testovanými směsmi – trojicí mouk s barevnými variantami quinoi ve srovnání s protějšky se zlatou a hnědou lněnou moukou. Nejmenší rozdíly lze postřehnout pro retenční kapacitu (RK) kyseliny mléčné – v případě těstovin se kvalita

Tab. 1 Senzorické hodnocení sušených těstovin

Mouka	Přídavek [%]	Tvar sušených* [body]	Barva sušených* [body]	Povrch sušených* [body]	Očkovitost sušených* [body]
M	0	4 a	5 a	5 a	5 a
M+QW	10	4 a	5 a	5 a	4 ab
	20	4 a	5 a	4 a	4 ab
M+QR	10	4 a	3 ab	4 a	3 abc
	20	4 a	3 ab	4 a	1 c
M+QB	10	5 a	3 ab	4 a	3 abc
	20	5 a	3 ab	4 a	1 c
M+LZ	10	5 a	4 a	5 a	4 ab
	20	5 a	3 ab	4 a	3 abc
M+LH	10	5 a	3 ab	5 a	3 abc
	20	5 a	3 ab	4 a	2 cb

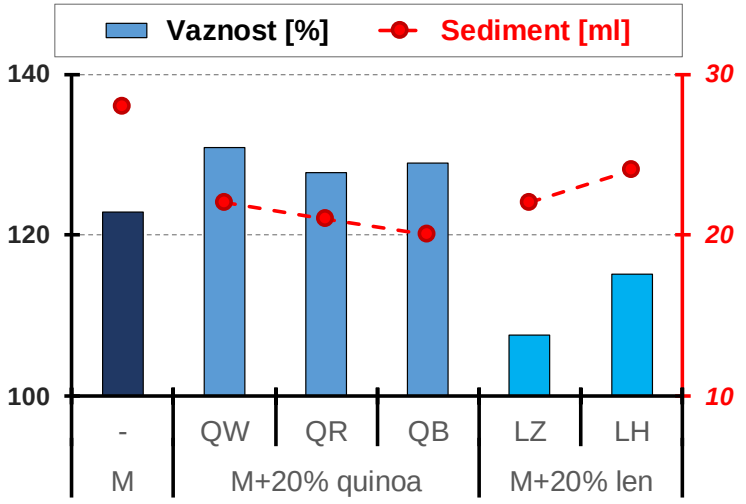
bílkovin projevuje rozdíly v lisovatelnosti. Podle tohoto parametru se odlišovaly hodnoty pro M+20WQ, M+20QR, M+20QB a M+20LH proti M a M+20LZ. Vliv netradičních surovin se na hodnotách ostatních tří RK projevil ve srovnatelných rozsazích – od standardu M lze odlišit trojici kompozitních mouk s quinoou s nejnižšími hodnotami
a směsi s oběma typy lněné mouky (dominance zlatého lnu). Lze takto predikovat různou míru absorpce vody při vaření (vaznost) díky rozdílnému obsahu vlákniny – v případě lnu se jedná o kyselé a neutrální heteropolysacharidy, anglicky nazývané „mucilage“ – podle výzkumů mohou absorbovat mezi 1600 až 3000 g vody na 100 g sušiny (Kajla et al. 2015).



Obr. 1: Porovnání profilů retenčních kapacit pro standard M a dvousložkové směsi mouk s 20% přídavkem celozrnných mouk (LZ, LH – mouka ze zlatých a hnědých semen lnu (hlavní osa *y*); QW, QR, QB – mouka z bílé, červené a černé quinoi; vedlejší osa *y*)

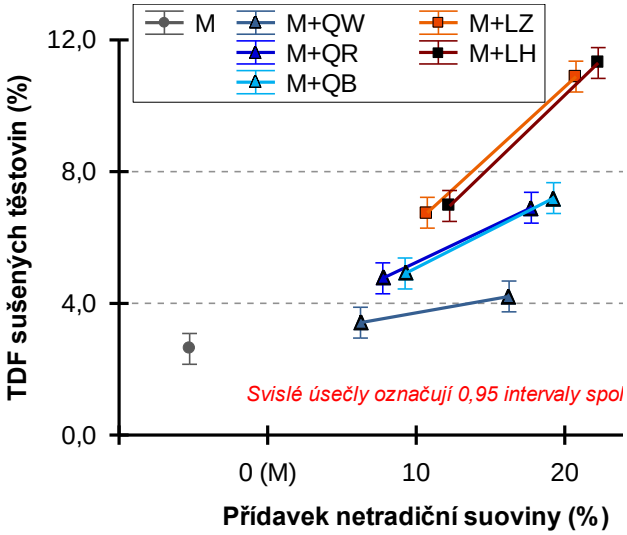
Hodnocení sušených těstovin
Vlastnosti sušených těstovin shrnuje Tab. 1 – tvar všech variant byl optimální, přídavky netradičních surovin se negativně neprojevily. Stran barevného odstínu nižší hodnoty

odpovídají receptuře, kdy proti klasicky žlutým těstovinám byl pozorován výraznější béžový až šedý nádech; ve spojení s očkovitostí, pro kterou analýza rozptylu dokládá největší diference, byla barva jednotlivých typů obohacených kolínek méně rovnoměrná. Podíl může mít jak laboratorní příprava celozrnných mouk, kdy na nožovém mlýnku nelze semínka mikronizovat na pudr, stejně tak i v tomto směru zřejmě nedostatečná homogenizace sypkých surovin hřebenem v těstárenském lisu. Pro většinu semen bývá endosperm navíc světlejší než obalové vrstvy, což se podílí na větším rozptylu světla a méně sytých odstínech.



Obr. 2: Porovnání objektivních znaků uvařených těstovin pro pšeničné jednovaječné (standard M) a dvousložkové těstoviny s 20% přídavkem celozrnných mouk (LZ, LH – mouka ze zlatých a hnědých semen lnu; QW, QR, QB – mouka z bílé, červené a černé quinoi)

V kontrolních těstovinách byl obsah vlákniny stanoven na úrovni 2,5 %. Nárůst 10% přídavky tří forem quinoi byl max. dvojnásobek (vzorek M+10QB), přídavek 20% pak znamenal téměř trojnásobek (cca 7 %). V celozrnných lněných moukách byl obsah TDF násobně vyšší, a proto v těstovinách obsah vlákniny přesáhl 11 % pro vyšší míru obohacení (Obr. 3). Při konzumaci 200 g tohoto typu uvařených těstovin lze doporučenou denní dávku vlákniny 30 g uhradit z cca jedné třetiny.



Obr. 3: Statistické porovnání obsahu vlákniny ve vzorcích pšeničných jednovaječných těstovin obohacených celozrnnými moukami ze semen quinoi a lnu.

Hodnocení uvařených těstovin

Při zkoušce těstovin varem se ukázala standardní doba varu 8 min jako dostatečná k optimálnímu stupni provaření bez ohledu na přidanou netradiční složku. Kolínka si zachovala původní tvar a dále jejich barva po uvaření byla rovnoměrnější. Quinoa a len se ve vůni těstovin projevily minimálně, naopak typická chuť jednovaječných těstovin byla po přídavcích hodnocena stupněm 3 body pro všechny vzorky (data neuvedena). Jednalo se o typické příchutě netradičních plodin, v případě lnu také o dílčí mastnou dochuť. Podle Obr. 2 a objektivních znaků vaznost a sediment byla spotřebitelská kvality vyšší pro výrobky s quinoa moukou než

se lněnou. Vaznost se obecně požaduje co možná nejvyšší a sediment naopak, ovšem při zachování tvaru a konsistence těstovin po uvaření.

Korelační analýza

Matice vstupních dat obsahovala11 vzorků a celkem 19 parametrů jakosti kompozitních mouk, sušených a uvařených těstovin. V Tab. 2jsou shrnuty vztahy mezi analytickými znaky (4 x RK mouk plus obsah vlákniny v sušených těstovinách) proti objektivním i subjektivním charakteristikám sušených a uvařených těstovin. Pro senzorické atributy typu tvar a barva se ve třech případech vyskytly stejné hodnoty s nulovým rozptylem, proto nebylo možno korelace spočítat. Z výsledků korelační analýzy lze postřehnout, že obsah vlákniny zlepšuje tvar vylisovaných kolínek. Z profilu retenčních kapacit se v daném souboru uplatnily RK vody a RK uhličitanu, tedy lze usuzovat na vliv vlákniny. Je překvapivé, že průkazné korelace obecně naznačují nepřímé (záporné) vztahy mezi páry charakteristik z obou skupin – teoreticky by např. pro těstoviny z mouky s vysokou RK vody (vyšším obsahem vlákniny) byla logická přímá vazba na vaznost těstovin, tj. hmotnost vody absorbované při vaření. V zahraniční literatuře je místo vaznosti těstovin používán tzv. swelling index, který vyjadřuje poměr při varu přijaté vody na hmotnost suchých těstovin; tento znak je rovněž pozitivně ovlivňován recepturním přídavkem neškrobových polysacharidů (Brennan a Tudorica 2007). Podobně vláknina patřící mezi hydrokoloidy je známá svou schopností pojmout značné množství vody – Koca a Anil (2007) stejně jako Xu et al. (2014) potvrzují zvýšení farinografické vaznosti vlivem přídavků celozrnné lněné mouky. Díky počtu vzorků má však provedená korelační analýzy pouze informativní charakter, pro potvrzení nalezených a celkově vyšší počet průkazných vztahů bude potřeba shromáždit objemnější soubor vzorků.

Závěr

V rámci laboratorního těstárenského pokusu se podařilo vyrobit jednovaječné pšeničné těstoviny obohacené celozrnnými moukami, kvalitou srovnatelné s pšeničným standardem. Profily retenčních kapacit se lišily mezi kompozitními moukami s quinoou a lnem v souladu s rozdílným obsahem vlákniny. Lisovatelnost variant s 10% a 20% obohacením byla dobrá,

Tab. 2 Významné korelace mezi retenčními kapacitami (RK) mouka a objektivními parametry sušených a uvařených těstovin (N = 11; P = 95 %, r_{krit} = 0,60)

Forma těstovin	Parametr	RK vody	RK sacharozy	RK uhličitanu	RK kys. mléčné	TDF sušených
Sušené	Objem*	-	-	-	-	-
	Tvar	0,59	0,08	0,52	0,31	**0,68**
	Barva	-0,29	-0,04	-0,19	0,05	**-0,67**
	Povrch	-0,03	-0,17	0,00	0,53	-0,40
	Očkovitost	0,01	0,17	0,10	0,53	-0,56
Uvařené	Hmotnost	**-0,86**	-0,38	**-0,85**	**-0,80**	-0,56
	Objem	**-0,81**	-0,53	**-0,87**	-0,54	-0,44
	Tvar*	-	-	-	-	-
	Barva	0,28	0,44	0,40	0,36	-0,27
	Vůně*	-	-	-	-	-
	Chuť	-0,11	-0,03	-0,14	0,45	-0,28
	Vaznost	**-0,89**	-0,39	**-0,87**	**-0,80**	**-0,62**
	Bobtnavost	**-0,81**	-0,53	**-0,87**	-0,54	-0,44
	Sediment	0,05	0,09	0,05	0,47	-0,23

**- nulový rozptyl dat, korelace nebylo možno spočítat.*

teplota těstovin nepřekročila 40 °C. V sušeném stavu měly vyrovnaný tvar a neporušený povrch, který však vykazoval dílčí míru očkovitosti. Odstín těstovin odpovídal přidané netradiční surovině – kolínka si zachovala barvu při přídavku zlaté lněné mouky a naopak významně ztmavly při fortifikaci černou quinoou. Stran nutričního přínosu lze kvitovat 20 % mouk z quinoi a 10 i 20 % lněných mouk – nárůst obsahu vlákniny proti kontrole byl násobný. Při zkoušce varem se tvar jednotlivých variant významněji nezměnil, barvy povrchů získaly méně syté odstíny. Senzorická analýza doložila mírnou změnu vůně a chuti těstovin při zachování správné konzistence při konzumaci – intenzita cizích příchutí nepřekročila únosnou mez, v případě těstovin se lnem byla dále identifikována mastná dochuť. Barva uvařených těstovin byla podle předpokladu méně sytá než pro vzorky v sušeném stavu, ale stále atraktivní pro spotřebitele.

Literatura

Brennan C.S., Tudoric C.M. (2007): Fresh pasta quality as affected by enrichment of nonstarch polysaccharides. J. Food Sci. 72(9): 659-665.

Hofmanová T., Hrušková M., Švec I. (2014): Evaluation of wheat/non-traditional flour composites. Czech J. Food Sci., 32: 288–295.

Honců I., Sluková, M., Krejčířová, L. (2013): Len setý – jeho význam z hlediska výživy a zdraví. Výživa a potraviny 68(6): 161-163.

Hrušková, M., Švec, I., Jurinová, I. (2013): Chemometrics of wheat composites with hemp, teff, and chia flour: comparison of rheological features. Internat. J. Food Sci. vol. 2013, Article ID 968020, 6 pages. http:// dx.doi.org/10.1155/2013/968020.

IPO (2012): Pasta percapita consumption. http://www.internationalpasta.org/index.aspx?idsub=118 (staženo 5.9.2019).

Jiříčková K.: Vývoj a hodnocení těstovin s přídavky netradičních složek. Bakalářská práce, VŠCHT Praha, 2019.

Kajla P., Sharma A., (2015): Flaxseed—a potential functional food source. J. Food Sci Technol. 52(4): 1857-1871.

Koca A.F., Anil M. (2007): Effect of flaxseed and wheat flour blends on dough rheology and bread quality J. Sci. Food Agri. 87:1172–1175.

Kweon M., Slade L., Levine H. (2011): Solvent retention capacity (SRC) testing of wheat flour: principles and value in predicting flour functionality in different wheat-based food processes, as well as in wheat breeding – A review. Cereal Chemistry, 88(6): 537 – 552.

Xu Y., Hall C.A., Manthey F.A. (2014): Effect of flaxseed flour on rheologial properties of wheat flour dough and on bread characteristics. J. Food Res. 3(6): 83-91.

https://www.maxsport.sk/ (staženo 5.9.2019).

Kontaktní adresa:

Ing. Ivan Švec, Ph.D.
VŠCHT Praha
Technická 5
166 28 Praha 6 - Dejvice
220 443 206, Ivan.Svec@vscht.cz

STANOVENÍ MRAZUVZDORNOSTI GENERATIVNÍCH ORGÁNŮ MERUŇKY

Characterisation of apricot generative organ frost resistance

Bilavčík A., Faltus M., Zámečník J.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Abstrakt

Generativní orgány ovocných dřevin jsou často poškozovány jarními mrazíky. Především v posledních letech u teplomilných ovocných dřevin jako je meruňka. Pomocí diferenční skenovací kalorimetrie byly sledovány termické charakteristiky generativních orgánů vybraných odrůd meruňky, a to ledová krystalizační aktivita a obsah krystalizované vody. Využitím diferenční skenovací kalorimetrie bylo možné u generativních orgánů meruňky v ekodormantním stavu charakterizovat stav jejich mrazuvzdornosti.

Klíčová slova: *Prunus armeniaca* L. var. *armeniaca*, květní pupeny, mrazové poškození, DSC

Abstract

Generative organs of fruit trees are often damaged by spring frosts. In recent years, especially in thermophilic fruit trees such as apricot. By means of differential scanning calorimetry, the thermal characteristics of the generative organs of selected apricot varieties were monitored, especially the ice crystallization activity and the crystallized water content. By means of differential scanning calorimetry, it was possible to characterise the state of apricot generative organs frost resistance.

Key words: *Prunus armeniaca* L. var. *armeniaca*, generative buds, frost injury, DSC

Úvod

Pěstování a využití ovocných plodin má v historii naší země dlouholetou tradici. Ovocné dřeviny se dříve pěstovaly především pro jejich plody. Až v posledních staletích byla zjištěna nezastupitelná role ovoce, jakožto zdroje nepostradatelných látek pro zdravý vývoj člověka. Především v souvislosti se probíhajícími změnami klimatu, jako celkovým oteplováním, většími výkyvy teplot a dřívějšímu nástupu vegetace (Litschmann a kol., 2017), začíná v poslední době nabývat na významu téma poškozování ovocných dřevin mrazy (Ludvík 2017). Tato problematika nabývá na důležitosti hlavně s pěstováním teplomilných druhů ovocných dřevin jako je meruňka. A to jak v nových lokalitách, tak ve stávajících oblastech pěstování.

Poznatky o základní mrazuvzdornosti různých druhů rostlin jsou obecně známé a literárními údaji i potvrzené. Jedná se především o mrazuvzdornost jejich pupenů, kdy lze jednotlivé druhy rozdělit podle strategie na druhy přežívající díky podchlazení meristematických částí pupenů (Chalker-Scott, 1992; Warmund a kol., 1988) a na druhy, u kterých dormantní pupeny tolerují extraorgánové vymrzání (Ishikawa a Sakai, 1985). Dynamika poklesu mrazuvzdornosti dormantních pupenů různých ovocných druhů však vyžaduje, aby byly konkrétně určeny jejich termické charakteristiky, především ledová krystalizační aktivita a obsah zmrzlé vody v souvislosti s jejich přežitím. Toto je významné především pro meruňku, která je vzhledem ke kontinentálnímu původu schopna začít rašit již brzy v předjaří a bývá tak vystavena poškozujícímu působení nízkých teplot, hlavně u jejich generativních orgánů. Pro výše uvedenou termickou charakterizaci pupenů je možné využít diferenční skenovací kalorimetrii (DSC).

Diferenční skenovací kalorimetrie patří k termickým metodám, pomocí kterých se měří fázové a skelné přechody. V principu DSC měří teplotu a tepelný tok asociovaný s tepelně

zabarvenými přechody ve sledovaném vzorku v závislosti na změně teploty a času. Tato metoda poskytuje informace o endotermických a exotermických změnách, či změnách tepelné kapacity. Naměřená data je možno využít pro určení, teploty ledové nukleace, tání či varu, krystalizačního času a teploty, procenta krystalinity, specifické teplené kapacity, teplot skelného přechodu, reakčního tepla, tepelné stability, reakční kinetiky a dalších charakteristik. Cílem této práce je metodicky ověřit možnost detekce termických charakteristik u dormantních generativních pupenů vybraných odrůd meruňky vystavených nízkým teplotám.

Materiál a metody

V experimentech byly použity jednoleté dormantní prýty odrůdy meruňky; 'Harglow', 'Lebona', 'Maďarská', 'Sundrop' a 'Velikij'. Dormantní prýty byly odebrány z venkovních podmínek na konci ledna 2019 ze sadů Zahradnické fakulty MENDELU v Lednici. Pro udržení odolnosti z přechozího 14 denního období s výskytem mrazových dnů byly prýty umístěny do mrazicího boxu do -4 °C. Bezprostředně před samotným termickým měřením byly větvičky s pupeny pro měření ponechány ve vlhké Petriho misce v laboratorní teplotě do vyrovnání s okolní teplotou. Následně byl vyříznut generativní pupen a umístěn do hliníkové pánvičky pro diferenční skenovací kalorimetr (DSC). Zatavené pánvičky se vzorky byly umístěny do DSC TA2920 a jejich termický profil byl měřen v průběhu poklesu teploty z 20 °C do -50 °C a poté v průběhu ohřevu do 30 °C. Rychlost chlazení a ohřevu byla 10 °C min^{-1}, vzorkovací frekvence 0,2 s bod^{-1}, promývání průtokem 33 ml min^{-1} dusíkem. Termogramy byly analyzovány pomocí software TA Instruments Universal Analysis 2000. U vzorkové pánvičky bylo propíchnuto víčko a následně sušena do vysušení na konstantní hmotnost, 48 hodin při 105 °C. Obsah vody ve vzorcích byl stanoven gravimetricky a vyjádřen v procentech obsahu vody z čerstvého vzorku.

Výsledky

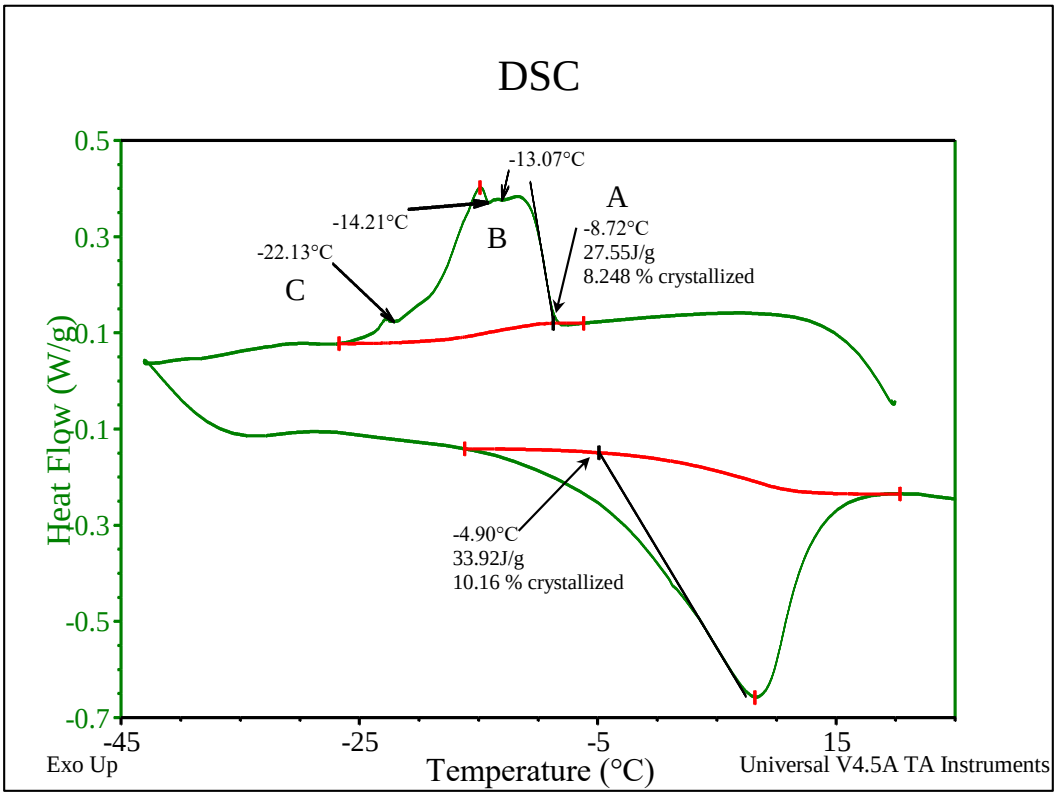
V průběhu chlazení byly u dormantních generativních pupenů meruněk detekovány 3 druhy exoterm, viz obr. 1. Onset prvního typu exotermy byl v rozmezí od -6,1 do -14,6 °C. Nejvyšší a zároveň i nejnižší hodnoty byly naměřeny u odrůdy 'Sundrop'. Onset druhé exotermy se pohyboval v rozmezí od -8,6 do -22,0 °C. Nejvyšší a zároveň i nejnižší hodnoty byly naměřeny u odrůdy 'Sundrop'. Onset třetího typu exotermy byl v rozmezí od -20,5 do -29,1 °C. Nejvyšší hodnota byla naměřena u odrůdy 'Lebona' a nejnižší u odrůdy 'Sundrop'. U všech odrůd, kromě odrůdy 'Maďarská', byly detekovány všechny tři typy exotermy. Třetí typ exotermy nebyl detekován u odrůdy 'Maďarská' a u odrůdy 'Sundrop' byl na hranici detekovatelnosti. U druhého typu exotermy byly detekovány píky od jednoho do čtyř, nezávisle na odrůdě. Integrál plochy exotermního píku, obsah krystalické vody, se pohyboval od 9,0 do 25,8 %, nezávisle na měřené odrůdě.

V průběhu ohřevu byla detekována pouze jedna výrazná endoterma odpovídající tání krystalizovaných vodných roztoků v pupenu a to v rozsahu onsetů od 0,2 do -5,1 °C, nezávisle na odrůdě. Integrál plochy endotermního píku, obsah krystalické vody, se pohyboval od 10,2 do 29,1 %, nezávisle na odrůdě.

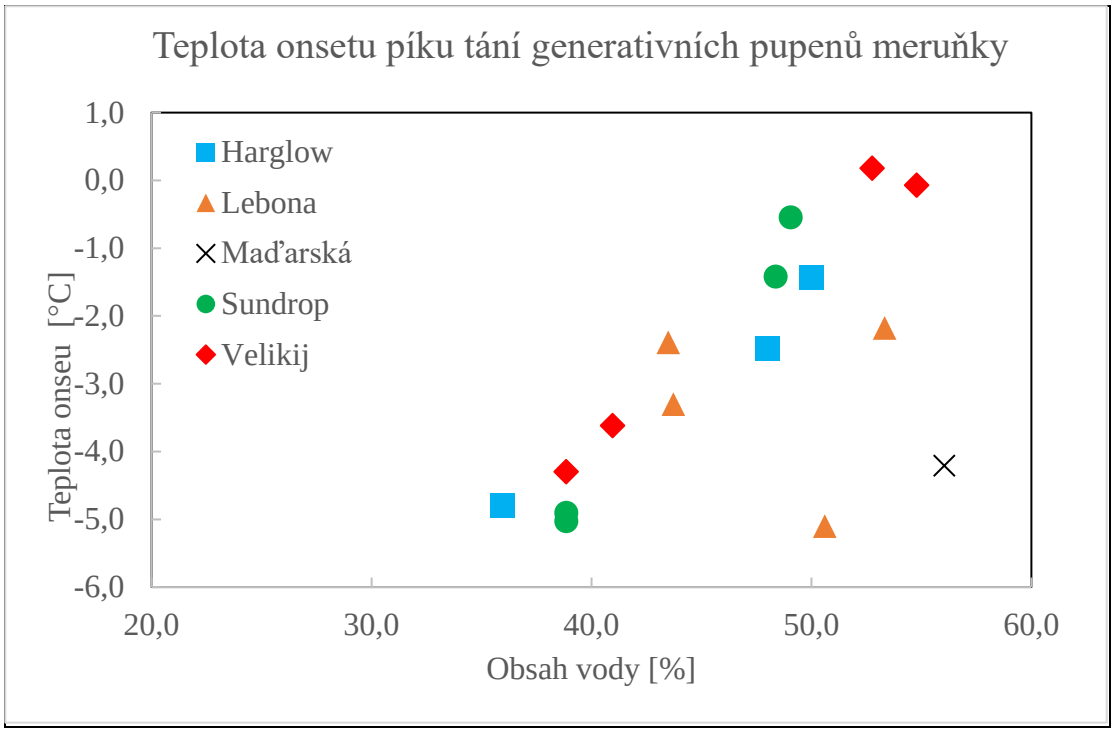
Na obrázku č. 2 je znázorněn průběh teplot onsetu píku endoterm tání u jednotlivých odrůd v závislosti na obsahu vody v měřených pupenech. Se snižujícím se obsahem vody v pupenu se snižuje onset endotermního píku táni. Maximálních hodnot onsetu teploty píku tání 0,2 °C bylo dosaženo při 52,8% obsahu vody u odrůdy 'Velikij' a minimálních hodnot -5,0 při obsahu vody 38,9 % u odrůdy 'Sundrop'.

Na obrázku č. 3 je znázorněna závislost množství krystalizované vody na obsahu vody ve sledovaných pupenech. Se snižujícím se obsahem vody v pupenech dochází ke snižování objemu krystalizované vody. Maximálních hodnot množství krystalizované vody 29,1 % bylo

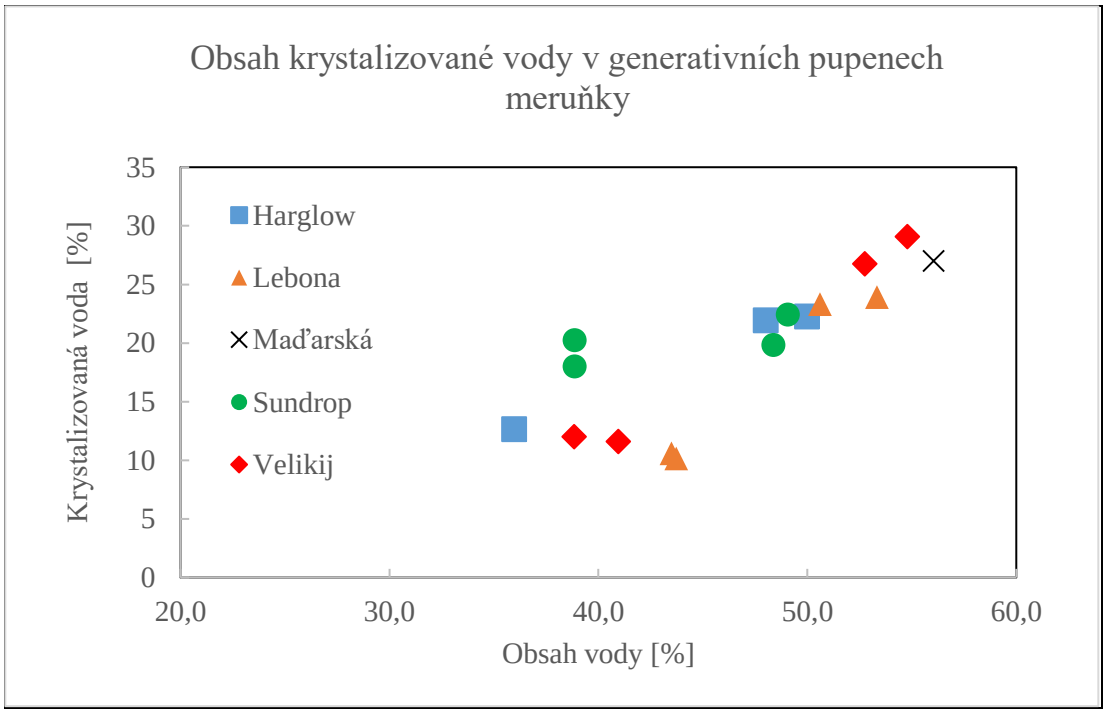
dosaženo při 54,8% obsahu vody u odrůdy ‘Velikij’ a minimálních hodnot 10,2 % při obsahu vody 43,7 % u odrůdy ‘Lebona’.



Obr. 1: DSC termogram dormantního generativního pupene meruňky ‘Velikij’. Na horní křivce je průběh chlazení a na spodní křivce ohřevu vzorku. Šipky označují osety píků exotermy (krystalizace) a endotermy (tání). V průběhu chlazení jsou zaznamenány 3 typy exoterm; první exoterma A (-8,72 °C), druhá exoterma B (-13,07 a -14,21°C) a třetí exoterma C (-22,13 °C). V průběhu ohřevu byla detekovaná pouze jedna exoterma s onsetem píku při -4,90 °C. Plocha píků je vyjádřena procentním obsahem krystalizovaného roztoku v pupenu. Rychlost chlazení a ohřevu byla 10 °C min^{-1}.



Obr. 2. Závislost teploty onsetu píku tání na obsahu vody u generativních pupenů meruňky odrůd 'Harglow', 'Lebona', 'Maďarská', 'Sundrop' a 'Velikij'. Stanoveno pomocí DSC TA2920 v průběhu chlazení a ohřevu rychlostí 10 °C min^{-1}.



Obr. 3. Závislost obsahu krystalizované vody na obsahu vody u generativních pupenů meruňky odrůd 'Harglow', 'Lebona', 'Maďarská', 'Sundrop' a 'Velikij'. Stanoveno pomocí DSC TA2920 v průběhu chlazení a ohřevu rychlostí 10 °C min^{-1}.

Diskuze

V průběhu měření byly u dormantních generativních pupenů meruněk při chlazení zaznamenány tři typy exoterm, které odpovídají mrznutí vody v různých kompartmentech.

První exoterma (A), viz obr. 1, odpovídá vymrznutí extracelulární vody, apoplastické či vody ve vodivých pletivech napojujících samotný pupen na cévní systém prýtu. Podle Hamed a kol., 2000 odpovídají dále naměřené exotermy B vymrznutí kapilární či apoplastické vody v jednotlivých vnitřních částech generativního pupenu. Poslední exoterma C souvisí pravděpodobně s mrznutím symplastické vody a vody v parenchymatických buňkách v xylému a koreluje s teplotami ireverzibilního poškození (Brennan a kol., 1993; Ristic a Ashworth, 1994). Námi dosažené hodnoty nejníže naměřené exotermy C v teplotách od -20 do -29 °C odpovídají předpokládané mrazové odolnosti generativních orgánů meruněk v daném období (Nyujtó a Erdös, 1986).

Obsah krystalizované vody naměřené v průběhu chlazení byl průměrně nižší než odpovídající obsah zjištěný při ohřevu. Tuto skutečnost lze vysvětlit tím, že voda má skupenské teplo přechodu z kapalného do pevného stavu ovlivněno teplotou, při které k tomuto přechodu dochází. Při chlazení, kdy dochází ke krystalizaci při nižší teplotě, je proto dosahováno o něco nižších hodnot. I když mají v grafu č. 2 dva pupeny odrůd ‘Lebona’ a ‘Maďarská’ nižší hodnoty onsetu, přesto je zřetelně zaznamenán celkový trend poklesu onsetu píku tání s poklesem obsahu vody v pupenech. Obdobně je zaznamenána závislost poklesu obsahu krystalizované vody na obsahu celkové vody v generativních pupenech u všech odrůd, viz obr. 3. Tyto poznatky korelují se pracemi zabývajícími se mrazovou dehydratací dormantních pupenů pro jejich kryoprezervaci (Bilavčík a kol., 2018).

Analýza termických charakteristik pomocí diferenční skenovací kalorimetrie pomáhá stanovit důležité vlastnosti generativních pupenů meruňky jako je teplota onsetu exoterm a množství krystalické vody, což jsou nezbytné parametry pro zhodnocení možnosti přežití pupenů meruněk v nízkých teplotách.

Závěr

V práci je uveden postup termické analýzy generativních pupenů meruňky v ekodormantním stavu. Postup měření byl odzkoušen u několika odrůd a je pomocí něj možné detekovat hlavní termické události v dormantních pupenech, především onsety exoterm v průběhu chlazení a onset a plocha endotermy v průběhu ohřevu. Dále je možné charakterizovat obsah krystalizované vody u jednotlivých termických jevů. Získaný postup bude dále využit při stanovení průběhu mrazové odolnosti u generativních orgánů rodu *Prunus*, především u meruněk, na pracovišti VÚRV, v.v.i. v Praze Ruzyni.

Poděkování

Děkuji kolegům ze Zahradnické fakulty MENDELU v Lednici, Ing. Ivo Ondráškovi, Ph.D. a Ing. Tomášovi Nečasovi, Ph.D. za poskytnutí rostlinného materiálu.

Tato práce vznikla za podpory MZe, projektu NAZV QK1920124 a Institucionálního projektu VÚRV, v.v.i. RO0418.

Literatura

Bilavčík A., Faltus M., Zámečník J., 2018 Termické charakteristiky dormantních pupenů 40. Mezinárodní český a slovenský kalorimetrický seminář Univerzita Pardubice, Pardubice, 147–150.

Brennan RM., Goodman BA., Chudek JA. 1993 Freezing events in flowers of Ribes nigrum L. revealed by NMR microimaging, J. Hort. Sci. 68(6):919-924.

Hamed F., Fuller MP., Telli G., 2000 The pattern of freezing of grapevine shoots during early bud growth. CryoLetters 21,255-260.

Chalker-Scott L., 1992 Disruption of an ice-nucleation barrier in cold hardy Azalea buds by sublethal heat stress, Annals of Botany 70:409-418.

Ishikawa M., Sakai A., 1985 Extraorgan freezing in wintering flower buds of Cornus officinalis Sieb. et Zucc., Plant, Cell and Environment 8:333-338.

Litschmann T., Rožnovský J., Salaš P., Vlk R., 2017 Trendy výskytu pozdních jarních mrazíků v ČR, Sborník příspěvků z konference Mrazy a jejich dopady, Hrubá Voda 26. – 27. 4. 2017.

Ludvík M., 2017 Vliv negativních klimatických jevů na produkci ovoce v ČR Sborník příspěvků z konference Mrazy a jejich dopady, Hrubá Voda 26. – 27. 4. 2017.

Nyujtó F., Erdös Z., 1986 Frost tolerance studies in apricot varieties. Acta Hortic. 192, 377-382.

Ristic Z., Ashworth EN., 1994 Response of xylem ray parenchyme cells of red osier dogwood (Cornus sericea L.) to freezing stress, Plant Physiol. 104:737-746.

Warmund MR., George MF., Cumble BG., 1988 Supercooling in "Darrow" blackberry buds, J. Amer. Soc. Hort. Sci. 113(3): 418-422.

Kontaktní adresa:

RNDr. Alois Bilavčík, Ph.D.
Tým fyziologie a kryobiologie rostlin
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6 – Ruzyně
tel.: +420 233022433
e-mail: bilavcik@vurv.cz

MIKROSPOROVÉ KULTURY U NOVÝCH GENOTYPŮ HOŘČICE SAREPTSKÉ (*BRASSICA JUNCEA*)

Microspore cultures in new genotypes of leaf mustard (*Brassica juncea*)

Bryxová P.[2,1], Klíma M.[1], Fernández Cusimamani E.[2], Ulvrová T. [1,2]

[1]*Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.*
[2]*Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta tropického zemědělství, Katedra tropických plodin a agrolesnictví*

Abstrakt
Brassica juncea patří mezi celosvětově využívanou plodinu. V potravinářském průmyslu je několik možností jejího zpracování. Semena jsou používána na extrakci oleje, zatímco biomasa a kořeny jsou konzumovány jako zelenina. Obsahuje glukosinoláty jež jsou cennou látkou při prevenci nádorového onemocnění. Tato studie je zaměřená na testování mikrosporových kultur jako nástroj pro získání homozygotních linií a následné využití ve šlechtitelských programech. Tato technologie byla úspěšně zavedena u 4 nově získaných F_1 kříženců. Celkem bylo získáno 59 embryí, která úspěšně regenerovala v celistvé rostliny.
Klíčová slova: Brassicaceae, dihaploidizace, *in vitro*

Abstract
Brassica juncea is worlwide known crop. There are several possibilities to use it in food industry as well as in pharmacy. Seeds are used for extraction of oil, while biomass and roots are used for consuming as vegetables. Plant contain glucosinolates, which are valuable substances for prevention of cancer. In this study microspore cultures were tested as a tool to obtain homozygous lines and their subsesquent use in breeding programmes. This technology was successfully implemented in four new F_1 hybrids. Totally, 59 embryos were obtained and regenerated into whole plants.
Key words: Brassicaceae, dihaploidization, *in vitro*

Úvod

Hořčice sareptská (*Brassica juncea* (L.) Czern) je křížencem druhů *B. rapa* a *B. nigra* (Fransden 1943). Patří mezi celosvětově známé plodiny vyskytující se v Asii, severní Africe, Evropě a severní Americe. Primárním centrem diverzity je severozápadní Indie, nicméně Čína je označována jako země s největší diverzitou tohoto druhu. Hořčice sareptská má mnoho využití. Pro potravinářské účely je možné rozeznat dva základní typy, a to odrůdy pěstované především pro získání oleje (převážně v Indii a Bangladéši) a odrůdy pěstované jako zelenina (především v Číně). Pro konzumaci je možné využít různé části rostliny (listy, stonky, kořeny) podle specializace vybrané odrůdy (Dixon 2006). *Brassica juncea* obsahuje velice cenné sekundární metabolity nazývané glukosinoláty, které jsou ve velké koncentraci uložené v semenech rostliny. Tyto metabolity mohou být klíčovým faktorem při prevenci nádorového onemocnění a zároveň mají antibakteriální, insekticidní a fungicidní účinky (Szollosi 2011). Mikrosporové kultury jsou užitečný nástroj pro získání dihaploidních (DH) linií. DH linie jsou tvořeny z haploidních buněk, kde je navozeno umělé nebo spontánní zdvojení chromosómů (Murovec & Bohanec 2012). Dihaploidy mohou být využity ve šlechtitelských programech pro tvorbu zcela homozygótních, liniových odrůd. Tato technologie umožňuje získat vysokou frekvenci embryogeneze u širokého spektra genotypů (Mordhorst et al. 1997; Touraev et al. 1997; Pauk et al. 2000, 2003; Boutilier et al. 2002).

Cílem práce bylo zavedení mikrosporových kultur u nově získaných F_1 kříženců hořčice sareptské, otestování embryogeneze a získání mikrosporových regenerantů vhodných pro šlechtitelské účely.

Materiál a metody

Původním materiálem pro získání výchozích kříženců bylo 5 genotypů – Opaleska, Oportuna, Domo, RLM a IB1632 získaných z Genové banky Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v Ruzyni. Genotypy byli mezi sebou nakříženy a výchozím materiálem byly 4 nově získaní F_1 kříženci (tab. 1) produkující dostatek poupat na odebrání vzorků pro založení mikrosporových kultur. Křížení, příprava donorových rostlin i zavedení mikrosporových kultur a následná kultivace regenerantů probíhalo na pracovišti VÚRV Ruzyně.

Semena F_1 generace byla vyseta do výsevního substrátu a ponechána v kultivačním boxu s řízenou teplotou a fotoperiodou (kultivační box Sanyo MLR-351, teplota 20/15 °C den/noc, fotoperioda 12 h s maximální dostupnou světelnou intenzitou). Nové rostliny vyklíčily během týdne a byli přesazeny po 1 ks do 8 cm plastových květináčů se zahradnickým substrátem a ponechány v kultivačním boxu až do fáze BBCH 15–18. Po dosažení zmíněné fáze byly rostliny přesazeny do velkých květináčů 19x19 cm se zahradnickým substrátem, přihnojeny granulovaným hnojivem Cererit a přemístěny do kultivačního boxu s řízeným tepelným a světelným režimem (teplota den/noc 17–19/12–14 °C, 16 h světelná perioda, světelná intenzita 180 µmol/m^2/s, sodíkové vysokotlaké výbojky). Rostliny byly během růstu ve velkých květináčích pravidelně ošetřovány proti padlí.

Mikrosporové kultury byly založeny podle metodiky pro produkci dihaploidních linií pro brukvovité zeleniny (Klíma *et al.*, 2004). Každý týden po dobu 1 měsíce byla odebírána axilární a terminální květenství s mladými poupaty donorových rostlin pěstovaných v řízených podmínkách. Zároveň probíhalo pravidelné odstraňování odkvetlých květenství pro podporu tvorby nových poupat. Květenství bylo uloženo v lednici při 4–5 °C až do vlastního odběru jednotlivých poupat (max. 7 dní). Před každým zavedením kultury byl proveden roztěr prašníků pro určení vývojového stádia mikrospor a určení optimální velikosti poupat. Hodnocení probíhalo za pomocí optického mikroskopu Olympus CKX-41 při zvětšení 40x. Optimální mikrospory byly kulovitého tvaru s čirou cytoplazmou a jádrem v blízkosti exiny. Roztěry prašníků byly prováděny v NLN médiu (Lichter 1985). Následující část přímého zavádění kultur probíhalo ve sterilním prostředí Flow boxu. 20 poupat optimální velikosti (3-4 mm) bylo odebráno a sterilizováno pomocí 70 % ethanolu po dobu 2 minut a roztoku 10 % chlornanu sodného po dobu 10 minut. Následně byla poupata třikrát propláchnuta sterilní destilovanou vodou. Poupata byla macerována v NLN médiu (Lichter 1985) a 3x centrifugována. Čerstvě izolované mikrospory byly kultivovány v 10 ml NLN média (Lichter 1985) při 32 °C po dobu 24 hodin. Po 24 hodinách byly kultury přesunuty do 25 °C a kultivovány po tmě až do objevení prvních globulárních proembryí. Petriho misky s proembryi byly následně přeneseny do kultivační místnosti na světlo a třepačku pohybující se 60 ot./min. Dobře vyvinutá, zelená embrya o velikosti alespoň 4 mm byla přenesena na pevné diferenciační médium obsahující benzylaminopurin (0,2 mg/l), indolovou kyselinu octovou (0,2 mg/l), 2% sacharózu a 0,8% agar (Klíma *et al*. 2004). Embrya byla dále kultivována v 18 °C při fotoperiodě 16/8 h a světelné intenzitě 300 µmol/m^2/s. Po dvou týdnech kultivace byly seříznuty děložní lístky embryí a ta přenesena na pevné regenerační médium bez růstových regulátorů, s přídavkem 1 % sacharózy a 1 % agaru (Klíma *et al*. 2004). Dobře vyvinuté rostliny byly přeneseny k zakořenění na MS médium (Murashige & Skoog 1962) bez růstových regulátorů a se sníženým množství sacharózy. V případě zhoršené regenerace rostlin z embryí byl proces pasážování na čerstvé regenerační, resp. MS médium několikrát opakován. Během celého procesu byla pozorována embryogeneze, schopnost regenerace a vitalita rostlin.

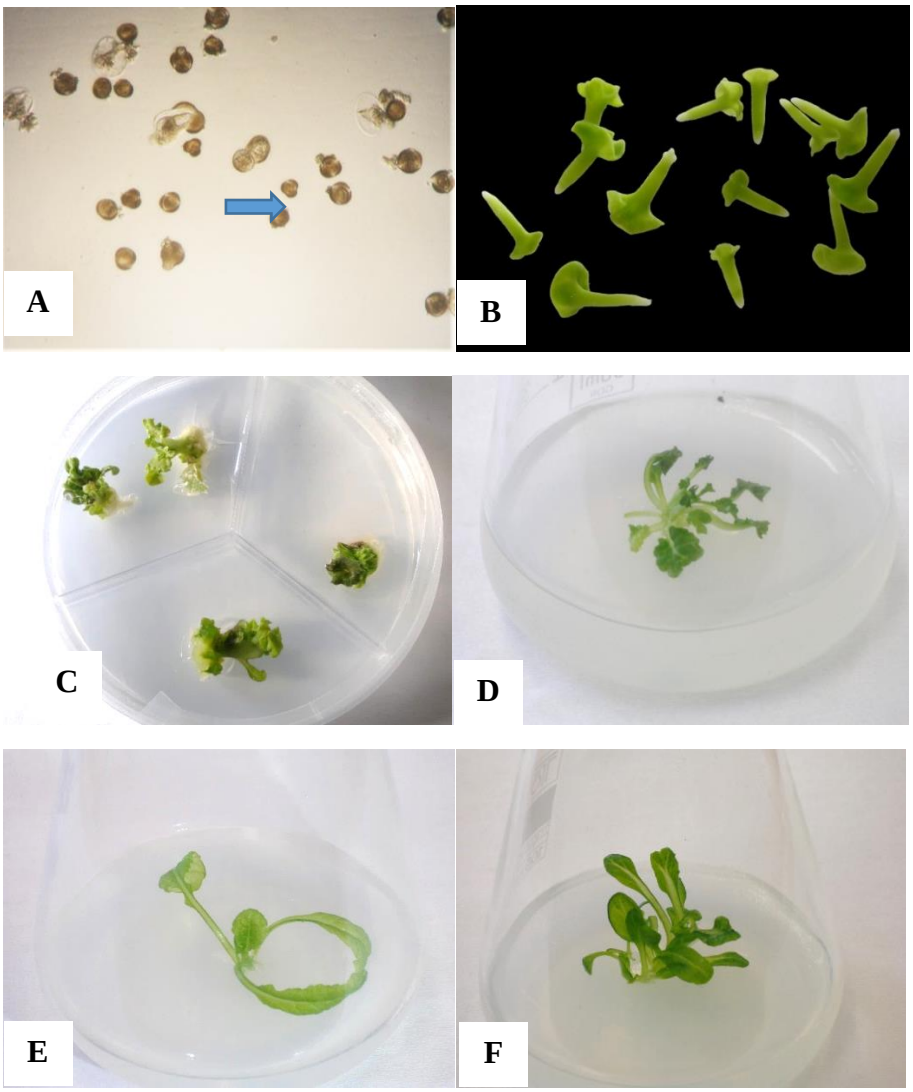
Výsledky a diskuze

Jako optimální velikost poupat pro zavedení mikrosporové kultury u F_1 kříženců byla vyhodnocena délka poupat ± 3 mm. První dělení mikrospor bylo pozorováno po 7 dnech inkubace (obr.1A). Stádium globulárních embryí bylo pozorováno po 12-17 dnech. Embrya byla schopna převodu na diferenciační médium po týdnu kultivace na třepačce (obr. 1B,1C). U všech nových F_1 kříženců bylo zavedení mikrosporové kultury úspěšné. F_1 kříženci dobře regenerovali (obr.1D, 1E, 1F a byli schopni převodu do nesterilních podmínek 3,5 měsíce po založení kultury. Genotypy vyznačující se vyšší embryogenní schopností byly RLM x IB1632 a DOMO x OPALESKA (tab. 1).

Tab. 1: Původ F_1 kříženců a hodnocení embryogeneze

F_1 kříženec	Matka	Otec	Frekvence embryogeneze
Domo x Opaleska	Domo	Opaleska	21
Oportuna x Opaleska	Oportuna	Opaleska	**4**
RLM x IB1632	RLM	IB1632	**22**
IB1632 x RLM	IB1632	RLM	**12**

F1 kříženec – výchozí genotyp; mateřská a otcovská komponenta – genotypy získané z Genové Banky VÚRV, Ruzyně a využité k následnému křížení; frekvence embryogeneze – množství embryí získaných z 20 poupat, kultivovaných v 10 ml NLN média na 90 mm Petriho miskách



Obr. 1: A dělení buněk po 7 dnech inkubace; B. kotyledonární embrya;
C. Regenerace embryí na diferenciačním médiu (Oportuna x Opaleska); D. regenerant RLM x IB E. regenerant Oportuna x Opaleska; F. regenerant Domo x Opaleska

Závěr

Bylo zjištěno, že mikrosporové kultury jsou funkčním nástrojem pro získání uniformních rostlin u hořčice sareptské. Tato studie je první informací, týkající se zavedení mikrosporových kultur, hodnocení embryogeneze, regenerace celistvých rostlin u hořčice sareptské v Evropě.

Dedikace

Tento výzkum byl finančně podpořen Interní Grantovou Agenturou Fakulty Tropického Zemědělství a projektem NAZV QK1910225 – „Implementation and use of complex biotechnological methods to characterize and create genetic resources and other materials for mustard food and forage purposes“ (2019-2023) and institucionálním projektem RO0417 VÚRV v.v.i.

Použitá literatura

Boutilier K, Offringa R, Sharma VK. 2002. Ectopic expression of baby boom triggers a conversion from vegetative to embryogenic growth. The Plant Cell 14:1737–1749

Dixon GR. 2006. Origins and diversity of Brassica and its relatives. Vegetable Brassicas and related crucifers pp1-33.

Frandsen KJ. 1943. The Experimental Formation of *Brassica juncea* Czern. Et Coss:(preliminary Report). Munksgaard.

Klíma M., Vyvadilová M., Kučera V., 2004: Production and utilization of doubled haploids in *Brassica oleracea* vegetables. Horticultural Science 31: 119–123.

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.

Mordhorst AP, Toonen M, De Vries SC. 1997. Plant Embryogenesis. Critical Review. Plant Science 16: 535–576.

Murashige T., Skoog F., 1962: A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15: 473–497.

Murovec J, Bohanec B. 2012. Haploids and Doubled Haploids in Plant Breeding. University of Ljubljana, Biotechnical Faculty Slovenia. Plant Breeding 5: 1-2.

Pauk J, Mhály R, Monostori T, Puolimatka M. 2003. Protocol for triticale (×Triticosecale Wittmack) microspore culture. In: Maluszynski M, Kasha KJ, Forster BP, Szarejko I [eds.], Doubled Haploid Production in Crop Plants. A Manual, pp129–134.

Pauk J, Puolimatka M, Tóth KL, Monostori T. 2000. In vitro androgenesis of triticale in isolated microspore culture. Plant Cell Tissue and Organ Culture 61: 221–229.

Szollosi R., 2011. Indian Mustard Seeds in Health. Nut and Seeds in Health and Disease Prevention pp671-676.

Touraev A, Vicente O, Heberle-Bors E. 1997. Initiation of embryogenesis by stress. Trends Plant Science 2:297–302.

Kontaktní adresa:

Ing. Pavla Bryxová,
Fakulta tropického zemědělství,
Kamýcká 961/129,
165 00 Praha-Suchdol
e-mail: pajabryxova@gmail.com

DLOUHODOBÉ SKLADOVÁNÍ VEGETATIVNĚ MNOŽENÝCH GENOTYPŮ *PETUNIA HYBRIDA*

Long-term storage of vegetatively propagated genotypes of *Petunia hybrida*

Černý J.[1], Černá M.[2], Salaš P.[2]

[1] Černý-BioPro s.r.o., Praha, [2] Ústav šlechtění a množení zahradnických rostlin, Zahradnická fakulta MENDELU

Abstrakt

Bezpečnostní duplikace kolekce komponentů komerčních hybridů u *Petunia hybrida* pomocí kryoprezervace v tekutém dusíku může zajistit tento cenný materiál před poškozením, nebo dokonce ztrátou. Byl vyzkoušen protokol s použitím prekultivačního MS media s 0,2 mol.l^{-1} sacharózy a kryoprotektivního roztoku PVS2. U 4 diploidních a 4 tetraploidních genotypů bylo dosaženo regenerace zmrazených explantátů mezi 46-56 %, v průměru 51 %. Mezi výsledky u diploidních a tetraploidních genotypů nebyl zjištěn statistický rozdíl. O vhodnosti implementace tohoto protokolu pro dlouhodobé uchovávání genetických zdrojů rozhodne ověření na rozsáhlejším souboru rozdílných genotypů.

Klíčová slova: *Petunia hybrida*, kryoprezervace, dlouhodobé skladování

Abstract

Safety duplication of commercial hybrid components in *Petunia hybrida* using cryopreservation in liquid nitrogen can ensure this valuable material from damage or even loss. The protocol using pre-cultivating MS media with 0.2 M sucrose and cryoprotective solution PVS2 was tested. Four diploid and four tetraploid genotypes recovered from frozen explants. Regeneration was observed between 46-56 %, on average 51 %. There was found no statistical difference between the results both for diploid and tetraploid genotypes. The implementation of this protocol for the long-term conservation of genetic resources will be decided after verification on a larger set of different genotypes.

Key words: *Petunia hybrida*, cryopreservation, long-term storage

Úvod

Některé rodičovské komponenty pro výrobu F1 hybridního osiva u *Petunia hybrida* jsou rozmnožovány vegetativně (Sink 1984). Elitní množitelský materiál je pak uchováván *in vitro*, především ze zdravotních důvodů (Anderson 2007). Při udržování řady genotypů může dojít ke kontaminaci, nebo i záměně udržovaného materiálu (Šedivá 2009). To může vést až k ztrátě genotypů na jejichž vyšlechtění byly vynaloženy vysoké finanční částky a v konečném důsledku k vyřazení hybridní odrůdy ze sortimentu. Duplicitní uchovávání materiálů v jiné laboratoři může být problematické z hlediska ochrany materiálů před zcizením. Vhodnou metodou bezpečnostní duplikace kolekcí je kryoprezervace, tedy uchovávání rostlinného materiálu při teplotě tekutého dusíku. Pro zdárné přechovávání rostlinného materiálu v těchto podmínkách musí být v explantátu optimální množství vody, tak aby při zmrazování nevznikaly v pletivu krystaly ledu (Zámečník et al. 2019). Byla navržena celá řada protokolů pro různé druhy rostlin (Reed 2008). Zmrazování vegetačních vrcholů se považuje optimální z hlediska genetické stability. U petúnií byl úspěšně vyzkoušen protokol (Zhang et al. 2015) s využitím kryoprotektiva PVS2 (Sakai et al. 1990) s obsahem glycerolu, DMSO, etylenglykolu a sacharózy. Cílem práce bylo vyzkoušet tento protokol na genotypech používaných jako komponenty pro výrobu komerčních hybridů, a to jak diploidů, tak i tetraploidů.

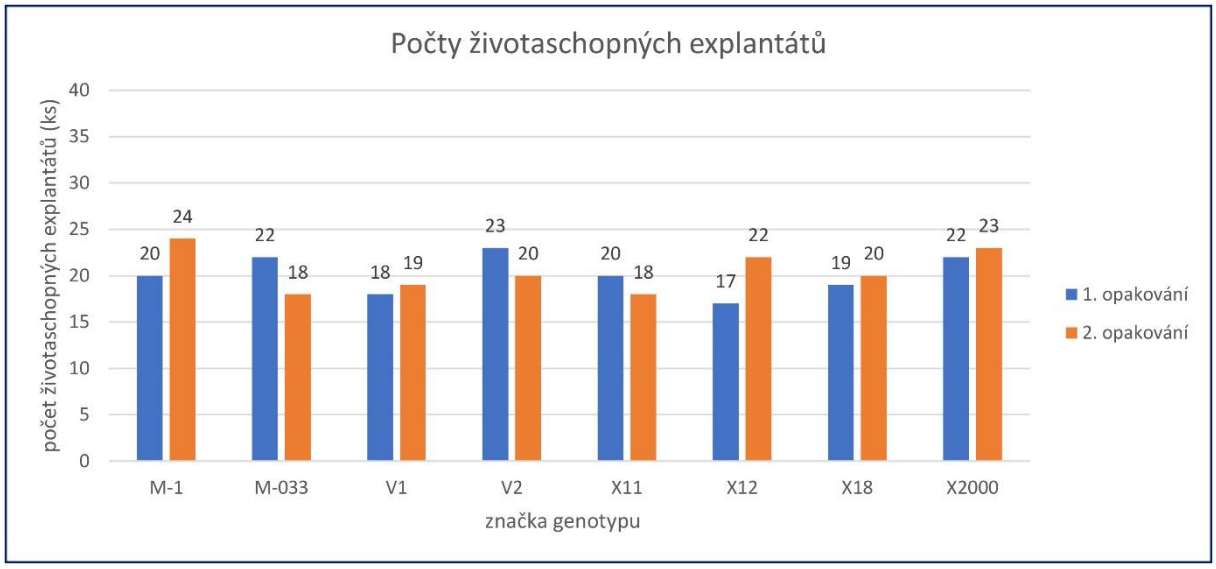
Materiál a metodika

K pokusu byly použity čtyři diploidní (značeno V) a čtyři tetraploidní (X) vegetativně množené komponenty komerčních hybridních odrůd které poskytla česká biotechnologická firma Černý-BioPro, Praha. Rostliny pro odběr explantátů k zamrazení byly pěstovány v 150 ml Erlenmayerových baňkách s 20 ml kultivačního media MS (Murashige and Skoog 1962) s 20 $g.l^{-1}$ sacharózy ztužené 8 $g.l^{-1}$ agaru. Ztužená media byla sterilizována párou 21 minut při teplotě 121 °C. Po 4týdenní kultivaci byly odříznuty 1-2 mm dlouhé části vrcholového výhonu a na 48 hodin ponořeny do prekultivačního media MS s 0,2 $mol.l^{-1}$ sacharózy o teplotě 25 °C. Všechny použité roztoky měly pH 5,8 a byly sterilizovány filtrací. Následně byly vrcholy ponořeny do kryoprotektivního roztoku PVS2 (Sakai et al. 1990) s teplotou 0 °C po dobu 30 min. Po této době byly přemístěny po 10 kusech na Al fólii 0,05 mm o rozměru 30 x 6 mm. Plíšek byl ponořen do 2 ml mikrozkumavky, která byla naplněna tekutým dusíkem (TD) a byla umístěna v polystyrenové nádobě také s obsahem TD. Za průběžného doplňování TD po 60 minutách byly mikrozkumavky uzavřeny víčkem tak aby TD mohl pronikat přes závit pod víčkem. Zkumavky byly umístěny na 24 hod do Dewarovy nádoby s TD. Odtátí vzorků proběhlo v regeneračním mediu MS s 1,2 $mol.l^{-1}$ sacharózy s teplotou 25 °C po dobu 20 minut. Následně byly explantáty umístěny do 60 mm Petriho misek na MS medium s 20 $g.l^{-1}$ sacharózy ztužené 8 $g.l^{-1}$ agaru a s přídavkem 1$mg.l^{-1}$ zeatinu. Dále kultivace probíhala při teplotě 18 °C, v periodě 8 hod. světlo a 16 hod. tma a intenzitě světla 3 500 lux. Pokus byl založen ve dvou opakování, od každého genotypu bylo v opakování zmrazeno 40 vegetačních vrcholů. U každého genotypu a opakování byl spočítán počet životaschopných rostlin po 3týdenní kultivaci v Petriho miskách. Ke statistickému vyhodnocení byl použit program Statistica 12.

Výsledky

Výsledky pokusu ukazuje graf č.1. Počet životaschopných explantátů po rozmrazení se pohyboval u jednotlivých genotypů od 46 do 56 % s průměrem 51 %. Mezi prvním a druhým opakováním nebyl žádný statisticky významný rozdíl, v prvním případě byl průměrný počet životaschopných explantátů 50,3 % a v druhém 51,3 %. Mezi výsledky dosaženými u diploidních komponentů 51 % a tetraploidních komponentů 50 % není statisticky významný rozdíl (p = 0,05) (tabulka č. 1).

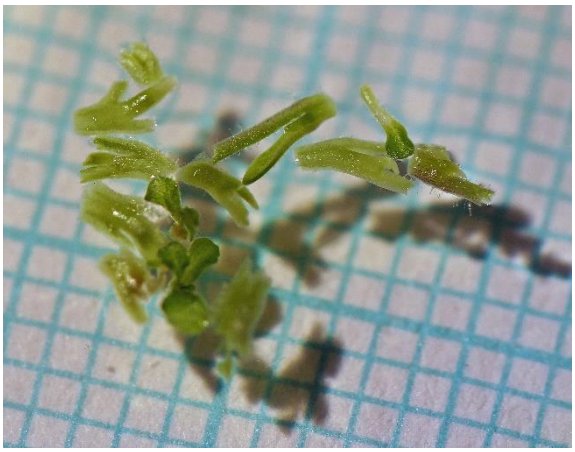
Graf 1: Výsledky prvního a druhého opakování



Tab. 1: T-**test pro životaschopné explantáty u diploidních a tetraploidních genotypů**

	Průměr (diplo.)	Průměr (tetraplo.)	Hodnota t	Sv	p	Poč.plat. (diplo.)	Poč.plat. (tetraplo.)	Sm.odch. (diplo.)	Sm.odch. (tetraplo.)	F-poměr (Rozptyly)	p (Rozptyly)
diplodní vs. tetraploidní	20,500	20,125	0,343	14,000	0,736	8,000	8,000	2,268	2,100	1,166	0,845

Obr. 1: Explantáty M-1 před a po zmrazení



Diskuze

Cílem práce bylo ověřit kryoprezervační protokol (Zhang et al. 2015) u vegetativně množených komponentů komerčních hybridů *Petunia hybrida*. Jedná se o poměrně homozygotní materiál s různým stupněm inbrední deprese (Reimann-Philipp 1969). To může být jeden z důvodů, proč bylo dosaženo průměrné regenerace 51 %, a ne až 80 %, jak uvádějí autoři tohoto protokolu (Zhang et al. 2015). Předpokládali jsme, že u tetraploidů budou horší výsledky vzhledem k horším množitelským koeficientům v *in vitro* kulturách (Gerats and Strommer 2009). To se nepotvrdilo. Mezi výsledky regenerace u diploidů a tetraploidů nebyly nalezeny rozdíly. Základem úspěšného protokolu je volba vhodného kryoprotektiva, které zaručí, že se v pletivu nevytvoří krystaly vody, které by pletivo nenávratně poškodily (Zámečník et al. 2019; Zhang et al. 2016). Kryoprotektivum PVS2 (Sakai et al. 1990) použité v protokolu obsahuje mimo běžně používaných látek – sacharózy a glycerolu i DMSO, etylenglykolu. U řady druhů se používá s úspěchem PVS3 (Faltus et al. 2018), které neobsahuje toxické látky DMSO a etylenglykohol. Na druhou stranu se tyto látky používají i při kryoprezervaci lidských tkání. Genetická stabilita, která je zvláště důležitá u elitního materiálu, byla ověřována pomocí 15 SSR markerů a nebyly prokázány žádné negativní vlivy (Zhang et al. 2015). Pro regeneraci rozmrazených explantátů jsme proti autorům protokolu použili plné MS medium s přídavkem 1mg.l^{-1} zeatinu. Toto medium se v naší laboratoři osvědčilo při kultivaci vrcholových meristémů při ozdravování materiálů. Bezpečnostní duplikace pomocí kryoprezervace je způsob jakým je možné finančně akceptovatelným způsobem „zálohovat“ i rozsáhlé sbírky genotypů před poškozením (Reed 2008). Použitý protokol je poměrně jednoduchý pro implementaci v běžné *in vitro* laboratoři. Experiment byl proveden pouze s 8 genotypy, pro jeho standardní zavedení je potřeba ho ověřit na větší skupině rozdílných genotypů. Jeho modifikací pro podmínky konkrétní laboratoře bude jistě možné dosáhnout výsledků regenerace které se budou blížit autorům protokolu.

Závěr

Bezpečné skladování cenných genotypů metodou kryoprezervace u *Petunia hybrida* je cestou, jak předejít těžko nahraditelným ztrátám šlechtitelských a množitelských materiálů. V experimentu bylo dosaženo zhruba 50 % regenerace zmrazených výhonů. Po ověření výsledků na rozsáhlejším souboru genotypů bude možné tento protokol doporučit pro uchovávání vegetativně množených komponentů.

Poděkování

Tato práce byla financována z projektu IGA Management uchovávání vegetativně množených genotypů petúnií v podmínkách in vitro (IGA – ZF/2019 - AP003) a podpořena projektem OP VVV reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002334 Výzkumná infrastruktura pro mladé vědce.

Literatura

Anderson, N. O. 2007. *Flower Breeding and Genetics: Issues, Challenges and Opportunities for the 21st Century*. 1st ed., Dordrecht, Netherlands: Springer.

Faltus, M., Domkářová, J., Horáčková, V., Bilavčík, A., Zámečník, J. 2018. *Metodika kryokonzervace bramboru pomocí vitrifikace.* Praha, Výzkumný ústav rostlinné výroby

Gerats, T., Strommer, J. 2009. *Petunia: Evolutionary, Developmental and Physiological Genetics*. 1st ed. New York, USA: Springer.

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

Reimann-Philipp, R. 1969. *Die Züchtung der Blumen.* 1st ed., Berlin, Germany: Paul Parey.

Reed, B. M. 2008 *Plant Cryopreservation: A Practical Guide*. 1st ed., New York, Springer

Sakai, A., Kobayashi, S., Oiyama, I., 1990. Cryopreservation of nucellar cells of navel orange (*Citrus sinensis Osb. var. brasiliensis Tanaka*) by vitrification. *Plant Cell Rep.*,9(1):30-33

Sink, K. C. 1984. *Petunia*. 1st ed. Berlin, Germany: Springer-Verlag.

Šedivá, J., 2009. Shrnutí poznatků při udržování kolekcí vybraných druhů květin s využitím *in vitro* technik, Acta Pruhoniciana, 93(1): 27–30

Zámečník, J., Faltus, M., Bilavčík, A., 2019. Application of differential thermal analysis for the improved regeneration after cryopreservation of vegetatively-propagated plants. *Acta horticulturae*, 1234:57-64

Zhang, J., Huang, B., Zhang, X., Volk, G., Zhou, Y., Chen, X. 2015. Identification of a highly successful cryopreservation method (droplet-vitrification) for petunia. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 51: 445-451

Zhang, J., Huang, B., Chen, X. 2016. Cryopreservation of Petunia Shoot Tips Using Droplet-VitrificationMethod. Journal of Botanical Science, 5(3):8-11

Kontaktní adresa:

Ing. Josef Černý
Černý-BioPro s.r.o.
U Kříže 7, Praha 5, Česká republika
telefon +420 603 803 129,
e-mail info@cerny-biopro.cz

HLEDÁNÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ REZISTENCE K NÁDOROVITOSTI KOŠŤÁLOVIN

Identify of genetic resources of resistance to clubroot

Hejna[1] O., Kopecký[2] P. a Čurn[1] V.

[1]*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta*
[2]*VÚRV, v.v.i. - Centrum aplikovaného výzkumu zelenin a speciálních plodin Olomouc*

Abstrakt
Nádorovitost košťálovin je jednou z nejvíce ohrožujících nemocí brukvovitých plodin u nás i ve světě. Původcem této choroby, *Plasmodiophora brassicae*, je velmi odolný patogen, jehož dlouhodobá perzistence dormantních spor na infikovaném území představuje dlouhotrvající problém. V této práci byla otestována skupina 43 vytipovaných brukvovitých zelenin a pícnin k náchylnosti na toto onemocnění. Výsledek hodnocení ukázal rezistenci u 49 procent zástupců. Největší zastoupení odolných odrůd (16 z 21) představovaly odrůdy kořenových zelenin tuřínů. Rezistence u ostatních typů brukvovitých zelenin a pícnin byla vzácná. Odolné genotypy mohou velice dobře sloužit jako výchozí šlechtitelský materiál při šlechtění proti tomuto onemocnění.
Klíčová slova: nádorovitost, nádorovka, *Plasmodiophora brassicae*, rezistence

Abstract
Clubroot is one of the most threatening diseases of cruciferous crops worldwide including the Czech Republic. The cause of this disease *Plasmodiophora brassicae* is a highly resistant pathogen. Its long-term persistence of dormant spores in infected areas is a long-standing problem. A group of 43 selected cruciferous vegetables and fodder was tested for susceptibility to this disease. The result of this study showed resistance in 49 percent of the tested genotypes. The largest proportion of resistant varieties 16 out of 21 were germplasm of turnip root vegetables. Resistance was rare in other types of vegetables and fodder. Resistant genotypes can serve as starting material for breeding against this disease.
Key words: clubroot, *Plasmodiophora brassicae*, resistance

Úvod

Nádorovitost košťálovin představuje jednu z nejzávažnějších chorob většiny pěstovaných brukvovitých plodin (Dixon 2009). Příčinou tohoto onemocnění je půdní patogen *Plasmodiophora brassicae*. Nádorovka je biotrofní patogen, v půdě přežívá ve formě dormantních „trvalých“ spor, které se do půdy dostávají z odumírajících a odumřelých napadených rostlinných pletiv. Tyto spory dokáží v půdním prostředí přežívat i více jak 18 let a čekat na přítomnost vhodné hostitelské rostliny (Wallenhammar 1996). K iniciaci klíčení dochází přítomností kořenů hostitelských rostlin. Aktivní zoospory pronikají ve dvoufázovém cyklu do kořene, kde u hostitelských rostlin vytvářejí nádorovité zduřeniny, ve kterých se vytváří nová generace trvalých spor (Howard et al. 2010). Vlivem této modifikace kořenového systému hostitelské rostliny do určité míry ztrácejí možnost aktivně přijímat vodu a minerální látky. Následkem toho dochází ke stagnaci růstu, projevu nedostatku živin a vadnutí za slunečného počasí. V případě napadení v raných fázích vývoje často dochází i k odumření rostliny (Howard et al. 2010).
Ekonomické důsledky na infikovaných plochách mohou být značné. V závislosti na koncentraci trvalých spor na osevní ploše se ztráty pohybují od 10 až po 90 procent (Pageau et al. 2006). V současnosti je toto onemocnění na vzestupu po celém světě (Diederichsen et al. 2014). Nádorovitost je problémem také v rámci České republiky. Tradičně bylo toto onemocnění

pozorováno na územích využívaných pro pěstování zeleniny. První základní monitorování tohoto patogenu u nás z 80. let uvádí ve své práci Rod (1986), který popisuje existenci v rámci mnoha oblastí po celé republice, zvláště pak na místech s tradicí pěstování brukvovité zeleniny v okolí Polabí a kolem řeky Moravy. Zamoření těchto oblastí nebylo natolik intenzivní, aby způsobilo škody větší než 30 procent (Rod 1986). S rozmachem osevních ploch řepky v posledních 30 letech, dochází stále více k infekci i této plodiny. Z původně lokalizovaných ploch pro pěstování zeleniny se nádorovitost říší i na místa, kde nikdy pozorována nebyla. Takovýto efekt se může stát v budoucnosti velkým problémem. V současnosti je největší výskyt tohoto patogenu registrována v Moravskoslezském a Libereckém kraji, kde je zasaženo 36 resp. 27 procent osevních ploch (Říčařová et al. 2016). Nejvyšší intenzita zamoření je pozorována na plochách využívaných pro pěstování hlávkového zelí, například Darkovice, Hlučín, Kravaře, Semily a Veselí nad Lužnicí (Kopecky a Dusek 2012). V této práci jsme se zaměřili na otestování velice variabilní kolekce 43 odrůd brukvovitých zelenin a pícnin, a otestovali citlivost těchto zástupců k nádorovitosti košťálovin.

Materiál a metody

Testovací kolekce

Testovací panel zahrnoval velice různorodé genotypy. Nejvíce zastoupenou skupinou byly tuříny (23), následované brukvovitými pícninami (9). Zbylí zástupci byli tvořeny hlavně různými typy netradiční zeleniny vyšlechtěné z genomu *B. napus*. Konkrétně se jedná například o typy mrazuvzdorné zeleniny pocházející ze severských oblastí nazývané jako ‘Russian kale’, ‘Siberian kale’ (Rusko), ‘rape kale’ (Anglie), ‘Chuosenshu’ a ‘Taisetsu’ (Japonsko). Zařazení těchto typů bývá vzhledem k jejich odlišného původu často komplikované, některé lze přiřadit k poddruhu *B. napus* ssp. *pabularia*, jiné jen jako *B. napus*. Velká variabilita kolekce byla zajištěna různorodým původem použitého materiálu. Největší počet genotypů pocházel z Evropy, další genotypy byly původem z Číny, Japonska, Kanady, USA nebo Alžíru.

Patogenní materiál

K otestování citlivosti k nádorovitosti byl použit mix patotypů *P. brassicae*, který byl složen z nejagresivnějších patotypů v České republice. K namnožení patogenního materiálu byla použita velmi citlivá odrůda Granaat.

Od každé odrůdy bylo vyseto pět rostlin, které byly infikovány připraveným inokulačním mediem. Míra napadení byla hodnocena po sedmi týdnech. Jako kontrolní genotyp byla použita citlivá odrůda čínského zelí ‘Granaat‘. Podrobný postup pěstování rostlin a způsob aplikace inokula použitého v této práci popisuje certifikovaná metodika “Metodika testování odolnosti brukvovitých plodin k nádorovitosti“ (Chytilová a Dušek 2007).

Hodnocení citlivosti k nádorovitosti

Při hodnocení míry citlivosti jednotlivých rostlin k této chorobě byla použita standardní metoda, která k vyhodnocení využívá stupeň deformace kořenového systému. Metoda zařazuje jednotlivé zástupce do čtyř kategorií poškození (0, 1, 2, 3): 0 = bez příznaků napadení, 1 = malé nádory na postranních kořenech, 2 = nádory se vyskytují i na hlavním kořenu, 3 = kořenový systém je kompletně tvořen shlukem větších či menších nádorů (Buczacki et al. 1975). Na základě tohoto rozdělení lze vypočítat index napadení DI (disease index). Výpočet byl proveden pro každou testovanou odrůdu z kolekce, přičemž jako citlivé odrůdy byly považovány ty, které měly hodnotu DI > 80. Naopak za odolné jsou dále považovány zástupci s DI < 20. Po vyhodnocení deformace kořenového systému rostlin byla dále zjištěna listová plocha pomocí skeneru a následně zvážena nadzemní a podzemní část rostlin.

Výsledky a diskuze

Při hledání genetických zdrojů rezistence k nádorovitosti jsme použili velmi různorodou kolekci 43 odrůd brukvovité zeleniny a pícnin, u kterých byl předem, dle informací od šlechtitelů, předpokládán určitý stupeň rezistence. Výsledkem práce bylo zhodnocení míry citlivosti vyjádřené jako index napadení u sedm týdnů starých rostlin. Vypočtené DI pro jednotlivé odrůdy vykazovaly velký stupeň variability. Indexy napadení se pohybovaly od nuly až po maximální hodnotu sto. Průměrná hodnota DI byla 39 se standardní odchylkou 6,1. Z tabulky 1 je patrné, že bylo celkem 21 odrůd vyhodnoceno jako odolných, což přestavovalo téměř polovinu testovaných zástupců (49 %). Konkrétně se jednalo i tyto genotypy: Winfred, Emerald, Ragged Jack, Red Russian, Wild, Vige, Turnip hybrid, Vogesa, Pike, Wilhelmsburger, Altasweet, Bangholm PT, Conqueror Bronze Green Top, Essex Model, Parkside, Purple Top, Scotia, Tankard Bronze Top, Tina, Brandhaug, Troendersk a Kvithamar. Naopak jen devět odrůd bylo k tomuto onemocnění velmi citlivé (21 %). U zbylých 13 položek z kolekce se index napadení pohyboval mezi 20 až 80 (30 %). Námi zmíněný předpoklad o vysokém zastoupení odolných odrůd se ukázal jako správný.

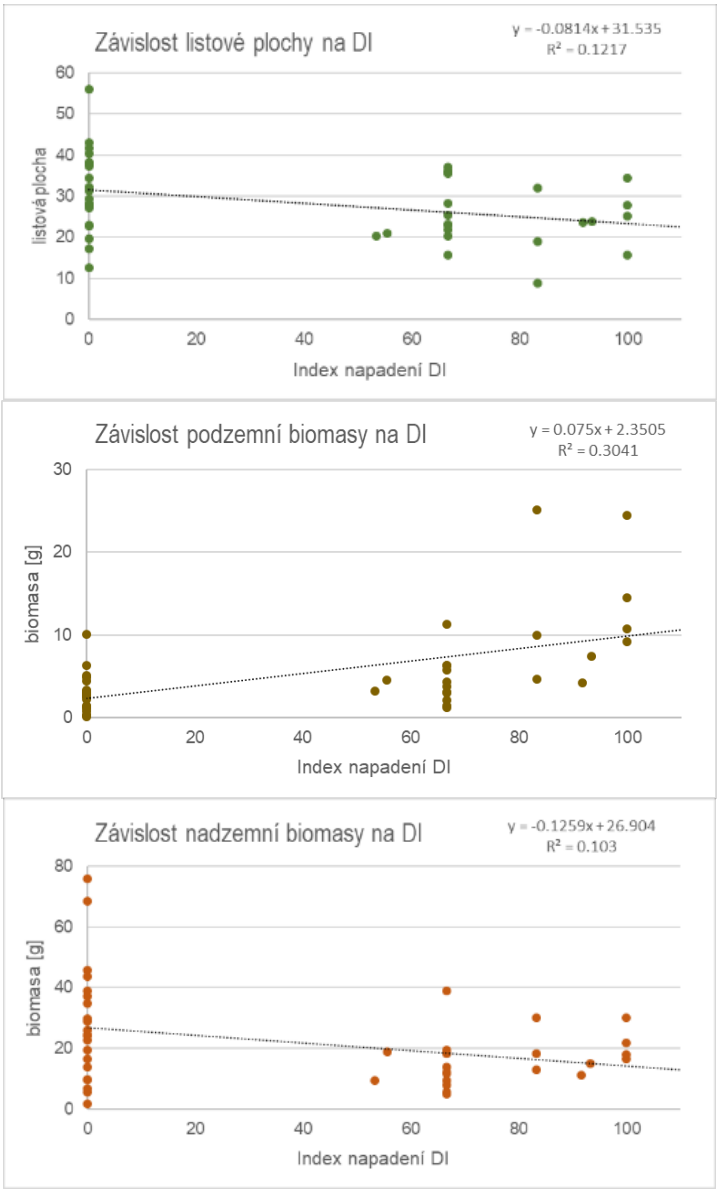
Tab. 1: Jednotlivý zástupci kolekce rozděleni podle DI do třech kategorií

	vše	*tuříny*	*pícniny*	*listová zelenina*
odolné (DI < 20)	21	16	2	3
DI (20 – 80)	13	5	4	4
citlivé (DI > 80)	9	2	3	4
	vše	*tuříny*	*pícniny*	*listová zelenina*
odolné (DI < 20)	49%	70%	22%	28%
DI (20 – 80)	30%	22%	44%	36%
citlivé (DI > 80)	21%	8%	34%	36%

Při hodnocení jednotlivých typů brukvovitých plodin je dle tabulky 1 patrné, že dominantní skupinou s největším zastoupením odolných odrůd jsou tuříny. Celkem zde bylo identifikováno 16 odolných odrůd, což tvořilo 70 procent všech testovaných tuřínů. Zastoupení vysokého podílu rezistentní odrůd u tuřínů není překvapené. Již dříve bylo zmíněno, že tento typ kořenové zeleniny často nese rezistentní geny a jsou proto vhodným kandidátem pro další šlechtění rezistentních odrůd (Diederichsen et al. 2009). V případě pícnin a zástupců listové zeleniny zahrnovali zástupci přibližně odolných odrůd 1/5 až 1/4. Z kategorie pícnin byly nalezeny dva odolné genotypy Winfred a Emerald. V případě listové zeleniny byly jako odolné genotypy označeny polodivoká forma Wild a odrůdy Ragged Jack a Red Russian.

Kromě hodnocení změn na kořenovém systému, byla dále pro každou odrůdu zaznamenána listová plocha, hmotnost podzemní a nadzemní biomasy. Závislost listové plochy na indexu napadení lze vidět na obrázku 1a. Z grafu je patrné, že čím vyšší je index napadení neboli citlivost k nádorovitosti, tím menší je listová plocha. Příčina této závislosti lze vysvětlit velice jednoduše tak, že čím je rostlina více napadená, tím méně má možnost investovat do růstu. Podobné závěry lze vyvodit ze samotných projevů tohoto onemocnění (Howard et al. 2010).

Obr. 1: Graf závislosti listové plochy (a), podzemní (b) a nadzemní biomasy (c) na indexu napadení



Závislost množství podzemní na nadzemní biomasy můžeme vidět na obrázku 1b a 1c. V případě podzemní biomasy vidíme silně pozitivní závislost ukazující trend růstu biomasy na zvyšujícím se úrovni napadení. Tuto závislost lze vysvětlit ze samotných příčin onemocnění, kdy dochází k transformaci kořenového systému na amorfní nádory (Howard et al. 2010). Nicméně tvorba těchto struktur vyžaduje jisté energetické zdroje. Tegan (2018) ve své studii nádorovitosti demonstroval schopnost patogenu *P. brassicae* manipulovat s produkcí a tokem jednoduchých cukrů v rostlině. Tímto způsobem je patogen schopen zajistit dostatečné množství energie na tvorbu nádorů, které pak přestavují součást podzemní biomasy. V případě nadzemní biomasy vidíme opačný trend velice podobný jako u listové plochy. Samotná nadzemní biomasa se zmenšuje, čím větší je míra napadení.

Závěr

Následující práce hodnotí citlivost k nádorovitosti košťálovin ve vybrané kolekci vytipovaných brukvovitých zelenin a krmných pícnin. 21 ze 43 zástupců po infikování směsný patotypem P. brassicae vykazovalo silnou odolnost vůči tomuto patogenu. Největší zastoupení rezistentních

odrůd představovali zástupci kořenové zeleniny tuřínu. Ostatní typy zelenin a pícnin ukazovaly, až na některé výjimky, částečnou nebo silnou citlivost k nádorovitosti. Současná práce představuje relativně velkou skupinu genetických zdrojů pro šlechtění na rezistenci k nádorovitosti.

Dedikace

Výsledky byly získány v rámci řešení výzkumných projektů NAZV QK1910070 a GAJU 027/2019/Z.

Literatura

Buczacki ST, Toxopeus H, Mattusch P, et al (1975) Study of physiologic specialization in Plasmodiophora brassicae: Proposals for attempted rationalization through an international approach. Trans Br Mycol Soc 65:295–303.

Chytilová V, Dušek K (2007) Metodika testování odolnosti brukvovitých plodin k nádorovitosti. Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha.

Diederichsen E, Frauen M, Linders EGA, et al (2009) Status and Perspectives of Clubroot Resistance Breeding in Crucifer Crops. J Plant Growth Regul 28:265–281.

Diederichsen E, Frauen M, Ludwig-Mueller J (2014) Special Issue: Clubroot disease management challenges from a German perspective. Can J Plant Pathol 36:85–98.

Dixon GR (2009) Plasmodiophora brassicae in its Environment. J Plant Growth Regul 28:212–228.

Howard RJ, Strelkov SE, Harding MW (2010) Clubroot of cruciferous crops – new perspectives on an old disease. Can J Plant Pathol 32:43–57.

Kopecky P, Dusek K (2012) Screening the Brassicas Czech National Collection for Sources of Clubroot Resistance. In: Balliu A, Gruda N (eds) V Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes. Int Soc Horticultural Science, Leuven 1, pp. 147–150.

Pageau K, Reisdorf-Cren M, Morot-Gaudry J-F, Masclaux-Daubresse C (2006) The two senescence-related markers, GS1 (cytosolic glutamine synthetase) and GDH (glutamate dehydrogenase), involved in nitrogen mobilization, are differentially regulated during pathogen attack and by stress hormones and reactive oxygen species in Nicotiana tabacum L. leaves. J Exp Bot 57:547–557.

Rod J. (1996): Reports – Agent of clubroot of crucifer. Brno:ÚKZUZ, 37 (Special Issue): 1–45.

Říčařová V, Kazda J, Singh K, Ryšánek P (2016) Clubroot caused by Plasmodiophora brassicae Wor.: a review of emerging serious disease of oilseed rape in the Czech Republic. Plant Prot Sci 52:71–86.

Tegan A-M (2018) Sugar Architect: The Brassicaceae Pathogen Clubroot Manipulates Plants on Multiple Levels to Secure Sucrose Supply. Plant Cell 30:2896–2897.

Wallenhammar A-C (1996) Prevalence of Plasmodiophora brassicae in a spring oilseed rape growing area in central Sweden and factors influencing soil infestation levels. Plant Pathol 45:710–719.

Kontaktní adresa:

Mgr. Ing. Ondřej Hejna
Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Na Sádkách 1780, 370 05 České Budějovice, email:hejna@zf.jcu.cz

SPONTÁNNÍ HYBRIDIZACE V KOLEKCI GENETICKÝCH ZDROJŮ RODU *AEGILOPS*

Spontaneous hybridisation in the plant genetic resources collection of the genus *Aegilops*

Holubec V., Leišová-Svobodová L., Matějovič M.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Abstrakt

Plané příbuzné druhy (CWR) jsou důležitou součástí genetických zdrojů rostlin. Představují zálohu *in situ* konzervace a poskytují materiál pro výzkum a šlechtění. Mnohé CWR potřebují zvláštní pozornost, technická izolace snižuje nasazení semen u autoinkompatibilních a přísně cizosprašných položek. Kolekce jednoletých druhů *Triticeae* je regenerována na řádkových parcelkách v izolaci pšenice při střídání méně příbuzných druhů. Nalezené hybridy byly analyzovány morfologicky a geneticky. Pro analýzu SSR byla užita sada 40 SSR markerů. Data byla statisticky vyhodnocena metodou shlukové analýzy v programu DARwin. Hybridy s introgresí z kulisové plodiny byly nalezeny v parcelkách *Ae. triuncialis* L., *Ae. crassa* Boiss., *Ae. geniculata* Roth., *Ae. neglecta* (Req.) ex Bertol. a *Ae. cylindrica* Host. U dalších jednoletých rodů tribu *Triticeae* nebyly pozorovány žádné hybridy.

Klíčová slova: *Triticeae, Aegilops*, genetické zdroje, spontánní hybridizace, genetická analýza

Abstract

Crop wild relatives (CWR) are an important part of crop genetic resources. They represent a backup of *in situ* conservation and provide material for research and breeding. Many CWRs need special attention, however, technical isolation decreases seed set in self-incompatible and highly outcrossing accessions. The annual *Triticeae* collection was maintained in small row sown plots surrounded wheat and less related species. The appeared hybrids were analysed morphologically and genetically. 40 microsatellite loci were used to test the samples. Data was evaluated statistically by cluster analysis in the DARwin programme. Hybrids with wheat were found mainly within accessions of *Ae. triuncialis* L., *Ae. crassa* Boiss., *Ae. geniculata* Roth., *Ae. neglecta* (Req.) ex Bertol. and *Ae. cylindrica* Host. No spontaneous hybrids were noticed within other annual *Triticeae* genera.

Keywords: *Triticeae, Aegilops*, germplasm collection, spontaneous hybridisation, genetic analysis

Úvod

Plané příbuzné druhy kulturním plodinám (Crop Wild Relatives, CWR) jsou jedinečné genetické zdroje pro šlechtění odpovídajících kulturních druhů. Jsou to rody a druhy plané flóry, které jsou křížitelné s kulturními plodinami a které mají ve svém genomu šlechtitelsky využitelné geny. V procesu domestikace došlo k redukci genetické diverzity ve prospěch zvýšení produktivity a plodinové uniformity. Důsledkem šlechtění je že potenciální cenné genetické varianty a jim odpovídající fenotypy byly vyloučeny z plodinového genotypu (Dempewolf et al. 2017).

CWR nesou mnoho šlechtitelsky cenných znaků, zejména toleranci k biotickým a abiotickým stresům. Tyto znaky mohou být vneseny do plodin s cílem získat odolné kultivary, zvýšit nutriční kvalitu a změnit další hospodářské znaky potřebné pro měnící se prostředí a nové

požadavky trhu. Za posledních několik desetiletí lze zaznamenat úspěch s introdukcí nových genů z planých druhů do kulturních plodin, zejména při překonávání biotických stresů.
Plané příbuzné druhy rodu *Aegilops* spp. jsou předmětem zájmu genových bank, výzkumu a šlechtění (Zhang et al. 2010). Jako zdroje resistence ke rzím byly využity zejména donory genomů druhů *Ae. speltoides*, *T. urartu* a *Ae. tauschii* (Jin et al. 2009; Faris et al. 2008; van Ginkel et Ogbonnaya 2007; Beteselassie et al. 2007) a další příbuzné druhy.
Přírodní hybridy vznikající mezi druhy pšenice (*Triticum,*) nebo pšenice se žitem (*Secale*), či mnohoštětem (*Aegilops*) jsou nacházeny v Zakavkazsku. Probíhající výměna genetického materiálu může poskytnout genotypy využitelné ve šlechtění. Tento dynamický vznik nových botanických variet přivedl Vavilova k závěru, že Zakavkazsko je centrem původu různých druhů a variet pšenice (Dorofeev, 1969). Tento fenomén je positivní pro šlechtitele, ale negativní pro držitele kolekcí v genových bankách.
Tok genů (gene flow) je přirozeným jevem rostlinné speciace a důležitým procesem pro udržení genetické variability populací, zrovna tak jako rozšiřování nově vzniklých znaků mezi populacemi a za hranice druhu. Tok genů se vyskytuje u všech druhů a také všech plodin, jeho intenzita závisí na biologii plodiny (Tzotzos, Head and Hull, 2009). Vnitrodruhový tok genů se obecně vyskytuje za normálních podmínek (Waines and Hegde, 2003), ale může být zvýšen stresovými podmínkami, které způsobí pylovou sterilitu a následné opakované otvírání kvítků (Dorofeev 1969; Kavanagh et al. 2013; Waines and Hegde 2003). Pšeničné geny Ph1 a Ph2 potlačující homologní párování cizích chromozómů snižují životnost F1 pokolení (Pinto et al. 2005; Jauhar and Chibbar 1999; Weissmann et al. 2008).
Cílem tohoto příspěvku je analyzovat spontánní hybridy vzniklé při regeneraci kolekce genové banky tak, aby bylo možno posoudit technologii regenerace genetických zdrojů a požadavky na izolace. Ke studiu hybridů bylo využito fenotypování a genotypování hybridů a jejich rodičů.

Materiál and metody

Kolekce planých druhů tribu *Triticeae* v Genové bance v Praze byla založena v roce 1985. Zahrnuje 1763 položek, náležejících do 23 rodů a 128 druhů, z nichž nejvýznamnější jsou jednoleté druhy z 9 rodů a 46 druhů, čítající 1300 položek. Rod *Aegilops* je reprezentován 1099 položkami 21 druhů, pocházející z 38 zemí (tab. 1). Původní část kolekce byla získána z genové banky IPK Gatersleben, dále byla rozšiřována introdukcí z jiných genových bank a kolekcí a vlastní sběrovou činností. V rámci kolekce rodu *Aegilops* 753 položek má zapsanou původní sběrovou lokalitu, 484 položek má uvedeno jméno sběratele a číslo sběru, ostatní mají neznámý původ nebo representují selektované linie. Pasportní data jsou dosažitelná on-line v informačním systému (GRIN Czech, 2019). Osmnáct druhů rodu *Aegilops* z 21 popsaných Hammerem (1981) bylo zahrnuto do pokusů během let 2010 -2017.
Kolekce je pravidelně hodnocena a regenerována v polních pokusech na řádkových parcelkách v kulisové plodině jarní pšenice (*Triticum aestivum* L. cv. Cadrill). Později kvetoucí jarní pšenice vytváří dobrou izolaci pro ozimé druhy rodu *Aegilops* a vzdáleněji příbuzné druhy jsou umístěny do bloků. Nové položky procházejí primární charakterizací ve školce a následně opakovaným kompletním hodnocením po dobu 4-5 let ve stejném pokusném designu. Nové materiály jsou postupně přidávány a zhodnocené odebírány. Položky jsou hodnoceny podle vybraných deskriptorů klasifikátoru pro pšenici se škálami upravenými pro morfologii druhů *Aegilops.* Z každé regenerace jsou odebírány vzorky do klasové kolekce. Negativní selekce je praktikována k eliminaci příměsí a netypických rostlin. Mezi těmito odchylkami se nacházely hybridy, které byly rovněž eliminovány. V letech 2010-2018 byla hybridům věnována pozornost a byly hodnoceny odděleně. Hybridní klasy byly sklizeny and analyzovány. Zelené klasy rodu *Aegilops* byly spolu s rodiči genotypovány.
DNA byla extrahována pomocí CTAB podle optimalizovaného protokolu. Pro analýzu SSR byla užita sada 40 SSR markerů (Rőder et al. 1998). PCR produkty byly separovány užitím

kapilární elektroforézy ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems, USA). Elektroforeogramy byly hodnoceny pomocí GeneMapper (Life Technologies). Data byla statisticky vyhodnocena metodou shlukové analýzy v programu DARwin (Perrier and Jacquemoud-Collet, 2006). Dále byla provedena analýza struktury populací v programu Structure software, ver. 2.3.4 (Pritchard et al., 2000).

Výsledky a diskuze

Při hodnocení druhů tribu *Triticeae* na regeneračních parcelkách byla v posledních letech věnována pozornost výskytu spontánních hybridů. V letech 2011-2017 bylo hodnoceno každoročně 250-330 položek, což představuje celkem 1415 hodnocení. Celkem u 11 druhů rodu *Aegilops* bylo pozorováno 70 hybridů. Pět hybridů bylo zjištěno u pšenic *T. araraticum* Jakubz. a *T. dicoccoides* (Koern. ex Aschers. et. Graeb.) Schweinf. Hybridy s introgresí z kulisové plodiny jarní pšenice byly nalezeny v parcelkách druhů *Ae. triuncialis* L. (19), *Ae. crassa* Boiss. (11), *Ae. geniculata* Roth. (10), *Ae. neglecta* (Req.) ex Bertol. (9) and *Ae. cylindrica* Host. (7). Podíl hybridů k počtu hodnocených položek byl nevyšší u druhů *Ae. juvenalis* (Thell) Eig, *Ae. markgrafii* (Greuter) Hammer a *Ae. columnaris* Zhuk. (22 a 20 %). U dalších jednoletých rodů tribu *Triticeae* (*Dasypyrum, Eremopyrum, Taeniatherum, Crithopsis, Heteranthelium*) nebyly pozorovány za sledované období žádné hybridy.

Hybridní rostliny byly hodnoceny od sklizně 2014. U 48 hybridů F1 rostlin bylo shledáno nasazení semen u 26 rostlin. U 404 hodnocených klasů F1 generace bylo nalezeno 87 částečně vyvinutých semen. Hmotnost tisíce semen (HTS), jako ukazatel dobrého nasazení, byla nejvyšší u druhů *Ae. juvenalis, Ae. triuncialis* a *T. araraticum*. Hybridy *Ae. juvenalis* s HTS 22,33 g byly plně fertilní, zatímco ostatní semena s HTS pod 1 g byla nevyvinutá.

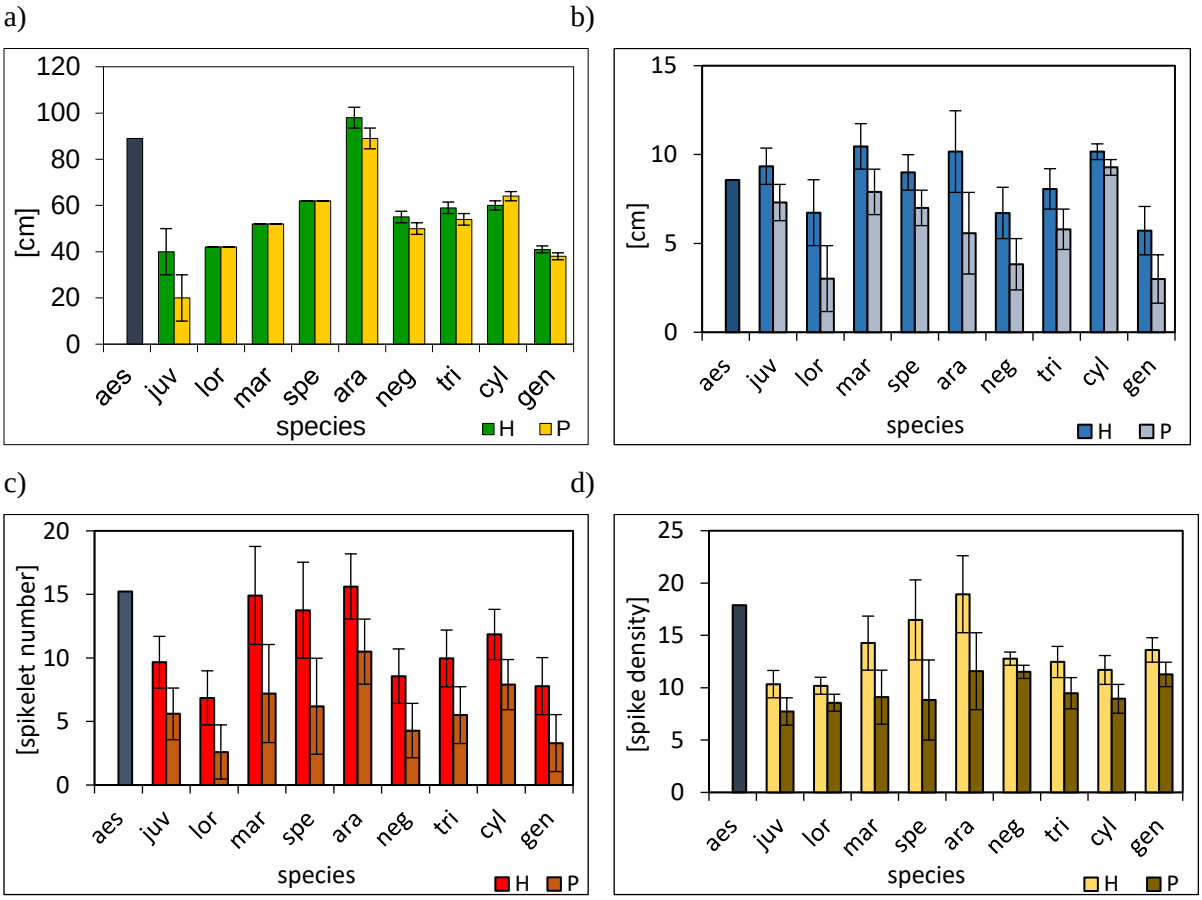
Morfologické znaky hybridů byly porovnávány s odpovídajícími mateřskými rodiči rodu *Aegilops* a pylovým rodičem pozadí jarní pšenice (cv. Cadrill). Ze standardního hodnocení materiálu ve školkách byly vybrány 4 morfologické deskriptory, které dobře charakterizují hybridy (obr. 1). Hybridy byly intermediární ve většině těchto znaků nebo vykázaly vyšší hodnoty (transgresi) přesahující rodičovské hodnoty. Ve výšce rostlin hybridy překonaly rodiče z rodu *Aegilops* o 8-100%, pouze hybridy s druhem *Ae. cylindrica* byly nižší než oba rodiče. Všechny hybridy byly nižší než pšeničný rodič kromě hybridů s druhem *T. araraticum*. Hybridy vždy měly delší klasy než rodič z rodu *Aegilops* o 9-122%. Hybridy měly v porovnání s rodiči z rodu *Aegilops* vyšší počet klásků o 48-163% a zároveň nižší počet než pšeničný partner (45-102%). Hustota klasů u hybridů rodu *Aegilops* byla intermediární mezi oběma rodiči, pouze klasy hybridů s druhem *T. araraticum* měly vyšší hustotu.

Korelace morfologických znaků hybridů potvrzuje jejich převážně intermediární charakter. Vyšší korelace k mateřskému rodiči byla shledána u *T. araraticum* u výšky; v délce klasu a počtu klásků u druhu *Ae. geniculata;* a u hustoty klasu u druhu *Ae. cylindrica* (tab. 1).

Morfologie hybridů představuje jen popisnou stránku problému a autoři se rozhodli analyzovat tuto spontánní hybridizaci na molekulární úrovni. Na základě SSR markerů bylo možno zjistit stav introgrese hybridů s rodiči, případně dalšími druhy. Ukázalo se, že nejen odhadovaný rodič pšenice cv. Cadrill je účasten introgrese, ale i další kultivar z pozadí. Ve dvou případech se podílel na hybridizaci i jiný druh rodu *Aegilops*: *Ae. cylindrica* a *Ae. biuncialis*. Některé odhadované hybridy nebyly prokázány a jednalo se asi o nevyvinuté klasy. Zjištění, že dvě odlišné položky pšenice měly podíl na hybridech, bylo potvrzeno shlukovou analýzou (obr. 2). Tyto výsledky potvrzují, že dochází k toku genů mezi kulturními rostlinami a planými příbuznými druhy (CWR). V přírodě, kde se CWR vyskytují okolo pšeničných polí (Blízký Východ, Zakavkazsko, Střední Asie), jsou hybridy vzácně nacházeny, např. v Zakavkazsku (Dorofeev, 1969), ale záhy mizí vlivem jejich sterility v F2 generaci. Rozsah cizosprášení u plodin a příbuzných druhů je významným faktorem. V oblastech, kde se potkává kulturní a planý ječmen, jsou nacházeny morfologicky intermediární formy jako plevelné rostliny nebo

hybridní roje (Harlan, 1992). Tyto přírodní hybridy byly popsány jako *H. vulgare* f. *agriocrithon* (A. E. Aberg) Bowden (Tanno and Takeda, 2004).

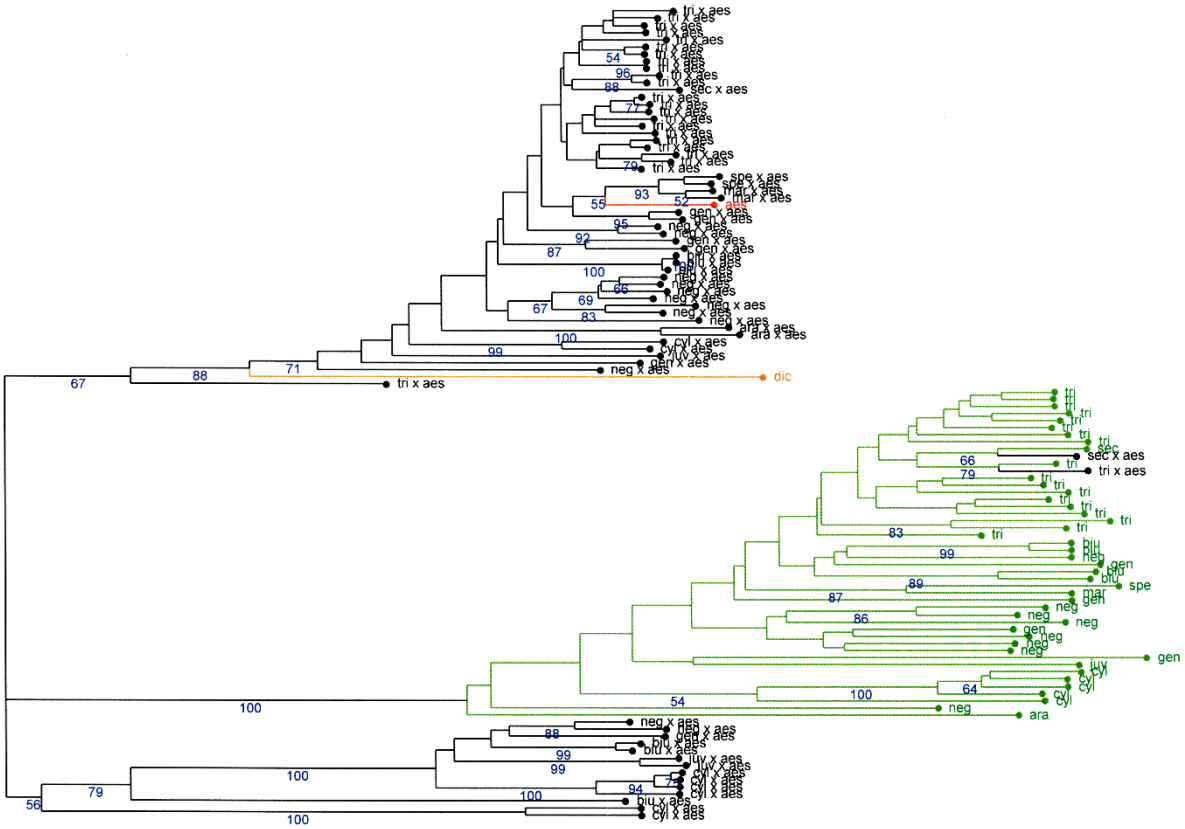
Obr. 1: Morfologické znaky u spontánních hybridů rodu *Aegilops* s pšenicí *Triticum aestivum* (aes- pšeničný rodič, P – *Aegilops* rodič, H- hybrid); a) výška rostlin (cm); b) délka klasu (cm); c) počet klásků; d) hustota klasu (poč. klásků/10 cm)



Tab. 1: Korelace morfologických znaků hybridů rodů *Aegilops* x *Triticum* k mateřskému a pylovému rodiči (hladina významnosti 0,05).

Pearson	Plant Height		Spike Length		Spikelet Number		Spike Density	
P♀	P♀ x aes	P♂ x aes	P♀ x aes	P♂ x aes	P♀ x aes	P♂ x aes	P♀ x aes	P♂ x aes
ara	0,8757	-0,4317	0,1121	-0,9241	-0,1442	-0,1295	-0,0620	0,6188
cyl	0,6347	0,4500	-0,1134	0,2953	-0,2228	0,3292	0,7634	-0,1847
gen	0,4784	0,0942	0,3680	-0,3055	0,7157	-0,0544	0,0567	-0,5338
neg	0,1496	0,7985	0,3191	0,5690	-0,3200	-0,0169	0,1112	0,4657
tri	0,6144	0,0048	-0,4061	-0,1925	-0,2354	0,2839	-0,1752	-0,3885

Obr. 2. Dendrogram analyzovaných vzorků; oranžové a zelené – rodičovské položky rodů *Triticum* a *Aegilops*, černé– hybridy



Jako prevenci cizosprášení lze zajistit izolaci rostlin nebo klasů, nebo pěstovat rostliny ve skleníku, ale tyto postupy snižují kvalitu a efektivitu regenerace, zvláště u autoinkompatibilních druhů. Vzhledem k tomu, že výskyt hybridů v regeneracích nebyl malý, bylo zvoleno použití jarní pšenice v ozimech, což zmenšuje podíl souběžného kvetení. Přesto byl pozorován výskyt hybridů s frekvencí 4,95 %.

Závěr

Navzdory uvedeným výsledkům je kvalita semen z hlediska dlouhodobé životnosti pro genobanku prioritní, a proto považujeme za přijatelné regenerovat plané druhy rodu *Aegilops* a další jednoleté druhy z tribu *Triticeae* v pozadí pšenice a zajišťovat negativní selekci v následných generacích. Spontánní hybridy lze navíc využít jako vedlejší produkt regenerace v jiných výzkumných programech. Naopak, nekontrolované regenerace bez včasné negativní selekce mohou mít za následek případná zpětná křížení a poškození originální populace. Regenerace s většími vzorky semen jsou nezbytné u cizosprašných a autoinkompatibilních druhů jako *Amblyopyrum muticum* (Boiss.) Eig., jinak je nasazení semen velmi omezené.

Dedikace

Výzkum byl prováděn za podpory Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity 51834/2017-MZE-17253/6.2.14 a projektu MZE_RO0417.

Použitá literatura

Beteselassie N, Fininsa C, Badebo A. (2007) Sources of resistance to stem rust (*Puccinia graminis* f. sp. *tritici*) in Ethiopian tetraploid wheat accessions. Genet Res Crop Evol 54: 337–343.

Dempewolf H., Baute G., Anderson J., Kilian B., Smith Ch., Guarino L. (2017) Past and Future Use of Wild Relatives in Crop Breeding. Crop Sci. 57: 1070–1082.

Dorofeev V. F. (1969) Spontaneous hybridization in wheat populations of Transcaucasia. Dec 1969. Euphytica

Faris J. D., Xu S. S., Cai X., Friesen T. L., Jin Y. (2008) Molecular and cytogenetic characterization of a durum wheat-*Aegilops speltoides* chromosome translocation conferring resistance to stem rust. Chromosome Res 16: 1097–1105.

GRIN Czech documentation system (2018) available at: https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx

Hammer K. (1981) Zur Taxonomie und Nomenklatur der Gattung *Aegilops* L. Feddes Repert. 91/4: 225–258.

Harlan J. R. (1992) Crop and man. American Society of Agronomy, Madison, WI, USA.

Jauhar P. P., Chibbar R. N. (1999) Chromosome-mediated and direct gene transfers in wheat. Genome 42: 570–583.

Jin Y., Szabo L. J., Rouse M. N., Fetch F., Pretorius Z. A. (2009) Detection of virulence to resistance gene Sr36 within the TTKS race lineage of *Puccinia graminis* f. sp *tritici*. Plant Dis 93: 367–370.

Kavanagh V. B., Hils M. J., Goyal A., Randhawa H. S., Topinka A. K., Eudes F., Hall L. M. (2013) Molecular markers as a complementary tool in risk assessments: Quantifying interspecific gene flow from triticale to spring wheat and durum wheat. Transgenic Research 22(4): 767–778.

Perrier X., Jacquemoud-Collet J. P. (2006): DARwin software. Available at http:darwin.cirad.fr/darwin.

Pinto A. V, Mathieu A., Marsin S., Veaute X., Ielpi L., Labigne A., Radicella P. (2005) Suppression of homologous and homeologous recombination by the bacterial MutS2 protein. Mol Cell 17: 113–120.

Pritchard J..K., Stephens M., Donnely P. (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945–959.

Őder S. M., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M. H., Leroy P., Ganal M. W. (1998) A microsatellite map of wheat. Genetics 149: 2007–2023.

Tanno K., Takeda K. (2004) On the origin of six-rowed barley with brittle rachis, agriocrithon [*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare* f. *agriocrithon* (Aberg) Bowd.], based on a DNA marker closely linked to the vrs1 (six-row gene) locus. Theor Appl Genet 110: 145–150.

Tzotzos G., Head G. P., Hull R. (2009) Genetically Modified Plants, Assessing safety and managing risk. Elsevier Inc., 256 pp.

Van Ginkel M., Ogbonnaya F. (2007) Novel genetic diversity from synthetic wheats in breeding cultivars for changing production conditions. Field Crop Res 104: 86–94.

Waines J. G., Hegde S. G. (2003) Intraspecific gene flow in bread wheat as affected by reproductive biology and pollination ecology of wheat flowers. Crop Sci 43: 451–463.

Weissmann S., Feldman M., Gressel J. (2008) Hypothesis: transgene establishment in wild relatives of wheat can be prevented by utilizing the Ph1 gene as a sensu stricto chaperon to prevent homoeologous recombination. Plant Science 175: 410–414.

Zhang W., Olson E. L., Saintenac C., Rouse M., Abate Z., Jin Y., Akhunov E., Pumphrey M. O., Dubcovsky J. (2010) Genetic maps of stem rust resistance gene Sr35 in diploid and hexaploid wheat. Crop Sci 50: 2464–2474.

Kontaktní adresa:

Ing. Vojtěch Holubec, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, holubec@vurv.cz

VITALITA SEMEN PŠENICE V PODMÍNKÁCH SUCHA A CHLADU

Seed vigour of wheat in cold and dry conditions

Jovanović I., Bucková P., Klimešová J., Středa T.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Vitalita je schopnost semen klíčit za nepříznivých podmínek prostředí. Cílem šlechtění je vyselektovat genotypy s nejvyšší vitalitou, které by zaručily rychlé a rovnoměrné vzcházení porostu i v suboptimálních podmínkách. V roce 2017 bylo hodnoceno 6 genotypů pšenice seté (*Triticum aestivum* L.) a jejich potomstvo. Vitalita semen byla posuzována za snížené dostupnosti vody (Ψ=-0,5 MPa) a v chladu (při 10 °C). Cílem práce bylo vyhodnotit genotypové rozdíly ve vitalitě semen pšenice a posoudit možnost selekce na vyšší vitalitu semen. Byl zjištěn statisticky významný rozdíl ve vitalitě genotypů. Hodnota dědivosti pro vitalitu h^2=0,2. Genetická proměnlivost se na fenotypové variabilitě vitality u sledovaného souboru rostlin podílela 20 %.

Klíčová slova: klíčivost, vitalita, sucho, genotyp, pšenice

Abstract

The vigour is the ability of seed to germinate under unfavorable conditions. The goal of breeding is to select genotypes with the highest vitality to guarantee good offspring even in unfavorable conditions. In 2017, six genotypes of *Triticum aestivum* L. and selected plants of their offspring were evaluated. Seed vigour was evaluated for reduced water (Ψ=-0,5 MPa) availability and cold (at 10 °C). The aim of this study was to evaluate genotypic differences in wheat seed vitality and to assess the possibility of selection for higher seed vitality. A statistically significant difference in genotype vitality was found. Inheritance value for vitality h^2 = 0,2. Genetic variability of the phenotypic variability of the seed vigour sign is 20 %.

Key words: germination, seed vigour, drought, genotype, wheat

Úvod

Zemědělství čelí klimatickým změnám, které vedou k vyšší variabilitě a četnosti povětrnostních extrémů. Kombinace biotických a abiotických stresů, vyvolaných změnou klimatu ve velké míře ovlivňují růst a vývoj plodin. Pšenice je nejrozšířeněji pěstovanou plodinou na světě. Její osevní plocha se pohybuje na úrovni 220 mil. ha. Odhaduje se, že 65 mil. ha osevní plochy je postiženo suchem (Kaur et al., 2018). Sucho ovlivňuje vitalitu osiva včetně délky koleoptile a zárodečných kořenů i rychlosti jejich růstu. Zárodečné kořeny vyvíjecí se přímo z klíčícího semene jsou zodpovědné za počáteční absorpci vody a živin. Po celou dobu růstu plodiny zůstávají funkční a podílejí se také na její reakci na měnící se podmínky prostředí.

Stres vyvolaný nedostatkem vody mimo jiné vážně poškozuje a narušuje strukturu i funkci buněčných membrán. Při dlouhodobém působení sucha dochází k narušení permeability cytoplazmatické membrány a změnám ve vnitřním složení buňky (Kaur et al., 2018). Udržení stability membrán je jedním z hlavních mechanismů odolnosti rostlin vůči suchu na buněčné úrovni.

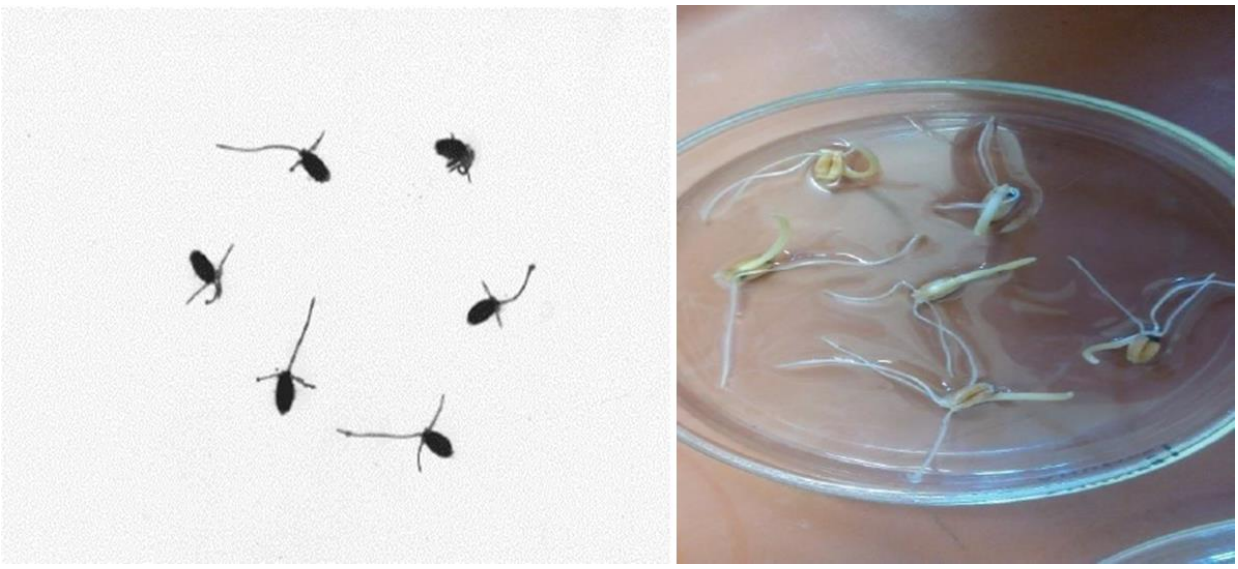
Během klíčení jsou mobilizovány zásobní látky, aby rostlině poskytly dostatek energie při vývoji. Rozklad škrobu, jako hlavní zásobní látky semene, je závislý na aktivitě α-amylázy během klíčení. Rychlost mobilizace škrobu úzce souvisí s rychlostí vzniku radikuly, což je užitečným ukazatelem vitality semen (Yin Meng Qi et al., 2018).

Patil et al. (2019) uvádí, že urychlení stárnutí semen (například nevhodnými podmínkami skladování) má za následek ztrátu životaschopnosti a vitality. K tomu může dojít již před sklizní

vlivem biotických (patogeny, genotyp) a abiotických faktorů (vlhkost, teplota) (Nagel et al., 2013). Jedním z důvodů zhoršení vitality je snížená biochemická aktivita semene, která může být způsobena degradací DNA, a s ní spojenou nedostatečnou syntézou enzymů, která je v počátečních stadiích klíčení zásadní. Proces deteriorace způsobuje rovněž narušení stability buněčných membrán, což přispívá ke snížení klíčivosti semen. Působení stresu a poklesu metabolické aktivity jsou možné důvody pro snížení počtu a velikosti kořenů a klíčku
Vynikající vitalita osiva je důležitým požadavkem pro rychlé a vyrovnané vzcházení i za nepříznivých podmínek prostředí a založení produktivního porostu s vynikajícím zdravotním stavem a vysokým výnosovým potenciálem. Cílem práce bylo vyhodnotit genotypové rozdíly ve vitalitě semen pšenice, a posoudit možnost selekce na vyšší vitalitu semen, hodnocenou dle velikosti klíčku a zárodečných kořenů klíčenců in vitro metodou digitální analýzy obrazu.

Materiál a metody

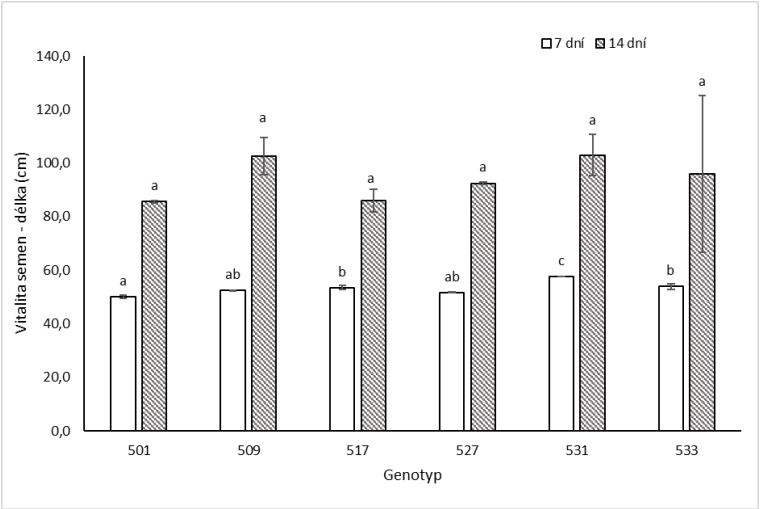
V roce 2017 byla hodnocena vitalita semen 6 genotypů pšenice seté (517, 527, 501, 531, 533, 509) a vybraných kříženců těchto genotypů. Maloparcelový pokus s 6 rodičovskými genotypy byl založen na podzim roku 2016 (plocha parcely 1,8 m^2) v pěti opakováních. Výsevek činil 4 $MKS.ha^{-1}$. Ve fázi plné zralosti (BBCH 89) byly v každém opakování sklizeny klasy 20 reprezentativních rostlin každého rodičovského genotypu a vyhodnocen výnos zrna. Rostliny kříženců byly vysety bez opakování a vybrané rostliny byly sklizeny jednotlivě. Pokusné parcely byly založeny na lokalitě Miroslav (190 m. n. m., jižní Morava). Lokalita se nachází v kukuřičné výrobní oblasti s průměrnou roční teplotou vzduchu 8,8 °C a průměrným ročním úhrnem srážek 460 mm. Půdním typem je černozem.
Test vitality byl uskutečněn u obilek ze sklizně roku 2017. Byla testována semena 40 rostlin, které vznikly dialelním křížením 6 rodičovských genotypů (501, 509, 517, 527, 531 a 533). Pro hodnocení vitality byly vybrány rostliny z potomstva genotypu 509 a 531 v pozici matky, které se vyznačovaly výraznými rozdíly ve vitalitě semen. Od každé rodičovské kombinace (5 rodičovských kombinací genotypu 509 v pozici matky a 5 rodičovských kombinací genotypu 531 v pozici matky) byla hodnocena semena 4 rostlin. Současně byla testována vitalita semen všech 6 rodičovských genotypů ve 2 opakováních.
Vitalita osiva byla stanovena po působení kombinace stresových podmínek – chladu při 10 °C a nedostatku vody. Sucho bylo simulováno za snížení vodního potenciálu (− 0,5 MPa) ve vodním roztoku polyethylenglykolu (PEG 6000). Koncentrace PEG byla 193 g na 1000 ml vody při 20 °C. Tyto podmínky reflektují reálné hodnoty vodního potenciálu půdního roztoku a teploty vzduchu při zakládání porostů ozimé pšenice v podzimních měsících. Současně byla založena kontrola ve vodě při teplotě 10 °C.
Semena byla uložena na Petriho misky, přičemž na každé se spotřebovalo 7 ml roztoku polyethylenglykolu. Petriho misky byly zvoleny pro testování vitality z důvodu nutnosti opakovaně manipulovat s klíčenci za účelem hodnocení vitality metodou digitální analýzy obrazu. Od každé rostliny bylo vybráno vždy 6 zdravých, neporušených semen, které byly rovnoměrně rozprostřeny na Petriho misku (Obr. 1 vpravo). Takto připravené misky se vzorky byly vloženy na tácy a ty do zpevněného igelitového obalu, aby nedocházelo k vysychání. Tácy s miskami byly umístěny do vytemperovaného klimaboxu MEMMERT IPS 800 (Memmert Gmbh + co, Schwabach, Německo). Vitalita semen ve variantě stresu suchem i v kontrole byla hodnocena po 7 a 14 dnech. Hodnocení probíhalo pomocí digitální analýzy obrazu. Klíčenci byli rozprostřeni po ploše upraveného skeneru (Epson Perfection V 700 Photo) ve vrstvě vody tak, aby se nepřekrývali (Obr. 1 vlevo). Skeny byly analyzovány programem WinRHIZO, verze basic (Régent Instruments Inc., Quebec, Kanada). Jako ukazatel vitality byla hodnocena délka (cm) klíčku a zárodečných kořínků včetně obilky.



Obr. 1: Sken klíčenců pšenice po 7 dnech klíčení v roztoku polyethylenglykolu (vlevo), klíčenci pšenice po 14 dnech klíčení v roztoku polyethylenglykolu na Petriho miskách (vpravo)

Výsledky a diskuse

Působení nízké teploty a nedostatku vody navozené osmotickým stresem ovlivnilo vitalitu semen sledovaných genotypů pšenice. Genotypová variabilita byla prokázána při hodnocení vitality po 7 dnech od započetí testu. Hodnoty délky kořenů a klíčku se po 14 dnech sledování rovněž lišily, avšak díky variabilitě dat některých genotypů nebyly prokázány statisticky průkazné rozdíly (Obr. 2). Vyšší vitalita semen, která se projeví tvorbou delších kořenů, tak může být výhodou v polních podmínkách při úniku před suchem. Rychlý růst kořenového systému do hlubších vrstev půdy s dostatečnou zásobou vody je v podmínkách stresu suchem zásadní vlastností rozhodující o životaschopnosti rostlin a rovnoměrném vzcházení porostu. Zároveň jsou takové rostliny schopny urůst napadení některými chorobami a škůdci, což se opět projeví v rychlém vzejití a udržení vitálních rostlin po celé podzimní období s předpokladem úspěšného přezimování.

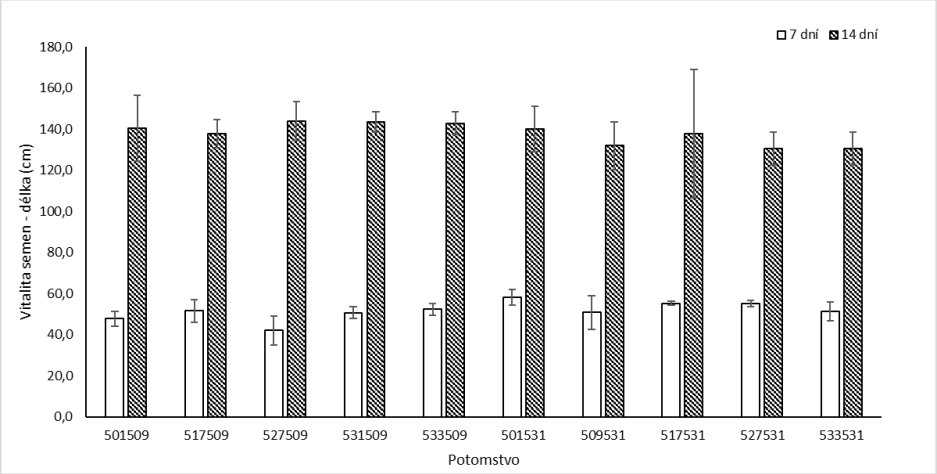


Obr. 2: Vitalita semen vyjádřena jako součet délek klíčku a zárodečných kořenů včetně obilky (cm) hodnocena po 7 a 14 dnech od započetí testu v roztoku PEG 6000. Statisticky

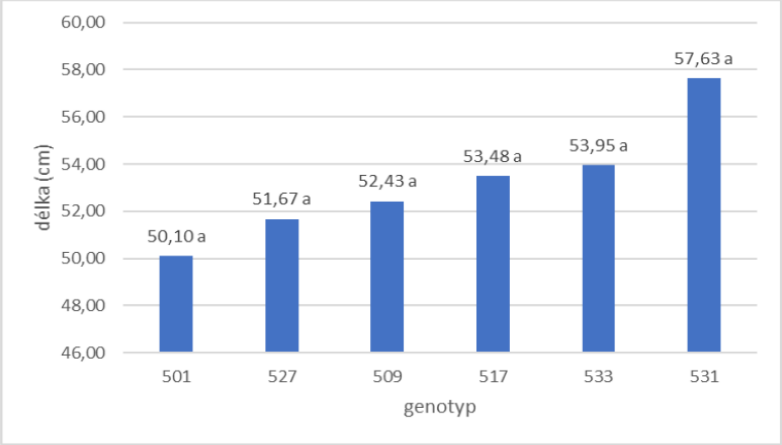
průkazně odlišné páry hodnot ($p \leq 0,05$) jsou označeny rozdílnými písmeny. Chybové úsečky značí střední chybu průměru.

Vyšší hodnoty vitality téměř o 9 % v porovnání s průměrem souboru byly zjištěny u genotypu 531 v obou termínech hodnocení. Naopak nižší vitalitou se vyznačoval genotyp 501 (hodnoty vitality 93 % na průměr souboru). Pro souběžné hodnocení vitality společně s uvedenými rodičovskými genotypy (Obr. 2) bylo vybráno potomstvo (obilky F4 generace) genotypů 509 a 531 v pozici matky. Tento výběr byl uskutečněn na základě testování vitality všech rodičů v předcházejícím experimentu (data neuvedena), kde se genotypy 509 a 531 statisticky průkazně lišily ve vitalitě semen (což bylo opětovně potvrzeno při hodnocení vitality po 7 dnech – viz Obr. 2). V tomto experimentu jsme chtěli ověřit, zda se potomstvo uvedených mateřských genotypů bude odlišovat ve vitalitě semen při působení abiotického stresu.

Vitalita semen potomstva uvedených rodičovských genotypů v podmínkách stresu chladem i suchem nebyla statisticky průkazně rozdílná (Obr. 3), ačkoliv mírně vyšší hodnoty byly zaznamenány u potomstva genotypu 531 (54,07 cm) v porovnání s potomstvem genotypu 509 (51,80 cm) po 7 dnech. Významný vliv ($p \leq 0,05$) stresu suchem na zkrácení délky kořenů a klíčků byl pozorován u semen v roztoku PEG za chladu 10 °C (průměr genotypů 52,94 cm) v porovnání s kontrolou vystavenou pouze nízké teplotě (průměr genotypů 66,95 cm). Nicméně genotypové rozdíly potomstva nebyly významné a vliv mateřského rodiče nebyl prokázán za stresu ani v kontrole (data neuvedena).



Obr. 3: Vitalita semen vyjádřena jako součet délek klíčku a zárodečných kořenů včetně obilky (cm) hodnocena po 7 a 14 dnech od započetí testu v roztoku PEG 6000. Poslední trojčíslí



číselného kódu genotypu označuje potomstvo matky 509 resp. 531. Chybové úsečky značí střední chybu průměru.

Obr. 4: Hodnoty délek (vitalit) rodičů v závislosti na genotypu v PEG po 7 dnech

Přesto, že se neprojevily genotypové rozdíly potomstva, je možné posoudit vliv rodičovského genotypu (501,509,517,527,531, 533) na vitalitu potomstva. Vyhodnocení podílu genotypu na fenotypu bylo provedeno výpočtem koeficientu heritability (h^2) při selekci na vysokou hodnotu znaku. V souboru rodičovských genotypů, které byly hodnoceny na vitalitu (délka 7 dní v PEG – průměrná hodnota pro všechny rodiče 53,21 cm), byl selektován genotyp s vysokou hodnotou znaku (531) 57,63 cm. Potomstvo genotypu 531 dosáhlo průměrné délky 54,07 cm. Ohlas (response) na selekci na vysokou hodnotu vitality a její heritabilita byly vypočteny dle vztahu:

R (response) = h^2 x S (selekční rozdíl)
S = 57,63 – 53,21 = 4,42
R = 54,07 - 53,21 = 0,86
h^2 = R/ S = 0,86 / 4,42 = 0,2

Na fenotypové variabilitě vitality semen (hodnocené pomocí součtu délek kořenů a klíčku 7 dní po započetí testu v PEG) se z 20 % podílí geneticky podmíněná proměnlivost. Hodnota koeficientu heritability je 0,2. Tato hodnota je nízká, avšak pro vlastnosti řízené větším počtem genů malého účinku (kvantitativní znaky) typická. Tato hodnota heritability však platí pouze pro zkoumaný soubor rostlin. V pokusu s čirokem dvoubarevným Avci et al. (2016) uvádí, že byly statisticky prokázány rozdíly v toleranci semen vůči suchu. Vodní potenciál zde byl nastaven na 0,0 (destilovaná voda), −1,8; −3,6; −7,2 a −10,8 barů. Výsledky ukázaly, že došlo ke statisticky významnému rozdílu v počtu vitálních semen kultivarů čiroku, které byly pěstovány za stejných ekologických podmínek. Bylo prokázáno, že genetické rozdíly mohou hrát důležitou roli v toleranci k suchu.

V dvouletém pokusu byla hodnocena klíčivost a vitalita semen 14 ozimých genotypů pšenice seté v souvislosti s velikostí kořenového systému. Vitalita osiva byla testována v obdobných podmínkách za stresu chladem (10 °C) a suchem (-0,5 MPa). Bylo zjištěno, že vitalita je průkazně ovlivněna interakcí genotypu s ročníkem (40,4 %) a genotypem (37,3 %). Nicméně nebylo potvrzeno, že genotypy s vyšší vitalitou semen v počátku vegetace ovlivňují velikost kořenového systému v pozdějších fázích vegetace. V kontrastu s výsledky předkládaného experimentu Klimešová et al. (2015) zjistili průkazný vliv genotypu ($p \leq 0,01$) na hmotnosti biomasy klíčku a kořenů i po 18 dnech od započetí testu.

Závěr

Byly zjištěny rozdíly ve vitalitě rodičovských genotypů po sedmi dnech působení stresu suchem a chladem, avšak po čtrnácti dnech již nebyly diference průkazné. Statisticky průkazný vliv rodičů na vitalitu potomstva nebyl za stresu suchem a chladem prokázán, nicméně bylo zjištěno, že genetická proměnlivost se na fenotypové variabilitě znaku vitalita podílí 20 % (h^2=0,2). Tato hodnota je nízká, nicméně typická pro selekci na vyšší vitalitu semen, podobně jako na jiné kvantitativně děděné vlastnosti.

Dedikace

Publikace vznikla v rámci projektu NAZV QK1910224 „Možnosti řešení protierozní ochrany v zemědělských podnicích při vyloučení používání glyfosátu“.

Použitá literatura

Avci S., İleri O., Kaya M. D., 2016: Determination of Genotypic Variation among Sorghum Cultivars for Seed Vigor, Salt and Drought Stresses. In: *Journal of Agricultural Sciences.*

Kaura A., Thind S. K., 2018: Effect of cytokinins on membrane stability and cell viability of wheat crop under PEG-induced drought condition. In: *Journal of Environmental biology*

Klimešová J., Vintrlíková E., Středa T., 2015: Vitalita semen a velikost kořenového systému jako nástroj pro únik k suchu. In: *Sborník OSIVO a sadba XII.*

Nagel M., Behrens A. K., Borner A., 2013: Effects of *Rht* dwarfing alleles on wheat seed vigour after controlled deterioration. In: *Crop and Pasture Science*.

Patil K. G., Karjule A., Patel D. A., Sasidharan N., 2019: Effect of accelerated ageing on viability and longevity of wheat (*Triticum aestivum)* seed. In: *Indian Journal of Agricultural Sciences*.

Yin M. Q., Song W. J., Guo G. Y., Li F., Sheteiwy M. S., Pan R. H., Hu J., Guan Y. J., 2018: Starchy degradation is related with radicle emergence during wheat seed germination. In: *Seed Science and Technology*.

Kontaktní adresa:

Ing. Ivana Jovanović
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1
61300 Brno-Černá Pole
e-mail: ivana.jovanovic@mendelu.cz

HODNOCENÍ ODOLNOSTI VYBRANÝCH ŠLECHTITELSKÝCH LINIÍ HLÁVKOVÉHO ZELÍ VŮČI NÁDOROVITOSTI KOŘENŮ BRUKVOVITÝCH

Evaluation of resistance of selected cabbage breeding lines to clubroot

Kopecký P.[1], Duchoslav M.[2], Hýbl M.[1]

[1]*Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.*
[2]*Univerzita Palackého v Olomouci*

Abstrakt
35 vybraných šlechtitelských linií hlávkového zelí (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) bylo otestováno ve třech opakováních v kontrolovaných podmínkách fytotronu na odolnost vůči nádorovitosti kořenů brukvovitých způsobenou *Plasmodiophora brassicae* Wor. Index napadení (DI) se u hodnocených genotypů pohyboval v rozmezí hodnot 0 až 44,79 a procento rostlin ve stupni napadení 0 a 1 (bez napadení až slabě napadený; % 0-1) v rozmezí hodnot od 45,31 do 100. Nejodolnějšími byly linie 12, 14, 15, 16 a 21 s DI = 0 a % 0-1 = 100. Nejvíce vnímavé byly linie 33 (DI = 44,79; % 0-1 = 45,31), 35 (DI = 43,59; % 0-1 = 50.00) a 23 (DI = 35,33; % 0-1 = 62,00). Jako kontrola byla použita odrůda čínského zelí Granaat.
Klíčová slova: *Brassica oleracea* var. *capitata, Plasmodiophora brassicae*, genotypy, tolerance

Abstract
Thirty-five selected breeding lines of cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) from the breeding company Moravoseed a.s. were evaluated for the resistance to *Plasmodiophora brassicae*, causal agent of clubroot disease, under the artificial condition of plant growth chamber. Disease index (DI) varied from 0 to 44.79 and percentage of plants in grades 0 and 1 (% 0-1; without symptoms or just with minor appearance of disease) varied from 45.31 to 100 %. The most resistant lines were 12, 14, 15, 16 and 21 with DI = 0 and % 0-1 = 100. On the other hand, the most susceptible lines were 33 (DI = 44.79, % 0-1 = 45.31), 35 (DI = 43.59, % 0-1 = 50.00) and 23 (DI = 35.33, % 0-1 = 62.00). Chinese cabbage cv. Grannat was used as susceptible control.
Keywords: *Brassica oleracea* var. *capitata, Plasmodiophora brassicae*, genotypes, tolerance

Úvod

Čeleď Brassicaceae je celosvětově ekonomicky velice významná skupina rostlin (Nikolov et al., 2019). V České republice bylo k 31.5.2019 oseto 394 853 ha brukvovitých plodin, z toho 1835 ha zelenin, tj. více než 17,2 % všech ploch zelenin v ČR (ČSÚ, 2019). Brukvovitá zelenina, resp. hlávkové zelí (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) je nejvýznamnější a nejpěstovanější zelenina v České republice a řadíme ji i k nejstarším kulturním rostlinám (Kozáková, 2017). *Plasmodiophora brassicae*, která je taxonomicky součástí infraříše Rhizaria, třídy Phytomyxea (Burki et al., 2010), je jejím hospodářsky nejvýznamnějším patogenem. Jedná se o obligátního parazita brukvovitých, jehož spory přežívají v půdě po mnoho let (Peng et al., 2015). Pěstování rezistentních odrůd je jedním z mála efektivních způsobů ochrany produkce brukvovitých plodin na pozemcích s výskytem této choroby (Ernst, 2016).

Cílem této práce bylo doporučit vybrané šlechtitelské linie k pokračování ve šlechtění na odolnost vůči *P. brassicae.*

Materiál a metody

Rostlinný materiál

Pro hodnocení odolnosti vůči nádorovitosti kořenů brukvovitých byly použity šlechtitelské linie firmy Moravoseed a.s., konkrétně 35 linií bílého hlávkového zelí (*Brassica oleracea* var. *capitata* L. f. *alba*).

Fytopatologické hodnocení

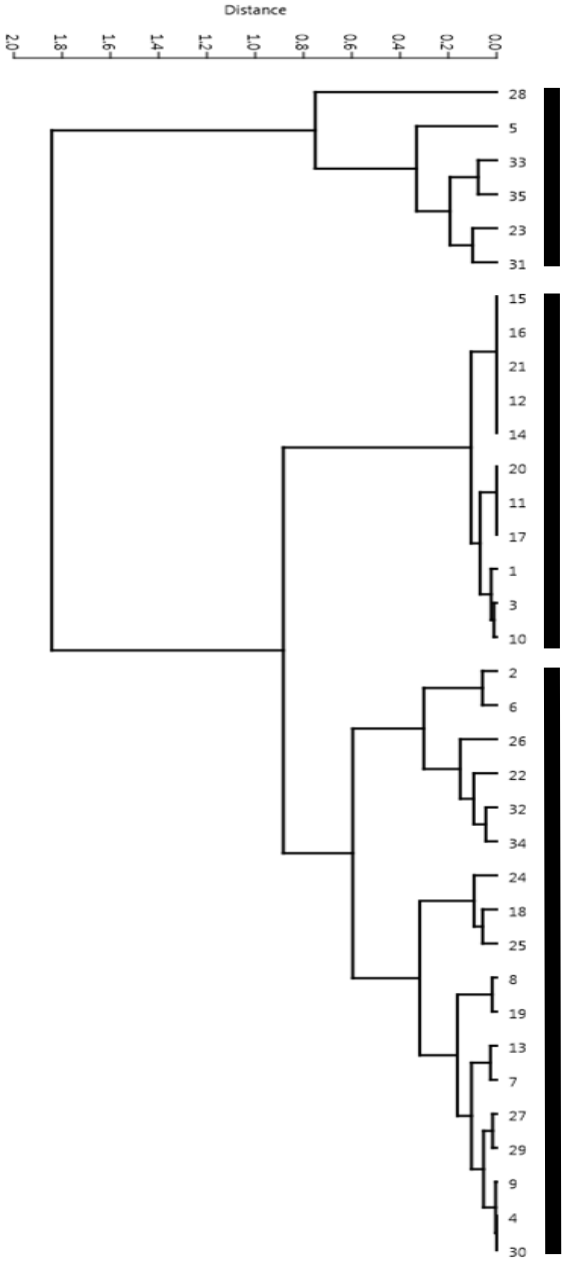
Od každého genotypu bylo na oddělení Genetických zdrojů zelenin a speciálních plodin Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Olomouci do agroperlitu (Profi-Grow, Česká Republika) vyseto 72 semen ve třech opakováních, celkem tedy 216 rostlin. Tyto genotypy byly inokulovány směsným vzorkem *Plasmodiophora brassicae* „spodem“ dle publikované metodiky (Chytilová, 2007). Rostliny byly dále kultivovány za kontrolovaných podmínek ve fytotronu (PSI Instruments, Česká Republika), při teplotě 23 °C přes den a 15 °C v noci. Délka dne byla 16 hodin s intenzitou osvitu 82 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$, noc 8 hod. Rostliny byly hnojeny roztokem vody s hnojivem Kristalon Start (AGRO CS, Česká Republika) v koncentraci 0,1 g/1 dm^3. Kultivace probíhala 8 týdnů a následně byly vyhodnoceny do kategorií dle intenzity napadení 0-3 (Buczacki et al., 1975), kdy 0 je kořenový systém zcela bez napadení a ve stupni 3 je zcela deformovaný. Jako vnímavá kontrola byla použita odrůda pekingského zelí Granaat (Dixon a Robinson, 1986).

Statistické hodnocení

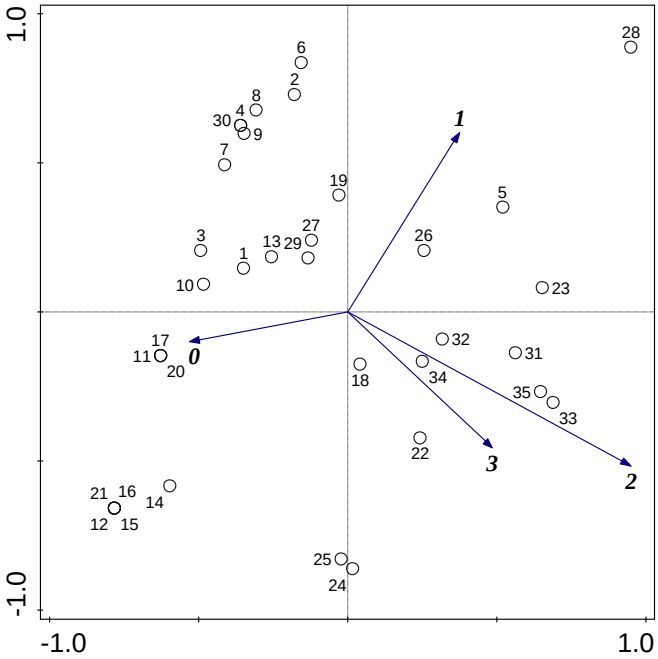
Ze získaných výsledků byly vypočteny hodnoty indexu napadení (DI), což je průměrný výsledek intenzity napadení pro populaci rostlin vyjádřený jako procento možného maxima (tj. 3) (Chytilová, 2007) a procenta rostlin ve stupních napadení 0 – 1 (% 0-1).
Vzhledem ke kompozitnímu charakteru proměnné (intenzita napadení) byla provedena log-ratio analýza (Aitchison, 1986) v programu Canoco for Windows 5.0 (ter Braak & Šmilauer, 2018). Genotypy byly považovány za vzorky, proporce 4 kategorií intenzity napadení jako závislé proměnné. Na stejných datech byla provedena shluková analýza s využitím Wardovy metody a Euklidovské vzdálenosti v programu PAST 3.23 (Hammer, 2001).

Výsledky a diskuze

Analýzou získaných výsledků bylo zjištěno, že na základě DI (resp. % 0-1) nejodolnějšími genotypy byly linie 12, 14, 15, 16 a 21 s DI = 0 a % 0-1 byl 100, tzn. zcela bez příznaků napadení. Na druhou stranu, nejvíce vnímavé byly linie 33 (DI=44,79, % 0-1=45,31), 35 (DI=43,59, % 0-1=50,00) a 23 (DI=35,33, % 0-1=62,00).
Tyto výsledky z kontrolovaných podmínek odpovídají výsledkům získaným v roce 2019 v polních podmínkách na základě koeficientu tolerance Kt, kdy nejvíce odolné genotypy byly zároveň nejvýnosnějšími, porovnáním výnosu z infekčního pole k výnosu z nezamořeného kontrolního pozemku. Jedná se však o jednoletý výsledek, který bude muset být zopakován (nepublikovaná data).
Shluková analýza klasifikovala genotypy do třech kategorií infestace: genotypy rezistentní, genotypy mírně citlivé (převažují sice kategorie 0, ale je častý výskyt i kategorií 1 a 2, a genotypy velmi citlivé, kde jsou zastoupeny všechny kategorie infestace s dominancí stupně 2 (Obr. 1).



Obr. 4: Dendrogram genotypů, zobrazující jejich podobnosti v míře odolnosti. Tlusté úsečky označují tři shluky, které byly vybrány na základě interpretace výsledku analýzy.



Obr. 2: Biplot log-ratio analýzy proporčního zastoupení 4 kategorií intenzity napadení u 35 genotypů. Vektory analýzy proporčního zastoupení 4 kategorií intenzity napadení označují směr nejprudší změny zastoupení dané kategorie napadení, úhel mezi vektory pak indikuje korelaci mezi jednotlivými kategoriemi napadení a délka vektoru pak variabilitu příslušné kategorie v souboru.

První dvě ordinační osy log-ratio analýzy (Obr. 2) vysvětlují 96% variability v datech, přičemž je z výsledku analýzy zřejmá zřetelná diferenciace rezistentních (vlevo) a vysoce citlivých genotypů (vpravo) podél první ordinační osy. Diferenciace genotypů podél druhé ordinační osy je spojena s rozdílnou četností výskytu kategorie napadení 1, kdy genotypy v dolní části diagramu téměř vůbec nevykazují tuto kategorii napadení. Osamocené postavení genotypů 24 a 25 souvisí s velmi nízkou četností výskytu kategorie napadení 1 ale zároveň s přítomností ostatních kategorií. Odlehlé postavení genotypu 28 je způsobeno výraznou dominancí kategorie 1 pozorovanou u studovaných vzorků, čímž se výrazně odlišuje od všech ostatních genotypů.

Závěr

Na základě získaných výsledků můžeme doporučit pokračování ve šlechtění na odolnost vůči *Plasmodiophora brassicae* především s liniemi 1-21, linie 22-35 jsou více vnímavé. Hodnocení v polních podmínkách bude pokračovat v následujících dvou letech.

Poděkování

Výsledek vznikl za podpory projektů MZE-RO0418 a QK1910070. Naše poděkování patří rovněž pracovníkům spol. Moravoseed a.s., především Ing. Petru Horalovi za poskytnutí šlechtitelských linií pro experiment.

Použitá literatura

Aitchison, J. The statistical analysis of compositional data. Chapman and Hall, London, 1986.

Buczacki, S. T., Toxopeus, H., Mattusch, P., Johnston, T. D., Dixon, G. R., Hobolth, L. A. (1975). Study of physiologic specialization in *Plasmodiophora brassicae*: proposals for attempted rationalization through an international approach. Transactions of the British Mycological Society, 65(2), 295-303.

Burki, F., Kudryavtsev, A., Matz, M. V., Aglyamova, G. V., Bulman, S., Fiers, M., Keeling, P. J., Pawlowski, J. (2010). Evolution of Rhizaria: new insights from phylogenomic analysis of uncultivated protists. BMC Evolutionary Biology, 10(1), 377.

ČESKÝ STATISTICKÝ ÚŘAD /ČSÚ/. (2019). Osevní plochy zemědělských plodin k 31.5. [tabulka]. In: Český statistický úřad [online]. [Praha]: Český statistický úřad. Vygenerováno 27.09.2019 14:00:35 [vid. 2019-09-27]. Dostupné z: https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/cs/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM03A&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&pvo=ZEM03A&c=v853~2__RP2019MP05DP31

Dixon, G. R., Robinson, D. L. (1986). The susceptibility of *Brassica oleracea* cultivars to *Plasmodiophora brassicae* (clubroot). Plant Pathology, 35(1), 101-107.

Ernst, T. W. (2016). The Impact of Clubroot Resistant Canola Cultivars on Plasmodiophora brassicae Resting Spore Concentrations in the Soil. MSc thesis, University of Alberta.

Hammer, Ø., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica 4(1): 9 s.

Chytilová, V., Dušek, K. (2007). Metodika testování odolnosti brukvovitých plodin k nádorovitosti. Výzkumný ústav rostlinné výroby, 19 s.

Nikolov, L. A., Shushkov, P., Nevado, B., Gan, X., Al-Shehbaz, I. A., Filatov, D., Bailey, C., D., Tsiantis, M. (2019). Resolving the backbone of the Brassicaceae phylogeny for investigating trait diversity. New Phytologist, 222(3), 1638-1651.

Peng, D., Pageau, D., Strelkov, S., E., Gossen B., D., Hwang, S., F., Lahlali, R. A. (2015). >2-year crop rotation reduces resting spores of Plasmodiophora brassicae in soil and the impact of clubroot on canola. European Journal of Agronomy, 70, 78-84.

ter Braak, C.J.F., Šmilauer, P. (2018). Canoco reference manual and user's guide: software for ordination, version 5.10. Microcomputer Power, Ithaca, USA, 536 s.

Kontaktní adresa:
Bc. Pavel Kopecký,
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Šlechtitelů 29,783 71 Olomouc,
+420 585 208 964, kopecky@genobanka.cz

VLIV ROČNÍKU NA VÝNOSY PÍCE GENETICKÝCH ZDROJŮ TRAV V PĚTISEČNÉM POKUSU

Effect of year on forage yields of grass genetic resources in five cut system

Lošák M.[1,2], Raab S. [1,2], Kašparová J.[2]

[1]*OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Zubří*

[2]*OSEVA PRO s.r.o., o. z. Výzkumná stanice travinářská Rožnov – Zubří*

Abstrakt

Na lokalitě Zubří (49°27′57″N, 18°04′51″E, nadmořská výška 345 m) byla hodnocena celková roční produkce suché hmoty devíti travních druhů a hybridů v pětisečném pokusu. Toto hodnocení bylo prováděno v letech 2016–2018. Největší výnosy suché píce v tříletém průměru měly druhy *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea* a kostřavovité hybridy ×*Festulolium*. Tyto druhy trav měly společně s druhem *Poa pratensis* také nejlepší meziroční vyrovnanost produkce suché hmoty.

Klíčová slova: trávy, pícniny, výnos píce, sucho, genetické zdroje

Abstract

The total annual dry matter production of nine grass species and hybrids in five cut system were evaluated in Zubří (49°27′57″N, 18°04′51″E, altitude: 345 m). This evaluation was carried out in 2016–2018. On three-year average, the forage species *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea* and festucoid-type of ×*Festulolium* gave the highest yields of dry matter. Together with *Poa pratensis*, these grass species also had the best evenness of dry matter production between years.

Key words: grasses, forage plants, forage yield, drought, genetic resources

Úvod

V posledních letech můžeme pozorovat projevy sucha na travních porostech v České republice. Sucho na našem území trvá minimálně od roku 2014 s vrcholy v letech 2015 a 2018 (Čekal, 2018). Především v roce 2018 byl patrný efekt dlouhodobé kumulace srážkového deficitu projevující se v odlišném vývoji sucha ve srovnání s jednoletým suchem (Tolasz et al., 2019). Škody způsobené suchem v roce 2018 vyčíslilo Ministerstvo zemědělství společně s Agrární komorou u krmných plodin na 5,2 miliardy korun a jednalo se tak o nejvíce poškozenou část zemědělské produkce. Zemědělský svaz odhadl snížení celkové produkce objemných krmiv o 33 %, a to hlavně u travních a bílkovinných senáží. V některých regionech ČR však snížení produkce objemných krmiv dosahovalo až 50 % (Fialová, 2018), což může vést hlavně ke snižování stavů skotu. Trávy patří k rostlinám náročným na vodu. Transpirační koeficient se pohybuje nejčastěji v rozmezí 600–800 litrů vody na 1 kg sušiny, ale mezi jednotlivými travními druhy jsou v náročnosti na vodu velké rozdíly (Hrabě a Buchgraber, 2004). Na produkci travních porostů má voda velký vliv a nejvyšší potřeba vody je v suchém letním období, kdy je také nejvyšší transpirace. Většina travních porostů je závislá na počasí a hlavním zdrojem vody pro rostliny jsou atmosférické srážky. Produkci travní fytomasy výrazně ovlivňuje i teplota, neboť teplotní optimum se pohybuje mezi 17-21 °C, při teplotě nad 25 °C se celková produkce sušiny snižuje a při teplotě nad 30 °C se růst zastavuje (Novák, 2008). Předpokládá se, že zvyšující aridita krajiny a s tím spojené snížení biodiverzity může v budoucnu přivodit útlum zemědělské produkce a tím dojde ke snížení kvality života obyvatel postižených regionů (Salaš et al., 2012). V souvislosti s měnícím se klimatem a častějším výskytem suchých období je důležité hledat druhy a odrůdy trav, které jsou schopny odolat

těmto stresovým podmínkám. OSEVA PRO s.r.o., Výzkumná stanice travinářská v Zubří zodpovídá v rámci dotačního titulu Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity za řešení genofondové kolekce travin. Jednou z důležitých aktivit práce s genetickými zdroji travin je jejich víceleté hodnocení v polních podmínkách, které je prováděno podle klasifikátoru pro trávy (Ševčíková et al., 2002). Výsledky polních hodnocení jsou předávány do národního dokumentačního systému genetických zdrojů GRIN Czech, ve kterém jsou volně dostupné uživatelům genetických zdrojů.
Cílem práce bylo vyhodnotit vliv srážkově nevyrovnaných ročníků na produkci píce genetických zdrojů trav v pětisečném pokusu v závislosti na pěstovaném travním druhu.

Materiál a metody

Genetické zdroje trav pro pícní využití byly hodnoceny 3 užitkové roky podle Metodiky práce s kolekcemi genetických zdrojů travin (Lošák, 2015). Pokus byl založen ručním výsevem v dubnu 2015 v Zubří. Hnojení pokusu ve sklizňových letech: na jaře a po každé seči kromě poslední 50 kg N.ha^{-1}. V užitkových letech byla píce sklízena v pěti sečích (simulovaná pastevní varianta): 1. seč v době, kdy porost dosáhne výšky 20–25 cm, nejpozději v první dekádě května; 2. seč za 3 týdny po 1. seči; 3. seč za 4 týdny po 2. seči; 4. seč za 5 týdnů po 3. seči; 5. seč nejpozději do začátku října. Pokusy byly sklízeny motorovým žacím strojem MF-70. Sklizená zelená hmota byla následně zvážena. Při sečích byly odebírány cca 0,250 kg vzorky zelené hmoty, které byly zváženy v čerstvém stavu, poté byly vysoušeny v komorových sušárnách při teplotě 60 °C a po usušení zváženy pro zhodnocení výnosu suché hmoty, který se stanoví výpočtem (UKZÚZ, 2019). Hodnoty dosažených výnosů suché píce jsou v celé práci uvedeny v jednotkách t.ha^{-1}.rok^{-1} a pro přehlednost textu je dále neuvádíme.
Hodnoceno bylo celkem 9 pícních druhů, mezidruhových a mezirodových hybridů. U druhů s různou ploidií odrůd nebo různým charakterem (jílkovitý/kostřavovitý) byly výsledky zpracovány pro jednotlivé skupiny odrůd podle těchto charakteristik. Mezirodové hybridy jílkovitého (loloidního) charakteru jsou označeny jako ×*Festulolium* (l) a kříženci kostřavovitého (festucoidního) charakteru nesou označení ×*Festulolium* (f). V hodnocení bylo zařazeno celkem 57 genotypů, z toho 45 pícních odrůd a 12 ekotypů: *Dactylis glomerata* (6 genotypů, z toho 4 ekotypy), *Festuca arundinacea* (4 genotypy), *F. pratensis* (5 genotypů, z toho 1 ekotyp), *Lolium hybridum* (6 genotypů), *L. perenne* diploidní (6 genotypů), *L. perenne* tetraploidní (6 genotypů), *Phleum pratense* (10 genotypů, z toho 4 ekotypy), *Poa pratensis* (4 genotypy, z toho 1 ekotyp), *Trisetum flavescens* (4 genotypy, z toho 2 ekotypy), ×*Festulolium* kostřavovitého typu (4 genotypy), ×*Festulolium* jílkovitého typu (2 genotypy). Seznam všech hodnocených genotypů je k dispozici u autorů příspěvku.
Meteorologickou charakteristiku uvádíme za období 2016–2018 (Tab. 1). V tabulce jsou uvedeny průměrné měsíční teploty vzduchu, měsíční úhrny srážek a porovnání těchto dvou parametrů se standardními klimatologickými normály za období 1961–1990. Současně jsou uvedeny průměrné roční teploty vzduchu, průměrné teploty vzduchu za vegetační období, roční srážkové úhrny a srážkové úhrny za vegetační období. Výrazný srážkový deficit ve srovnání s ročním srážkovým normálem se vyskytl v posledním sklizňovém roce 2018. V letech 2016 a 2017 byly roční srážkové úhrny zhruba na úrovni srážkového normálu nebo jej překročily, ale při podrobnějším pohledu na měsíční úhrny srážek v obou letech vidíme, že toho bylo dosaženo díky extrémně vysokým srážkovým úhrnům několika měsíců v každém roce. Zejména v roce 2017 se vyskytlo období s podnormálními úhrny srážek od května do srpna s kumulovaným deficitem proti normálu 172 mm. Srážkově výrazně deficitní a teplotě nadprůměrný byl také rok založení polního pokusu 2015. Získané výsledky tříletého polního hodnocení byly statisticky vyhodnoceny v programu Statistica CZ 12 pomocí základních popisných statistických metod, analýzy rozptylu a statistická významnost rozdílů středních hodnot byla zhodnocena Tukey HSD testem na hladině významnosti $\alpha = 0{,}01$.

Tab. 1 Meteorologická charakteristika období 2016–2018 na lokalitě Zubří

Měsíc	Průměrná teplota vzduchu (°C)				Úhrn srážek (mm)			
	Normál	2016	2017	2018	*Normál*	2016	2017	2018
Leden	*−2,6*	−1,7	−6,1	2,2	*46,3*	45,7	10,4	23,8
Únor	*−1,0*	4,3	0,9	−2,7	*48,7*	86,8	60,5	17,9
Březen	*2,5*	4,4	6,5	1,5	*47,9*	31,0	46,7	15,1
Duben	*7,5*	9,0	7,5	14,1	*61,2*	78,1	132,6	17,6
Květen	*12,5*	14,2	14,2	16,9	*92,4*	41,2	54,0	61,3
Červen	*15,3*	18,8	19,1	18,4	*114,7*	58,5	72,1	81,3
Červenec	*16,7*	19,8	19,5	19,7	*113,9*	258,7	78,0	86,7
Srpen	*16,2*	17,8	20,3	21,3	*102,1*	74,0	46,7	52,3
Září	*13,0*	16,2	13,2	15,4	*62,5*	58,9	165,0	95,9
Říjen	*8,4*	8,0	9,5	10,8	*50,3*	118,8	89,4	55,9
Listopad	*3,3*	4,5	4,4	5,4	*66,2*	49,9	47,3	4,6
Prosinec	*−0,9*	−0,7	1,3	1,2	*58,3*	31,3	42,7	74,3
Rok	***7,5***	**9,5**	**9,2**	**10,3**	***864,5***	**932,7**	**845,3**	**586,5**
Veg. období	***14,3***	**16,9**	**16,6**	**18,7**	***546,8***	**569,3**	**548,4**	**395,0**

Výsledky a diskuze

V tříletém průměru patřily k nejvýnosnějším druhům *Dactylis glomerata*, *Festuca arundinacea* a ×*Festulolium* (f). Celkové roční výnosy suché hmoty nad 10 t měly také druhy *Phleum pratense*, ×*Festulolium* (l) a diploidní genotypy *Lolium perenne* (Tab. 2). K druhům s nejmenší produkcí patřily *Festuca pratensis* a *Poa pratensis*. V průměru všech druhů trav dosáhly největší produkce píce porosty ve druhém užitkovém roce 2017 (14 t) a ve srážkově chudém třetím užitkovém roce 2018 byla produkce píce nejmenší (8 t).

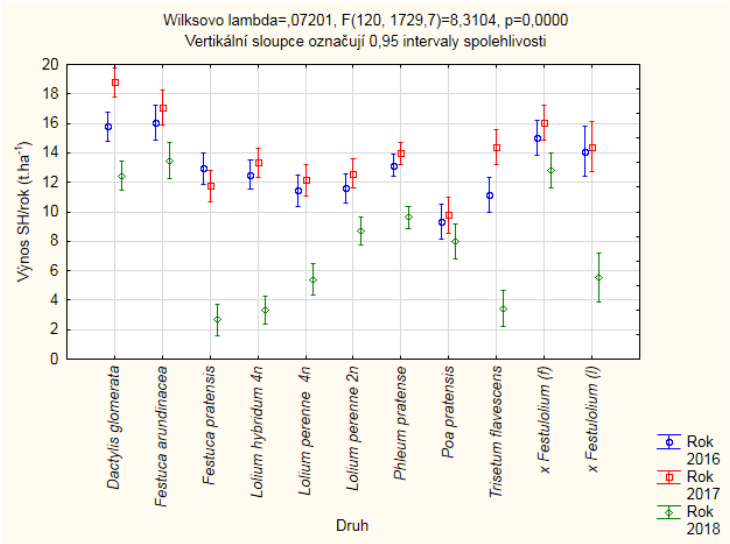
Tab. 2 Výnosy suché píce v průměru let 2016–2018 ($t.ha^{-1}.rok^{-1}$);
*** Tukey HSD test (P≤0,01)**

Druh	Výnos SH	Statistický rozdíl*
×*Festulolium* (f)	14,6	a
×*Festulolium* (l)	11,4	bc
Dactylis glomerata	15,7	a
Festuca arundinacea	15,6	a
Festuca pratensis	9,1	d
Lolium hybridum 4n	9,7	cd
Lolium perenne 2n	11,0	bc
Lolium perenne 4n	9,7	cd
Phleum pratense	12,3	b
Poa pratensis	9,0	d
Trisetum flavescens	9,7	cd
Rok		
2016	13,0	b
2017	14,0	a
2018	8,0	c

Podstatné jsou však výsledky celkové roční produkce suché píce v interakci faktorů travní druh a ročník (Graf 1). Zde vidíme, že u většiny druhů trav se produkce mezi lety 2016 a 2017 statisticky průkazně nelišila, s výjimkou druhů *Dactylis glomerata* a *Trisetum flavescens*, které měly v roce 2017 signifikantně větší výnos než v roce 2016. U druhu *Dactylis glomerata* tento rozdíl přikládáme jeho schopnosti dobře využít dostatek vláhy v jarním období, neboť měsíc duben byl v roce 2017 srážkově silně nadnormální. Jak uvádí Kohoutek et al. (2012), výnosy píce *Dactylis glomerata* jsou více ovlivněny úhrny srážek ve vegetačním období než ročními srážkovými úhrny. V případě druhu *Trisetum flavescens* je podle Ševčíkové (2010) počáteční vývoj pomalejší a nejvyšších výnosů píce dosahuje ve třetím až pátém užitkovém roce. Nejvýraznější změny ve výnosech hodnocených druhů trav nastaly ve třetím užitkovém roce 2018. Z důvodu vysokého srážkového deficitu, který nastal již od zimního období 2017/2018, došlo s výjimkou druhu *Poa pratensis* u všech ostatních travních druhů k meziročně signifikantnímu snížení výnosů píce. Druh *Poa pratensis* měl i přes nižší celkové dosahované výnosy největší meziroční vyrovnanost ve výnosech píce a pouze u tohoto druhu nebylo meziroční snížení výnosu z důvodu nepříznivých vlhkostních podmínek roku 2018 signifikantní a představovalo 18 %. Roční výnosy suché píce nad 10 t byly ve 3. užitkovém roce schopny vyprodukovat pouze druhy *Festuca arundinacea* (13,5 t), ×*Festulolium* (f) (12,8 t) a *Dactylis glomerata* (12,4 t). U druhů *Festuca arundinacea* a ×*Festulolium* (f) byla také zjištěna vysoká vyrovnanost v produkci mezi roky 2016–2018, ale u druhu *Dactylis glomerata* byla tato vyrovnanost nižší. Mezi roky 2017 a 2018 došlo ke snížení výnosu u druhu ×*Festulolium* (f) o 20 %, u druhu *Festuca arundinacea* o 21 % a u druhu *Dactylis glomerata* o 34 %.

Poměrně dobrou produkci suché píce měly v roce 2018 také druhy *Phleum pratense* (9,6 t) a diploidní *Lolium perenne* (8,7 t). U obou druhů bylo snížení produkce mezi roky 2017 a 2018 na úrovni 31 %. Oba druhy byly v tříleté produkci píce vyrovnanější než druh *Dactylis glomerata*. U zbývajících pěti druhů již bylo snížení produkce píce mezi roky 2017 a 2018 výrazné: tetraploidní *Lolium perenne* (snížení o 56 %), ×*Festulolium* (l) (62 %), *Lolium hybridum* (75 %), *Trisetum flavescens* (76 %) a *Festuca pratensis* (77 %). Také absolutní roční produkce těchto druhů v roce 2018 byla již poměrně malá: ×*Festulolium* (l) (5,5 t), tetraploidní *Lolium perenne* (5,4 t), *Trisetum flavescens* (3,4 t), *Lolium hybridum* (3,3 t), *Festuca pratensis* (2,7 t). Tyto druhy trav špatně snášely suchý průběh třetího užitkového roku, což mělo za následek, že vyrovnanost v produkci suché píce v celém tříletém období byla u těchto druhů nejmenší.

Graf 1: Průměrné roční výnosy suché hmoty v letech 2016–2018



Variabilita výnosů píce zohledňující proměnlivost výnosů nejen mezi jednotlivými roky, ale i v rámci hodnocených genotypů, která byla vyhodnocena pomocí variačního koeficientu, dosahovala v závislosti na travním druhu 13–56 %. Výnosově nejstabilnější byly genotypy ×*Festulolium* (f) a *Festuca arundinacea* (oba měly výnosovou variabilitu 13 %). Postupně následovaly druhy *Phleum pratense* (19 %), *Dactylis glomerata* (21 %), *Poa pratensis* (23 %), diploidní *Lolium perenne* (25 %), tetraploidní *Lolium perenne* (35 %) a ×*Festulolium* (l) (39 %). Největší variabilitou výnosů se vyznačovaly genotypy druhů *Lolium hybridum* (50 %), *Trisetum flavescens* (52 %) a *Festuca pratensis* (56 %). U genotypů těchto druhů byl zaznamenán významný pokles produkce píce ve srážkově chudém roce 2018, což mělo největší vliv na výši variability výnosů píce. Přestože *Festuca pratensis* a *Poa pratensis* dosahovaly podobné roční výnosové úrovně v tříletém průměru, za výrazně horších vláhových podmínek byly výnosnější genotypy druhu *Poa pratensis*. Teplejší a sušší podmínky u druhu *Poa pratensis* lépe snášejí úzkolisté genotypy (Dürr et al., 2005), avšak mezi kultivary existují značné rozdíly v odolnosti vůči letnímu stresu způsobeného suchem (Bonos a Murphy, 1999). Všechny hodnocené genotypy *Festuca pratensis* dosahovaly od třetí do páté seče v roce 2018 velmi malý, většinou však nulový výnos píce. Stejný trend z hlediska malé produkce píce od třetí do páté seče v roce 2018 jsme pozorovali u genotypů druhů *Lolium hybridum, Trisetum flavescens* a ×*Festulolium* (l). Z hlediska variability v jednotlivých sečích byly nejvíce vyrovnané výnosy píce ve 2. seči (36 %). Ve třetí seči se již variabilita zvýšila na 59 %, ve čtvrté na 65 % a nejméně vyrovnané výnosy byly v páté seči s variabilitou výnosů píce 91 %. To bylo do značné míry dáno tím, že druhy špatně snášející sucho během vegetačního období poskytovaly v poslední seči velmi malé nebo žádné výnosy píce, zatímco druhy odolné k suchu dosahovaly relativně stále dobrých výnosů. V první seči byla variabilita výnosů také vysoká (86 %).

Závěr

Předcházet problémům s nedostatkem píce v letech s výrazně podnormálními srážkovými úhrny lze používáním vhodných druhů a odrůd trav. S ohledem na měnící se podmínky klimatu stojí před šlechtiteli velká výzva v hledání vhodných genotypů pro tvorbu nových odrůd, které budou jednak vykazovat větší míru tolerance k nedostatku vody, ale zároveň budou schopny dlouhodobě poskytovat vyrovnané výnosy kvalitní píce v prostředí s extrémními projevy počasí a budou se tak vyznačovat vysokou mírou plasticity. Vybrané genotypy shromážděné v genových bankách v ČR i zahraničí mohou být vhodným zdrojem rezistence vůči abiotickým stresovým podmínkám prostředí.

Dedikace

Práce vznikla za finanční podpory Ministerstva zemědělství (Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.6 a institucionální podpora na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZE-RO1818).

Literatura

Bonos S. A., Murphy J. A., 1999: Growth Responses and Performance of Kentucky Bluegrass under Summer Stress. Crop Science, 39 (3), 770–774.

Čekal R., 2018: Vývoj sucha od roku 2014 a jeho vyhodnocení za září 2018 [online]. Praha: ČHMÚ. [cit. 2019-10-14]. URL: http://portal.chmi.cz/files/portal/docs/tiskove_zpravy/2018/Hodnoceni_ sucha_2014_2018_MS_JD_RC.pdf

Dürr G. H., Kunelius H. T., Drapeau R., McRae K. B., Fillmore S. A. E., 2005: Herbage yield and composition of Kentucky bluegrass (*Poa pratensis* L.) cultivars under two harvest systems. Canadian Journal of Plant Science, 85 (3), 631–639.

Fialová Z., 2018: Podle svazu nedostatek krmiva povede ke snižování stavů skotu [online]. Zemědělec [cit. 2019-10-14]. URL: https://www.zemedelec.cz/podle-svazu-produkce-objemnych-krmiv-je-ve-srovnani-s-potrebou-zhruba-tretinova/

Hrabě F., Buchgraber K., 2004: Pícninářství – Travní porosty. 1. vyd. Brno: MZLU. 151 s.

Kohoutek A., Odstrčilová V., Komárek P., Nerušil P., Němcová P., 2012: The impact of precipitation on yield of *Dactylis glomerata*, *Dactylis polygama*, *Festuca arundinacea* and genus hybrids in 1986–2011. In: Goliński P., Warda M., Stypiński P. (Eds) „Grassland – a European Resource?“ Proceedings of the 24th General meeting of the EGF (3–7 June 2012, Lublin), pp. 139–141.

Lošák M., 2015: Metodika práce s kolekcemi genetických zdrojů travin. In: Holubec V. et al.: Rámcová metodika Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity. Praha: VÚRV, s. 280–295.

Novák J., 2008: Pasienky, lúky a trávniky. Prievidza: Patria, 708 s.

Salaš P. et al., 2012: Opatření vedoucí k zamezení biologické degradace půd a zvýšení biodiverzity v suchých oblastech ČR: uplatněná certifikovaná metodika. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 104 s.

Ševčíková M., 2010: Pěstované rody a druhy trav. In: Cagaš B. Trávy pěstované na semeno. Olomouc: Petr Baštan, s. 29–87.

Ševčíková M., Šrámek P., Faberová I., 2002: Klasifikátor. Trávy (*Poaceae*). Praha: VÚRV, 34 s.

Tolasz R., Čekal R., Škáchová H., Vlasáková L., 2019: Rok 2018 v České republice. Meteorologické zprávy, 72 (1), 1–10.

ÚKZÚZ, 2019: Metodika zkoušek užitné hodnoty – obecná část. Brno: ÚKZÚZ, Národní odrůdový úřad. 22 s.

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Lošák
OSEVA PRO s.r.o., o.z. Výzkumná stanice travinářská Rožnov – Zubří
Hamerská 698, 756 54 Zubří
losak@oseva.cz

ODOLNOST OZIMÉ PŠENICE KE STÉBLOLAMU ZALOŽENÁ NA PŘÍTOMNOSTI GENU *PCH1*

Winter wheat resistance to eyespot based on the presence of the gene *Pch1*

Palicová J., Dumalasová V., Hanzalová A.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Abstrakt

V roce 2019 byla hodnocena reakce 39 vybraných registrovaných odrůd ozimé pšenice ke stéblolamu při inokulaci oběma původci stéblolamu. Zároveň byly tyto materiály testovány na přítomnost genu rezistence *Pch1* pomocí STS markeru *Xorw1*. Byla prokázána náchylnost většiny testovaných odrůd ke stéblolamu. Nejnižší napadení stéblolamem prokázaly odrůdy Annie, LG Imposanto, Proteus, Hyfi a Illusion nesoucí gen rezistence *Pch1*. Nejnáchylnější ke stéblolamu byly z testovaného souboru odrůdy RGT Sacramento, Gaudio, Steffi a Pirueta.

Klíčová slova: stéblolam; rezistence; *Oculimacula yallundae*; *Oculimacula acuformis*

Abstract

Reaction of 39 winter wheat varieties registered in the Czech Republic was assessed in the trials with eyespot inoculation in 2019. These cultivars were also tested for presence of the resistance gene *Pch1* using the STS marker *Xorw1*. Susceptibility of majority of the evaluated varieties to eyespot was proved. The varieties Annie, LG Imposanto, Proteus, Hyfi and Illusion, carrying the resistance gene *Pch1*, showed the lowest infection with the eyespot. The most susceptible from the tested set were cultivars RGT Sacramento, Gaudio, Steffi and Pirueta.

Key words: eyespot; resistance; *Oculimacula yallundae*; *Oculimacula acuformis*

Úvod

Choroby pat stébel zejména pravý stéblolam patří každoročně k významným chorobám pšenice v ČR, zejména v okresech Mladá Boleslav, Pelhřimov, Rakovník a Svitavy. Původci stéblolamu jsou *Oculimacula yallundae* a *O. acuformis*, kteří přežívají v půdě až 3,5 roku. V oblastech intenzivního pěstování obilnin zůstává jejich inokulum v půdě stálou hrozbou pro vzcházející porosty. Patogeny napadají klíční rostliny a mycelium postupně prorůstá vrstvami listové pochvy až ke stéblu. Infikované rostliny předčasně dozrávají, což se projevuje běloklasostí (Obr.1).

Účinná ochrana je založená v první řadě na včasné detekci patogenů a případné aplikaci fungicidů ve fázi BBCH 30-32 (2. kolénko). Dle webových stránek Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského je v ČR registrováno 40 přípravků a 16 účinných látek proti stéblolamu (http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/). V praxi je hojně používaná účinná látka prochloraz, byly však již zaznamenány případy rezistence k prochlorazu u izolátů původců stéblolamu pocházejících z pšenice v ČR (Palicová et Matušinsky 2019). Nejspolehlivější ochranou pšenice proti stéblolamu je přítomnost genů rezistence v genomu odrůdy. Doposud byly popsány tři geny rezistence ke stéblolamu: *Pch1, Pch2, Pch3 (Pch* podle starého názvu patogena *Pseudocercosporella herpotrichoides*). Nejúčinnější je gen *Pch1*, který je odvozen od *Aegilops ventricosa*. Byl zjištěn také v několika odrůdách a novošlechtěních ozimé pšenice registrovaných v ČR a je dostatečnou ochranou proti stéblolamu v polních podmínkách i na pozemcích s opakovaným pěstováním pšenice (Dumalasová *et al*., 2015, Palicová *et al*., 2018). Cílem předkládané práce bylo zjistit reakci vybraných odrůd ozimé pšenice ke stéblolamu v podmínkách maloparcelového pokusu. Zároveň byly tyto odrůdy testovány na přítomnost genu rezistence *Pch1* pomocí molekulárního markeru *Xorw1*.

Materiál a metody

Rezistence odrůd

Reakce 39 odrůd ozimé pšenice k umělé infekci *Oculimacula yallundae* a *O. acuformis* byla testována v maloparcelovém pokusu v Praze - Ruzyni. Jednalo se o odrůdy registrované v ČR (dle ÚKZÚZ), odrůdy Askaban, Asory, Collector, Chevignon, Illusion, LG Orlice, LG Mocca, KWS Elementary, Pirueta a Sally byly nově registrované v roce 2019. Odrůdy byly sety na 2 ohraničené záhony o rozměrech 15 x 1,5 m, po 2 řádcích v podzimním termínu setí (10.10.2018). Odrůda Annie s genem *Pch1* byla zařazena jako odolná kontrola, náchylná kontrola potom odrůda Cubus, která ve víceletých pokusech vykazovala vysoké napadení. Inokulum bylo připraveno ze směsi šesti izolátů *O. yallundae* a šesti izolátů *O. acuformis* pocházejících z ČR podle metodiky Palicová a kol. (2008). Mycelium bylo napěstováno na sterilních ječmenných obilkách a aplikováno rozhozem mezi rostliny rovnoměrně po celé ploše parcelky v dávce 40 g/m^2. Inokulace probíhala na podzim (3.12.2018) a v předjaří (14.3.2019). Infekční pokus byl hodnocen ve stádiu mléčné zralosti. Z každé varianty bylo náhodně odebráno 120 stébel a hodnoceno šestibodovou stupnicí (0 = žádné napadení, 1 = 1 malá skvrna, 2 = více skvrn pokrývajících max. polovinu obvodu stébla, 3 = větší skvrny pokrývající více než polovinu obvodu stébla, 4 = napaden celý obvod stébla, stéblo se neláme, 5 = stéblo se láme) – viz Obr. 2.

Výsledky byly statisticky zpracovány programem UNISTAT 6.5. Byla použita analýza rozptylu a mnohonásobné porovnávání (Tukeyho test).

Detekce genu *Pch1*

Soubor 39 odrůd ozimé pšenice byl testován na přítomnost genu *Pch1* pomocí STS markeru *Xorw1*. DNA pro PCR analýzu byla izolována pomocí DNeasy Plant Mini komerční soupravy (Qiagen) z přibližně 50 mg listů. Podmínky PCR reakce vycházely z postupu Leonarda a kol. (2008). Reakční objem 15 µl obsahoval 1 U Taq polymerázy, 1x PCR pufr, 1,7 mM $MgCl_2$ (Qiagen, Hilden, Germany), 0,17 mM každého z dNTP, 5 µM každého z primerů (Sigma-Aldrich) a 25 ng DNA.

V termocykleru Uno II (Biometra, Göttingen, Germany) byla provedena denaturace při teplotě 95°C po dobu 5 minut, následovalo 40 cyklů sestávajících z 30 s při 94°C, 30 s při 55°C a 40 s při 72°C, závěrečná extenze při teplotě 72°C trvala 5 minut.

K předběžné analýze fragmentů byl použit 4% high resolution agarózový gel (Sigma-Aldrich). Pro analýzu fragmentů kapilární elektroforézou v přístroji ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Perkin-Elmer) byl jeden z páru primerů fluorescenčně označen. Délky fragmentů byly stanoveny pomocí programu GeneScan a Genotyper srovnáním s interním velikostním standardem Tamra500 (Applied Biosystems).

Výsledky a diskuze

Reakce testovaných odrůd ozimé pšenice k inokulaci stéblolamem v maloparcelovém pokusu v Praze-Ruzyni byla statisticky průkazně rozdílná. Souvislost mezi napadením stéblolamem a přítomností genu rezistence ke stéblolamu *Pch1* (zjištěné pomocí molekulárního markeru *Xorw1*) znázorňuje Tab. 1. U odrůd nesoucích gen *Pch1* (Annie, LG Imposanto, Proteus, Hyfi, Illusion) bylo průměrné napadení stéblolamem do stupně 2, tj. skvrna pokrývající maximálně polovinu obvodu stébla. V Německu bylo shodně popsáno, že odrůdy s genem *Pch1* se vyznačovaly vysokou odolností ke stéblolamu v polních podmínkách (Meyer et al. 2011).

Odrůdy Asory, Vanessa, Cubus, Futurum, Genius, Gordian a Sheriff patřily mezi méně napadené stéblolamem, přestože ve svém genomu nenesou gen *Pch1*. Největší náchylnost k infekci stéblolamem vykazovaly odrůdy RGT Sacramento, Gaudio, Steffi a Pirueta. Odrůda Cubus byla překvapivě málo napadená (průměr 2,76), i když byla do souboru zařazena jako náchylná kontrola na základě výsledků z předcházejících let. Odrůdy Dagmar a Patras byly

testované i v předcházejících ročnících a v roce 2017 vykazovaly vyšší napadení stéblolamem stejně jako v letošním roce. Odrůda Julie, která měla nejvyšší přihlášené množitelské plochy pšenice ozimé v roce 2018 (dle ÚKZÚZ), patřila v letošním roce mezi mírně náchylné odrůdy ke stéblolamu.
Z celkového počtu 39 testovaných odrůd ozimé pšenice pouze 5 z nich nese gen rezistence ke stéblolamu *Pch1*. Při obdobném testování v roce 2015 v ČR byl ze 160 testovaných odrůd a novošlechtění ozimé pšenice zjištěn gen *Pch1* pouze v 9 z nich (Dumalasová et al. 2015).
Napadení stéblolamem v jednotlivých ročnících vlivem klimatických a dalších faktorů kolísá i při dodržení stejného postupu infekce, proto je třeba víceletých pokusů k vyhodnocení rezistence odrůd.

Závěr

Gen *Pch1* se opakovaně projevil jako dostatečná ochrana proti stéblolamu i v podmínkách vysokého infekčního tlaku, přesto je tento gen v poměrně malém zastoupení v genomu odrůd ozimé pšenice registrovaných v ČR. Co je však pozitivní, že alespoň jedna nově registrovaná odrůda v roce 2019 - Illusion - je nositelem genu *Pch1*.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován za podpory Ministerstva zemědělství ČR, institucionálního příspěvku RO0418 a projektu NAZV QK1910041. Poděkování též patří Ingrid Rutrlové a Lence Urbánkové za technickou podporu.

Použitá literatura

Dumalasová, V., Palicová, J., Hanzalová, A., Bížová, I., Leišová-Svobodová, L. (2015): Eyespot resistance gene *Pch1* and methods of study of its effectiveness in wheat cultivars. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 51 (4): 166-173.

Leonard, J.M., Watson, CH.J.W., Carter, A.H., Hansen, J.L., Zemetra, R.S., Santra, D.K., Cambbell, K.G., Riera-Lizarazu, O. (2008): Identification of a candidate gene for the wheat endopeptidase Ep-D1 locus and two other STS markers linked to the eyespot resistance gene *Pch1*. Theoretical and Applied Genetics, 116: 261–270.

Meyer, N., Lind, V., Zahn, M., Friedt, W., Ordon, F. (2009): Entwicklung molekularer Marker für Resistenzgene gegen *Oculimacula* spp. Die Erreger der Halmbruchkrankheit im Weizen (*Triticum aestivum*). 59 Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2008, s. 35-38.

Palicová, J., Matušinsky, P. (2019): Reaction of eyespot causal agents to some active ingredients of fungicides in vitro. Cereal Research Communications 47(1): 88-97.

Palicová, J., Matušinsky, P., Dumalasová, V., Hanzalová, A., Bížová, I. (2018): Resistance of winter wheat cultivars to eyespot and characterisation of causal agents of the disease. Plant Protection Science, 54: 24-30.

Palicová, J., Hanzalová, A., Dumalasová, V., Bížová, I., Chrpová, J., Bartoš, P. (2018): Metodika testování rezistence pšenice k původcům stéblolamu. ISBN 978-80-7427-285-1.

Kontaktní adresa:

Mgr. Jana Palicová, Ph.D.,
Drnovská 507/73,
161 06 Praha 6 – Ruzyně
palicova@vurv.cz

HODNOCENÍ KVANTITATIVNÍCH PARAMETRŮ GENOVÝCH ZDROJŮ KOLEKCÍ HOŘČICE BÍLÉ, ČERNÉ A SAREPTSKÉ

Evaluation of quantitative parameters of genetic resources of white, black and Chinese mustard collections

Rychlá A.[1], Endlová L.[2], Plachká E.[2], Vrbovský V.[2]

[1] *OSEVA PRO s.r.o., o.z. VÚO Opava*
[2]*OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.*

Abstrakt
V maloparcelových pokusech byly v letech 2017-2019 hodnoceny kolekce genových zdrojů hořčice bílé, černé a sareptské. Byla získána data pro kvantitativní parametry produkce semen a biomasy – výška rostliny, výnos sušiny nadzemní a podzemní biomasy, výnos semen a jejich olejnatost. Data byla zpracována a vyhodnocena pro potřeby tvorby core kolekce vybraných materiálů s potencionálem využití ve šlechtitelském procesu.
Klíčová slova: hořčice bílá, hořčice černá, hořčice sareptská, výnosy, biomasa, olejnatost, semena

Abstract
Collections of genetic resources of white, black and Chinese mustard were evaluated in the small plot experiments in 2017-2019. The data were obtained for the quantitative parameters of the seed and biomass production - plant height, yield of the dry matter of the aboveground and underground biomass, yield of the seeds and seeds oiliness. The data were processed and evaluated for the needs of the production core collection of the selected materials with the potential use in the breeding process.
Key words: white mustard, black mustard, Chinese mustard, yields, biomass, oiliness, seeds

Úvod

Hořčice patří k rostlinám využívaným člověkem od nepaměti. Pro svoje typické vlastnosti – obsah hořčičných silic způsobujících palčivou chuť – se používala semena nejprve v kuchyni. Obsah oleje umožnil využití semen také k produkci technických olejů a rychlý nárůst nadzemní biomasy předurčil hořčice jako meziplodiny vhodné na zelené hnojení. Hořčice patří do čeledi *Brassicaceae* a rodů *Sinapis* a *Brassica*. Nejvíce využívanými druhy hořčic jsou hořčice bílá (*Sinapis alba* L.), hořčice sareptská (*Brassica juncea* L.) a hořčice černá (*Brassica nigra* L.). Jako potravina se semena používala již v antické době jako příloha k masům a listy jako zelenina (Fábry, 1975). V dnešní době se průmyslově zpracovaná (rozdrcená a rozemletá) semena využívají pro výrobu pochutiny – hořčice plnotučné, kremžské a speciální. Jedná se o jednodruhový výrobek jemně namleté hořčice bílé (plnotučná) nebo směsný výrobek z jemně mleté hořčice bílé a nadrcené hořčice sareptské (kremžská) (Fábry, 1990). S ohledem na podporu produkce byly pro tyto účely vyšlechtěny odrůdy tzv. semenné, s důrazem na vysoký výnos, dobrý zdravotní stav (malá šedosemennost semen), odolnost k poléhání a vyrovnané dozrávání. Druhou oblastí zájmu je produkce biomasy pro účely zeleného hnojení, zlepšení biologické hodnoty půdy, fytosanitárního účinku a ochrany před erozí. Vzniká druhý směr šlechtění hořčic a to na tzv. pícní typy. V tomto případě je podstatný výnos biomasy a rychlost jejího nárůstu, případně odolnost k poléhání.

Ač v dnešní době není hořčice využívána ve větší míře k produkci oleje, plodina patří mezi olejniny. Semena hořčice bílé obsahují v průměru 25 % oleje (při 8% vlhkosti), hořčice černé 27 % a hořčice sareptské 30 %. Mezi jednotlivými odrůdami, materiály a genovými zdroji (GZ)

existují významné rozdíly v obsahu oleje v semenech. Liší se i zastoupení jednotlivých mastných kyselin v oleji. Dominantní postavení má bohužel kyselina eruková (běžně více jak 40 %), jejíž obsah znemožňuje větší využití oleje pro přímou lidskou výživu. Typickou štiplavou chuť hořčičných semen způsobuje vysoký obsah glukosinolátů (GSL). Nejvýznamnější z nich jsou sinalbin (u hořčice bílé) a sinigrin (u hořčice černé) (Fábry, 1975). Okrajově je vhodné zmínit i využití hořčičných semen v léčitelství a to právě s ohledem na obsah GSL. Drcená semena se používají k zevním obkladům, mají protizánětlivé účinky a slouží ke zmírnění revmatických projevů.

S ohledem na existenci Zákona o konzervaci a využívání genetických zdrojů rostlin a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství (148/2003 Sb.) jsou pověření účastníci Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity (NP) zodpovědní za uchovávání GZ prioritně domácího původu (odrůdy, ale i krajové materiály) pro případné využití ve šlechtitelském procesu, pro potřeby výzkumu, vzdělávání a školství. Byly vytvořeny plodinové kolekce GZ, u nichž řešitel zajišťuje nejen dostatečnou semennou zásobu (pro genovou banku v Praze), realizuje i polní maloparcelové pokusy, ve kterých jsou materiály hodnoceny dle platných klasifikátorů deskriptory morfologických a fenologických znaků, kvantitativními a kvalitativními parametry (Holubec, 2015).

Díky řešení NP je v řádných kolekcích uloženo 121 GZ hořčice bílé, 28 GZ hořčice černé a 91 GZ hořčice sareptské. Další materiály jsou prozatím v kolekci pracovní, jsou zde realizována stejná hodnocení, na základě nichž řešitel zodpovědně rozhodne o jejich případném přeřazení do kolekce řádné. Z pohledu původu se jedná o historické materiály, moderní odrůdy, významný šlechtitelský materiál nebo položky ze sběrových expedic. Z hlediska využití jsou zastoupeny jak typy semenné, tak pícní. Zároveň jsou obsaženy materiály nejen domácího původu, ale i zahraniční. Diverzita kolekcí (především kolekce hořčice sareptské) je dostatečná na to, aby byla vhodnou základnou pro výběr potencionálních donorů významných kvantitativních vlastností do šlechtitelského procesu.

Materiál a metody

Na pracovišti OSEVA PRO s.r.o., o.z. VÚO Opava je vedena kolekce GZ z NP konzervace, jejíž součástí je i kolekce hořčice bílé, černé a sareptské. Celkem se jedná o 240 GZ hořčic. Pracoviště je zodpovědné nejen za uchování dostatečné semenné zásoby pro potřeby uživatelů, ale i za získávání popisných dat morfologických, fenologických charakteristik, výnosových hodnocení a realizaci chemických analýz semenných vzorků. Jsou prováděny každoroční maloparcelní pokusy se všemi dostupnými GZ hořčic. Materiály jsou vysévány maloparcelovým výsevním strojem (Haldrup, Wintersteiger) do parcel 1,25 m x 3 m. Výsev je realizován v časném jarním termínu, kdy to stav půdy dovolí. Pokusy jsou během vegetace ošetřovány povolenými herbicidy a insekticidy (dle potřeby), fungicidní ošetření se s ohledem na hodnocení odolnosti k houbovým chorobám nerealizuje. Materiály jsou hodnoceny deskriptory (viz. https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/descriptors.aspx) a data jsou uchovávána po celou dobu realizace víceletých hodnocení. Po jejich skončení jsou zprůměrovány hodnoty deskriptorů a výsledek je vložen do IS GRIN Czech, kde jsou volně přístupné uživatelům. Z kvantitativních parametrů byly v letech 2017, 2018 a 2019 hodnoceny výška rostliny, výnos semen, sušiny nadzemní biomasy, sušiny kořene a celková olejnatost semen. V období prodlužovacího růstu před začátkem kvetení byly odebrány tři rostliny z parcely, včetně kořenů. Materiál byl usušen, rozdělen na nadzemní a podzemní část, a odděleně zvážen. Byl stanoven výnos sušiny nadzemní a podzemní biomasy. Celková výška rostliny byla zjišťována na začátku květu jako odpočet průměrné výšky rostlin na parcele. Po dosažení sklizňové zralosti byly materiály sklizeny maloparcelní mlátičkou a byl stanoven výnos. Celková olejnatost semen byla stanovena metodou spektroskopie v blízké infračervené oblasti s Fourierovou

instrumentací na pracovišti OSEVA PRO s.r.o. v Opavě. Měření vzorků probíhalo na spektrometru FT-NIR Antaris II (Thermo Fisher Scientific Inc., USA) na integrační sféře v režimu reflektance ve spektrálním rozsahu 10 000 – 4 000 cm^{-1} pomocí softwaru Omnic for Antaris.

Data za všechny pokusné roky byla zprůměrována a zpracována s cílem porovnání potencionálních kvantitativních limitů jednotlivých druhů i mezi samotnými GZ kolekcí. Bylo možné vytipovat položky pro tvorbu core kolekcí s požadovanými znaky, vhodné k využití ve šlechtitelském procesu.

Výsledky a diskuze

V maloparcelových pokusech v letech 2017-2019 bylo zhodnoceno 159 GZ hořčice bílé, 28 GZ hořčice černé a 104 GZ hořčice sareptské. Bylo zjištěno, že dosahovaná výška rostlin hořčic bílých a černých je srovnatelná (průměrně kolem 140 cm), zatímco rostliny GZ hořčice sareptské jsou nižší (průměrně 130 cm). Uvnitř kolekcí jednotlivých druhů výšky rostlin výrazně kolísají. Diference mezi položkami kolekce hořčice bílé dosahuje až 70 cm a je z velké části způsobena zařazením obou produkčních typů. Diference u hořčice černé dosahuje stejných hodnot i přesto, že počet hodnocených položek je malý. Největší rozdíly ve výšce rostlin byly zaznamenány u GZ hořčic sareptských a to až 84 cm. Je to dáno především největším podílem zařazených GZ ze zahraničí.

Průměrný výnos sušiny nadzemní biomasy hořčice bílé a černé je podobný (hmotnost sušiny jedné rostliny 6 – 7 g), u hořčice sareptské nepatrně nižší (5,7 g). Mezi jednotlivými GZ v rámci plodiny však existují výrazné rozdíly. Výnos nadzemní biomasy hořčice bílé pícního typu je významně vyšší, a to až o 50 % oproti průměru pokusu. Podobně výrazné diference byly potvrzeny i u GZ hořčice sareptské, kde maximální výnos nadzemní biomasy u nejvýnosnějšího materiálu byl o 52 % vyšší oproti průměru pokusu. Zároveň jsou v kolekci materiály, jejichž počáteční vývoj je velmi pomalý a celková dosahovaná výše výnosu nadzemní biomasy dosáhla pouze 25 % průměrného výnosu pokusu. Podobné diference byly potvrzeny i v případě výnosu sušiny kořene. Z testovaných plodin je schopna vytvořit největší kořenovou soustavu hořčice bílá; hořčice černá a sareptská tvoří kořeny nepatrně slabší a méně větvené. V rámci kolekcí jednotlivých plodin byly zaznamenány výrazné rozdíly. Nejvýkonnější materiál hořčice bílé tvořil kořeny dvojnásobné oproti průměru pokusu, u hořčice černé 139 % a u hořčice sareptské 163 %.

V polních maloparcelových pokusech dosáhly GZ hořčice bílé průměrného výnosu semen 2,56 t/ha. Nutno zdůraznit, že výnos v provozních podmínkách by byly podstatně nižší. Průměrný výnos v roce 2017 podle Českého statistického úřadu dosáhl 1,05 t/ha (Zehnálek, 2018). Nesoulad je dán především malou výměrou sklizňových parcel a eliminací poškozených, či více mezerovitých ploch. Zároveň se ale jedná o kolekci tvořenou hořčicemi semenného i pícního typu, který má obecně výnos semen podstatně nižší. Nejnižšího výnosu semen (mezi plodinami) bylo dosaženo u GZ hořčice černé a to především z důvodu jejího velmi vysokého sklonu k pukání drobných šešulí a vypadávání semen. Průměrný výnos u této plodiny dosáhl pouze 27 % výnosu semen hořčic bílých. Zároveň jsou však v kolekci potencionálně výkonné materiály s výnosem až 1,35 t/ha. Hořčice sareptská dosáhla vyššího výnosu než hořčice černá, její průměrný výnos na hořčici bílou byl však pouze 42 %. Nejvýkonnější materiál hořčice sareptské s označením „Pusabold“ dosáhl výnosu semen 1,90 t/ha. Materiály ze zcela klimaticky odlišných oblastí (původ sběrové expedice atd.) většinou nebyly schopny dát v našich podmínkách uspokojivý výnos, přesto nesou významný přínos pro rozšíření agrobiodiverzity mezi položkami kolekce s ohledem na svoje, většinou odlišné, morfologické a fenologické vlastnosti.

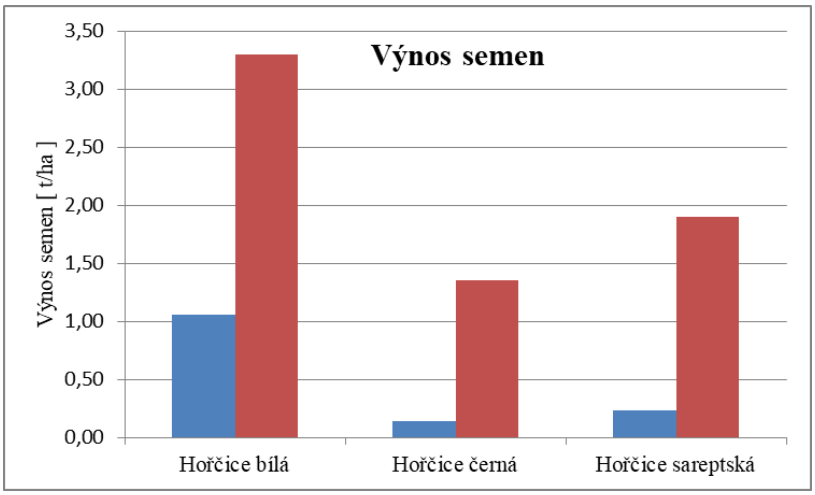
Celková olejnatost GZ hořčic se pohybuje v rozmezí 25 – 35 %, což je dostatečná diverzita umožňující cílený výběr materiálů s požadovanými vlastnostmi. Mezi testovanými hořčicemi dosáhly největší olejnatosti GZ hořčice sareptské; průměrná olejnatost činila 29,82 % a maximální 34,37 %. Průměrná olejnatost semen hořčice bílé je o 15 % nižší, u hořčice černé o 7 %. Diference uvnitř kolekce hořčice bílé překračuje 11 %, u hořčice sareptské 9 % a u hořčice černé 3,5 % (tato kolekce je malá, počet hodnocených GZ pouze 28).

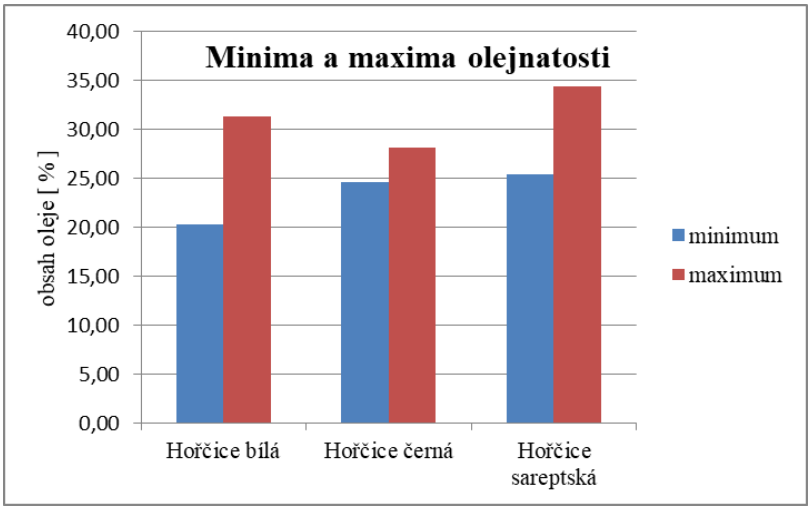
V tab. 1 jsou přehledně zpracovány kvantitativní charakteristiky pro kolekce testovaných druhů s vyjádřením průměrného, minimálního a maximálního obsahu. Maxima a minima kvantitativních parametrů jednotlivých rostlin prezentují grafy 1 – 4.

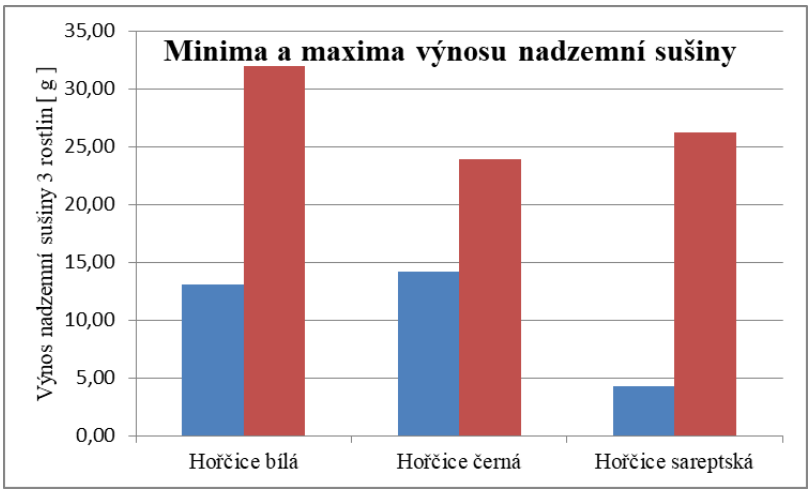
Tab.1: Dosahované průměrné, minimální a maximální hodnoty kvantitativních parametrů uvnitř kolekcí hořčice bílé, černé a sareptské

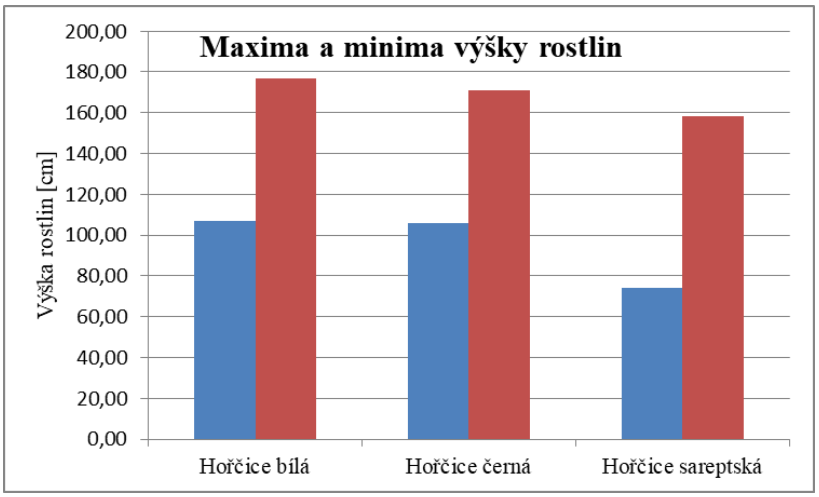
		Výška (cm)	Výnos (t/ha)	Přepočet nadzemní biomasy 3 rostlin /g	Přepočet hmotnosti kořenů 3 rostlin/g	Olejnatost (%)
Hořčice bílá	Prům.	140,13	2,56	20,86	3,53	25,21
	Min.	107	1,06	13,07	2	20,25
	Max.	177	3,3	31,95	7,41	31,31
Hořčice černá	Prům.	142,43	0,68	18,75	2,71	26,89
	Min.	106	0,14	14,19	2,04	24,6
	Max.	171	1,35	23,88	3,78	28,1
Hořčice sareptská	Prům.	130,74	1,08	17,25	2,51	29,82
	Min.	74	0,23	4,26	0,44	25,33
	Max.	158	1,9	26,25	4,09	34,37

Graf 1-4: Grafické znázornění hraničních hodnot kvantitativních parametrů




Minima a maxima olejnatosti
obsah oleje [%]
40,00
35,00
30,00
25,00
20,00
15,00
10,00
5,00
0,00
Hořčice bílá
Hořčice černá
Hořčice sareptská
minimum
maximum


Minima a maxima výnosu nadzemní sušiny
Výnos nadzemní sušiny 3 rostlin [g]
35,00
30,00
25,00
20,00
15,00
10,00
5,00
0,00
Hořčice bílá
Hořčice černá
Hořčice sareptská


Maxima a minima výšky rostlin
Výška rostlin [cm]
200,00
180,00
160,00
140,00
120,00
100,00
80,00
60,00
40,00
20,00
0,00
Hořčice bílá
Hořčice černá
Hořčice sareptská

Závěr

Díky realizaci víceletých hodnocení GZ hořčice bílé, černé a sareptské bylo možné realizovat posouzení potencionálu jejich kvantitativních parametrů – výšky rostlin, výnosu nadzemní a podzemní biomasy, výnosu semen a jejich olejnatosti. Mezi testovanými plodinami byly shledány významné rozdíly. Diference mezi jednotlivými GZ uvnitř kolekcí je natolik dostatečná, že umožňuje výběr položek core kolekcí s hraničními hodnotami kvantitativních parametrů. Tyto core kolekce jsou tvořeny především pro potřeby šlechtění a usnadnění přístupu uživatele k cenným informacím o dosahovaných kvantitativních parametrech potencionálních donorů. Data, získaná v průběhu řešení, se stanou nedílnou součástí hodnocení popisných charakteristik GZ kolekce olejnin NP, po převedení do podoby hodnot deskriptorů (dle platných klasifikátorů) budou postupně zveřejněna ve volně přístupném IS GRIN Czech.

Dedikace

Prezentované výsledky byly získány na základě řešení projektů MZe ČR 206553/2011-17253 ”Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity”, QK1910225 a institucionální podpory MZE-RO1818.

Použitá literatura

FÁBRY, A. et al.(1975). Řepka, hořčice, mák a slunečnice. SZN v Praze (358 s.)

FÁBRY, A. et al.(1990). Jarní olejniny. Ministerstvo zemědělství a výživy ČR (241 s.)

HOLUBEC, V. et al. [online]. (Cit.2.10.2019). Rámcová metodika Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity. Dostupné z: http://genbank.vurv.cz/genetic/nar_prog_rostlin/dokumenty

ZEHNÁLEK, P. et al.(2018). Seznam doporučených odrůd. ÚKZÚZ Brno (122 s.)

Kontaktní adresa:

Ing. Andrea Rychlá
OSEVA PRO s.r.o., o.z. Výzkumný ústav olejnin Opava
Purkyňova 10, 764 01 Opava
+420 553 624 160, rychla@oseva.cz

MÉDIUM PRO ZPOMALENÍ RŮSTU V PODMÍNKÁCH *IN VITRO* U *PETUNIA HYBRIDA*

Minimal growth medium for *in vitro* preservation of *Petunia hybrida*

Salaš P.[1], Černý J.[2], Černá M.[1]

[1]*Ústav šlechtění a množení zahradnických rostlin, Zahradnická fakulta MENDELU;*
[2] *Černý-BioPro s.r.o., Praha*

Abstrakt
Uchovávání rozsáhlých kolekcí vegetativně množených genotypů *Petunia hybrida in vitro* je finančně náročné. Pěstování na médiích, které způsobují zpomalení růstu je jedním z řešení tohoto problému. Byla vyzkoušena tři kultivační média. Nejlepší výsledky byly získány s MS mediem s 20 g.l^{-1} sacharózy a 20 g.l^{-1} mannitolu. Perioda mezi pasážováním se prodloužila z 3 na 5,5 měsíce. Navržené medium může být doporučeno pro praktické použití v *in vitro* laboratořích pro svoji jednoduchost. Jeho zavedení nevyžaduje zvláštní podmínky v kultivačním boxu. Rostliny jsou po celou dobu kultivace ve velmi dobré kondici. Využití navrženého media může podstatným způsobem snížit náklady na uchovávání pracovních sbírek genotypů u *Petunia hybrida*.
Klíčová slova: *Petunia hybrida, in vitro*, zpomalení růstu

Abstract
Storing large collections of vegetative propagated *in vitro* genotypes *Petunia hybrida* is financially demanding. Growing on minimal growth media is one solution to this problem. Three cultivation media have been tested. The best results were obtained with the MS medium with 20 g. L^{-1} sucrose and 20 g. L^{-1} mannitol. The period between the passages was extended from 3 to 5.5 months. The designed medium can be recommended for practical use in in vitro laboratories for its simplicity. Its introduction does not require special conditions in the cultivation box. Plants are in very good shape throughout the cultivation period. The use of the proposed media can substantially reduce the cost of storing genotypes' work collections with *Petunia hybrida*.
Key words: *Petunia hybrida, in vitro*, growth retardation

Úvod

Část rodičovských komponentů pro výrobu F1 hybridního osiva se rozmnožuje vegetativně (Reimann-Philipp 1969). Udržování tohoto výchozího materiálu ve skleníkových podmínkách je nevýhodné především z hlediska zdravotního – snadné infekce viry a viroidy (Anderson 2007). Běžně se udržují kolekce těchto materiálů *in vitro* (Sink 1984). To je vhodný způsob i pro přechovávání některých šlechtitelských materiálů a genotypů získaných biotechnologickými metodami. Udržování rozsáhlých sbírek je náročné především na mzdové náklady. Na standardním kultivačním mediu MS (Murashige and Skoog 1962) v 150 ml Erlenmayerových baňkách je potřeba rostliny přesadit na čerstvé medium (pasážovat) každé 3 měsíce. Jednou z metod, jak snížit periodicitu pasážování, je pěstování v minimálním objemu media (Cha-um and Kirdmanee 2007). Další cestou je kryoprezervace (Zhang et al. 2015). Obě tyto metody mají nevýhodu v tom, že trvá několik týdnů, než je takto uchovávaný genotyp k dispozici pro rychlou multiplikaci. Pěstování explantátů na upravených kultivačních médiích, které způsobují zpomalení růstu, je vhodnou strategií. Do media jsou přidány osmoticky aktivní sacharidy, které pro kořeny explantátů vytvářejí fyziologicky suché prostředí. Rostliny rostou pomaleji a mají změněný habitus. Cílem naší práce bylo navrhnout prakticky použitelné

kultivační medium, které by zpomalovalo růst explantátů a tím umožnilo snížení periodicity pasážování.

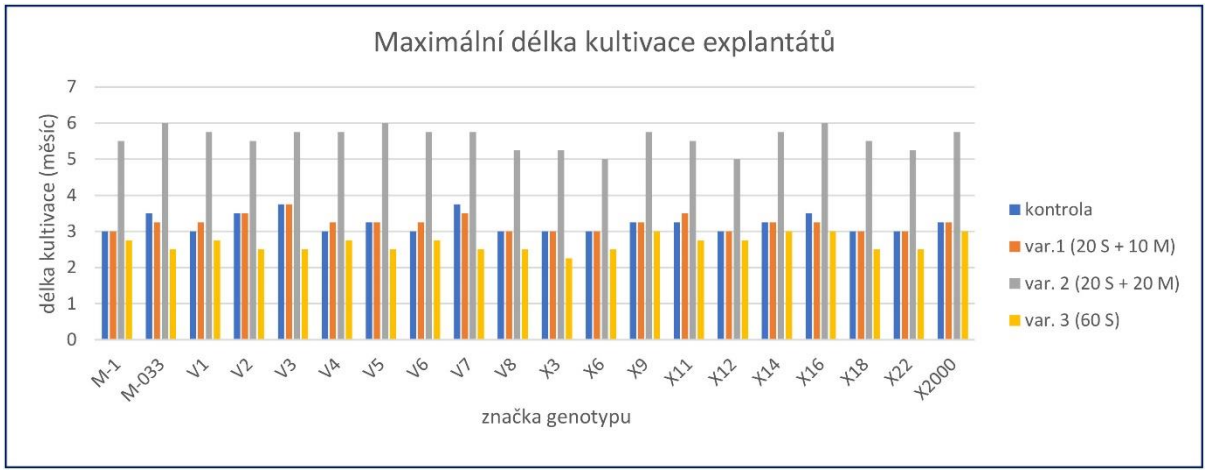
Materiál a metodika

K pokusu bylo použito deset diploidních (značeno V) a deset tetraploidních (X) vegetativně množených genotypů, které poskytla česká biotechnologická firma Černý-BioPro, Praha. Explantáty byly pěstovány v 150 ml Erlenmayerových baňkách s 20 ml kultivačního media, které bylo sterilizováno párou 21 minut při teplotě 121 °C. Byly použity 4 media, první jako kontrola MS medium (Murashige and Skoog 1962) s 20 $g.l^{-1}$ sacharózy ztužené 8 $g.l^{-1}$ agaru (značeno kontrola). Ostatní varianty se lišily pouze obsahem cukrů: var.1. 20 $g.l^{-1}$ sacharózy a 10 $g.l^{-1}$ mannitolu, var. 2. 20 $g.l^{-1}$ sacharózy a 20 $g.l^{-1}$ mannitolu a var. 3. 60 $g.l^{-1}$ sacharózy. U každé varianty byly použity 4 baňky, v každé baňce byly umístěny 3 vrcholové explantáty o délce 5-7 mm. Kultivace probíhala při teplotě 18 °C, v periodě 8 hod. světlo a 16 hod. tma a intenzitě světla 3 500 lux. Každých 30 dnů po dobu půl roku byl vyhodnocován stav explantátů v baňce na životaschopné, tehdy když byly v baňce rostliny, které je možné použít k založení nové kultury, a na neživotaschopné. Z výsledků 4 baněk pro každý genotyp a variantu byl vypočítán aritmetický průměr. Pokus byl založen ve dvou opakováních s časovým odstupem 3 týdnů. Výsledky byly vyhodnoceny výpočtem intervalu spolehlivosti (p = 0,05) pro jednotlivé varianty mezi sebou. K výpočtu byl použit program Statistica 12.

Výsledky

Výsledky maximální délky kultivace byly vyhodnoceny vždy pro každou variantu. U kontroly bylo dosaženo délky 3,21 a 3,20 (první a druhé opakování) měsíce, u var. 1. 3,23 a 3,31, u var. 2. 5,59 a 5,46 a u var. 3 2,66 a 2,59. Graf č. 1 ukazuje výsledky jednotlivých genotypů u prvního opakování pokusu. Mezi kontrolou a var. 1. nebyl průkazný rozdíl v žádném z opakování (p = 0,05). Mezi kontrolou a var. 2., a kontrolou a var. 3. byl v obou opakováních statisticky významný rozdíl. Na obrázku č. 1 jsou rostliny genotypů M-1 a X200 jednotlivých variant po 4 měsících kultivace. Výsledky T-testu pro kontrolu a var. 2. v prvním opakování ukazuje tabulka č. 1. Výsledky prvního a druhého opakování se prakticky neliší. Nejdelší maximální délky kultivace, přibližně 5,5 měsíce, bylo dosaženo u var. 2., kdy bylo do media přidáno 20 $g.l^{-1}$ sacharózy a 20 $g.l^{-1}$ mannitolu. U var. 1. nebyl zjištěn kladný vliv na délku kultivace a v případě var. 3. byl vliv záporný.

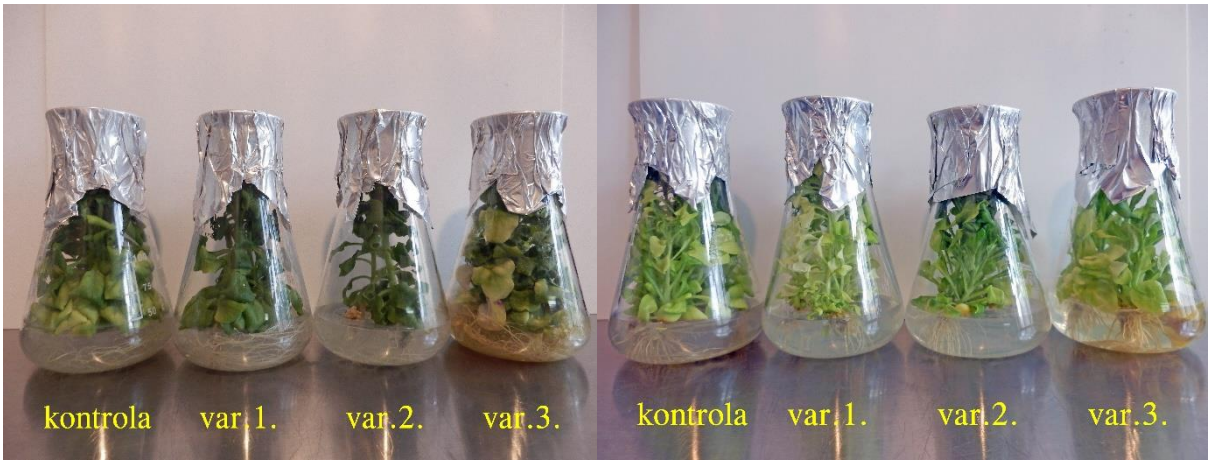
Graf 1: První opakování pokusu



Tab. 1: T-test pro maximální délku kultivace explantátů kontrola x var. 2., první opakování

	Průměr (kontrola)	Průměr (var. 2)	Hodnota t	Sv	p	Poč.plat. (kontrola)	Poč.plat. (var.2.)	Sm.odch. (kontrola)	Sm.odch. (var.2.)	F-poměr (Rozptyly)	p (Rozptyly)
Kontrola vs. var. 2.	3,213	5,588	-26,429	38	0,000	20,000	20,000	0,260	0,306	1,389	0,480

Obr. 1: Rostliny po 4 měsících kultivace



Genotyp M-1 **Genotyp X2000**

Diskuze

Cílem práce bylo navrhnout a prakticky ověřit kultivační medium pro zpomalení růstu v podmínkách *in vitro* u *Petunia hybrida*. Udržování rozsáhlých sbírek vegetativně množených genotypů v *in vitro* laboratoři je finančně náročné (Šedivá 2009). Kalkulace přímých nákladů na roční uchování jednoho genotypu v naší laboratoři je 430 Kč, bez nákladů na kultivační box. Standardně se materiály pasážují jednou za 3 měsíce. Nejlepší ze zkoušených medií byla varianta č. 2., ve které byl obsah sacharidů 20 $g.l^{-1}$ sacharózy a 20 $g.l^{-1}$ mannitolu. Při použití tohoto media je možné prodloužit dobu mezi pasážováním na 5-6 měsíců. Přídavek 20 $g.l^{-1}$ mannitolu do media byl s úspěchem vyzkoušen i u jabloní (Hao and Deng 2003), kolokázie (Bessembinder et al. 1993) a xanthosomu (Zandervoort and Hulshof 1994). Přídavek tohoto sacharidu mění osmotickou hodnotu media, rostliny na fyziologicky sušší prostředí reagují pomalejším růstem a redukcí kořenového systému (Gerats and Strommer 2009). Rostliny byly po celou dobu zdravé a měly tmavě zelenou barvu. Z provozního hlediska je příprava této modifikace MS media (Murashige and Skoog 1962) velmi jednoduchá. V předpokusech bylo zkoušeno použití poloviční koncentrace solí v MS mediu, ale rostliny během cca 30 dnů začaly trpět chlorózou. Také doplnění media o MES, PVP 10 a aktivní uhlí se neosvědčilo. Ve var. 3. bylo použito 60 $g.l^{-1}$ sacharózy, toto množství cukru proti předpokladu stimulovalo u petúnií růst. U lilií však dávka 90 $g.l^{-1}$ vedla ke zpomalení růstu (Bonnier and Van Tuyl 1997). Výhodou pěstování explantátů v mediu, zpomalující růst je, že v případě potřeby rychlé multiplikace rostlinného materiálu nedochází k žádné časové prodlevě (Cha-um and Kirdmanee 2007). Proto je tento způsob vhodný pro uchovávání pracovních kolekcí. Navrhované medium MS s přídavkem 20 $g.l^{-1}$ sacharózy a 20 $g.l^{-1}$ mannitolu může být doporučeno pro praktické použití v *in vitro* laboratořích i pro svoji jednoduchost a snadné zavedení, jeho použití nevyžaduje zvláštní podmínky v kultivačním boxu. Rostliny jsou po celou dobu ve velmi dobré kondici. I citlivé a pomalu rostoucí genotypy na tomto médiu spolehlivě rostou. Využití navrženého

media může podstatným způsobem snížit náklady na uchovávání pracovních sbírek genotypů u *Petunia hybrida*.

Závěr

Snížení nákladů na udržování rozsáhlých sbírek petúnií *in vitro* je životní nutností každé laboratoře. Navržené a vyzkoušené kultivační medium pro zpomalení růstu explantátů je jednou z cest k řešení tohoto problému. Medium je snadno implementovatelné pro svoji jednoduchost, a také proto, že ho lze úspěšně použít při standardních podmínkách v kultivačním boxu.

Literatura

Anderson, N. O. 2007. *Flower Breeding and Genetics: Issues, Challenges and Opportunities for the 21st Century*. 1st ed., Dordrecht, Netherlands: Springer.

Bessembinder, J., Staritsky, G., Zandvoort, E., 1993. Long-term in vitro storage of *Colocasia esculenta* under minimal growth condition. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 33: 121-127

Bonnier, M., Van Tuyl, J.,1997. Long term t in vitro storage of lily: effects of temperature and concentration of nutrients and sucrose. *J. Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 49: 81-87

Gerats, T., Strommer, J. 2009. *Petunia: Evolutionary, Developmental and Physiological Genetics*. 1st ed. New York, USA: Springer.

Hao, J., Deng, X., 2003. Genetically stable regeneration of apple plants fromslow growth. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 72: 253-260

Cha-um, S., Kirdmanee, C. 2007. Minimal Growth in Vitro Culture for Preservation of Plant Species. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 1(1): 13-25

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

Reimann-Philipp, R. 1969. *Die Züchtung der Blumen.* 1st ed., Berlin, Germany: Paul Parey.

Sink, K. C. 1984. *Petunia*. 1st ed. Berlin, Germany: Springer-Verlag.

Šedivá, J., 2009. Shrnutí poznatků při udržování kolekcí vybraných druhů květin s využitím *in vitro* technik, Acta Pruhoniciana, 93(1): 27–30

Zandervoort, E., Hulshof, M., 1994. In vitro storage of *Xanthosoma* spp. Under minimal growth condition. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 36: 309-316

Zhang, J., Huang, B., Zhang, X., Volk, G., Zhou, Y., Chen, X. 2015. Identification of a highly successful cryopreservation method (droplet-vitrification) for petunia. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*. 51: 445-451

Poděkování

Tato práce byla financována z projektu IGA Management uchovávání vegetativně množených genotypů petúnií v podmínkách in vitro (IGA - ZF/2019 - AP003) a podpořena projektem OP VVV reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002334 Výzkumná infrastruktura pro mladé vědce.

Kontaktní adresa:

doc. Dr. Ing. Petr Salaš
Zahradnická fakulta MENDELU,
Ústav šlechtění a množení zahradnických rostlin
Valtická 337, Lednice, Česká republika
telefon +420 519 367 322, e-mail petr.salas@mendelu.cz

NÁRODNÍ PROGRAM KONZERVACE A VYUŽÍVÁNÍ GENETICKÝCH ZDROJŮ RÉVY VINNÉ VE VÝZKUMNÉ STANICI VINAŘSKÉ V KARLŠTEJNĚ

National programme on conservation and utilization of grapevine genetic resources at the Research Station for Viticulture in Karlštejn

Střalková R., Mýlová P., Mráz D.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. / Výzkumná stanice vinařská Karlštejn

Abstrakt

Cílem práce bylo vyhodnotit 25-leté výsledky Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin (GZR) révy vinné ve Výzkumné stanici vinařské v Karlštejně a vybrat materiály vhodné pro další uchování pro budoucí generace. V roce 2019 proběhlo hodnocení materiálů udržovaných v polní a in vitro kolekci révy vinné v Karlštejně. Na základě těchto hodnocení byly vybrány tři skupiny po 10 odrůdách, které byly v této fázi hodnocení doporučeny jako ty nejlepší materiály pro budoucí generace z hlediska pěstební technologie a z hlediska konzervace materiálů v řízených podmínkách in vitro.

Klíčová slova: Národní program, genetické zdroje rostlin, polní kolekce, in vitro

Abstract

The aim of this work was to evaluate the 25-year results of the National Program of Conservation and Utilization of Vine Genetic Resources (GZR) in the Research Station for Viticulture in Karlštejn and to select materials suitable for further conservation for future generations. In 2019, the materials maintained in the field and in vitro vine collection in Karlštejn were evaluated. Based on these evaluations, three groups of 10 varieties were selected and recommended at this stage of the evaluation as the best materials for future generations in terms of growing technology and in terms of conservation of materials under controlled in vitro conditions.

Key words: National program, plant genetic resources, field collection, in vitro

Úvod

Výzkumná stanice vinařská v Karlštejně si 28. listopadu 2019 připomene 100. výročí svého založení. Proto jsme se rozhodli zrekapitulovat její práci zejména v oblasti konzervace genetických zdrojů rostlin, protože se touto problematikou, v rámci různých výzkumných úkolů, zabývala od samotného počátku své existence a od roku 1993 již v rámci dotačního titulu MZe ČR „Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity“.

Od roku 1993 byl postupně budován genofond révy, který dnes počítá více jak 200 položek, které tvoří druh *Vitis Vinifera* L. a kříženci *Vitis Vinifera* L. s planými druhy. Seznam a charakteristika udržovaných položek je od roku 2014 k dispozici uživatelům v informačním systému GRIN Czech (www.vurv.cz). Prioritně jsou tyto materiály určeny pro šlechtění, výzkum a výuku. Nová možnost se ale otevírá i pro spolupráci s vinaři v programu „On farm“ a laickou veřejností v programu „Home gardening“. Jak vinaři, tak laická veřejnost může, po splnění všech požadavků, v rámci obou programů společně s námi pečovat a udržovat genetické zdroje révy vinné pro budoucí generace.

Cílem práce bylo vyhodnotit výsledky Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin (GZR) révy vinné ve Výzkumné stanici vinařské v Karlštejně a vybrat materiály vhodné pro další uchování pro budoucí generace.

Materiál a metody

Vinice v Karlštejně se rozkládají na příkrých stráních nad řekou Berounkou, ve vzdušné vzdálenosti asi 500 m od řeky, téměř uprostřed chráněné krajinné oblasti Český kras. Genofondová vinice se nachází na viniční trati Vrše I. Rostliny byly vysázeny po spádnici, ve sponu 1 x 3 m, hustota výsadby 3000 keřů na hektar, vedení střední, rýnsko-hessenské, nadmořská výška 280 m n.m., JJZ expozice svahu. Vinice je udržována v integrovaném systému ochrany rostlin druhého stupně.

Půda, která je tvořena rendzinami, vznikla z matečného substrátu, kterým je silurský vápenec prostoupený vrstvami málo vápenatých břidlic. Jílovito-hlinitá půda je kamenitá a přechází v hloubce 60-85 cm do matečné horniny *(Krpeš, 1984).*

Podle BPEJ (bonitační půdně-ekologická jednotka) je hlavní půdní jednotkou rendzina (41844), se středním až výrazným sklonem v rozsahu 7-17°, jižní expozice, se střední až středně-výraznou skeletovitostí (10-25 % skeletu). Hloubka ornice je v rozsahu mělká až hluboká (0-60 cm).

Klimatický region T3 teplý, mírně vlhký. Podle naměřených dat z meteorologické stanice, která se nachází v areálu vinic Výzkumné stanice vinařské Karlštejn na kopci Plešivec, činí normál z let 1961-1990 průměrné roční teploty 8.59^{o} C a roční suma srážek 493,18 mm.

Pro vybudování polní kolekce GZR révy byl v roce 1993 vybrán pozemek Vrše I., v obci Karlštejn.

Polní kolekce GZR révy *Vitis Vinifera* L. a kříženci *Vitis Vinifera* L. s planými druhy byla postupně vysazována a budována v letech 1996 - 2012. Polní kolekce klonů 6ti vybraných odrůd révy vinné *Vitis vinifera* L. byla vysázena v letech 1989-1998 na viniční trati Vrše II. Byly to klony bílých moštových odrůd Ryzlink rýnský, Rulandské bílé, Sylvánské zelené, Müller Thurgau a modrých moštových odrůd Modrý Portugal a Svatovavřinecké. Polní kolekce klonů vybraných odrůd révy vinné *Vitis vinifera* L. mladá výsadba byla vysázena v roce 2019 na viniční trati Plešivec.

Kolekce 68 položek vybraných materiálů je kultivována v řízených tepelných a světelných podmínkách *in vitro* nebo-li ve skle.

Práce s GZR je řízena podle dokumentu Rámcová metodika Národního programu (Holubec a kol., 2017). Materiály z polní kolekce byly hodnoceny v tříletých cyklech, ve skupinách po 30 položkách, dle klasifikátoru Hubáčková, Fáberová (1999).

Práce s materiály kultivovanými v podmínkách in vitro byla řízena podle certifikované metodiky (Faltus a kol., 2012b).

Práce s materiály kultivovanými v podmínkách *kryo* byla řízena podle certifikované metodiky (Faltus a kol., 2012a).

Všechny materiály z polní kolekce byly vyhodnoceny DNA analýzou a to analýzou mikrosatelitů (Střalková a kol., 2018).

Seznam všech položek GZR udržovaných ve Výzkumné stanici vinařské v Karlštejně a výsledky jejich hodnocení jsou volně přístupné uživatelům v databázi informačního systému GRIN Czech od roku 2014. Správcem databáze a koordinátor Národního programu je VÚRV, v.v.i. Praha – Ruzyně.

Výsledky a diskuze

Počasí

Období posledních pěti let 2015-2019 bylo z pohledu průběhu počasí velmi rozdílné. Teplotně bylo všech pět let 2015-2019 v období červen až srpen teplotně nadnormální, silně nadnormální až mimořádně nadnormální. Srážkově se ročníky lišily a to rok 2017 byl nejvlhčí a rok 2018 absolutně nejsušší. Velký podíl na tom měl srážkový deficit nejen v červenci a srpnu 2018, ale suché bylo i celé jaro a léto jej ještě více prohloubilo. Sucho se dále prohloubilo i v roce 2019, kdy měsíc duben byl srážkově mimořádně podnormální a červen byl srážkově podnormální. Toto suché a horké pětileté období podrobilo GZR náročné zkoušce a to zejména v oblasti hospodaření rostlin s vodou, které rostliny zvládly pravděpodobně díky blízké řece Berounce a vlhkého mikroklimatu. Staré rostliny se uměle nezavlažovaly, pouze mladá výsadba.

Polní kolekce

Na základě výše popsaných metod hodnocení materiálů konzervovaných v genofondu révy vinné v Karlštejně byly vybrány TOP položky 3 skupin.

První skupinu tvoří odrůdy, které jsou pěstované v Karlštejně a jsou registrované ve Státní odrůdové knize České republiky (SOK ČR) v roce 2018. Do této skupiny se řadí celkem 43 odrůd a to 37 moštových a 6 stolních. Z celkového počtu jsou v 100% kvalitě následující odrůdy: Aurelius, Auxerrois, Děvín, Fratava, Hibernal, Chardonnay, Rulandské bílé, Ryzlink rýnský, Sylvánské zelené, Veltlínské zelené. V 90% kondici jsou odrůdy: Zweigeltrebe, Alibernet, André, Sauvignon, Veritas, Irsai Oliver, Veltlínské červené rané, Pálava, Muškát Ottonel, a Pannonia Kinski. Zbývající materiály se nacházejí 70-80% kondici. Podklady pro tato hodnocení byly vzaty z každoroční inventarizace porostu, která se provádí každý rok v době sklizňové zralosti hroznů.

Do druhé skupiny byly zařazeny odrůdy, které nejsou ve SOK ČR a jejich kondice je v 100% kvalitě: Ryzlink aromatický, Tramín bílý, Mlynářka (Pinot meunier), Ortlibské rané, Muškát hamburský, Blussard modrý, Fioljetovyj avgustovskij, Domina, Fontanara a Orion. Odrůdy v 90% kavlitě jsou: Hedvábné zelené, Hedvábné žluté, Ortlibské žluté, Ryzlink červený, Madlenka královská, Ranuše česká, Elvín, Bacchus, Modrý Janek, Sylvánské Fhrolichovo. Podklady pro tato hodnocení byly vzaty z každoroční inventarizace porostu, která se provádí každý rok v době sklizňové zralosti hroznů.

Výběr ze souboru doporučených odrůd uvádí Tab. 1. Výběr ze souboru nedoporučených odrůd uvádí Tab. 2. V tabulkách je uvedena kvalita rostlin na vinici a tříletý průměr výnosu hroznů v kilogramech na jednu rostlinu (keř), zdroj uvedených dat je informační systém GRIN Czech.

In vitro kolekce

Materiály udržované v řízených podmínkách *in vitro* byly hodnoceny podle délky intervalu pasážování a procenta úhynu pasážovaných rostlin. Na základě těchto hodnocení bylo vybráno 10 nejlepších materiálů: Fontanara, Sylvánské zelené, Ryzlink vlašský, Mlynářka, Veritas, Barbarossa, Hedvábné žluté, Ryzlink rýnský, Domina, Optima. V Tab.3 je přehled výsledků 6ti nejlepších materiálů.

Diskutovat dosažené výsledky je obtížné, protože v literatuře nebyly dosud nalezeny odpovídající zdroje, ve kterých by byla problematika vhodnosti odrůd pro další generace řešena.

Tab. 1: Vybrané odrůdy podle kvality rostlin a výnosu hroznů

Odrůdy	kvalita rostlin (%)	Výnos (kg.keř$^{-1}$)
Vybrané odrůdy registrované ve SOK ČR		
André	100	1,5
Aurelius	100	1,5
Fratava	100	1,0
Pálava	90	0,5
Sylvánské zelené	100	1,3
Veritas	100	1,5
Vybrané odrůdy ostatní		
Blussard modrý	100	1,0
Fontanara	100	0,5
Ranuše česká	90	1,3
Ryzlink aromatický	100	1,3
Ryzlink červený	90	1,3
Tramín bílý	100	0,5

Tab. 2: Nevybrané odrůdy podle kvality rostlin a výnosu hroznů

Odrůdy	kvalita rostlin (%)	Výnos (kg.keř$^{-1}$)
Odrůdy registrované ve SOK ČR		
Chrupka bílá	76	1,5
Chrupka červená	71	1,3
Julski Biser	50	0,5
Pannonia Kincse	57	1,3
Pola	50	1,3
Olšava	75	1,8
Odrůdy ostatní		
Budinka	17	1,7
Chrupka petrželová	62	1,3
Pomerančové	64	1,3
Neptun	52	0,5
Regner	62	1,3
Kolor	43	1,3

Tab. 3: Výsledky materiálů kultivovaných v podmínkách in vitro

Odrůdy	interval pasážování (dní)	četnost úhynu rostlin (%)
Příklad vybraných ordůd		
Fontanara	365*	5,0
Mlynářka	120	10,0
Ryzlink rýnský	120	10,0
Ryzlink vlašský	120	10,0
Sylvánské zelené	120	5,0
Veritas	120	15,0
Příklad nevybraných ordůd		
Dlinnojagodnyi	30	50,0
Muškát donskoi	30	50,0
Detskii ranii	30	50,0
Americki semenáč	60	50,0
Morio muškát	60	50,0
Pola	30	50,0

poznámka: * mimořádně dlouhý interval jednoho stonkového segmentu

Závěr

V roce 2019 proběhlo hodnocení materiálů udržovaných v polní a in vitro kolekci révy vinné v Karlštejně. Na základě těchto hodnocení byly vybrány tři skupiny po 10 odrůdách, které byly v této fázi hodnocení doporučeny jako ty nejlepší materiály pro budoucí generace z hlediska pěstební technologie a z hlediska konzervace materiálů v řízených podmínkách in vitro.

Poděkování

MZe ČR 51834/2017-MZE-17253/6.2.12 Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity.

Literatura

Faltus M., Kotková R., Bilavčík A., Zámečník J. (2012a): Kryokonzervace révy vinné. Certifikovaná metodika, VÚRV, v.v.i., Praha, s: 18, ISBN: 978-80-7427-107-6

Faltus M., Skala O., Bilavčík A., Zámečník J. (2012b): Kultivace révy vinné v *in vitro* podmínkách. Certifikovaná metodika, VÚRV, v.v.i., Praha, s: 18, ISBN 978-80-7427-106-9

Holubec V., Papoušková L., Fáberová I., Zedek V., Dotlačil L. (2017): Rámcová metodika Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity. VÚRV, v.v.i., Praha, s: 426,

Hubáčková M., Fáberová I. (1999): Klasifikátor Genus *Vitis* L. VÚRV Praha, 1999, Genetické zdroje č. 76, s: 82

Krpeš, C. (1984): Zhodnocení agroekologických podmínek na tvorbu aromatických složek moštu. [Závěrečná zpráva], VÚRV Praha, Praha, s: 70

Střalková R., Mýlová P., Leišová-Svobodová L., Matějová E. (2018): Hodnocení genových zdrojů révy vinné s využitím laboratorních metod. In: Genetické zdroje rostlin – Moderní technologie konzervace a hodnocení. MZe ČR, Praha 2018, ss:86-89, ISBN: 978-80-7434-483-1

https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx

Kontaktní adresa:

Ing. Radomíra Střalková, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská507/73
161 06 Praha 6 – Ruzyně
Pracoviště: Výzkumná stanice vinařská Karlštejn
267 18 Karlštejn č. 98, tel +420 702 087 808, e-mail: stralkova@vurv.cz

VARIABILITA ODRŮD OVSA VZHLEDEM K JEJICH CELIAKÁLNÍ REAKTIVITĚ

Variability of oat varieties with respect to their coeliac reactivity

Leišová-Svobodová L., Sovová T., Svoboda P., Dvořáček V.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Abstrakt

Analýzou 146 genotypů ovsa pomocí 42 markerů bylo nalezeno 56 mikrosatelitních lokusů a detekováno 257 alel. Z celkového počtu pouze 37 lokusů bylo polymorfních. Shluková analýza rozdělila genotypy do 8 skupin, s tím, že obě odrůdy ovsa s vysokým obsahem reaktivního lepku se nacházejí každá v jiném shluku. Nalezenou variabilitu tedy nelze vysvětlit celiakální reaktivitou a ani nebylo možno najít markery rozlišující mezi genotypy ovsa s různou úrovní celiakální reaktivity. Výsledky slouží zejména k výběru genotypů pro další analýzy.

Klíčová slova: *Avena sativa*, mikrosatelity, celiakie

Abstract

In total, the 42 primer combinations revealed 56 microsatellite loci, with 257 alleles. Only 37 loci were polymorphic. Eight groups were identified in cluster analysis. Each of oat varieties appeared in different cluster. There is no possibility to explain the found variability with oat coeliac reactivity. No marker discriminating between oat varieties with different level of coeliac reactivity was found. The results will be used for the selection of genotypes for future analyses.

Key words: *Avena sativa*, microsatellites, coeliac disease

Úvod

Oves setý (*Avena sativa* L.) je jednoděložná rostlina z čeledi lipnicovité (*Poaceae*). Je pěstována na zrno, dále jako zelená píce či krycí plodina. Oves setý (*Avena sativa* L.) je nejrozšířenější druh ovsa. Do Evropy se dostal jako plevel mezi ječmenem a pšenicí. Původ pluchatého ovsa setého sahá do oblasti Malé Asie (Moudrý, 2014). Jedná se o nejmladší kulturní obilninu. Bezpluchý oves vznikl spontánní mutací v horských oblastech Číny a Mongolska. Bezpluchý oves je nejvíce rozšířen ve Velké Británii, Kanadě, USA, Chile, Mexiku, Číně a Polsku. V České republice se oves šlechtí od 2. světové války. Z ovesné mouky se připravuje různé pečivo, ovesné vločky jsou v euroamerické společnosti oblíbeným základem zdravých pokrmů, ovesný šrot se zkrmuje a ovesná sláma se hlavně stele. Oves jako krmivo je vynikající hlavně pro koně.

Oves je samosprašný allohexaploidní druh trávy charakteristický velkým genomem 1,4 x 10^{10} bp/1C. Haploidní genom má základní sestavu 7 chromozomů n = 3x = 21.

Na významu nabývá oves v poslední době, kdy se zvyšuje počet lidí trpících celiakií. Celiakie je chronické onemocnění zažívacího traktu způsobené lepkem – glykoproteiny prolaminového typu zejména z pšenice, žita a ječmene. Oves obsahuje rovněž prolaminy s názvem aveniny, ale v ovsu jsou zastoupeny pouze z 10 až 20% z celkového obsahu zásobních proteinů. Oves tedy může být považován za vhodnou potravinu pro celiaky, ale bylo zjištěno, že některým pacientům přesto způsobuje obtíže. Byly identifikovány rozdíly mezi odrůdami (Ballabio et al., 2011), ale stále není jasné, čím je celiakální reaktivita ovsa způsobena. Hlavním záměrem této studie bylo zjistit míru variability vybraného souboru genotypů ovsa vzhledem k předchozím znalostem obsahu reaktivního lepku zjištěného pomocí komerčně dodávaného kitu G12.

Materiál a metody

Pro analýzu bylo vybráno celkem 146 genotypů ovsa (Tabulka 1). DNA byla extrahována z listových čepelí cca 30 rostlin ve stadiu 1. pravého listu pomocí detergentu CTAB dle optimalizovaného protokolu. Kvalita a koncentrace extrahované DNA byly ověřeny elektroforeticky v 0,8 % agarózovém gelu a vizualizaci pomocí ethidiumbromidu v UV světle srovnáním s velikostním a koncentračním standardem λHind III.

Pro analýzu mikrosatelitů bylo vybráno 42 markerů (Li et al., 2000; Holland et al., 2001; Pal et al., 2002; Oliver et al., 2010). Po předchozí optimalizaci reakčních podmínek byly provedeny amplifikace 42 lokusů u všech 146 vzorků ovsa. Produkty amplifikace byly separovány elektroforeticky pomocí kapilární elektroforézy v přístroji ABI PRISM 3130. elektroforetogramy byly analyzovány v programu GeneMapper. Statistické analýzy byly prováděny pomocí programů MS Excel a Darwin (Perrier and Jacquemoud-Collet, 2006).

Tab. 1: Seznam analyzovaných genotypů ovsa

Označení	Odrůda	Typ	Původ	G12/ sušina
As18001	Abel	naked	CZE	6.32
As18002	AC Preaknes	husked	CAN	6.45
As18003	Adam	naked	CZE	5.89
As18004	Apollon	husked	RUS	4.46
As18005	Ardo	husked	CZE	7.29
As18006	Atego	husked	CZE	29.03
As18007	Auron	husked	CZE	na
As18008	Avenuda	naked	CZE	16.23
As18009	Avesta	black	FRA	10.35
As18010	Azur	husked	CZE	14.65
As18011	Belinda	husked	FIN	9.08
As18012	Bison	husked	RUS	8.91
As18013	Black	black	FRA	6.44
As18014	Buggy	husked	GER	7.49
As18015	Cavaliere	black	CZE	8.81
As18016	CC4146	black	GBR	13.23
As18017	CDC Boyer	husked	CAN	10.51
As18018	Classic	husked	USA	na
As18019	Coach	husked	GER	16.57
As18020	Cyril	husked	CZE	9.11
As18021	Český žlutý	husked	CZE	13.06
As18022	Dakar	black	FRA	na
As18023	Dalimil	husked	CZE	2.90
As18024	David	husked	CZE	10.70
As18025	Debyut	husked	BEL	na
As18026	Diadém	husked	CZE	na
As18027	Dominik	husked	GER	na
As18028	Drummer	husked	GER	2.56
As18029	Dukat	husked	POL	na

As18030	Ebene	black	FRA	3.42
As18031	Efendi	husked	AUT	6.53
As18032	Espresso	husked	AUT	13.25
As18033	Expander	husked	AUT	3.59
As18034	Expo	husked	AUT	4.71
As18035	Flamingsnova	husked	GER	3.59
As18036	Flämingsprofi	husked	GER	12.87
As18037	Florian	husked	CZE	9.42
As18038	Freddy	husked	GER	3.98
As18039	Gana	naked	RUS	5.70
As18040	Garland	husked	USA	na
As18041	GK Iringo	husked	HUN	na
As18042	Gregor	husked	CZE	5.20
As18043	Husky	husked	GER	4.08
As18044	Hynek	naked	CZE	11.57
As18045	APR166	husked	GER	na
As18046	Ivore	husked	FRA	na
As18047	Izak	naked	CZE	9.48
As18048	Jaak	husked	EST	11.52
As18049	Jawor	husked	POL	na
As18050	Johanna	husked	BEL	na
As18051	Kalle	husked	EST	3.11
As18052	Kamil	naked	CZE	13.41
As18053	Kermit	husked	IRL	na
As18054	Kertag	husked	CZE	3.79
As18055	Korok	husked	CZE	2.96
As18056	Lennon	naked	GBR	14.92
As18057	Leo	husked	GER	15.12
As18058	Lidya	husked	RUS	na
As18059	Longchamp	husked	FRA	na
As18060	Maelor	husked	GBR	5.63
As18061	Maldwyn	husked	GBR	5.16
As18062	Marco Polo	naked	CZE	7.04
As18063	Maris Oberon	husked	GBR	na
As18064	Martin	husked	NOR	na
As18065	Mediteran	husked	SCG	na
As18066	Melys	husked	GBR	na
As18067	Milton	husked	USA	3.82
As18068	Mojacar	husked	CZE	na
As18069	Myriane	husked	NLD	na
As18070	Navaro	naked	CAN	3.52
As18071	Neklan	husked	CZE	7.99
As18072	Norbert	husked	CZE	9.13
As18073	Nordstern	husked	GER	na
As18074	OA 504-5	naked	CAN	8.82
As18075	Obelisk	husked	CZE	5.09

As18076	Oberon	husked	CZE	10.64
As18077	Ogle	husked	USA	9.17
As18078	Oliver	naked	CZE	9.58
As18079	Otakar	naked	CZE	6.41
As18080	Otee	husked	USA	na
As18081	Pan	husked	CZE	8.68
As18082	Patrik	naked	CZE	8.50
As18083	Pennlo	husked	USA	7.60
As18084	Polaris	husked	ARG	4.42
As18085	Poncho	husked	FRA	9.43
As18086	Poseidon	husked	GER	12.20
As18087	Pusahybrid	husked	IRL	9.78
As18088	Radius	husked	CZE	3.44
As18089	Ranch	black	FRA	9.31
As18090	Raven	black	CZE	7.57
As18091	Rogar 8	husked	ITA	na
As18092	Roope	husked	FIN	9.34
As18093	Rozmar	husked	CZE	6.50
As18094	Sagar	husked	CZE	5.97
As18095	Salo	husked	SWE	8.45
As18096	Salomon	naked	GER	7.65
As18097	Sang	husked	SWE	5.94
As18098	Santini	naked	CZE	3.43
As18099	Saul	naked	CZE	6.59
As18100	Seldon	husked	CZE	10.75
As18101	Shadow	naked	CAN	5.99
As18102	Sirene	black	FRA	309.41
As18103	Somesan	husked	ROU	na
As18104	Tibor	naked	CZE	5.21
As18105	Tjumenski golozernõi	naked	RUS	5.29
As18106	Valiant	husked	NLD	10.76
As18107	Veles	husked	CZE	5.33
As18108	Veli	husked	FIN	9.64
As18109	Vok	husked	CZE	6.81
As18110	Walderm	husked	CAN	5.01
As18111	Yty	husked	FIN	na
As18112	Zlaťák	husked	CZE	6.92
As18113	Zuton	naked	GBR	4.85
As18114	Aarre	husked	FIN	na
As18115	Canyon	husked	GER	6.12
As18116	Creole (?)	black	FRA	4.28
As18117	Efesos	husked	AUT	7.05
As18118	Euro	husked	AUT	12.73
As18119	Jim	husked	USA	na
As18120	Katri	husked	FIN	4.48
As18121	Riel	husked	CAN	na

As18122	Scorpion	husked	GER	6.36
As18123	SG-K 144228	black	CZE	4.25
As18124	SG-K 16370	husked	CZE	2.63
As18125	SG-K 16564	husked	CZE	6.81
As18126	SG-K 16658	husked	CZE	13.02
As18127	SG-K 16369	husked	CZE	6.67
As18128	SG-K 16472	husked	CZE	8.80
As18129	SG-K 16654	husked	CZE	3.77
As18130	SG-K 16562	husked	CZE	3.40
As18131	SG-K 6027	naked	CZE	3.66
As18132	Aragon	husked	GER	na
As18133	Banquo	husked	GBR	na
As18136	KWS Contender	husked	GER	na
As18137	Matilda	husked	SWE	na
As18138	Max	husked	GER	na
As18140	Astor	husked	NLD	na
As18141	Auteuil	black	FRA	na
As18142	Gambo	husked	NLD	na
As18143	Prairie	husked	CAN	3.34
As18144	Kanota	husked	USA	na
As18146	Mansholts III	husked	NLD ?	na
As18147	Tucana	husked	ARG	na
As18148	Troshaver uit Besel	husked	NLD	na
As18149	Wodan	husked	NLD	na
As18150	Zandster	husked	NLD	na

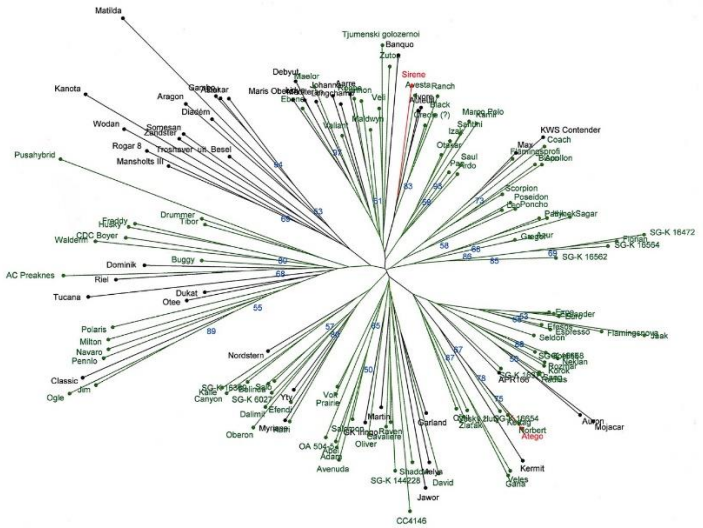
Výsledky a Diskuze

Aplikací 42 primerových kombinací na 146 genotypů ovsa bylo nalezeno 56 mikrosatelitních lokusů s celkovým počtem 257 alel. Průměrná hodnota činí 4,6 alely na lokus. Pouze 37 lokusů bylo polymorfních. Největší míra variability byla nalezena u lokusů AM3 a AM114c. Celkově se ale ukazuje poměrně nízká úroveň genetické diverzity studovaného souboru.

Shluková analýza rozdělila vzorky do 8 skupin, z nichž žádná nebyla specifická pro odrůdy s vysokým nebo nízkým obsahem reaktivního lepku (Obrázek 1). Tento výsledek je dán zejména tím, že mikrosatelitní lokusy se nacházejí zejména v oblastech DNA mimo geny, zatímco celiakální reaktivita je způsobena určitým složením aveninů, tedy genů pro tyto proteiny. I když geny pro zásobní proteiny obecně obsahují repetitivní oblasti, tyto bývají obtížně amplifikovatelné vzhledem k jejich sekundární struktuře a časté tvorbě vlásenkových struktur. Proto se pro analýzu mikrosatelitů nepoužívají.

Přesto bylo nalezeno 6 alel (AM3: 279, 289; AM102: 220; AM92b: 155; AM114b: 223, 245), které byly nalezeny u odrůd ovsa se spíše vyšší úrovní celiakální reaktivity. Pro vývoj molekulárních markerů však bude třeba provést analýzu přímo genů pro aveniny. Výsledky této studie budou využity k výběru odrůd ovsa s co největší mírou variability pro další výzkum v rámci řešení projektu.

Obr. 1: Dendrogram založený na analýze mikrosatelitů; červená barva – oves s vysokým obsahem reaktivního lepku; zelená barva – oves s nízkým obsahem reaktivního lepku; černá barva – oves, kde nebyla analýza dosud provedena



Závěr

Na základě výsledků byl nalezen soubor 37 polymorfních mikrosatelitních lokusů. Výsledky shlukové analýzy neprokázaly rozdíly v genetické diverzitě mezi odrůdami ovsa s vysokou a s nízkou úrovní celiakální reaktivity. Studium genetické diverzity genů pro zásobní proteiny ovsa bude předmětem dalšího studia.

Dedikace

Tento výzkum byl podpořen finančními prostředky projektů NAZV QK1810102 a Mze ČR MZE RO0419.

Použitá literatura

Ballabio C., Uberti F., Manferdelli S., Vacca E., Boggini G., Redaelli R., Catassi C., Lionetti E., Penas E., Restani P. (2011): Molecular characterization of 36 oat varieties and *in vitro* assessment of their suitability for coeliacs´diet. Journal of Cereal Science 54: 110-115.

Holland J.B., Helland S.J., Sharopova N., Rhyne D.C. (2001): Polymorphism of PCR-based markers targeting exons, introns, promoter regions, and SSRs in maize and introns and repeat sequences in oat. Genome 44: 1065-1076.

Li C.D., Rossnagel B.G., Scoles G.J. (2000): The development of oat microsatellite markers and their use in identifying relationships among *Avena* species and oat cultivars. Theor Appl Genet 101: 1259-1268.

Moudrý J. (2014): Oves (Avena L.). Available on: http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/ databaze/Oves.htm

Oliver R.E., Obert D.E., Hu G., Bonman J.M., O´Leary-Jepsen E., Jackson E.W. (2010): Development of oat-based markers from barley and wheat microsatellites. Genome 53: 458-471.

Pal N., Snadhu J.S., Domier L.L., Kolb F.L. (2002): Development and characterisation of microsatellite and RFLP-derived PCR markers in oat. Crop Science 42: 912-918.

Perrier X, Jacquemoud-Collet JP. (2006) DARwin software http://darwin.cirad.fr/darwin.

Kontaktní adresa:

RNDr. Leona Leišová-Svobodová, Ph.D.,
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, e-mail: leisova@vurv.cz.

TESTOVÁNÍ PŘÍTOMNOSTI GENŮ REZISTENCE K ZYMV VE VYBRANÝCH GENOTYPECH ROSTLIN ČELEDI *CUCURBITACEAE*

Testing of the resistance genes to ZYMV presence in selected genotypes of the family *Cucurbitaceae*

Leišová-Svobodová L., Svoboda J., Sovová T., Svoboda P., Kolárikova L.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

Abstrakt

Rostliny čeledi *Cucurbitaceae* jsou náchylné k viru žluté mozaiky cukety (ZYMV). Bylo testováno 87 genotypů tykvovitých zelenin: 11 rezistentních, 9 náchylných a 3 populace šlechtitelských linií. Aplikací molekulárních markerů bylo zjištěno, že se v rezistentních odrůdách nacházejí dosud nepopsané geny rezistence. Jejich nalezení, identifikace a charakterizace budou předmětem další práce.

Klíčová slova: molekulární markery, zeleniny, *Cucurbita spp.*

Abstract

Plants of the family *Cucurbitaceae* are susceptible to the *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV). Eighty-seven genotypes of family *Cucurbitaceae*: 11 resistant items, 9 susceptible items and 3 populations of breeding lines were evaluated. Molecular markers application revealed that there are still unknown genes of resistance in resistant genotypes. The aim of future work will be to find, to identify and to characterize them.

Key words: molecular markers, vegetables, *Cucurbita spp.*

Úvod

Virus žluté mozaiky cukety, *Zucchini mosaic virus* (ZYMV), je vláknitý virus z čeledi *Potyviridae*. Virus se v porostu snadno šíří neperzistentně nebo mechanicky při agrotechnických zásazích (Lisa a Lecoq, 1984). ZYMV je v České republice rozšířen prakticky ve všech hlavních oblastech pěstování tykvovitých druhů zelenin, zejména na jižní a střední Moravě (Svoboda, 2011). V podmínkách České republiky přezimuje na různých druzích vytrvalých plevelných rostlin (Svoboda a Polák, 2002).

Virus způsobuje značné ekonomické ztráty a dosud jedinou cestou k ochraně je pěstování rezistentních odrůd tykvovité zeleniny. Výzkumem rezistence tykví k viru žluté mozaiky cukety se zabývala zejména francouzská pracoviště. Gilbert-Albertini et al. (1993) nalezli dominantní gen rezistence v tykvi *C. moschata* cv. Menina 15. Dosud bylo popsáno 6 genů rezistence k ZYMV (Paris, 2005) a navrženo pouze několik molekulárních markerů. Kim et al. (2016) publikovali molekulární marker rezistence k ZYMV, který zároveň ukazuje na rezistenci k viru mozaiky melounu (WMV). Geny rezistence z ZYMV u melounu se zabývají dvě práce, jejichž výsledkem jsou rovněž navržené molekulární markery (Ling et al., 2009; Harris et al., 2009). Práce Amano et al. (2013) se zabývá hledáním genů rezistence u okurek.

Cílem této studie bylo zjištění výskytu genů rezistence k ZYMV u vybraného souboru rostlin čeledi *Cucurbitaceae* pomocí publikovaných markerů.

Materiál a metody

Bylo vybráno 87 vzorků rostlin r. *Cucurbitaceae* – odrůdy a šlechtitelské linie (Tabulka 1). Odrůdy byly vybrány na základě předchozích studií a znalostí úrovně jejich rezistence k ZYMV (Svoboda et. al., 2013).

DNA vybraných genotypů byla extrahována z mladých listů pomocí detergentu CTAB dle zavedeného optimalizovaného protokolu. Kvalita a koncentrace DNA byly ověřeny elektroforeticky v agarózovém gelu a spektrofotometricky.

Tab. 1: Seznam analyzovaných vzorků

Název	Počet rostlin	Reakce k ZYMV
tykev Invincible - kříženci F2	16	
tykev Star - kříženci F2	25	
tykev Invincible F1 x Hokaido Orange	22	
okurka Melody F1	1	náchylná
cuketa Zelená	1	náchylná
tykev Hokaido Orange	1	náchylná
tykev Grey Queen	1	náchylná
tykev Solor	1	náchylná
tykev 321/17	1	náchylná
tykev 323/17	1	náchylná
tykev Baby Pumpkin	1	náchylná
tykev Zlatá Hruška	1	náchylná
okurka G22	1	rezistentní
cuketa Xsara	1	rezistentní
cuketa Radiant F1	1	rezistentní
tykev Menina 15	1	rezistentní
tykev Star F1	1	rezistentní
tykev Invincible F1	1	rezistentní
okurka Sagamihanjiro fushinari	2	rezistentní
okurka TMG-1	2	rezistentní
okurka A192-18	2	rezistentní
meloun PI595203	1	rezistentní
cuketa Cougar	2	rezistentní
CELKEM	87	

PCR byly prováděny v reakčním objemu 15 µl obsahujícím 0,33 µM primerů (Tabulka 2), 0,33 mM dNTP, 1x pufr, 2mM $MgCl_2$, 1U Taq polymerázy Qiagen a 100 ng DNA vzorku. Reakce byly prováděny v cykleru GeneQuant Pro za reakčních podmínek: počáteční denaturace 5 minut při 96°C, 35 cyklů: 30 sekund při 95°C, 30 sekund při T_A (Tabulka 2) a 1 minutu při 72°C, závěrečná fáze syntézy při teplotě 72°C po dobu 10 minut.

Tab. 2: Seznam použitých molekulárních markerů

Marker	T_A	Restrikční endonukleáza	Odkaz
VirSq	55°C	-	Kim et al., 2016
CAPS1	50°C	*Mse*I	Ling et al., 2009
CAPS 2	50°C	*Pas*I	Harris et al., 2009
ZYRP	57°C	-	Harris et al., 2009
CAPS-T86C	60°C	*Mnl*I	Amano et al., 2013
dCAPS-G99A	60°C	*Dra*I	Amano et al., 2013

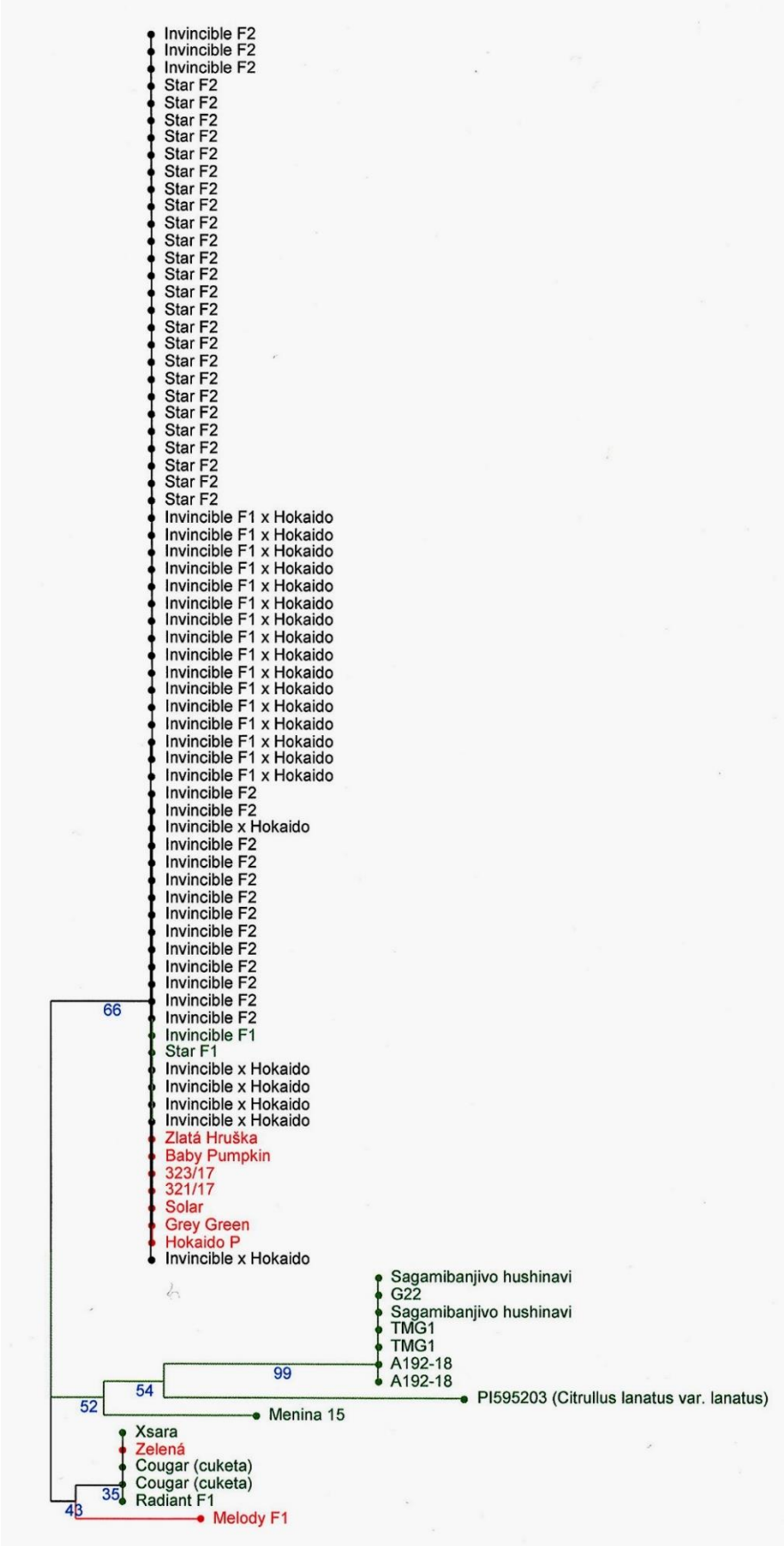
Produkty PCR reakce byly použity pro restrikční analýzu tam, kde to aplikace vyžadovala (Tabulka 2). Reakce byly prováděny v cykleru GeneQuant Pro inkubací reakční směsi o složení doporučeném výrobcem příslušné restrikční endonukleázy při teplotě 37°C po dobu 2 hodin. Produkty PCR a restrikční analýzy byly separovány elektroforeticky v 2,5% agarózovém gelu a vizualizovány pomocí ethidium-bromidu v UV světle srovnáním s velikostním standardem 100 bp (Fermentas). Statistické analýzy byly prováděny pomocí programů MS Excel a Darwin (Perrier and Jacquemoud-Collet, 2006).

Výsledky a diskuse

Celkem byly provedeny amplifikace 87 vzorků s 6 primerovými páry. U 4 z nich následovala restrikční analýza (Tabulka 2), protože je daný marker založen na přítomnosti jednobodové mutace DNA, tzv. Single nucleotide polymorphism (SNP). Geny rezistence byly nalezeny u odrůdy Menina 15 pomocí markerů VirSq a CAPS1, PI595203 pomocí markerů CAPS1, CAPS2 a ZYRP a odrůdy G22, Sagamibanjivo hushinavi, TMG1 a A192-18 pomocí markerů CAPS-T86C a dCAPS-G99A. U rezistentních odrůd Xsara, Radiant a zejména Star a Invincible nebyly pomocí uvedených markerů nalezeny žádné dosud publikované geny rezistence.

Výsledky byly zpracovány metodou shlukové analýzy (Obrázek 1). Testované genotypy se seskupily do tří shluků. První obsahuje genotypy s prokázanými geny rezistence. Druhou skupinu tvoří skupina rezistentních a náchylných odrůd s neprokázanými geny rezistence, ale s přítomností amplifikačního produktu u 2 markerů. To může být dáno zejména nízkou specifičností reakce. Největší skupinu tvoří rezistentní odrůdy Star a Invincible, většina náchylných odrůd a všechny šlechtitelské linie. Z výsledků je patrné, že pomocí publikovaných molekulárních markerů není možné rozlišit rezistentní a náchylné odrůdy a šlechtitelské linie. V uvedených genotypech se tedy nacházejí dosud neidentifikované geny rezistence.

Obr. 1: Dendrogram vytvořený shlukovou analýzou na základě testování souboru genotypů pomocí molekulárních markerů genů rezistence k ZYMV



Závěr

Výsledky ukazují, že se v testovaných odrůdách a liniích nachází dosud nepopsané geny rezistence. Jejich nalezení, identifikace a charakterizace budou předmětem další práce.

Dedikace

Provedený výzkum byl financován z projektu MZe RO0419.

Použitá literatura

Amano M., Mochizuki A., Kawagoe Y., Iwahori K., Niwa K., Svoboda J., Maeda T., Imura Y. (2013): High-resolution mapping of *zym*, a recessive gene for Zucchini yellow mosaic virus resistence in cucumber. Theor. Appl. Genet. 126: 2983-2993.

Gilbert-Albertini F., Lecoq H., Pitrat M., Nicolet J.L. (1993): Resistance of *Cucurbita moschata* to watermelon mosaic virus type 2 and its genetic relation to resistence to zucchiíni yellow mosaic virus. Euphytica 69: 231-237.

Harris K.R., Ling K.S., Wechter P., Levi A. (2009): Identification and utility of markers linked to the Zucchini yellow mosaic virus resistence gene in watermelon. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 134(5): 529-534.

Kim D.K., Seo S.G., Kwon S.B., Park Y.D. (2016): Development of RAPD and SCAR markers related to Watermelon mosaic virus and Zucchini yellow mosaic virus resistance in *Cucurbita moschata*. Hortic. Environ. Biotechnol. 57(1): 61-68.

Ling K., Harris K.R., Meyer J.D.F., Levi A., Guner N., Wehner T.C., Bendahmane A., Havey M.J. (2009): Non-synonymous single nucleotide polymorphisms in the watermelon eIF4E gene are closely associated with resistence to Zucchini yellow mosaic virus. Theor. Appl. Genet. 120: 191-200.

Lisa V., Lecoq H. (1984): Zucchini yellow mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No 282, Unvin Brothers Press, Surrey (GB).

Parris H.S. (2005): The genes of pumpkin and squash. Hort. Sci. 40(6): 1620-1630.

Perrier X, Jacquemoud-Collet JP. (2006) DARwin software http://darwin.cirad.fr/darwin.

Svoboda J. (2011): Pathogenic viruses on Cucurbitaceous vegetables and their spread in the Czech Republic. Acta Hort. 917: 309-315.

Svoboda J., Leisova-Svobodova L., Amano M. (2013): Evaluation of selected *Cucurbitaceous* vegetables for resistance to *Zucchini yellow mosaic virus.* Plant Disease 97:10, 1316-1321. ISSN: 0191-2917.

Svoboda J., Polák J. (2002): Distribution, variability and overwintering of Zucchini yellow mosaic virus in the Czech Republic. Plant Prot. Sci. 38(4): 125-130.

Kontaktní adresa:

RNDr. Leona Svobodová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně
Tel: 702087672, e-mail: leisova@vurv.cz

VYUŽITÍ MIKROSPOROVÝCH KULTUR VE ŠLECHTĚNÍ TUŘÍNU (*BRASSICA NAPUS* SUBSP. *NAPOBRASSICA*)

Utilisation of microspore culture in the breeding of swede (*Brassica napus* var. *napobrassica*)

Ulvrová T.[1,2], Klíma M.[2], Bryxová P.[1,2], Kopecký P.[3]

[1] *Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha-Ruzyně*
[2] *Česká zemědělská univerzita v Praze, Fakulta tropického zemědělství, Katedra tropických plodin a agrolesnictví*
[3] *Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum Olomouc*

Abstrakt
Tuřín (*Brassica napus* subsp. *napobrassica*) je významná krmná plodina a kořenová zelenina. Cílem práce bylo zavedení systému mikrosporových kultur u této plodiny pro efektivní produkci regenerantů využitelných při šlechtění nových odrůd. Z 16-ti testovaných F_1 kříženců bylo dělení mikrospor a regenerace embryí dosaženo u 10-ti genotypů, z nichž 5 genotypů bylo vysoce embryogenních. Po 3 měsících od založení kultur byly regenerovány první celistvé rostliny s dobře vyvinutým kořenovým systémem, schopné převedení do nesterilních podmínek. Tato práce je první publikovaná série experimentů týkající se mikrosporových kultur u tuřínu v České republice a prokazuje, že z určitých kombinací křížení lze získat dostatečné množství regenerantů, které jsou kontrastní z hlediska zabarvení a tvaru bulvy.
Klíčová slova: *Brassica napus* subsp. *napobrassica*, DH regenerant, mikrosporové kultury

Abstract
Swede (*Brassica napus* var. *napobrassica*) is important forage and tuber crop. The aim of this study was to implement microspore culture system for this crop in order to produce regenerants usable in breeding of new varieties. Microspore division and embryo regeneration were achieved in 10 genotypes out of 16 tested F_1 hybrids. Out of them, 5 genotypes were highly embryogenic. First whole plants with a well-developed root system capable of being transferred into non-sterile conditions were regenerated 3 months after the establishment of the cultures. This work is the first published series of experiments on microspore cultures in breeding of swede in Czech Republic. Moreover, it proved the ability to obtain sufficient amount of contrast microsporre regenerants in terms of colour and shape of the tuber from certain hybrid combinations.
Key words: *Brassica napus* var. *napobrassica*, DH regenerant, microspore culture

Úvod

Tuřín (*Brassica napus* var. *napobrassica* L. Reichenb.) je kořenová zelenina patřící do čeledi Brassicaceae, která je díky své vysoké výživové hodnotě a stravitelnosti používána také jako krmná plodina (Frandsen 1958). Bulvy tuřínu obsahují 25 mg kyseliny askorbové na gram bílkovin (Paul & Southgate 1978). Takto vysoké množství kyseliny askorbové (vitamínu C) může být účinným antioxidantem (Slinde *et al.* 1983). Tuřín je kromě vitamínu C zdrojem dalších vitamínů (zejm. vitamínu A a kyseliny listové), draslíku, vápníku, železa, niacinu a vlákniny (Song *et al.* 2012). Podobně jako ostatní rostliny z čeledi Brassicaceae, obsahuje i tuřín velké množství glukosinolátů, které pomáhají snižovat riziko rakoviny (Halkier & Gershenzon 2006; Song *et al.* 2012).

Od dob, kdy Lichter (1982) úspěšně aplikoval kultury izolovaných mikrospor u zástupců čeledi Brassicaceae, mikrosporové kultury nabízejí velký potenciál k produkci homozygotních linií i

u této kořenové zeleniny (Hansen & Svinnset 1993). Této problematice zatím nebylo věnováno mnoho pozornosti a tak chybí dostatek kvalitní literatury. Jako první úspěšně aplikovali mikrosporové kultury tuřínu Hansen a Svinnset (1993). V současné době byla publikována pouze jedna studie, která využívala mikrosporové kultury k produkci dihaploidních (DH) linií u tuřínu, jako dílčí součást výzkumu genetického a molekulárního mapování (Hasan & Rahman 2016).
Cílem práce bylo zavedení mikrosporových kultur u vybraných F_1 kříženců tuřínu k produkci zcela homozygotních linií, využitelných v liniovém šlechtění této plodiny.

Materiál a metody
Výchozím materiálem pro zakládání mikrosporových kultur a tvorbu DH regenerantů bylo 16 F_1 kříženců (tab. 1). K přípravě kříženců byly použity z hlediska morfologických znaků bulev kontrastní komerční odrůdy z obchodní sítě a liniové, případně tzv. landrace materiály tuřínu z kolekce genové banky Sekce aplikovaného výzkumu zelenin a speciálních plodin Výzkumného ústavu rostlinné výroby v.v.i. v rámci Centra regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum Olomouc (dále VÚRV Olomouc), a materiály, získané z genové banky IPK Gatersleben (tab. 1). Křížení probíhalo na pracovišti VÚRV Olomouc, příprava donorových rostlin, aplikace mikrosporových kultur, odvozování mikrosporových regenerantů a převod dihaploidních regenerantů do nesterilních podmínek na pracovišti VÚRV Praha-Ruzyně. Osivo kříženců bylo vyseto do rašelinného zahradního substrátu. Od počátku až do fáze objevivšího se prvního pravého listu byl výsev udržován v řízených podmínkách (kultivační box Sanyo MLR-351, teplota 20/15°C den/noc, fotoperioda 12 h s maximální dostupnou světelnou intenzitou). Po 14-ti dnech od vysetí byly klíčenci přepícháni po 1 ks do 8cm plastových květníků se zahradnickým substrátem a umístěny do skleníku (teplota 15–25/10–15°C den/noc, přirozené osvětlení) až do fáze 5–8 pravých listů (cca po dobu 4–6 týdnů). V průběhu kultivace byly rostliny preventivně ošetřeny postřikem proti napadení padlím brukvovitých. Po dosažení požadované růstové fáze byly rostliny F_1 kříženců přemístěny po 6 ks do jarovizační komory (teplota 4–6°C, fotoperioda 12 h, osvětlení zářivkovými trubicemi). Po 8 týdnech byly zjarovizované rostliny vyskladněny, přesázeny po 1 ks do plastových kontejnerů 19×19 cm se zahradnickým substrátem a opětovně provedeno ošetření proti padlí. Donorové rostliny byly přemístěny po 6 ks od genotypu do kultivačního boxu s řízeným tepelným a světelným režimem (teplota den/noc 17–19/12–14 °C, 16h světelná perioda, světelná intenzita 180 µmol/m^2/s, sodíkové vysokotlaké výbojky). Rostliny byly ve 14-ti denních intervalech přihnojovány roztokem tekutého hnojiva (Vegaflor) od fáze počátku kvetení po celou dobu odběrů poupat.
Založení mikrosporové kultury bylo provedeno na základě upraveného protokolu pro brukvovité zeleniny (Klíma *et al.* 2004). Mladá poupata o délce 3–4 mm byla odebírána z hlavních a laterárních větví donorových rostlin pěstovaných v kontrolovaných podmínkách. Délka poupat s maximálním zastoupením mikrospor v optimálním vývojovém stádiu byla stanovena před každým odběrem na základě velikosti vakuoly a přítomnosti/nepřítomnosti škrobových zrn v mikrosporách. Roztěry prašníků v 13% roztoku sacharózy (bez barvení jader) byly pozorovány optickým mikroskopem Olympus CKX-41 (zvětšení 40×). V průměru 15–30 poupat optimálních délek bylo povrchově sterilizováno pomocí 70% etanolu (2 minuty) a roztoku chlornanu sodného (4,7 g/kg; 10 min) a třikrát propláchnuto ve sterilní destilované vodě. Mikrospory, izolované a purifikované 3-fázovou centrifugací v NLN médiu (Lichter 1985), byly resuspendovány v 10 ml NLN média s roztokem antimitotické látky trifluralin (5 µmol/l média). Kultury byly inkubovány ve tmě při 30°C po dobu 24 h. Po uplynutí inkubace bylo 2-fázovou centrifugací a purifikací odstraněno NLN médium s trifluralinem a suspenze mikrospor resuspendována v čerstvém NLN médiu na konečnou hustotu 10^4 mikrospor na 1 ml kultivačního média. PE Petriho misky (90 mm) byly naplněny 10 ml takto připravené suspenze.

Kultivace pokračovala ve tmě při 30°C až do objevení prvních globulárních proembryí, viditelných pouhých okem (cca po 10–16 dnech kultivace). Misky s proembryi byly poté přeneseny do kultivační místnosti na světlo (intenzita 150 µmol/m^2/s) na třepačku s orbitálním pohybem (60 ot./min). Od každého genotypu byla provedena 3 časová opakování.
Dobře vyvinutá, alespoň 4 mm dlouhá, zelená embrya byla přenesena na pevné diferenciační médium obsahující benzylaminopurin (0,2 mg/l), indolovou kyselinu octovou (0,2 mg/l), 2% sacharózu a 0,8% agar (Klíma *et al*. 2004). Kultury byly udržovány v 18 °C při fotoperiodě 16/8 h a světelné intenzitě 300 µmol/m^2/s. Po třech týdnech kultivace byla jedna třetina děložních lístků každého embrya seříznuta a embrya byla přenesena na pevné regenerační médium bez růstových regulátorů, s přídavkem 1 % sacharózy a 1 % agaru (Klíma *et al*. 2004). Dobře vyvinuté rostliny byly přeneseny k zakořenění na MS médium (Murashige & Skoog 1962) bez růstových regulátorů. V případě zhoršené regenerace rostlin z embryí byl proces pasážování na čerstvé regenerační, resp. MS médium, několikrát opakován. Řádně zakořeněné rostliny byly vysázeny do 8cm plastových květníků s rašelinným substrátem, umístěny do kultivačního boxu Sanyo MLR-351 (režim totožný s podmínkami pro výsev donor. r.) a na týden přikryty perforovanou PE fólií, aby byla udržena dostatečná vzdušná vlhkost.
V průběhu tvorby embryí a navazujících regeneračních procesů byla vyhodnocována embryogenní schopnost jednotlivých genotypů (tj. počet dobře vyvinutých embryí na Petriho misku), regenerace celistvých rostlin a úspěšnost převodu do nesterilních podmínek. Embryogenní schopnost určitého genotypu byla odvozena od opakování s nejvyšším počtem embryí na Petriho misku, počet regenerantů byl stanoven jako součet ze všech technických a časových opakování.

Výsledky a diskuse

Užití NLN média s roztokem trifluralinu (5 µmol/l) se ukázalo jako optimální pro založení mikrosporových kultur tuřínu. Tato antimitotická látka dosud nebyla v kulturách tuřínu aplikována. Hasan a Rahman (2016) k založení užili NLN medium s kolchicinem (50 mg/l), zatímco Hansen a Svinnset (1993) neaplikovali žádnou antimitotickou látku. Jako optimální stádium pro inicializaci mikrosporové embryogeneze bylo vyhodnocena taková velikost poupat, kde převaha mikrospor byla ve středně až pozdně jednojaderném stádiu (obr. 1A), což odpovídalo délce poupat okolo 3 mm. První dělení mikrospor byla zaznamenána po 48 hodinách (obr. 1B), vícebuněčné útvary (obr. 1C) od 4. dne, globulární embrya (obr. 1D) od 9. dne a první, dobře vyvinutá embrya, schopná pasážování na tuhé diferenciační médium za 3 týdny od založení kultury. Typický byl nestejnoměrný vývoj embryí, kdy v jedné Petriho misce bylo možné pozorovat všechny vývojové váze embryí, od globulárních proembryí, přes srdčité, torpédovité a kotyledonární stádia (obr. 1E). Z 16-ti testovaných F_1 kříženců bylo dělení mikrospor a následná regenerace embryí dosaženo u 10-ti genotypů (T2–T4, T7, T9–T11 a T13–T15, tab. 1), z nichž vysoce embryogenní byly T4, T7, T9, T11 a T15. Genotypově podmíněná embryogenní schopnost se projevila navzdory nejrůznějším optimalizačním opatřením, jako je zajištění optimálních a jednotných podmínek pro donorové rostliny v komorách s řízeným režimem. Stejné genotypové rozdíly pozorovala i Vyvadilová *et al.* (1998) a Klíma *et al.* (2004) u mnoha zástupců brukvovité zeleniny. Regenerace celistvých rostlin z embryí (obr. 1F) byla pozorována od 15. dne po pasážování embryí na tuhé médium. Po 3 měsících od založení kultur byly regenerovány první celistvé rostliny s dobře vyvinutým kořenovým systémem, schopné převedení do nesterilních podmínek (obr. 1G). Celkově bylo do rašelinného substrátu vysázeno 510 regenerantů (tab. 1, obr. 1H).

Tab. 1: Původ výchozích komponent, embryogenní schopnost a regenerace

Označení	Původ F_1 kříženců		Embryogenní schopnost	Počet mikrosporových regenerantů
	mateřská komponenta	otcovská komponenta		
T1	BRA 1817*	09H2800011**		
T2	BRA 1817	BRA 1697	+	4
T3	BRA 1817	09H2800002	+	1
T4	BRA 1222	BRA 1817	+++	56
T5	BRA 1817	09H2800008		
T6	BRA 1693	BRA 1042		
T7	BRA 179	BRA 1001	++++	243
T8	BRA 1817	09H2800001		
T9	Helenor***	Dalibor****	+++	86
T10	BRA 1685	BRA 1222	++	12
T11	09H2800012	BRA 1693	+++	5
T12	BRA 2774	09H2800008		
T13	BRA 1693	09H2800012	++	24
T14	BRA 1693	BRA 1685	++	16
T15	09H2800003	BRA 1685	+++	63
T16	09H2800012	BRA 1817		

Původ výchozích komponent: *BRA XXXX - IPK Gatersleben Německo, **09H2XXXXXX - VÚRV, v.v.i. Olomouc, ***Johnsons Seed Ltd. Velká Británie, ****MORAVOSEED CZ, a.s., Česká republika, + 1–9 ks, ++ 10–49 ks, +++ 50–99 ks, ++++ 100 a více ks dobře vyvinutých, zelených embryí na Petriho misku

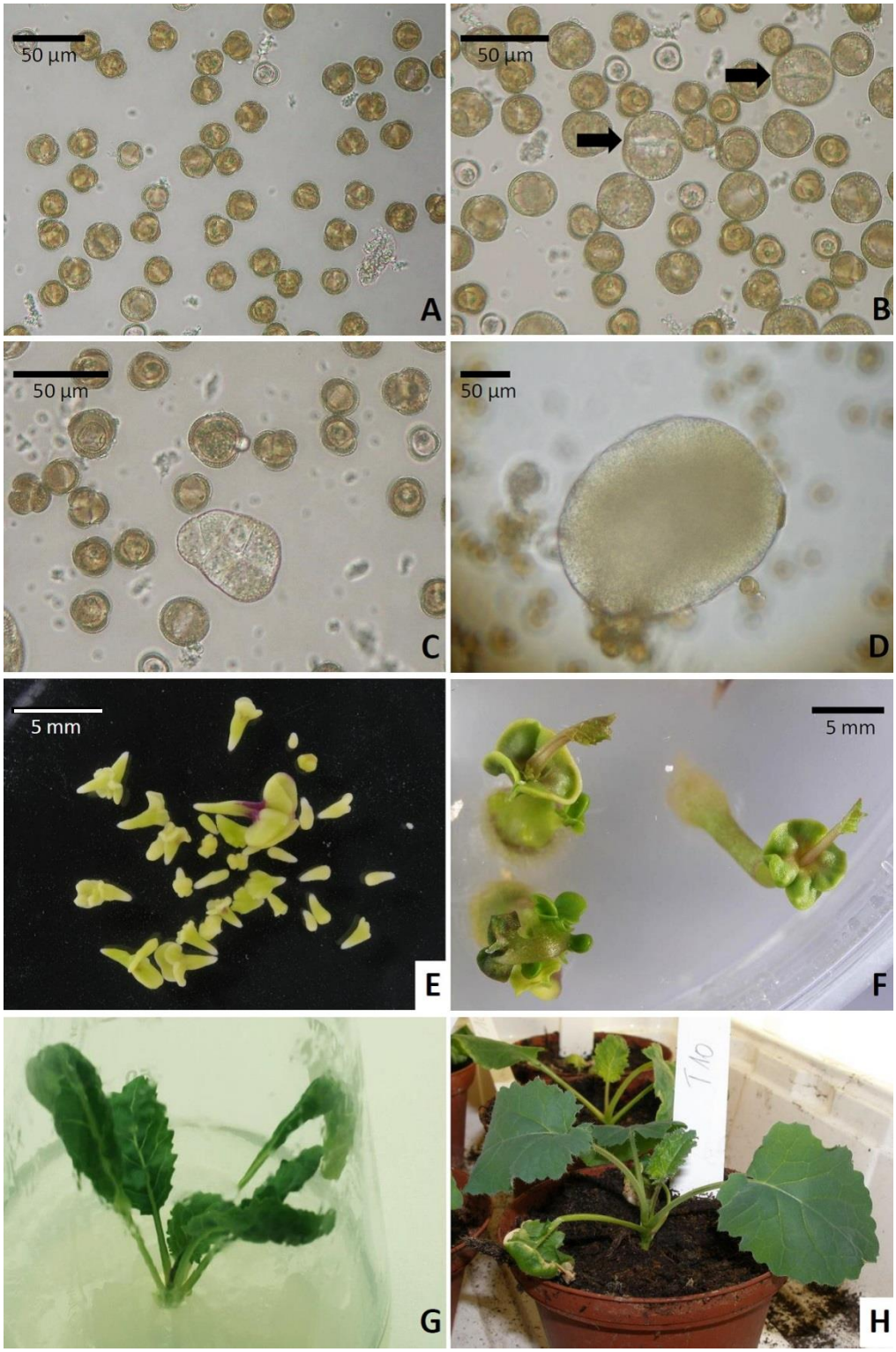
Obrázek 2A–H dokumentuje, že už v počátečních fázích tvorby bulev lze identifikovat regeneranty, kontrastní z hlediska tvaru a barvy bulvy, a to i v rámci regenerantů z jednoho určitého F_1 křížence. Toto odpovídá předpokladu, že křížením z hlediska charakteristiky bulvy kontrastních výchozích genotypů je možné z mikrospor (F_2 generace), odebíraných z F_1 kříženců regenerovat kontrastní rostliny. Přesnější výsledky z hlediska morfologických a dalších kvalitativních i kvantitativních charakteristik regenerantů budou získány po přemnožení jednotlivých fertilních genotypů a jejich napěstování v optimálních podmínkách.

Závěr

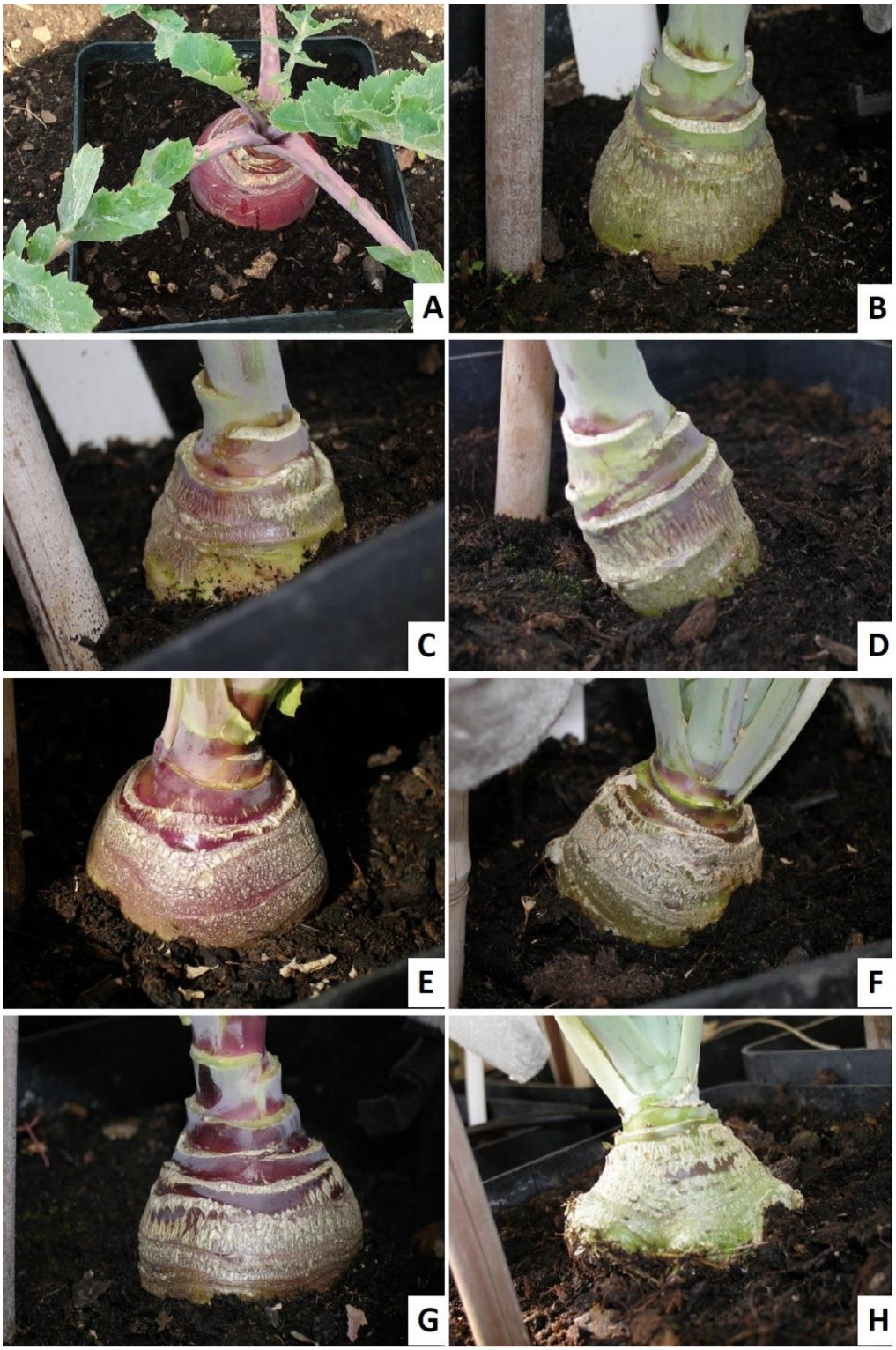
Tato práce je prvně publikovanou sérií experimentů, týkající se mikrosporových kultur, regenerace celistvých rostlin a skreeningu morfologie bulev regenerantů tuřínu v České republice. Bylo ověřeno, že z určitých kombinací křížení lze získat dostatečné množství regenerantů, které jsou zároveň i kontrastní z hlediska zabarvení a tvaru bulvy. Předběžné výsledky modifikované metody u vybraných kříženců proto ukazují, že tento postup bude použitelný pro rychlou tvorbu zcela homozygotních materiálů, které mohou tvořit dostatečně rozsáhlou základnu pro výběr potenciálních liniových odrůd tuřínu. Po dalších optimalizacích lze očekávat, že metodu bude možné zavést do praxe pro rutinní využití a zefektivnit tak šlechtění i u této zeleniny.

Poděkování

Prezentované výsledky byly získány za finanční podpory projektů MZe QK1910070 a MZE-RO0417



Obr. 1: Regenerace celistvých rostlin v mikrosporových kulturách tuřínu. A – mikrosporová kultura po založení, B – první dělení buněk 48 h po založení kultury (buněčná přepážka označena šipkou, C – vícebuněčný útvar 4. den po založení, D – globulární proembryo 9. den po izolaci, E – různé fáze embryogeneze (od globulárních, srdčitých, torpédovitých až po plně vyvinutá kotyledonární embrya, schopných pasážování na tuhé médium), F – regenerace prvního pravého listu z embryí na tuhém kultivačním médiu, G – celistvá rostlina 3 měsíce od založení kultury, schopná převedení do nesterilních podmínek, H – celistvá rostlina 12 dní po převedení z *in vitro* do rašelinného substrátu



Obr. 2: Morfologie bulev u vybraných regenerantů tuřínu. A – regenerant z F_1 křížence T9 (Helenor × Dalibor), B,C,D – regeneranty z F_1 křížence T4 (BRA 1222 × BRA 1817), E,F,G,H – regeneranty z F_1 křížence T14 (BRA 1693 × BRA 1685)

Použitá literatura

Frandsen, K. J.,1958: Breeding of swede (*Brassica napus* var. *rapifera* L.). Handbuch Pflanzenzuchtung 3:311-326.

Halkier, B. A., Gershenzon, J., 2006: Biology and biochemistry of glucosinolates. Annu. Rev. Plant Biol. 57: 303-333.

Hansen, M., Svinnset, K., 1993: Microspore culture of swede (*Brassica napus* ssp. *rapifera*) and the effects of fresh and conditioned media. Plant cell reports 9: 496-500.

Hasan, M. J., Rahman, H., 2016: Genetics and molecular mapping of resistance to *Plasmodiophora brassicae* pathotypes 2, 3, 5, 6, and 8 in rutabaga (*Brassica napus* var. *napobrassica*). Genome 10: 805-815.

Klíma, M., Vyvadilová, M., Kučera, V., 2004: Production and utilization of doubled haploids in *Brassica oleracea* vegetables. Horticultural Science 31: 119–123.

Lichter, R., 1982: Induction of haploid plants from isolated pollen of *Brassica napus*. Zeitschrift für Pflanzenphysiologie 5:427-434.

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.

Murashige, T., Skoog, F., 1962: A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15: 473–497.

Paul, A. A., Southgate, D. A. T., 1978: The composition of foods (4th edn.), Elsevier/North-Holland, Biomedical Press, Amsterdam, 182-4.

Slinde, E., Baardseth, P., Kryvi, H., 1983: Effect of ascorbate on an isolated mitochondrial fraction during ageing of swede (*Brassica napus* var. *napobrassica*). Food Chemistry 2: 117-125.

Song, G. Q., Walworth, A. E., Hancock, J. F., 2012: Agrobacterium tumefaciens-mediated transformation of rutabaga (*Brassica napus* var. *napobrassica*) cultivar "American Purple Top Yellow". *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant 4: 383-389.

Vyvadilová, M., Klíma, M., Kučera, V., 1998: Analýza faktorů ovlivňujících embryogenezi v mikrosporových kulturách vybraných brukvovitých zelenin. Zahradnictví - Hort. Sci. (Prague) 4: 7-144.

Kontaktní adresa:

Ing. Miroslav Klíma, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně
tel: 601 322 528
e-mail: klima@vurv.cz

VZTAH AKUMULACE DEHYDRINŮ A TOLERANCE PLODIN K ABIOTICKÝM STRESŮM

The relationship of dehydrin accumulation and crop tolerance to abiotic stresses

Vítámvás P.[1], Kosová K.[1], Musilová J.[1], Nezbedová B.[1,2], Cit Z.[1], Klíma M.[1], Prášil I. T.[1]

[1]*Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6 – Ruzyně*
[2]*Česká zemědělská univerzita v Praze*

Abstrakt
Výskytem abiotických stresů (např. sucho, nízká či vysoká teplota) během vegetačního období může být výrazně snížen výnos plodin. V posledních letech se na výnosu plodin pěstovaných v České republice projevuje deficit srážek. Navíc mírné zimy s minimem srážek mohou zapříčinit vymrznutí ozimých plodin při náhlém výkyvu počasí (holomrazy, např. v zimě 2011/12). Výběrem odrůd schopných adaptace k danému abiotickému stresu a akceptovatelným výnosem lze omezit možné snížení výnosu. Proto je výzkum rostlinných obranných a adaptačních mechanismů vůči stresům důležitý. V tomto příspěvku jsme se zaměřili na vztah mezi odolností obilnin vůči abiotickým stresům a schopností akumulovat dehydriny v pletivech.
Klíčová slova: dehydrin, odolnost rostlin, obilniny, abiotický stres

Abstract
The occurrence of abiotic stresses (e.g., drought, low or high temperature) during the growing season could significantly reduce crop yield. In recent years, the yield of crops grown in the Czech Republic has been reduced by rainfall deficit. Moreover, mild winter with lower precipitation could cause winter crops to freeze during sudden weather fluctuations (frost without snow; e.g. winter 2011/2012). The selection of cultivars capable of adapting to a given abiotic stress and an acceptable yield, a possible yield reduction could be lowered. Therefore, research of plant defense and adaptation mechanisms to stress is important. In this paper, we focused on the relationship between cereal resistance to abiotic stresses and ability to accumulate dehydrins in plant tissues.
Key words: dehydrin, plant tolerance, cereals, abiotic stress

Úvod

Odpověď rostlin na stres je dynamický proces, který směřuje k přizpůsobení buněčných struktur, metabolismu a k ustanovení nové rovnováhy (Levitt 1980; Kosová et al. 2011; Lawlor 2013). Důležitým prvkem odpovědi rostlin na stres je akumulace stresem indukovaných ochranných proteinů. V naší laboratoři jsme se zaměřili na výzkum dehydrinů. Dehydriny jsou proteiny z rodiny LEA-II, které se vyznačují přítomností alespoň jedné kopie K-segmentu (konzervativní 15-aminokyselinová sekvence bohatá na lysin) a které se akumulují v pozdních stadiích vývoje embrya (tzv. desikace a maturace embrya), ale rovněž v odezvě na různé environmentální stresy spojené s buněčnou desikací, včetně nízkých teplot (Kosová et al. 2007). Dehydriny jsme detekovali jak u jednoděložných (pšenice, ječmen), tak dvouděložných (řepka, hrách) plodin, vystavených abiotickému stresu. Ovšem u dvouděložných plodin detekujeme v obdobných podmínkách zhruba o dva řády nižší akumulace dehydrinů (Klíma et al. 2012, Urban et al. 2013), než u jednoděložných (Kosová et al. 2013, Vítámvás et al. 2019).

Signifikantní rozdíly v akumulaci dehydrinů byly zjištěny mezi různě odolnými genotypy plodin vystavených chladu (Vítámvás et al. 2010, Klíma et al. 2012), zasolení (Kosová et al. 2015) či suchu (Vítámvás et al. 2018). Rostliny odebrané z polních podmínek nevykazují tak vysoké korelace akumulace dehydrinů s jejich odolností vůči stresu jako rostliny pěstované v regulovaných podmínkách kvůli kombinacím různých stresů, ale přesto jsme byli schopni signifikantně odlišit různě zimovzdorné ozimé ječmeny a pšenice odebrané počátkem zimy (tj. nejarovizované rostliny; Vítámvás et al. 2019). Proto se nám jeví akumulace dehydrinů jako dobrý ukazatel odolnosti plodin vůči abiotickým stresům. Pro ověření markerovací schopnosti akumulace dehydrinů v plodinách jsme provedli analýzu 22 odrůd chladem otužených pšenic odebraných z polních podmínek (viz níže).

Materiál a Metody

Ozimé pšenice byly pěstovány na poli firmy Selgen, a.s. (50.0520492N, 14.6459456E) a odběr odnožovacích uzlů byl proveden dopoledne 30. 11. 2018. Byly odebrány tyto odrůdy pšenice: Annie, Baracuda, Bodyček, Bohemia, Dagmar, Elly, Frisky, Genius, Gordian, Julie, LG Imposanto, Mironovská 808, Novosibirskaya 2, Partner, Rebell, RGT Reform, RGT Sacramento, Seladon, Steffi, Sultan, Tobak, Vanessa. Odnožovací uzly z 10 rostlin byly z pole odebrány natřikrát a tyto vzorky byly ihned zmrazeny v tekutém dusíku a následně uchovány v – 80 °C až do dalšího zpracování.

Zimovzdornost ozimých pšenic byla hodnocena provokačním bedýnkovým testem ve VÚRV, v.v.i. (Prášil a Rogalewicz, 1989). Relativní akumulace dehydrinových proteinů byla stanovena pomocí 1D SDS-PAGE a imunoblotu s antidehydrinovou primární protilátkou (Vítámvás et al. 2010). Relativní densita dehydrinových bandů byla vyhodnocena softwarem Quantity One, verze 4.6.2 (Bio-Rad). Korelační analýzy pro stanovení Pearsonova korelačního koeficientu r na hladině významnosti 0,01 byly provedeny pomocí softwaru Unistat, verze 5.1 (Unistat Ltd, Londýn, Velká Británie).

Výsledky a diskuze

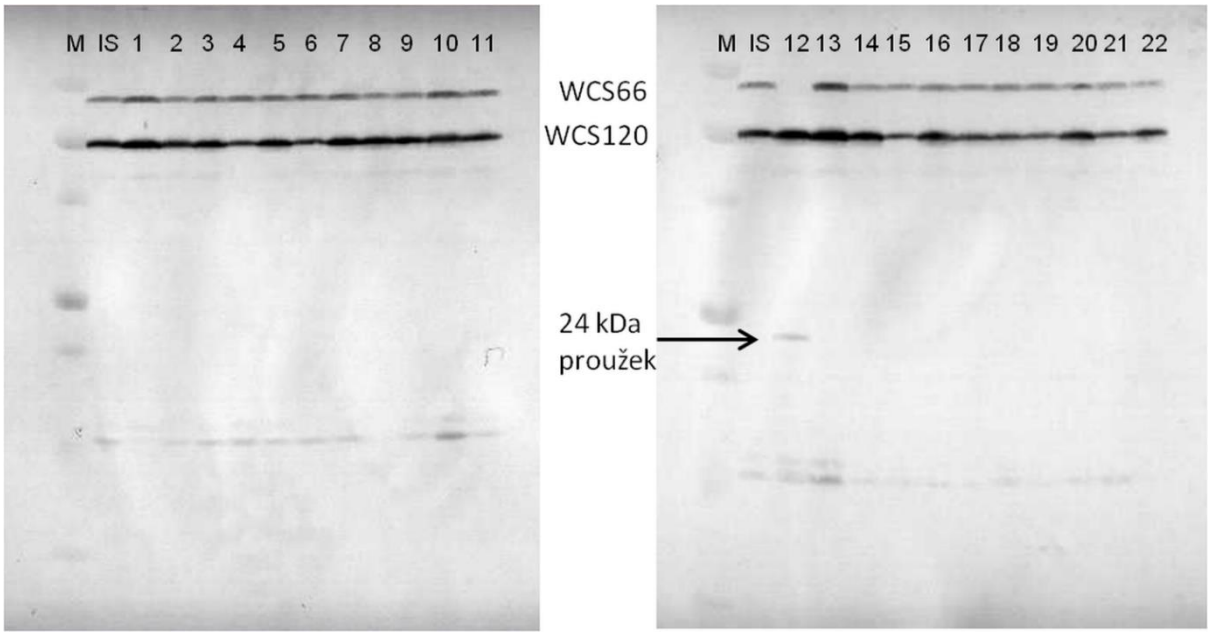
Hodnocení zimovzdornosti ozimých pšenic pomocí bedýnkového testu ve VÚRV, v.v.i. ukázalo u ozimých pšenic škálu přežití od stupně zimovzdornosti 2,5 (Rebell, RGT Sacramento) až po stupeň zimovzdornosti 8 (Mironovská 808, Novosibirskaya 2) na devítistupňovém hodnocení (9 – nevyšší mrazuvzdornost; Tabulka 1.). Dosažené stupně zimovzdornosti odpovídají také dlouhodobým výsledkům testování přezimování a mrazuvzdornosti těchto odrůd.

Tab. 1: Stupně zimovzdornosti odrůd testovaných v zimě 2018/19 provokačním bedýnkovým testem.

Kód odrůdy	Odrůda	Stupeň zimovzdornosti
1	Annie	6
2	Baracuda	3,5
3	Bodyček	7
4	Bohemia	7
5	Dagmar	5,5
6	Elly	5
7	Frisky	4
8	Genius	5
9	Gordian	4,5
10	Julie	6
11	LG Imposanto	4,5
12	Mironovská 808	8

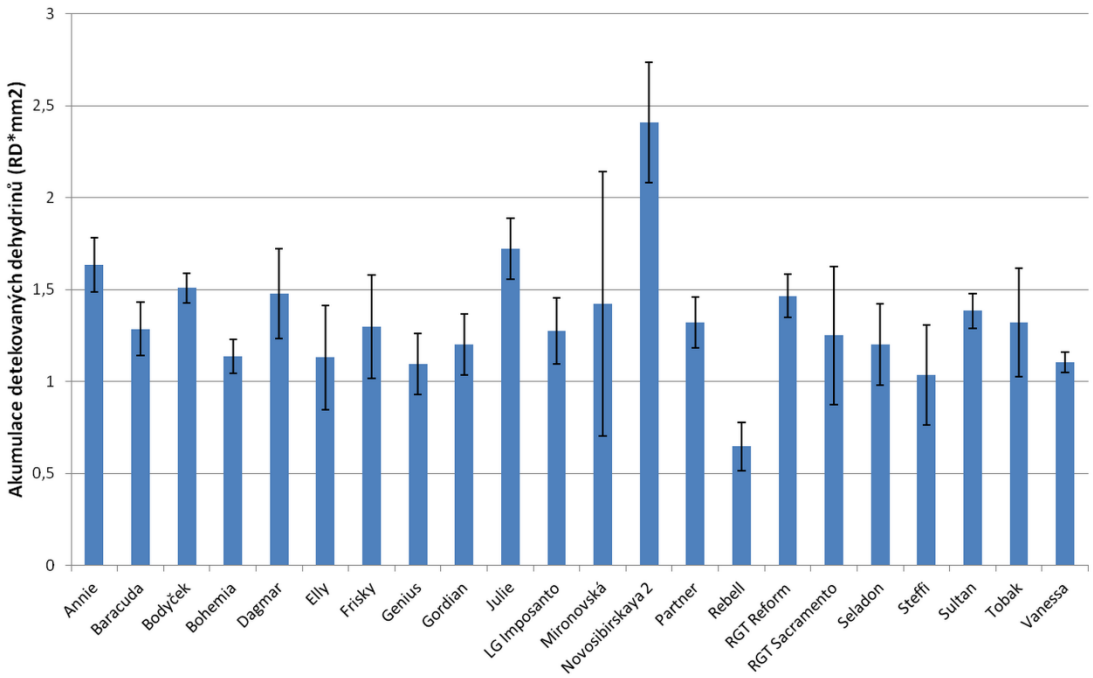
13	Novosibirskaya 2	8
14	Partner	3,5
15	Rebell	2,5
16	RGT Reform	5
17	RGT Sacramento	2,5
18	Seladon	5,5
19	Steffi	3
20	Sultan	4
21	Tobak	4,5
22	Vanessa	4

Analýzou imunoblotů byly zjištěny kvantitativní i kvalitativní rozdíly v akumulaci dehydrinů (Obr. 1). Zvláště výrazný rozdíl byl u odrůdy Mironovská 808, kde nebyl detekován dehydrin WCS66 a místo něj byl detekován dehydrin o velikosti cca 24 kDa (vzorek 12, Obr. 1). Tento kvalitativní rozdíl dosud nebyl pozorován u předchozích experimentů (např. Vítámvás et al. 2007, Vítámvás a Prášil 2008). Genotyp se tedy liší od genotypu stejné odrůdy získané z genobanky VÚRV,v.v.i. v minulých dekádách. Je možné, že došlo k posunu v genomu Mironovské 808 během našeho množení testovaných odrůd z jednoho klasu pro potřeby asociačního mapování v rámci projektu QK1710302.

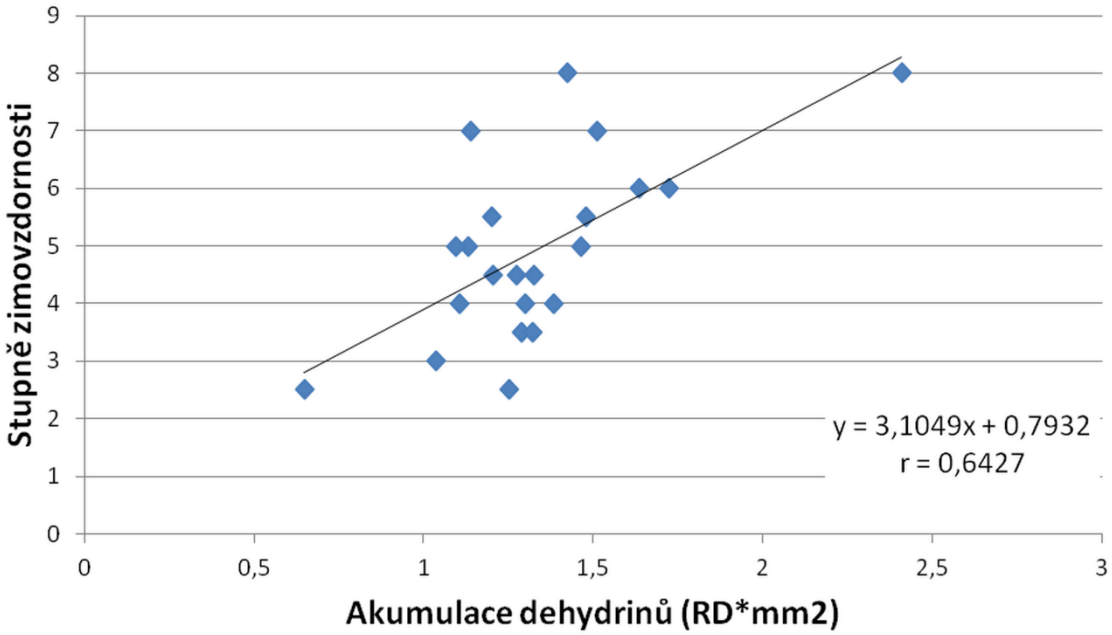


Obr. 1. Reprezentativní imunobloty 22 testovaných odrůd. M - ALL Blue Precision Plus Protein Standards (Bio-Rad), IS – interní standard (směsný vzorek) nutný pro normalizaci kvantit mezi gely, čísla odpovídají kódu odrůdy v Tab. 1.

Výsledky analýz dehydrinových proteinů WCS120 u ozimých pšenic (Obr. 2) vztažené ke stupni přezimování rostlin stanovenému na základě provokačního bedýnkového testu pak ukázaly statisticky významnou korelaci (Obr. 2; $r = 0{,}6427$; $P \leq 0{,}01$) mezi mírou relativní akumulace dehydrinových proteinů a mírou přezimování rostlin. Korelační analýza bez odrůdy Mironovská 808 dopadla dokonce lépe ($r = 0{,}6843$; $P \leq 0{,}01$).



Obr. 2. Výsledek analýz relativní akumulace dehydrinů v odnožovacích uzlech 22 ozimých pšenic.



Obr. 3. Korelace dosažených stupňů odolnosti a akumulace dehydrinů v odnožovacích uzlech 22 ozimých pšenic.

Je to tedy jen předběžný výsledek testování více odrůd z polních podmínek založený jen na jednom odběru z jedné zimy, ale významné korelace jsme dříve dosáhli při testování 11 pšenic a 9 ječmenů (Vítámvás et al. 2019). Tyto výsledky tedy podporují hypotézu o vhodnosti analýzy akumulace dehydrinů pro odhad odolnosti odrůd vůči abiotickým stresům.

Závěr

Na základě výsledků získaných z popsaného polního pokusu v lokalitě Selgen a.s., Stupice v sezóně 2018/19 a dříve publikovaných pokusů můžeme shrnout, že míra relativní akumulace dehydrinů statisticky významně koreluje s odolností plodin, a to zvláště u rostlin s dosud neukončeným vernalizačním požadavkem. Dehydriny lze tak využít jako ukazatele (markery) odolnosti plodin pěstovaných i v polních podmínkách. Ovšem je nutné otestovat větší sortiment genotypů v polních podmínkách v dalších sezónách pro ověření spolehlivosti dehydrinových analýz jako markeru odolnosti vůči daným abiotickým stresům.

Dedikace

Práce byla podpořena institucionárním záměrem Ministerstva zemědělství ČR MZe RO0418 a projekty Ministerstva zemědělství ČR QK1710302, QK1910197, a QK1910269. Také tímto děkujeme Ing. O. Veškrnovi za umožnění odběru odrůd z pokusů v lokalitě firmy Selgen a.s., Stupice.

Použitá literatura

Klíma M., Vítámvás P., Zelenková S., Vyvadilová M., Prášil I. T. (2012): Dehydrin and proline content in Brassica napus and B. carinata under cold stress at two irradiances. Biol. Plantarum 56 (1): 157-161.

Kosová K., Vítámvás P., Prášil I. T. (2007): The role of dehydrins in plant response to cold. Biol. Plantarum 51 (4): 601 - 617.

Kosová K., Vítámvás P., Prášil I. T., Renaut J. (2011): Plant proteome changes under abiotic stress – contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. J. Proteomics 74: 1301-1322.

Kosová K., Vítámvás P., Prášilová P., Prášil I. T. (2013): Accumulation of WCS120 and DHN5 proteins in differently frost-tolerant wheat and barley cultivars grown under a broad temperature scale. Biol. Plantarum 57 (1): 105-112.

Kosová K., Vítámvás P., Urban M. O., Klíma M., Ray A., Prášil I. T. (2015): Biological Networks Underlying Abiotic Stress Tolerance in Temperate Crops-A Proteomic Perspective. International J. Mol. Sci. 16 (9): 20913-20942.

Lawlor DW. (2013): Genetic engineering to improve plant performance under drought: physiological evaluation of achievements, limitations, and possibilities. J. Exp. Bot. 64:83–108.

Levitt J. (1980): Responses of plants to environmental stress. Chilling, freezing and high temperature stresses. 2nd edition. New York, USA: Academic Press.

Prášil, I. T., Rogalewicz, V. (1989): Accuracy of wheat winterhardiness evaluation by a provocation method in natural conditions. Genetika a Šlechtění 25:223-230.

Urban M. O., Klíma M., Vítámvás P., Vašek J., Hilgert-Delgado A. A., Kučera V. (2013): Significant relationships among frost tolerance and net photosynthetic rate, water use efficiency and dehydrin accumulation in cold-treated winter oilseed rapes. J. Plant Physiol. 170 (18): 1600-1608.

Vítámvás P., Kosová K., Dandová J., Cit Z., Klíma M., Prášil I. T. (2018): Kvantitativní změny proteomu obilnin vystavených suchu. Úroda 12, vědecká příloha, s. 179-182.

Vítámvás P. Kosová K., Musilová J., Holková L., Mařík P., Smutná P., Klíma M., Prášil I. T. (2019): Relationship between dehydrin accumulation and winter survival in winter wheat and barley grown in the field. Front. Plant Sci. 10: 7.

Vítámvás P., Kosová K., Prášilová P., Prášil I. T. (2010): Accumulation of WCS120 protein in wheat cultivars grown at 9 °C or 17 °C in relation to their winter survival. Plant Breed. 129:611-616.

Vítámvás, P., Prášil, I. T. (2008): WCS120 protein family and frost tolerance during cold acclimation, deacclimation and reacclimation of winter wheat. Plant Physiol Biochem 46: 970-976.

Vítámvás, P., Saalbach G., Prašil I. T., Čapkova V., Opatrna J., Jahoor A. (2007): WCS120 protein family and proteins soluble upon boiling in cold-acclimated winter wheat. J. Plant Physiol., 164 (9), 1197 – 1207.

Kontaktní adresa:

Mgr. Pavel Vítámvás, Ph.D.,
VÚRV, v.v.i.,
Drnovská 507/73, 161 06 Praha 6,
e-mail: vitamvas@vurv.cz

PREDIKCE SUCHOVZDORNOSTI KLONŮ ČESNEKŮ NA ZÁKLADĚ JEJICH GEOGRAFICKÉHO PŮVODU

Prediction of drought tolerance of garlic clones based on their geographical origin

Zámečník J., Stavělíková H. , Faltus M.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

Abstrakt

Byly testovány vybrané genotypy pocházející ze států se suchým klimatem na jednom srovnávajícím stanovišti. V odebraných listech byla stanovena vnitřní efektivita využití vody na základě diskriminace těžkého izotopu uhlíku ^{13}C. Diskriminace těžkého uhlíku odpovídá integrální hodnotě otevřenosti průduchů, nejdůležitějšího regulačního prvku při výdeji vody transpirací a zároveň při ventilaci CO_2 do listu. Testováno bylo 56 genotypů pocházejících z 12 států se suchým klimatem. Pro srovnání byly použity genotypy z České republiky a Slovenska. Z výsledků vyplynulo, že největší efektivitu využití vody měly genotypy pocházející z Maroka, nejmenší z Bulharska.

Klíčová slova: sucho, diskriminace izotopu uhlíku, ^{13}C, WUEi

Abstract

Selected varieties from dry climate states were tested at one comparative site. The internal water efficiency based on discrimination of the ^{13}C carbon isotope was determined in the collected leaves. Discrimination of carbon isotope corresponds to the integral value of the openings of the stomata, the most important regulating element in the delivery of water by transpiration and at the same time in the ventilation of CO_2 into the leaf. The fifty-six genotypes from 12 dry climate states were tested. Genotypes from the Czech Republic and Slovakia were used for comparison. The results showed that genotypes from Morocco had the highest water use efficiency, the smallest from Bulgaria.

Key words: drought, carbon isotope discrimination, ^{13}C, WUEi

Úvod

Česnek *Allium sativum* L. patřící do čeledi *Alliaceae* je po cibuli nejvíce rozšířenou zeleninou tvořící cibuli. Původem ze střední Asie, je česnek pěstovaný po celém světě od mírného pásma až po krajiny se subtropickým klimatem. Česnek byl pěstován v Egyptě již před 2780 let před naším letopočtem (Yamaguchi 1983). Vzhledem k nemožnosti generativního množení česneků je limitujícím faktorem nedostatek širokého výběru genetických zdrojů ekonomicky důležitých vlastností jako je odolnost k biotickým a abiotickým stresům, výnosu a jeho kvalitě. Bylo prokázáno, že nedostatek vody je limitujícím faktorem při produkci česneku (Shao et al. 2008).

Suchovzdornost česneků se v poslední době dostává do popředí vzhledem k posledním suchým ročníkům, kdy i v polních podmínkách česnek trpěl nedostatkem vody a byl tím prokazatelně snížen výnos. Jednou z možností je do šlechtitelského procesu na suchovzdornost zapojit genetické zdroje z oblastí s nedostatkem vody. V Olomoucké stanici je udržováno 618 položek genetických zdrojů česneků, z čehož je odhadem 150 genotypů z oblastí s nedostatkem vody, proto je vhodné tyto genetické zdroje otestovat na suchovzdornost.

Vedle řady tzv. indexů tolerance k suchu (např. Blum et al., 1983) je měření fyziologických charakteristik a molekulárních markérů (Ipek et al., 2008) rozšířené pro testování suchovzdornosti. Trochu v ústraní je měření primárních fyziologických parametrů a to transpirace a fotosyntézy na místě jejich primární regulace průduchy a z nich stanovené efektivity využití vody. K vnitřní efektivitě využití vody byla s výhodou použita analýza diskriminace izotopu 13C. Výsledky této analýzy odpovídají délce zavření průduchů a tím i době, kdy rostliny česneku trpěly nedostatkem vody. Hodnoty diskriminace izotopu uhlíku jsou integrální, tj. vypovídají o reakci listu na nedostatek vody od začátku jeho vývinu po jeho odběr.

Cílem této práce bylo porovnat genofond česneku původem z různých oblastí s nedostatkem vody pěstovaný pro srovnání v polních podmínkách na jednom místě v jednom roce ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i., pracoviště Olomouc. Na základě změření diskriminace izotopu ^{13}C a výpočtu vnitřní efektivity využití vody bylo cílem porovnat suchovzdornost česneků. Charakterizace suchovzdornosti česneků s různým geografickým původem z různých lokalit s nedostatkem srážek naskýtá možnosti jejich použití jako výchozího šlechtitelského materiálu pro tvorbu nových genotypů pro šlechtění česneku na suchovzdornost.

Materiál a metody

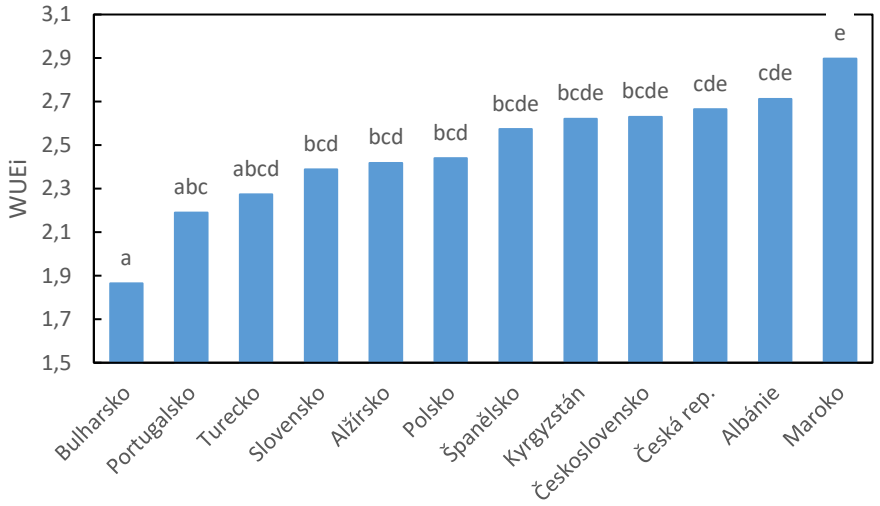
Do pokusů byly zařazeny genotypy pocházející ze zemí, kde se předpokládá, že česnek trpí suchem a tudíž je suchovzdorný. Pro srovnání byly zařazeny vybrané genotypy česneků z České republiky a ze střední Evropy. Počty genotypů, u kterých bylo testována diskriminace uhlíku: Maroko 8, Polsko 8, Bulharsko 7, Portugalsko 6, Česká republika 6, Slovensko 5, Alžírsko 5, Kyrgyzstán 3, Československo 3, Albánie 3, Turecko 2, Španělsko 2. Plně vyvinuté listy byly odebírány před květem. Standardizace a optimalizace byla provedena minimálně na 10 plně vyvinutých listech. Homogenizace sušiny listů byla prováděna na kulovém mlýnu Pulverissete 0 Fretsch. Pevný vzorek sušiny listů byl pak spálen v kyslíkové atmosféře, vzniklé spalné plyny (CO_2, oxidy N či S) byly analyzovány na přístroji EA EuroEA 3028-HT (EuroVectro, Italy) a IRMS Isoprime (GV Instrument, UK). Vše bylo řízeno počítačovým programem Masslinx. Ve vzorcích byl stanoven celkový obsah C a N a atom % ^{13}C a ^{15}N. Laboratorní standardy byly poměřeny proti mezinárodním standardům - PDB pro ^{13}C /^{12}C). Farquhar *et al*. (1984, 1989) navrhli jednoduchý fyziologický model jak ze změření diskriminace těžkého izotopu uhlíku stanovit vnitřní efektivitu využití vody (WUEi).
Statistická významnost rozdílů byla hodnocena pomocí metody ANOVA a LSD testu s využitím programu Statistica 13.

Výsledky a diskuze

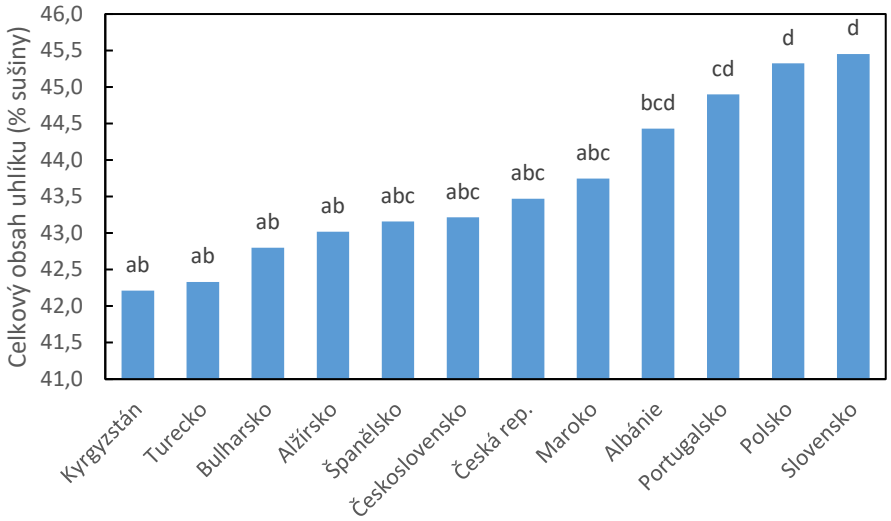
Na suchovzdornost bylo testováno bylo 56 genotypů pocházejících z 12 států se suchým klimatem. Pro srovnání byly použity genotypy z České republiky a Slovenska. Z výsledků vyplynulo, že největší efektivitu využití vody měly česneky s geografickým původem z Maroka, nejmenší z Bulharska (graf 1). Největší rozptyl hodnot efektivity využití vody byl u vzorků z Polska, mezi sedmi testovanými genotypy a rozdíl činil 1,92 mezi genotypem s nejnižší a nejvyšší efektivitou využití vody. Další velký rozdíl byl zjištěn mezi genotypy česneků z Alžírska, u nich rozdíl činil rozdíl 1,39 v efektivitě využití vody. Maximální hodnota efektivity využití vody byla 3,62 u krajové odrůdy 09H0100987 (ECN, GrinCzech) z České republiky; minimální hodnota byla naměřena 1,37 u krajové odrůdy vzorku 09H0101247 z Polska.

Největší procento atomárního uhlíku v sušině měly česneky s geografickým původem ze Slovenska a Polska, nejmenší z Kyrgyzstánu a Turecka (graf 2). Maximální hodnoty procento uhlíku v sušině 47,6 % bylo u vzorku 09H0100798 původem ze Slovenska a minimální hodnota byla naměřena 40,9% u vzorku 09H0100246 z Nizozemí, který do celkové analýzy nebyl zařazen, protože byl jen jeden reprezentant této země původu. Vysoký obsah uhlíkatých látek v sušině svědčí o vysokém zastoupení rozpustných a nerozpustných sacharidů v sušině. Korelace mezi efektivitou využití vody a obsahem uhlíku v sušině byla sice pozitivní, ale statisticky nevýznamná.

Graf 1: Původ genotypů seřazený podle integrální hodnoty vnitřní efektivity využití vody (WUEi)
Stejná písmena znamenají nevýznamný rozdíl mezi průměry na hladině významnosti α = 0,05, n = 2-7.



Graf 2: Původ genotypů seřazený podle obsahu celkového uhlíku v sušině
Stejná písmena znamenají nevýznamný rozdíl mezi průměry na hladině významnosti α = 0,05, n = 2-7.



V hodnotách efektivity využití vody jsou velké rozdíly v rámci původu z jedné země. Badran (2015) odlišil taktéž u egyptských česneků tolerantní od sensitivních odrůd česneků pomocí indexů tolerance k suchu a potvrdil tuto odlišnost i molekulárními markéry. Efektivita využití vody byla více efektivní u česneků, což svědčilo o reakci rostlin na nedostatek vody. Zatímco jiné genotypy měly nízkou efektivitu využití vody, svědčící o dostatečné dostupnosti pro využití vody rostlinami pro další růst a vývoj rostlin. Toto zjištění je ve shodě s Lipinski a Gaviola (2011), kteří nalezli větší WUE u nezavlažovaných genotypů česneků než u zavlažovaných. Hongyun et al. (1999) potvrdily u česneků pokles rychlosti fotosyntézy při nedostatku vody, jedné hodnoty použitých při výpočtu efektivity využití vody.

Závěr

Je velmi těžké získat data o suchovzdornosti rostlin česneku. Proto se přistoupilo k jednotnému otestování suchovzdornosti česneků v našich podmínkách s cílem vybrat genotypy s odolností k suchu respektive s vysokou efektivitou využití vody. Ze zkušeností s jinými druhy rostlin je známo, že odolnost k abiotickým stresům, ke kterým patří i odolnost k suchu je na úkor produkce biomasy. Tedy vedle výběru rostlin na odolnost k nedostatku vody je nezbytné testovat rostliny také na jejich odolnost k biotickým stresům, výnosu a v neposlední řadě také k organoleptickým vlastnostem. Tato práce shrnuje jednoleté výsledky, na jedné lokalitě, bez závlahy. V analýzách se bude pokračovat do budoucna.

Poděkování

Poděkování za technickou pomoc při přípravě vzorků patří Zdence Hybnerové a Adriáně Čajkové. Tato práce vznikla za částečné podpory projektů MZe QK1910476, NP206553/2011-17253 a RO0418.

Literatura

Badran A. L. (2015) Comparative analysis of some garlic varieties under drought stress conditions. Journal of Agricultural Science; Vol. 7, No. 10: 271- 280

Blum, A., Poyarkova, H., Golan, G., & Mayer, J. (1983) I. Effects of translocation and kernel growth. Field Crops Research, 6, 51-58.

Farquhar, G.D., Richards R.A. (1984) Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. Functional Biol. 11: 539–552.

Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick. K.T. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40: 503–537

Hongyun, G., Zhicheng, F., Jirong, L., & Lianhai, F. (1999) The tissue culture of garlic anther (J). Journal of Shandong Agricultural University, 2. 6

Lipinski, V. M., Gaviola, S. (2011) Optimizing water use efficiency on violet and white garlic types through regulated deficit irrigation. Acta Horticulturae. 889: 459-468

Ipek, M., Ipek, A., Simon, P. W. (2008). Rapid characterization of garlic clones with locus-specific DNA markers. Turk. J. Agric. For., 32: 357-362.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Shao, M. A., Abdul Jaleel, C., Hong-Mei, M. (2008). Higher plant antioxidants and redox signaling under environmental stresses. Comp. Rend. Biol., 331: 433-441

Yamaguchi, M. (1983). Solanaceous fruts. World vegetables Principles, production nutritive values. AVI Publishing Company, INC, Westport, Connecticut: 298-304.

Kontaktní adresa:

Ing. Jiří Zámečník, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 16106 Praha 6 - Ruzyně
+420702087666, zamecnik@vurv.cz

VIRULENCE V POPULACI RZI TRAVNÍ V ČESKÉ REPUBLICE V LETECH 2017 - 2018

Virulence of wheat stem rust in the Czech Republic in 2017 - 2018

Hanzalová A.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha – Ruzyně

Abstrakt

Výskyt rzi travní (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) na pšenici v České republice i v Evropě v posledních letech roste. Ve vegetační sezóně 2017 a 2018 byly získány vzorky rzi travní z listů pšenice z České republiky. Jednotlivé monopustulové izoláty byly testovány na téměř izogenních liniích (NIL), které nesou geny *Sr5, Sr11, Sr36, Sr9a, Sr24, Sr21, Sr6, Sr9b, Sr9d, Sr31, Sr9e, Sr8a, Sr30, Sr10, Sr38, Sr7b, Sr9g, Sr17, SrTmP, SrMcN*. Byla nalezena virulence jednoho izolátu rzi travní ke genu *Sr31*. Gen rezistence ke rzi tarvní *Sr24* byl účinný k rasám s identifikovanou virulentcí ke genu *Sr31*.

Klíčová slova: rez travní; patotypy; *Sr* geny; rezistence; Česká republika

Abstract

Incidence of stem rust (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) on wheat in the Czech Republic, as well as in Europe is increasing in the last years. This communication presents informations about occurrence of new stem rust races virulent on the gene *Sr31* in Czech Republic. In the vegetation season of 2017 the samples of stem rust on wheat leaves were obtained from Czech Republic. Single pustule isolates from these samples were tested on near isogenic lines (NILs) possessing following genes - *Sr5, Sr11, Sr36, Sr9a, Sr24, Sr21, Sr6, Sr9b, Sr9d, Sr31, Sr9e, Sr8a, Sr30, Sr10, Sr38, Sr7b, Sr9g, Sr17, SrTmP, SrMcN*. Stem rust resistance gene *Sr24* was effective to the identified races virulent on *Sr31*.

Key words: stem rust; pathotypes; *Sr* genes; resistance; Czech Republic

Úvod

Přes značné výkyvy výskytu rzi travní je dlouhodobé monitorování jejích ras v České republice i v Evropě a kontinuální průzkum změn virulence v populacích rzi předpokladem pro výběr nových zdrojů rezistence a jejich aplikaci ve šlechtění pro prevenci proti škodám působeným rzemi na pšenici.

Od roku 2013 se po dlouhé době začala šířit rez travní v Evropě a i v České republice vzrostla četnost jejích přirozených výskytů. Přestože se nejedná o plošný výskyt, je zřejmé, že význam rzi travní v příštích letech může růst. Napadení způsobuje nova rasa popsaná jako rasa Digalu, současně se v Evropě rozšiřují i její varianty. Při podrobnějších analýzách expandující populace rzi travní v Evropě byly nově nalezeny další rasy označované jako Clade I – IV (TTTTF, TKKTC, KKTTC aj.), které byly v různém rozsahu nalezeny v celé Evropě. Zvlášť významné byly výskyty této rasy v Itálii, Dánsku a Německu a rovněž i v České republice. V současné době je nejvyužívanějším genem rezistence ke rzi travní gen *Sr38* odvozený od mnohoštětu (*Aegilops ventricosa*). Pro napadení u nás registrovaných odrůd je podstatné, že rasy Digalu a Clade I – IV tento gen překonávají. Gen *Sr38* nese velká část u nás registrovaných odrůd, např. odrůdy Atuan, Butterfly, Cecilius, Faunus, Gaudio, KWS Silverstone, LG Imposanto, Penelope, Proteus, RGT Sacramento, Rivero, Steffi, WP8 Calgary, Aladin, Altigo. Apache, Bakfis, Beduin, Biscay, Bodyček, Dagmar, Dromos, Graindor, Chevalier, Ilias, Jindra, Manager, Matylda, Mulan, Potenzial, Rapsodia, RW Nadal, Sultan aj. Ve vegetační sezóně

2017 a 2018 byly z plošných sběrů listových vzorků zaznamenány dvě rasy s virulencí ke genu *Sr31* (tzv. žitná rezistence), budou-li se šířit, mohlo by dojít ke ztrátě odolnosti odrůd nesoucích tento gen např. Etela, Vanessa, Matchball, Rapsodia.

Materiál a metody

Pokusy probíhaly ve skleníkových podmínkách při teplotě 20°C a maximální vlhkosti po inokulaci rzi. Urediospóry z listů pšenice z různých lokalit České republiky byly přeneseny na klíční rostliny náchylné odrůdy (Michigan Amber) a inkubovány 24 - 48 hodin v uzavřených skleněných válcích. Na listech rostlin se po 7 - 10 dnech začaly tvořit symptomy onemocnění. Z listů byly odebrány vznikající kupky, které se vyvíjely izolovaně ve vodním prostředí v Petriho miskách. Urediospóry uvolněné z jedné pustule byly pak rozmnoženy na náchylné odrůdě a poté přeneseny na soubor testovacích izogenních linií (NILs). Po sedmi až deseti dnech se na infikovaných rostlinách vyvinuly symptomy infekce, ty byly vyhodnoceny dle stupnice Stakman *et al.*, 1962. K hodnocení klíčních rostlin ve skleníkových podmínkách je používána výše uvedená čtyřbodová stupnice, která hodnotí především charakter symptomů.
Na základě reakcí testovacích rostlin k infekci urediosporami izolovanými z jedné pustule byla definována virulence/avirulence izolátu.

Výsledky

V obou letech byla zjištěna virulence ke genu *Sr31* jednoho izolátu rzi travní, ten byl získán izolací z listu pšenice v roce 2017 na lokalitě Čáslav. Typ infekce na linii s genem *Sr31* byl podle stupnice Stakman *et al.* 1962 hodnocen stupněm 3 (náchylná reakce). Další izoláty získané z různých lokalit ČR byly na linii s genem *Sr31* avirulentní. Izolát virulentní na *Sr31* byl virulentní na všech diferenciačních liniích kromě linie SrMcN a linie nesoucí gen *Sr24*. Zbývajících 14 izolátů získaných z listových vzorků v roce 2017 bylo avirulentních na *Sr31* a lišilo se virulencí na *Sr21, Sr9a, Sr11, Sr6, Sr36, Sr9b, Sr17, Sr9d, Sr24, Sr38*, přičemž všechny byly virulentní na *Sr5, Sr7b, Sr8a, Sr9g, Sr30, Sr9a, Sr10, SrTmp*. Reakce ke genu *Sr38* byla ve většině případů náchylná, i když je gen *Sr38* účinný zejména u dospělých rostlin. Vysokou účinnost měl gen *Sr24*, ke kterému byl virulentní pouze jeden izolát.
V roce 2018 byl mezi 15 analyzovanými izoláty rzi travní rovněž určen jeden izolát virulentní na *Sr31* (infekční typ 4). Na všech zbývajících diferenciačních liniích byl avirulentní (infekční typ; 1, 2, 2+). Dalších 14 izolátů bylo virulentních nebo avirulentních na *Sr11, Sr21, Sr9e* a *Sr38*, všechny izoláty byly virulentní na *Sr5, Sr36, Sr9a, Sr24, Sr6, Sr9a, Sr8a, Sr30, Sr10, Sr7b, Sr9g, Sr17, SrTmp a SrMcN*, což ukazuje na virulenci srovnatelnou s výsledky roku 2017, kromě izolátu virulentního na *Sr31*. Ze získaných 15 izolátů rzi bylo stanoveno 10 patotypů.

Diskuse

Gen rezistence *Sr31* ke rzi travní byl jedním z významných genů ve šlechtění pšenice. Rabinovic (1998) uvádí více než 300 kultivarů pšenice, které nesou *Sr31* na pšeničném chromozomu 1B a které jsou ve vazbě s dalšími geny rezistence – ke rzi pšeničné gen *Lr26*, rzi plevové gen *Yr17* a padlí travnímu - *Pm8*. Tyto geny pocházejí z Petkuského žita.

V současné době lze odhadnout podíl odrůd nesoucích výše uvedenou žitnou translokaci ze žita v Evropě přibližně na 10%, na základě údajů Serflinga *et al.* (2011), Goyeau a Lanou (2011) a Flath *et al.* (2018).
V České republice z 20 odrůd ozimé pšenice, které mají největší množitelskou plochu (ÚKZUZ, 2018) nesou gen *Sr31* dvě odrůdy - Vanessa a Matchball. Přestože geny rezistence ke rzi pšeničné, rzi plevové a padlí travnímu ze žitné translokace byly překonány, gen *Sr31* ke rzi travní zůstal účinný až do konce minulého století. Nejprve byl v Ugandě překonán rasou Ug99,

která způsobila obrovské výnosové ztráty (Pretorius *et al.* 2000) v mnoha zemích Afriky a Asie, kde byl gen *Sr31* rozšířen v odrůdách z CIMMYT (Mexiko). V Evropě byla virulence na *Sr31* poprvé hlášena z České republiky.

Závěr

Výskyt rzi travní a virulence získaných izolátů z ČR v letech 2017 - 2018 měly rostoucí trend. Přes relativně malé množství všech testovaných vzorků byl počet různých patotypů vysoký, což může znamenat přítomnost inokula přenášeného vzduchem z oblastí, kde se výskyt rzi travní zvyšuje. Méně pravděpodobným důvodem se zdá být rekombinace na mezihostiteli (*Berberis vulgaris*). Ačkoli původ virulence na *Sr31* není jasný, zvyšuje se potenciální nebezpečí výnosových ztrát na pšenici spolu s rostoucím výskytem tohoto patogena v Evropě.

Poděkování

Příspěvek vznikl za finanční podpory projektů MZe RO0419 a NAZV QK1910041.

Literatura

Flath K., Miedaner T., Olivera P. D., Rouse M. N., Yue Jin (2018). Genes for wheat stem rust resistance postulated in German cultivars and their efficacy in seedling and adult-plant field tests. Plant. Breed., https://doi.org/10.1111/pbr.12591

Goyeau H., Lannou C. (2011). Specific resistance to leaf rust expressed at the seedling stage in cultivars grown in France from 1983 to 2007. *Euphytica, 187, 45-62.*

Pretorius Z. A., Wagoire W. W., Sing, R. P., Payne T. S. (2000). Detection of Virulence to Wheat Stem Rust Resistance Gene *Sr31* in *Puccinia graminis*. f. sp. *tritici* in Uganda. *Plant disease, 84, 203,* https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.2.203B

Serfling A., Krämer I., Lind, V., Schliephake E. (2011). Diagnostic value of molecular markers for Lr genes and characterization of leaf rust resistance of German winter wheat cultivars with regard to the stability of vertical resistence. *European Journal of Plant Pathology, 130, 559-75.*

Stakman E.C., Stewart P.M. & Loegering W. O. (1962). Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. Agricultural Research Service E617. (United States Department of Agriculture: Washington DC.).

Kontaktní adresa:

Mgr. Alena Hanzalová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně
Drnovská 507/73, 161 06 Praha 6
hanzalova@vurv.cz

OVĚŘENÍ ÚČINNOSTI ALTERNATIVNÍCH PŘÍPRAVKŮ PROTI MONILIVÉ HNILOBĚ PECKOVIN

Efficacy of alternative plant protection products against Monilinia brown rot of stone fruit

Jaklová P.[1], Kracíková M.[1], Hortová B.[1]

[1] *Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.*

Abstrakt

V polním maloparcelkovém pokusu ve výsadbě meruněk byla hodnocena účinnost čtyř alternativních přípravků proti moniliové hnilobě peckovin způsobené houbami rodu *Monilinia* spp. Byly provedeny dvě preventivní aplikace. Bylo hodnoceno napadení plodů houbou *Monilinia* spp. v období sklizně. Vyšší napadení bylo zaznamenáno ve variantě, která byla ošetřena přípravkem Chitopron 5% (11 %) a PowerOf-K (8 %). Naopak nejnižší výskyt moniliové hniloby byl zaznamenán ve variantě ošetřené přípravkem Serenade ASO a to 2,8 %. Sklizené plody byly na týden uskladněny v chlazeném skladu, následně byl vyhodnocen jejich zdravotní stav po vyskladnění, výsledky byly shodné s výsledky získanými v polním pokusu.

Klíčová slova: *Monilinia* spp., ochrana rostlin, moniliová hniloba peckovin, meruňka

Abstract

In a small-plot experiment in apricot orchard, the efficacy of four alternative products against brown rot of stone fruit rot caused by fungus *Monilinia* spp. was evaluated. Two preventive applications were performed. The infestation of fruit by *Monilinia* spp. was evaluated during the harvest period. Higher infestation was recorded in the variant treated by Chitopron 5% (11%) and PowerOf-K (8%). On the contrary, the lowest incidence of brown rot was recorded in the variant treated by Serenade ASO at 2,8%. The harvested fruits were stored in a cold warehouse for a week, after that infestation was evaluated, the results were identical with results obtained in the field trial.

Key words: *Monilinia* spp., plant protection, brown rot of stone fruit, apricot

Úvod

Moniliniová spála a hniloba patří mezi hospodářsky významné choroby, které způsobují ekonomické ztráty při pěstování peckovin a za příznivých podmínek mohou zničit převážnou část sklizně (Hluchý a kol., 2008). Moniliová hniloba plodů je způsobena houbami rodu *Monilinia* (*M. laxa, M. fructigena* - dle schváleného českého názvosloví choroba *M. fructicola*). Příznaky na plodech tvoří měkké hnědnoucí skvrny, které se rychle rozšiřují na celý plod. Později se na jejich povrchu tvoří krémově bělavé kupky konidií, kterými se houba dále rozšiřuje během vegetace. Napadené plody opadávají nebo zasychají (mumifikují) a zůstávají viset na stromě. Hniloba plodů postihuje všechny druhy peckovin (Jones a Sutton, 1996). K napadení plodů dochází při poranění pokožky plodů (praskání, krupobití, poranění hmyzem apod.). Rozvoji hniloby napomáhá deštivé a teplé počasí, ideální teplota je 20–22 °C. Mumifikované plody na stromech jsou zdrojem primárních infekcí v následující sezóně. Preventivní opatření spočívají v pečlivém odstranění zdrojů infekce tj. veškerých plodů (napadené a mumifikované) a napadených výhonů. Mumifikované plody, které zůstávají v korunách stromů do příští vegetace, jsou hlavním zdrojem infekce (Kloutvorová a kol., 2015). Proti hnilobě plodů se chemicky ošetřuje v průběhu dozrávání plodů s ohledem na ochranné lhůty přípravků. V současné době jsou k ošetření v meruňkách registrovány přípravky na

bázi účinných látek fenpyrazim, fenhexamid, fluopyram, myklobutanil či tebukonazol. Z biologických preparátů je v ČR registrováno Serenade ASO (Registr přípravků na ochranu rostlin, ©2019). Syntetické fungicidy jsou stále hlavním nástrojem pro kontrolu hnilob plodů. Nicméně, použití fungicidů před sklizní je omezené kvůli environmentálním a toxikologickým rizikům. Navíc opakované a nepřetržité používání fungicidů vede k vývoji rezistentních kmenů hub (Brent a Hollomon, 2007; Thomidis et al., 2009). V současné době jsou kladeny náročné požadavky na udržitelné zemědělství, integrovanou ochranu rostlin a ekologickou produkci což vyústilo v potřebu používání alternativních metod ochrany ovoce před houbovými chorobami. Cílem tohoto pokusu bylo zjistit účinnost alternativních přípravků proti moniliniové hnilobě, které jsou dostupné na trhu v České republice nebo Slovensku. Byly vybrány přípravky, které jsou vhodné do ekologické produkce a jsou šetrné k životnímu prostředí.

Materiál a Metody

Testované pesticidy

V maloparcelkových pokusech byla srovnávána účinnost následujících přípravků: **Chitopron 5%** (úč. l. chitosan hydrochlorid, 50 g/kg; Bioka s.r.o.; aplikovaná dávka 20 L/ha), **Luna Experience** (úč. l. fluopyram 200 g/L a tebukonazol 200 g/L; Bayer S.A.S.; aplikovaná dávka 0,75 L/ha), **Red Block** (úč. l. extrakt z mořských řas, oligosacharidy, rostlinné aminokyseliny, giberliny, chitosan; International Company Agro-Science s.r.l.; aplikovaná dávka 4 L/ha), **Serenade ASO** (úč. l. *Bacillus amyloliquefaciens* (původně *subtilis*) kmen QST 713 13,96 g/L; Bayer AG; aplikovaná dávka 8 L/ha), **PowerOf-K** (úč. l. K_2O 22 %, stopové živiny 0,08 %, rozpustný bór 0,001 %, rozpustný molybden; Mikrochem s.r.o.; aplikovaná dávka 10 L/ha). Jako kontrola sloužila neošetřená varianta.

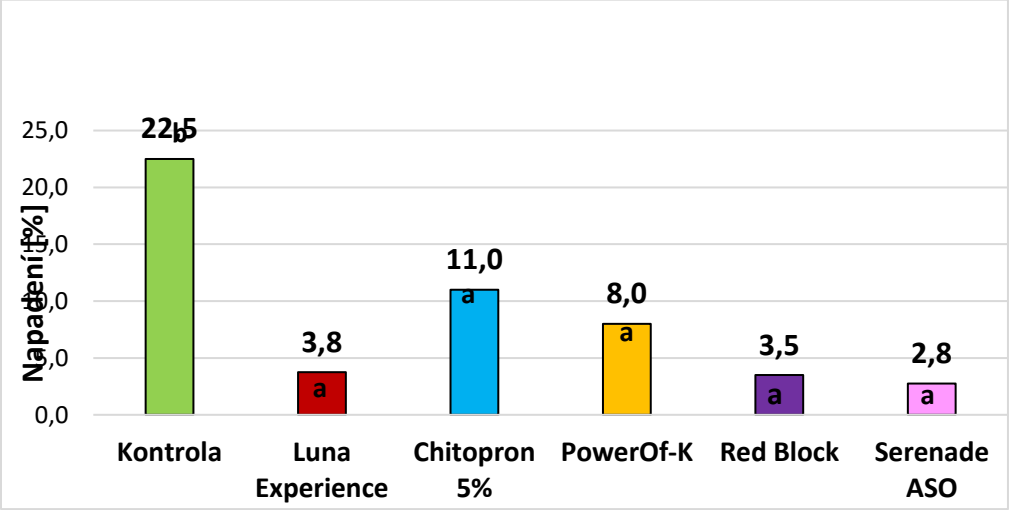
Metodika pokusu

Byl založen maloparcelkový pokus v experimentální výsadbě meruněk VŠÚO Holovousy s.r.o. na odrůdě ´Bergeron´. Přípravky byly aplikovány preventivně zádovým motorovým zádovým postřikovačem SOLO s podporou vzduchu, v objemu postřikové kapaliny 500 L/ha na celý strom, ve dvou termínech v intervalu 14 dní, poslední aplikace byla provedena týden před sklizní. Následně byla 48 hodin po poslední aplikaci provedena umělá infekce, tato delší doba byla zvolena z důvodu vyvolání obranné reakce rostliny, jelikož účinnost některých použitých přípravků je založena na tomto principu. Suspenze konidií houby *M. laxa* byla získána smyvem z mumifikovaných letošních plodů třešní, koncentrace inokula byla stanovena na 10 x 10^4 konidií v 1 ml. Inokulace byla provedena za oblačného odpoledne, aby byly vhodné podmínky pro vznik infekce. Na každou variantu byly ošetřeny 4 stromy, kdy jeden strom byl brán jako jedno opakování. V období sklizně byl vyhodnocen celkový počet 100 plodů na opakování a byl zaznamenán počet plodů napadených moniliovou hnilobou, celkem bylo vyhodnoceno 400 plodů ve variantě. Zdravé plody byly otrhány a ponechány ve skladovacích podmínkách při teplotě 2–3 °C a po 1 týdnu byl znovu vyhodnocen zdravotní stav plodů, celkem bylo vyhodnoceno 100 plodů na variantu. Získaná data z polního pokusu byla upravena pomocí Arcsin transformace a pro srovnání jednotlivých přípravků byla zvolena jednofaktorová ANOVA, podrobnější zhodnocení bylo provedeno pomocí Tukey HSD testu (α=0,05). Statistické hodnocení bylo provedeno v programu STATISTICA 10. Jedná se pouze o jednoletý pokus, pro získání robustnějších výsledných dat je vhodné pokus zopakovat v dalších vegetačních sezónách. V průběhu aplikace přípravků (15. a 29. 7. 2019) panovalo horké počasí s minimem srážek. Inokulace byla provedena 31. 7. 2019 a v následujícím týdnu přišly lehké srážky. Vyhodnocení polního pokusu a založení skladovacího pokusu bylo provedeno 8. 8. 2019.

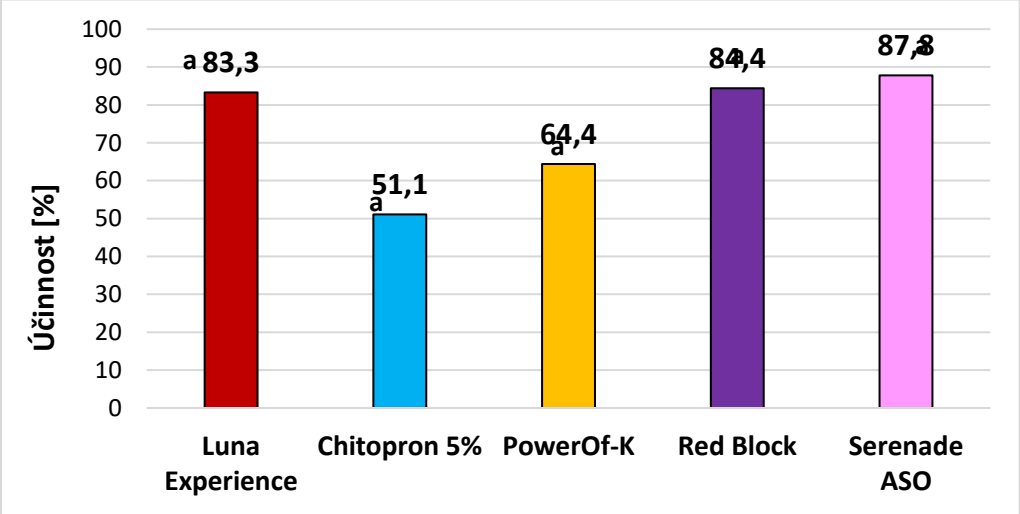
Výsledky a diskuze

Statistickou analýzou byly mezi jednotlivými variantami pokusu zjištěny průkazné rozdíly (p = 0,0000). Nejvyšší procento napadení plodů moniliovou hnilobou bylo zjištěno v kontrolní variantě a dosahovalo 22,5 %. Rozdíly mezi kontrolou a testovanými přípravky byly potvrzeny také statisticky. Vyšší napadení bylo zaznamenáno také ve variantě, která byla ošetřena přípravkem Chitopron 5% (11 %) a PowerOf-K (8 %). Naopak nejnižší výskyt moniliové hniloby byl zaznamenán ve variantě ošetřené přípravkem Serenade ASO a to 2,8 %. Statisticky průkazné rozdíly mezi jednotlivými přípravky ovšem zjištěny nebyly, viz graf 1. Účinnost testovaných přípravků proti moniliové hnilobě se statisticky nelišila (p = 0,0669) a pohybovala se v rozmezí od 50 do 88 %, viz graf 2. Po vyskladnění bylo opět vyhodnoceno napadení plodů moniliovou hnilobou, kdy nejvyšší napadení bylo zaznamenáno v neošetřené kontrole a to 24 % a vyšší napadení bylo ve variantě s přípravkem Chitopron 5% (15 %), u ostatních variant se napadení pohybovalo v rozmezí 2–5 % (Graf 3). Výsledky ze skladovacího pokusu, kopírují výsledky získané z polního pokusu, ale lze je považovat za orientační, jelikož byl hodnocen nižší počet plodů (100 ks/ varianta).

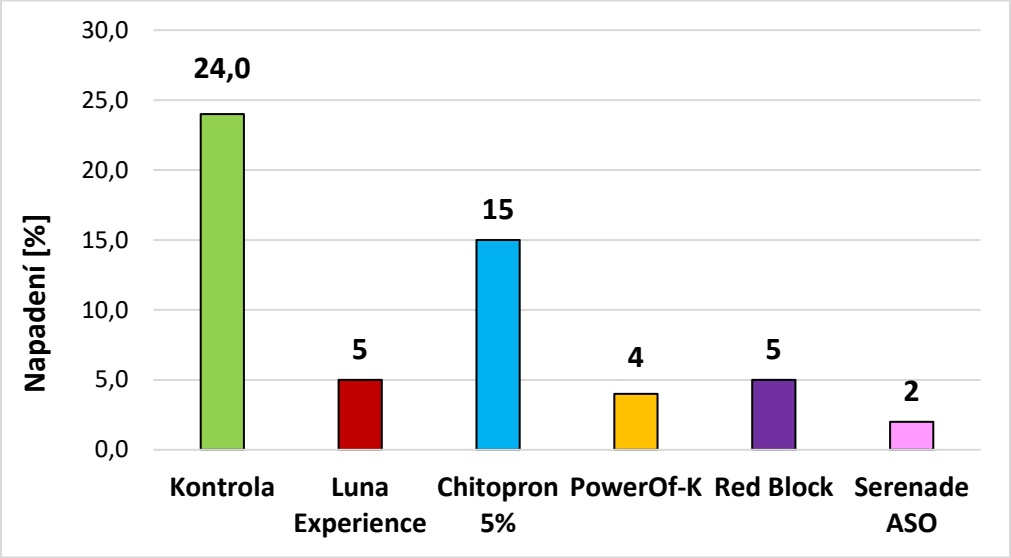
Graf 1: Napadení plodů meruněk moniliovou hnilobou, hodnocení při sklizni



Graf 2: Účinnost přípravků proti moniliové hnilobě plodů meruněk



Graf 3: Napadení plodů meruněk moniliovou hnilobou po 7 dnech skladování



V posledních letech se na trhu objevily nové možnosti ochrany proti houbovým chorobám ovoce, jako jsou přípravky, jejichž účinek je založen na principu bioagens - antagonistů, na látkách, které mají aktivovat obranný mechanismus rostliny, vedlejší účinnosti tekutých hnojiv či fungicidním nebo fungistatickém účinku mikrobiálních metabolitů, rostlinných extraktů, esenciálních olejů a dalších látek. Tyto preparáty v současné době nedosahují konzistentní účinnosti v polních podmínkách, jelikož jejich účinnost je ovlivněna bionomií patogenu, specifickou reakcí odrůdy, termínem aplikace, povětrnostními podmínkami (teplota, UV, vlhkost), aplikovaným kmenem/derivátem/formulací, pH, složením fylosféry, rezidui pesticidů na povrchu listu, z čehož vyplývá, že jejich účinnost je závislá na celém komplexu vztahů a podmínkách prostředí (Chet a Inbar, 1994). Bakterie jsou obecně méně tolerantní vůči nepříznivým podmínkám prostředí než kvasinky a vláknité houby, ačkoliv při dostatečné vlhkosti mohou některé bakterie jako *Pseudomonas* spp. a *Bacillus subtilis* být účinné v polních podmínkách proti nekrotrofním patogenům a skládkovým chorobám. Pro úspěšnou ochranu pomocí bioagens jsou vhodné týdenní aplikace, jelikož je pro jejich účinnost důležitá dostatečná kolonizace povrchu plodu. Pokud je kolonizace a schopnost přežití bioagens na povrch plodu vysoká, je přípravek perspektivní, aby ochránil plody před sklizní, ve skladovacích podmínkách až po vyskladnění (Ippolito a Nigro, 2000). Bakterie rodu *Bacillus* jsou více tolerantní k vyšším teplotám než k nižším teplotám, jelikož produkují endospory, které jsou vůči vysokým teplotám odolné. Tento fakt omezuje jejich využití při jarním ošetření za nízkých teplot a při posklizňové aplikaci (Rungjindamai et al., 2013). Hlavní mechanismus účinku *B. subtilis* spočívá v produkci bioaktivních lipopetptidů jako je iturin a fengycin, které inhibují růst patogenních hub. Různé izoláty *B. subtilis* s úspěchem snižují napadení *M. laxa* či *M. fructicola* u mnoha ovocných druhů (Altindag et al., 2006; Casals et al. 2010; Yanez-Mendizabal et al. 2012). Další látka - chitosan je derivátem chitinu, který je součástí buněčné stěny houbových patogenů a působí jako elicitor. Elicitory jsou látky, které zvyšují přirozenou odolnost rostlin vůči patogenům. Po jejich aplikaci dojde k nastartování obranných fyziologických reakcí rostliny, např. tvorbu kyseliny salicylové, jasmonové a dalších látek, které zvyšují odolnost rostliny proti napadení. Využití jedinečného potenciálu rostliny k boji proti patogenům by tak pomohlo snížit použití syntetických fungicidů a mohlo být možností pro alternativní, biologický a ekologický přístup

pro ochranu rostlin (Věchet, 2010). Předpokládá se, že další mechanismus účinku chitosanu souvisí s narušením buněčné membrány patogenu záporně nabitými makromolekulami látky, čímž dojde k jejímu zničení (Yang et al., 2012). Účinnost přípravků na bázi chitosanu testovali ve své práci Feliziani et al. (2012) proti moniliové hnilobě u třešní. V in vitro podmínkách byla účinnost chitosanu srovnatelná s účinnou látkou fenhexamid. V polních podmínkách aplikace chitosanu význačně snížila výskyt moniliové hniloby, kdy napadení v kontrole činilo 13,6 % a napadení ve variantě s chitosanem bylo 5 % u odrůdy ´Sweet Heart´, u odrůdy ´Blaze Star´ bylo napadení v kontrole vyšší 25 % a napadení ve variantě ošetřené chitosanem bylo 9,4 %. Ošetření chitosanem také snížilo napadení plodů broskví patogenem *M. fructicola* a chitosan efektivně inhiboval růst mycelia a klíčení spor v in vitro podmínkách (Yang et al., 2012).

Závěr

Výzvou výzkumu je nadále hledat nové eventuálně využitelné mikroorganismy a látky, lépe porozumět mechanismům účinku, interakcím mezi patogenem, antagonisty a hostitelskou rostlinou. Dostupné přípravky testovat v různých podmínkách a systémech ošetření aby se zvýšil potenciál těchto alternativních přípravků a mohly se tak stát se skutečnou alternativou k syntetickým fungicidům. Pro pěstitele nejen v ekologickém režimu, ale i například pro pěstitele produkující ovoce pro dětskou výživu lze doporučit přípravek Serenade ASO proti moniliniové hnilobě, avšak minimálně 2-3 aplikace v týdenním intervalu. Přípravky PowerOf-K a Chitopron 5% rovněž nezanechávají rezidua v plodech, na Slovensku jsou povoleny do ekologického zemědělství, a i když jejich účinnost byla v pokusu nižší lze je doporučit k předsklizňovému ošetření plodů. Jedná se o výsledky jednoletého pokusu, které bude nutné ověřit v dalších letech.

Dedikace

Práce byla realizována v rámci řešení projektu MZe ČR RO-1519.

Použitá literatura

Altindag, M., Sahin, M., Esitken, A., Ercisli, S., Guleryuz, M., Donmez,M. F. (2006): Biological control of brown rot (Monilinia laxa Ehr.) on apricot (Prunus armeniaca L. cv. Hacihaliloglu) by Bacillus, Burkholdria, and Pseudomonas application under in vitro and in vivo conditions. Biological Control. 38: 369-372.

Brent, K. J., Hollomon, D. W. (2007): Fungicide resistance in crop pathogens: how can it be managed? FRAC Monograph No. 1 (second, revised edition). Brussels: Published by Global Crop Protection Federation, 56pp.

Casals, C., Elmer, P. A. G., Vinas, I., Teixido, N., Sisquella,M., Usall, J. (2012): The combination of curing with either chitosan or Bacillus subtilis CPA-8 to control brown rot infections caused by Monilinia fructicola. Postharvest Biology and Technology. 64: 126-132.

Feliziani, E., Santini, M., Landi, L., Romanazzi, G. (2013): Pre and postharvest treatment with alternatives to synthetic fungicides to control postharvest decay of sweet cherry. Postharvest Biology & Technology. 78: 133-138.

Hluchý, M., Ackermann, P., Zacharda, M., Laštůvka, Z., Bagar, M., Jetmarová, E., Vanek, G., Szőke, L., Plíšek, B. (2008): Ochrana ovocných dřevin a révy v ekologické a integrované produkci. Biocont Laboratory, Brno. 498 s. ISBN: 978-80-901874-7-4.

Chet, I., Inbar, J. (1994): Biological control of fungal pathogens. Appl. Biochem. Biotechnol. 48(1): 37-43.

Ippolito, A., Nigro, F. (2000): Impact of preharvest application of biological control agents on postharvest diseases of fresh fruits and vegetables. Crop Protection. 19: 715-723.

Jones, A. L., Sutton T. B. (1996): Diseases of tree fruits in east. Michigan State University Extension. ISBN 1-56525-010-9.

Kloutvorová, J., Skalský, M., Lánský, M., Ouředníčková, J., Demelová, Š., Jaklová, P. (2015): Metodika ochrany peckovin proti houbovým chorobám a škůdcům. Certifikovaná metodika. Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o. ISBN 978-87030-45-5.

Yanez-Mendizabal, V., Zeriouh, H., Vinas, I., Torres, R., Usall, J., de Vicente, A. (2012): Biological control of peach brown rot (Monilinia spp.) by Bacillus subtilis CPA-8 is based on production of fengycin-like lipopeptides. European Journal of Plant Pathology. 132: 609-619.

Registr přípravků na ochranu rostlin. [online]. Ministerstvo zemědělství České republiky, ©2019 [cit. 2020-10-05]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?vyhledat=A&stamp=1423386315750.

Rungjindamai N., Xu X. M., Jeffreis P. (2013): Identification and characterisation of new microbilal antagonists for biocontrol of Monilinia laxa, the causal agent of brown rot on stone fruit. Agronomy. 3: 685-703.

Thomidis, T., Michailides, T., Exadaktylou, E. (2009): Contribution of pathogens to peach fruit rot in northern Greece and their sensitivity to iprodione, carbendazim, thiophanate-methyl and tebuconazole fungicides. J. Phytopathol. 157: 194-200.

Věchet, L. (2010): Biologická ochrana a indukovaná rezistence rostlin k chorobám a škůdcům. Seminář Biologická ochrana a indukovaná rezistence rostlin k chorobám a škůdcům. 4-8. VÚRV. Praha. ISBN: 978-80-7427-048-2.

Yang, L. Y., Zhang, J. L., Bassett, C. L., Meng, X. H. (2012): Difference between chitosan and oligochitosan in growth of Monilinia fructicola and control of brown rot in peach fruit. WT - Food Science and Technology. 46: 254-259.

Kontaktní adresa:

Ing. Pavlína Jaklová
VŠÚO Holovousy s.r.o.
Holovousy 129
Hořice 508 01
e-mail: pavlina.jaklova@vsuo.cz

CITLIVOST VYBRANÝCH ODRŮD BRAMBORU K PATOGENU *PECTOBACTERIUM CAROTOVORUM* SUBSP. *CAROTOVORUM*

Sensitivity of selected potato cultivars to pathogen *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*

Kmoch M.[1], Binderová D.[1], Vacek J.[1], Kopačka V.[2]

[1]*Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.*

[2]*Vesa Velhartice a.s.*

Abstrakt

Brambory mohou být napadány celou řadou patogenních bakterií. Mezi celosvětově nejrozšířenější a nejvýznamnější patří *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Pcc*) způsobující měkkou hnilobu hlíz. Za vhodných podmínek působí závažné hospodářské škody. Cílem experimentů bylo zjištění citlivosti vybraného sortimentu českých odrůd bramboru k bakterii *Pcc* pomocí umělé inokulace hlíz. Z výsledků statistického vyhodnocení vyplývá, že mezi některými odrůdami byly zjištěny významné rozdíly v citlivosti k *Pcc*. Ve sledovaném sortimentu odrůd bramboru nebyly nalezeny žádné odolné (tolerantní) odrůdy. Informace o citlivosti genotypů bramboru k *Pcc* jsou významné nejen pro výběr vhodné odrůdy pro pěstování, ale i při šlechtění brambor na odolnost.

Klíčová slova: *Solanum tuberosum*, bakterie, měkká hniloba.

Abstract

Potatoes can be attacked by a variety of pathogenic bacteria. *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* (*Pcc*) is one of the most widespread and most important in the world. The bacteria causes soft rot of the potato tubers and serious economic looses under favorable environmental conditions. The aim of this experiment was to determine the sensitivity of Czech potato varieties of a selected assortment to *Pcc* by inoculation of potato tubers. Under statistical evaluation of infection of potato genotypes by *Pcc*, the results show significant differences in susceptibility to *Pcc*. No resistant (tolerant) varieties were found in the selected assortment of potato varieties. Susceptibility testing of potato genotypes to *Pcc* is important for selecting a suitable variety for cultivation and also for breeding to resistant potato.

Key words: *Solanum tuberosum*, bacteria, soft rot.

Úvod

Brambory (*Solanum tuberosum* L.) jsou významnou zemědělskou plodinou. Mohou být napadány mnoha patogeny (Lebecka *et al*., 2018). Pravděpodobně nejzávažnějšími škodlivými organismy, které ovlivňují produkci brambor po celém světě, jsou bakterie rodu *Pectobacterium* (čeleď *Enterobacteriaceae*) [Salem *et* El-Shafea, 2018; Skelsey *et al.,* 2018], které jsou gramnegativní, fakultativně anaerobní, nesporulující, tyčinkovitého tvaru (Buttimer *et al*., 2018). Jedním z nejvýznamnějších druhů tohoto rodu je *Pectobacterium carotovorum,* charakteristické produkcí enzymů degradujících rostlinná pletiva Muturi *et al.,* 2019). Za maceraci rostlinných pletiv a vývoj infekce jsou zodpovědné enzymy, které patogen vylučuje a které degradují buněčné stěny rostlin. Jedná se především o pektát lyázu, polygalakturonázu, proteázu a celulázu (Hajian-Maleki *et al.,* 2019). *Pectobacterium carotovorum* způsobuje onemocnění bakteriální měkkou hnilobu a bakteriální černání stonku bramboru, tzv. „černou nohu“. Infekce může vzniknout během vegetace, sklizně, manipulace a přepravy brambor, či během skladování, což má za následek značné snížení výnosů, špatnou kvalitu produkce a

ekonomické ztráty (Muturi *et al.*, 2019). Nejběžnějším původcem bakteriální měkké hniloby s širokým spektrem hostitelských rostlin v tropických a subtropických oblastech je bakterie *P. carotovorum* subsp. *carotovorum.* Napadá různé druhy zeleniny, jako jsou brambory, mrkev, zelí nebo salát. Každoročně působí vysoké finanční ztráty (Khlaif *et* Wreikat, 2018; Zaczek-Moczydłowska *et al*., 2019). Bakterie je schopna přežít v půdě a infikovaných rostlinných zbytcích déle než jeden rok. Přetrvává v povrchové vodě, na strojích a boxech. Šíření a infekce patogenu je obvykle urychleno v anaerobních podmínkách a při vyšších teplotách. Důležitou roli v infekci hraje vlhkost půdy. Nízká vlhkost půdy redukuje výskyt a šíření patogenu (Kado, 2010; Hajian-Maleki *et al.,* 2019). Bakterie infikuje hlízy přirozenou cestou otvory, tj. lenticelami a ránami (Stewart *et al*. 1994).
Cílem experimentů bylo zjištění citlivosti vybraného sortimentu českých odrůd bramboru k bakterii *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* pomocí umělé inokulace hlíz.

Materiál a Metody
Do pokusů bylo zařazeno 17 vybraných genotypů současného českého sortimentu brambor ('Alice', 'Bella', 'Bohemia', 'David', 'Dominika', 'Jasmina', 'Jindra', 'Katy', 'Magda', 'Mariannka', 'Monika', 'Primarosa', 'Red Anna', 'Suzan', 'Verne', 'Vysočina', 'Westamyl'). Hlízy byly omyty vodou, rozkrájeny na plátky o tloušťce 10 mm a vyrovnány do uzavíratelných boxů z PVC. Do jednoho boxu bylo uloženo na vlhký filtrační papír (nasycený 200 ml vody) 4 × 10 plátků hlíz od každé odrůdy. Pokusy byly provedeny na dvou stanovištích, tj. VÚB Havlíčkův Brod, s.r.o. a Vesa Velhartice a.s. Plátky hlíz byly infikovány kotoučky filtračního papíru (průměr 0,8 cm) nasycenými v bakteriální suspenzi bezprostředně po nakrájení. K infekci byla použita suspenze bakterie *Pcc* vysoce patogenního kmenu CPPB-201 o hustotě 500 tisíc jednotek na 1 ml pocházející ze Sbírky patogenních bakterií VÚRV Praha. Potom byly boxy uzavřeny a uloženy při teplotě 18–20 °C. Citlivost jednotlivých odrůd byla hodnocena třetí den po infekci (obr. 2) podle bonitační stupnice 9–1 (obr. 1). Potom bylo provedeno statistické vyhodnocení pokusu (program UNISTAT).

Bonitační stupnice
0 – nenapadeno
8 – napadeno méně než 1/6 hmoty plátku
7 –
6- napadena 1/3 hmoty plátku
5 –
4 napadena ½ hmoty plátku
3 –
2 napadeny ¾ hmoty plátku
1 napadeny více než ¾ hmoty plátku

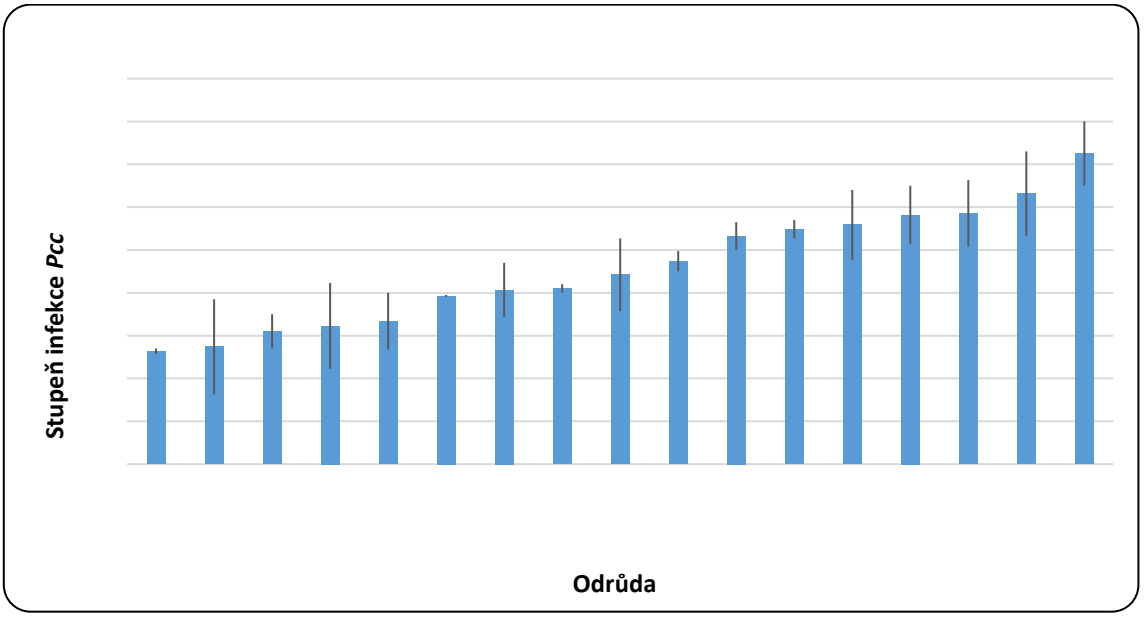
Výsledky a diskuze
V laboratorních experimentech byla testována citlivost vybraných českých odrůd bramboru k bakterii *Pcc* pomocí umělé inokulace hlíz. Z výsledků statistického vyhodnocení infekce genotypů bramboru bakterií *Pcc* (Obr. 3) vyplývá, že mezi některými odrůdami byly zjištěny významné rozdíly v citlivosti k *Pcc*. Ve sledovaném sortimentu nebyly nalezeny žádné odolné (tolerantní) odrůdy, což se plně shoduje s pokusy, které provedl Dobiáš (1968), který testoval odolnost 500 odrůd světového sortimentu k *Pcc*. Přestože byly nalezeny druhy planých brambor vykazující odolnost k *Pcc*, komerční odrůdy vykazují různé úrovně tolerance proti *Pectobacterium* spp, ale neexistuje odrůda rezistentní (Chung *et al.*, 2013; Gerayeli *et al.*, 2017; Buttimer *et al*., 2018). Mezi odrůdy částečně odolné (tolerantní) patřily 'Vysočina' a 'Magda'.

Odrůdy náchylné byly 'Westamyl', 'Suzan', 'Katy', 'David', 'Mariannka' a 'Bella'. Mezi odrůdy silně náchylné patřily 'Jindra', 'Bohemia', 'Verne', 'Alice', 'Monika', 'Primarosa' a 'Dominika'. Odrůdy 'Jasmina' a 'Red Anna' byly velmi silně náchylné k infekci *Pcc*. Vzhledem k tomu, že faktory ovlivňující odolnost vůči měkké hnilobě mezi sebou interagují velmi složitým způsobem v závislosti na genetickém pozadí každé odrůdy, není možné předpovědět odolnost odrůdy vůči *Pcc* bez provedení testu rezistence (Chung *et al.*, 2013; Gerayeli *et al.*, 2017; Buttimer *et al.*, 2018).

Obr. 1 Vyhodnocení citlivosti odrůd k *Pcc* (stupnice napadení)

Obr. 2 Vyhodnocení citlivosti odrůd k *Pcc*

Obr. 3 Průměrná citlivost jednotlivých odrůd bramboru k *P. carotovorum* subsp. *carotovorum*



Závěr

V laboratorních pokusech byla otestována citlivost vybraných českých odrůd bramboru k bakterii *P. carotovorum* subsp. *carotovorum* pomocí metody infekce plátků hlíz kotoučky filtračního papíru nasycenými suspenzí bakterií. Z výsledků vyplývá, že mezi některými odrůdami byly zjištěny významné rozdíly v citlivosti k *Pcc*. Ve sledovaném sortimentu odrůd

bramboru nebyly nalezeny žádné odolné (tolerantní) odrůdy, pouze některé odrůdy byly částečně odolné (tolerantní). Informace o citlivosti genotypů bramboru k *Pcc* jsou významné nejen pro výběr vhodné odrůdy pro pěstování, ale i při šlechtění brambor na odolnost (toleranci).

Dedikace

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu NAZV QK1910028 „Biologická ochrana brambor proti vybraným patogenním bakteriím“

Použitá literatura

Buttimer, C., Hendrix, H., Lucid, A., Neve, H., Noben, J. P., Franz, Ch., O´Mahony, J., Lavigne, R., Coffey, A. 2018. Novel N4-Like Bacteriophages of Pectobacterium atrosepticum. Pharmaceuticals. 11 (45).

Dobiáš, K. 1968. Rezistence odrůd světového sortimentu brambor proti mokré hnilobě hlíz. Genetika a šlechtění, 4, 2 (XLI): 139-146.

Gerayeli, N., Baghaee-Ravari, S., Tarigh, S. 2017. Evaluation of the antagonistic potential of Bacillus strains against Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum and their role in the induction of resistance to potato soft rot infection. European Journal of Plant Pathology 150(11). 1-15.

Hajian-Maleki, H., Baghaee-Rayari, S., Moghaddam, M. 2019. Efficiency of essential oils against Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum causing potato soft rot and their possible application as coatings in storage. Postharvest Biology and Technology. 156. 1-15.

Chung, Y.S., Goeser, N. J., Cai, X., Jansky, S. 2013. The Effect of Long Term Storage on Bacterial Soft Rot Resistance in Potato. American Journal of Potato Research. 90. 351-356.

Kado, C.I. 2010. Plant Bacteriology. St. Paul, Minnesota U.S.A.: The American Phytopathological Society. 336 pp. ISBN: 978-0-89054-503-4

Khlaif, H., Wreikat, B. I. 2018. The Relationship of Potato Bacterial Soft Rot Disease with Reduced Sugar Content of Potato Tubers and Calcium. Jordan Journal of Agricultural Sciences. 14 (1). 81-90.

Lebecka, R., Flis, B., Murawska, Z. 2018. Comparison of temperature effects on the in vitro growth and disease development in potato tubers inoculated with bacteria Pectobacterium atrosepticum, P carotovorum subsp. carotovorum and Dickeya solani. Journal of Phytopathology. 166 (9). 1-9.

Muturi, P., Yu, J., Maina, A. N., Kariuki, S., Mwaura, F. B., Wei, H. 2019. Bacteriophages Isolated in China for the Control of Pectobacterium carotovorum Causing Potato Soft Rot in Kenya. Virologica Sinica. 34 (3). 287-294.

Salem, E. A., El-Shafea, Y. M. A. 2018. Biological control of potato soft rot caused by Erwinia carotovora subsp. carotovora. Egyptian Journal of Biological Pest Control. 28 (94). 1-5.

Skelsey, P., Humphris, S. N., Calmpbell, E. J., Toth, I. K. 2018. Threat of establishment of non-indigenous potato blackleg and tuber soft rot pathogens in Great Britain under climate change. PLoS ONE. 13(10). 1-18.

Stewart, H.E., J.E. Bradshaw, and R.L. Wastie. 1994. Correlation between resistance to late blight in foliage and tubers in potato clones from parents of contrasting resistance. Potato Research 37: 429–434.

Zaczek-Moczydlowska, M., Fleming, C. C., Young, G. K., Campbell, K., O´Hanlon, R. 2019. Pectobacterium and Dickeya species detected in vegetables in Northern Ireland. European Journal of Plant Pathology. 154 (3). 635-647.

Kontaktní adresa:

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

MOŽNOSTI OCHRANY LESKNICE KANÁRSKÉ (PHALARIS CANARIENSIS L.) PROTI KOHOUTKŮM (CHRYSOMELIDAE)

Possibilities of protection of canary grass (*Phalaris canariensis* L.) against Chrysomelidae

Kolařík, P.

Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko

Abstrakt

V letech 2018-2019 byla v maloparcelních polních pokusech s lesknicí kanárskou (*Phalaris canariensis* L.) ověřována účinnost perspektivních insekticidních přípravků proti larvám kohoutků rodu *Oulema*. Účinnost jednotlivých pokusných variant byla vyhodnocována na základě počtu larev zjišťovaných na listech lesknice. Zkoušené přípravky vykazovaly dobrou účinnost v obou letech testování. Při hodnocení nebyly zjištěny projevy fytotoxicity na rostlinách.

Klíčová slova: ochrana rostlin, lesknice kanárská, kohoutci rodu *Oulema*, Movento 150 OD, Mospilan 20 SL, flupyradifuron

Abstract

In the years 2018-2019, were tested the effectiveness of perspective insecticidal products against the larvae of *Oulema* spp. The efficacy of the individual experimental variants was evaluated on the basis of the number of larvae found on the leaves of the pollinator. The test preparations showed good efficacy in both years of testing. No phytotoxicity was observed on plants.

Keyword: plant protection, canary grass, *Oulema* beetle, Movento 150 OD, Mospilan 20 SL, flupyradifuron

Úvod

Mezi hlavní hmyzí škůdce lesknice kanárské (*Phalaris canariensis* L.) patří kohoutek modrý (*Oulema galleciana*) a kohoutek černý (*Oulema melanopus*) a také několik druhů mšic - kyjatka osenní (*Sitobion avenae*), mšice střemchová (*Rhopalosiphum padi*) a kyjatka travní (*Metopolophium dirhodum*) (Rotrekl, 2000; Kolařík a kol., 2016).

Oba druhy kohoutků způsobují na rostlinách stejný typ poškození. Dospělci i larvy vykousávají mezi listovými žebry podélné úzké pruhy. Po žíru brouků je porušena svrchní i dolní pokožka, po žíru larev zůstává dolní pokožka listů neporušena. Následkem toho je omezena asimilace a v rostlinách dochází ke ztrátě vody. Listy žloutnou, vadnou a následně odumírají. V porostu jsou zřetelně viditelné larvy různých velikostí, které jsou obalené černým slizem a zbytky trusu. Předpokladem pro jejich zvýšený výskyt a s tím spojenou zvýšenou škodlivost je teplé a suché jaro. Jarní obilniny bývají v porovnání s ozimými obilovinami k napadení citlivější. Rostliny vlivem žíru mohou špatně metat a z důvodu ztráty listové plochy či usychání listu předčasně dozrávají. Vedle absolutního snížení výnosu dochází již při středních stupních výskytu larev na listech ke snížení hmotnosti tisíce zrn a také ke snížení kvality zrna. Ve velmi vysoké míře se tento škůdce vyskytuje také třeba i v porostech kukuřice seté (Kolařík a kol., 2017).

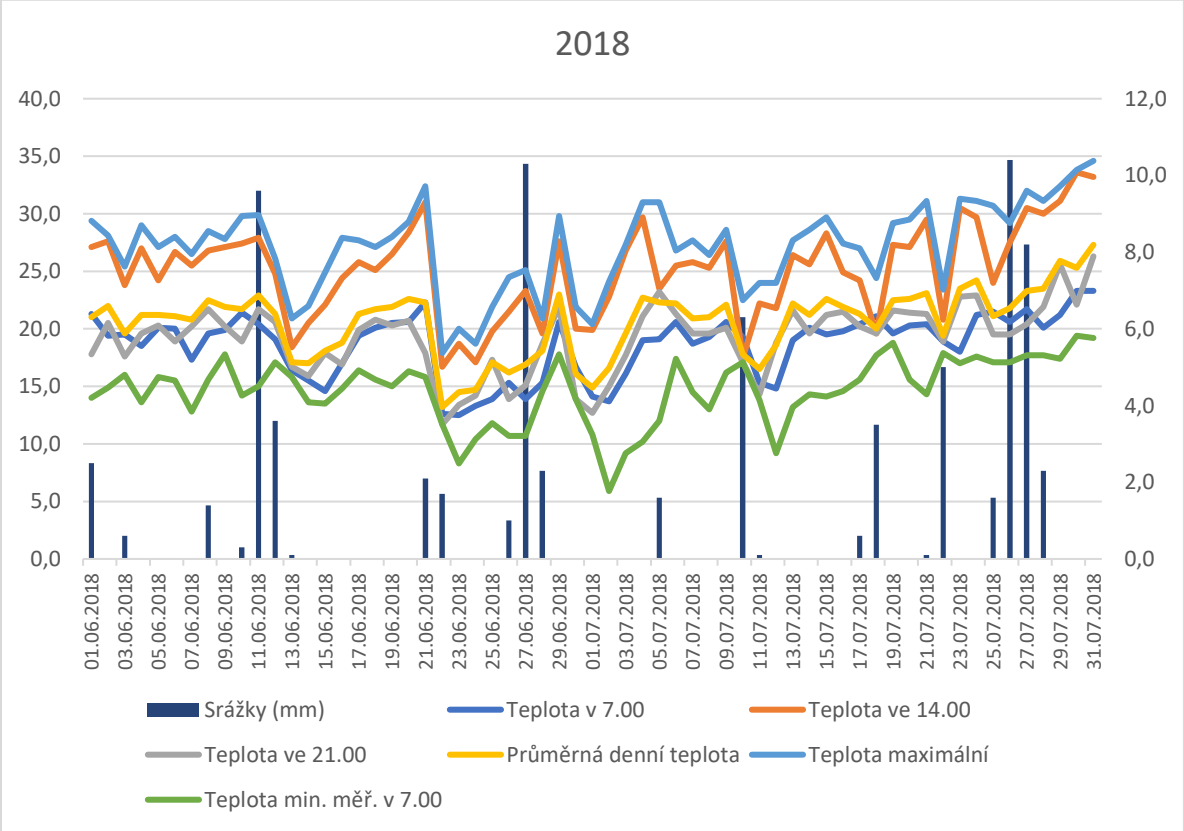
Monitoring výskytu kohoutků pro potřeby indikace ošetření a pro stanovení termínu ošetření se provádí dle stavu vývoje porostu, tj. obvykle během měsíců května a června – zaznamenávají se počty larev, resp. výskyt dospělců na listech a stéblech. Na základě těchto údajů se následně vypočte průměrný počet larev na jednu odnož. Prahy škodlivosti pro lesknici kanárskou nejsou stanoveny. Jsou dány pro jiné obiloviny (Pšenice setá, Ječmen obecný). Zde jsou uváděny podle

jejich průměrné početnosti na odnož a můžeme tak charakterizovat stupně výskytu: slabý výskyt - méně než 0,4 larev; vajíček/odnož; střední výskyt - od 0,4 do 0,7 larev; vajíček/odnož a silný výskyt - nad 0,7 larev; vajíček/odnož. V případě dosažení kritických čísel pak lze zvolit dostupné metody ochrany (Anonymus, 2019; Kolařík a kol., 2019; Rotrekl, 2000).
Tento příspěvek přináší dvouleté výsledky testování vybraných moderních insekticidních přípravků proti larvám kohoutků rodu *Oulema*.

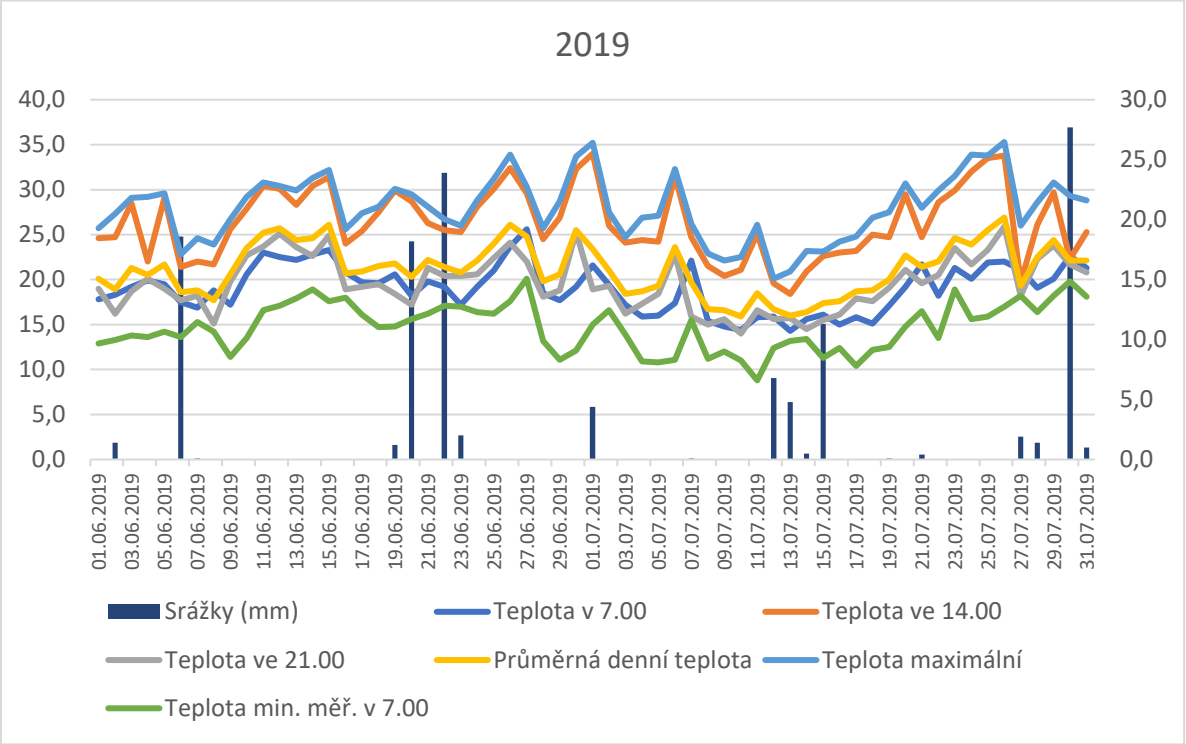
Materiál a metody

V letech 2018 a 2019 byl založen na lokalitě Troubsko polní pokus s cílem ověřit účinnost vybraných insekticidních přípravků proti kohoutkům - kohoutek modrý, kohoutek černý. Pokus se skládal z neošetřené kontrolní varianty 1 a variant s testovanými insekticidními přípravky – varianta 2 - Mospilan 20 SL (ú.l. acetamiprid) v dávce 0,35 l/ha, varianta 3 - Movento 150 OD (ú.l. spirotetramat) v dávce 0,45 l/ha a 0,75 l/ha (varianta 4) a varianta 5 - Sivanto prime (ú.l. flupyradifuron) v dávce 0,187 l/ha. Velikost jednotlivých parcel byla 1,25 m x 10 m tj. 12,5 m^2. Bylo použito úplné znáhodnění jednotlivých variant ve čtyřech opakováních. Vlastní termín aplikace insekticidních přípravků byl stanoven na základě signalizace dle výskytu dospělců a následně i larev v porostu. V roce 2018 byl v termínu 25.6. a v roce 2019 pak 14.6. Před vlastní aplikací přípravků proběhlo hodnocení výskytu – počet larev na 25 rostlin/parcelu. Povětrnostní podmínky v průběhu pokusu vyjadřuje Graf 1 a Graf2. Data získány z meteorologické stanice Troubsko, která je součástí měřících stanic ČHMI.

Graf 1 – Průběh povětrnostních podmínek červen – červenec – lokalita Troubsko 2018



Graf 2 – Průběh povětrnostních podmínek červen – červenec – lokalita Troubsko 2018



Jednotlivá následná hodnocení byla prováděna v předem stanovených termínech (1-3, 4, 7-9 a 10 dní po aplikaci) dle stejné metodiky jako před aplikací. V těchto termínech bylo prováděno také hodnocení fytotoxicity použitých insekticidních přípravků. Byl hodnocen průměrný výnos z jednotlivých testovaných variant, přepočtený na t/ha a procentické stanovení (%REL) vůči neošetřené kontrole.
Získané výsledky byly podrobeny statistické analýze pomocí programu UPAV GEP (Uspořádání pokusu a analýza výsledků, Good experimental practice), version: 1.71 (2009-01-27) (ANOVA, následné testování dle Tukeye).

Výsledky a diskuze

Z výsledků je patrné, že v roce 2018 (tabulka 1) byla před aplikací přípravků zjištěna průměrná početnost larev kohoutků pohybující se v rozmezí od 0,6 do 1,17 larev/rostlinu. Nejvíce larev kohoutků bylo 1. den po aplikaci přípravků zjištěno na neošetřené kontrolní variantě (0,52 larev/rostlinu), nejméně pak na variantě s přípravkem Mospilan 20 SL (0,03 larev/rostlinu) a Sivanto prime (0,04 larev/rostlinu). U přípravku Movento 150 OD byl zaznamenán pozvolný pokles v početnosti v porovnání s ostatními ošetřenými variantami. Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi neošetřenou kontrolou a ošetřenými variantami (F = 26,870). V dalším termínu hodnocení (4. den - z důvodů nepříznivých povětrnostních podmínek – výskyt srážek v předchozím období) nebyly na žádné z ošetřených variant zjištěny živé larvy kohoutků. Biologická účinnost tak byla 100 %. Na neošetřené kontrolní variantě došlo ke snížení početnosti larev (0,11 larev/rostlinu) v porovnání s předchozím termínem hodnocení. Mezi neošetřenou kontrolou a ošetřenými variantami byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl (F = 36,790). V posledním termínu hodnocení bylo nejméně larev zjištěno na variantě s přípravkem Movento 150 OD v dávce 0,75 l/ha (0,05 larev/rostlinu). Zároveň zde byla zjištěna nejvyšší biologická účinnost (87,2 %). Nejvíce larev pak bylo zaznamenáno na neošetřené kontrolní

variantě – 0,39 larev/rostlinu. Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi neošetřenou kontrolou a ošetřenými variantami (F = 29,815).

Při hodnocení výnosu byl z důvodů výskytu extrémních povětrnostních podmínek v daném roce (sucho, velmi vysoké teploty) zjištěn nižší průměrný výnos na všech pokusných variantách pohybující se v rozmezí od 0,33 t/ha (varianta 1) do 0,49 t/ha (varianta 5). Zvýšení výnosu v porovnání s neošetřenou kontrolou tak představovalo od 16,9 % do 49,8 %). Zároveň ale nebyl mezi jednotlivými variantami zjištěn průkazný statistický rozdíl (F = 0,758).

Tab. 1: Výskyt a biologická účinnost použitých insekticidů na kohoutky r. *Oulema* na lesknici kanárské v Troubsku v roce 2018

Varianta	Průměrný počet larev kohoutků na jednu rostlinu				biologická účinnost (v %)			výnos		
	25.6.	26.6.	29.6.	2.7.	26.6.	29.6.	2.7.	průměrný výnos (kg/parc.)	výnos (t/ha)	%REL
kontrola	1,03a	0,52a	0,11a	0,39a	*	*	*	0,41a	0,33	100
Mospilan 20 SL	0,6a	0,03b	0b	0,11b	94,23	100	71,79	0,50a	0,40	122,96
Movento 150 OD	0,81a	0,11b	0b	0,11b	78,85	100	71,79	0,58a	0,46	143,05
Movento 150 OD	0,95a	0,13b	0b	0,05b	75,0	100	87,18	0,47a	0,38	116,9
Sivanto prime	1,17a	0,04b	0b	0,12b	92,31	100	69,23	0,61a	0,49	149,78

V roce 2019 bylo na základě signalizace provedeno ošetření dne 14. června. Na všech testovaných variantách bylo v průměru zjištěno na jednu rostlinu od 1,77 do 2,22 larev kohoutků rodu *Oulema*. Třetí den po aplikaci (17.6.) bylo nejvíce larev zaznamenáno na neošetřené kontrolní variantě – v průměru 4,91 larev/rostlinu. U ošetřených variant se průměrná početnost pohybovala v rozmezí od 0 (varianta 2) do 2,08 larev/rostlinu (varianty 3 a 4). Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi neošetřenou kontrolou a ošetřenými variantami, zároveň také mezi variantou 2 a ostatními ošetřenými variantami (F = 21,952). Vysoká biologická účinnost byla zjištěna především u varianty 5 (84,93 %) a 2 (100 %). Při hodnocení 7. den po aplikaci klesl počet zjištěných larev na neošetřené kontrole (1,62 larev/rostlinu), zároveň byl ale stále velmi vysoký v porovnání s ostatními (ošetřenými) variantami. Bylo to především z důvodů velmi vysoké početnosti v minulém termínu sledování a s tím spojené vysoké ztráty listové plochy na kontrolní variantě. U ošetřených variant se průměrná početnost pohybovala od 0 (varianta 2) do 0,91 larev/rostlinu (varianta 4). Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl při porovnání varianty 2 a ostatních ošetřených variant (F = 22,204). V posledním termínu hodnocení (24.6.) byl průměrný počet larev na neošetřené kontrole 0,67 larev/rostlinu. Biologická účinnost se u jednotlivých ošetřených variant v tomto termínu hodnocení pohybovala od 59,7 % (varianty 4 a 5) do 95,52 % (varianta 2).

Při výnosovém hodnocení bylo v roce 2019 zjištěno, že nejvyššího průměrného výnosu bylo dosaženo na variantě 2 (0,89 t/ha), nejnižšího pak na variantě 1 (0,64 t/ha). Při porovnání s neošetřenou kontrolou tak vlivem aplikace proti kohoutkům došlo ke zvýšení výnosu

v rozmezí od 9,03 % do 37,8 %, tj. od 60 kg do 250 kg/ha Zároveň byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi neošetřenou kontrolou a ošetřenou variantou 2 (F= 4,703). Uvedené výsledky uvádí tabulka 2.

Tab. 2: Výskyt a biologická účinnost použitých insekticidů na kohoutky r. *Oulema* na lesknici kanárské v Troubsku v roce 2019

Varianta	Průměrný počet larev kohoutků na jednu rostlinu				biologická účinnost (v %)			výnos		
	12.6.	17.6.	21.6.	24.6.	17.6.	21.6.	24.6.	průměrný výnos (kg/parc.)	výnos (t/ha)	%REL
kontrola	1,77a	4,91a	1,62a	0,67a	*	*	*	0,81b	0,64	100
Mospilan 20 SL	1,98a	0c	0c	0,03b	100	100	95,52	1,11a	0,89	137,75
Movento 150 OD	2,09a	2,08b	0,86b	0,24ab	57,64	46,91	64,18	0,88ab	0,70	109,03
Movento 150 OD	2,22a	2,08b	0,91ab	0,27ab	57,64	43,83	59,7	0,93ab	0,74	114,82
Sivanto prime	1,98a	0,74bc	0,67b	0,27ab	84,93	58,64	59,7	0,98ab	0,79	122,02

Lesknice kanárská je nenáročná plodina na pěstování. Její využití spočívá především jako meziplodina, lze ji ale využít také pro zrno, které se zkrmuje drůbeži či jako ptačí zob pro exotické ptactvo (Kolařík a kol., 2017). Z hlediska ochrany je nutno především u semenných porostů sledovat výskyt hmyzích škůdců, které mohou způsobit škody na rostlinách a s tím spojené snížení výnosu. Kohoutek modrý (*Oulema galleciana*) a kohoutek černý (*Oulema melanopus*) se řadí mezi významné škůdce obilovin, kteří způsobují významné ztráty asimilační plochy v podobě žíru larev na listech (Rotrekl, 2000). V rámci ochrany proti nim lze při překročení jejich prahu škodlivosti použít registrovaný insekticidní přípravek Decis forte (ú.l. deltamethrin) v dávce 0,0625 l/ha (Anonymus, 2019).

Aplikací všech testovaných přípravků došlo k prokazatelnému snížení početnosti larev v porovnání s neošetřenou kontrolní variantou. U přípravků Mospilan 20 SL a Sivanto prime bylo snížení početnosti sledováno již následný termín hodnocení po jejich aplikaci. Biologická účinnost se pak pohybovala v jednotlivých termínech sledování v rozmezí od 59,7 % do 100 %. Vlivem systemického působení přípravku Movento 150 OD v obou testovaných dávkách se jeho účinnost v roce plně projevila až v pozdějších termínech hodnocení po aplikaci, kdy byla početnost larev potlačena pod 0,3 larev kohoutků/odnož. Zároveň nebyly ani v jednom termínu sledování zjištěny příznaky fytotoxicity na rostlinách u zkoušených přípravků.

Závěr

Z výsledků testování přípravků lze konstatovat jejich dobrou biologickou účinnost proti larvám kohoutků rodu *Oulema*. Při sledování vlivu aplikace na početnost larev byl zjištěn staticky průkazný rozdíl v porovnání s neošetřenou kontrolní variantou v obou letech sledování. Minimalizací jejich počtu došlo v roce 2019 k navýšení průměrného hektarového výnosu v porovnání s kontrolní variantou v rozmezí od 9,03 % do 37,8 %, tj. od 60 kg do 250 kg.

Zároveň nebyly zjištěny v porostech žádné negativní projevy na rostlinách v obou letech sledování.

Dedikace
Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1719

Literatura

Anonymus (2019): Prahy škodlivosti
Dostupné z: http://eagri.cz/public/app/srs_pub/fytoportal/public/?key=%228fdad2df38799d608113b175ea02b893%22#ior|met:8fdad2df38799d608113b175ea02b893|kap1:skudci|kap:1d717fd390a3896993e5fa66fb1a3ea4 [online] [11.10.2019]
Anonymus (2019): Registr přípravků na ochranu rostlin
Dostupné z:
http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx [online] [11.10.2019]
Kolařík, P., Kolaříková K. (2019): Ochrana lesknice kanárské proti vyskytujícím se hmyzím škůdcům, Agromanuál roč. 14, č.6, s. 50-51
Kolařík, P., Rotrekl, J., Kolaříková, K. (2017): Hmyzí škůdci lesknice kanárské a ochrana proti nim, Agromanuál roč. 12, č.6, s. 36-37
Kolařík P., Rotrekl J. (2016) Možnosti ochrana lesknice kanárské proti hmyzím škůdcům, Agromanuál, roč. 11, č. 7, s 44-45
Rotrekl, J. (2000): Zemědělská entomologie. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 84s.

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Kolařík
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
664 41 Troubsko, Zahradní 1
e-mail: kolarik@vupt.cz

IN VITRO TESTY ÚČINNOSTI FUNGICIDŮ PROTI *CYTOSPORA* SPP.In vitro efficacy tests of fungicides against *Cytospora* spp.

Kracíková M. [1], Jaklová P.[1]

[1]*Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.*

Abstrakt

Byl sledován vliv vybraných komerčních fungicidů na růst kolonií patogena rodu *Cytospora* spp. Pomocí metody in vitro testů na agarových plotnách s přídavkem fungicidu. Pro každou variantu fungicidu a izolát houby byla provedena 3 biologická opakování po 5 miskách. Celkem bylo testováno 6 izolátů *C. cincta*, 1 izolát *Cytospora* spp. a 1 izolát *C. leucostoma*. Po 7 dnech inkubace byl vyhodnocen růst kolonií. Z testů vyplývá, že jako nejúčinnější se jeví přípravek Horizon 250 EW (úč. l. tebukonazol) kombinovaný přípravek Luna Experience (úč. l. tebukonazol a fluopyram). Naopak nejnižší účinnost vykazoval přípravek Luna Privilege obsahující pouze fluopyram.

Klíčová slova: ochrana rostlin, *Cytospora cincta*, předčasné odumírání meruněk, in vitro testy

Abstract

The influence of selected commercial fungicides on the growth of colonies of the pathogen *Cytospora* ssp. was investigated using the *in vitro* test on agar plates with addition of fungicide. For each variant, 3 biological replicates of 5 plates were performed. A total of 6 isolates of *C. cincta*, 1 isolate of *Cytospora* spp. and 1 isolate of *C. leucostoma* were tested. Colony growth was evaluated after 7 days of incubation. Tests have shown that the most effective composition appears to be 250 Horizon EW (tebuconazole), and the combined product Luna Experience (tebuconazole and fluopyram). In contrast, Luna Privilege containing only fluopyram showed the lowest efficacy.

Key words: plant protection, *Cytospora cincta*, apoplexy of apricots, in vitro tests

Úvod

Rod Cytospora spp. byl objeven v roce 1818, zahrnuje endofytické houby izolované z kůry, xylému a listů asymptomatických dřevin (Spielman, 1983; Bills, 1996), saprofytické houby, které kolonizují a degradují dřevo mrtvých, odumírajících stromů (Christensen, 1940) a rostlinné patogeny (známé jako *Cytospora, Leucostoma, Valsa*), které způsobují kancerózu u více než 85 druhů dřevin (Sinclair et al., 1987; Adams et al., 2005, 2006; Lawrence, 2017). Roční ztráty meruněk se pohybují v průměru mezi 2-7 % v Česku a na Slovensku. Významné jsou i ekonomické náklady vynakládané v boji s chorobou. Analýzy chorob meruněk ukázaly, že *C. cincta* byla nejčastěji izolovaným patogenem způsobujícím předčasné odumírání stromů. V menší míře byla poté zastoupena bakterie *Pseudomonas syringae*. K dispozici nejsou rezistentní odrůdy meruněk k této chorobě. (Molnár, 1991). *Cytospora cincta* (syn. *Leucostoma cinctum, Valsa cincta*) je parazitická, celosvětově rozšířená houba, napadající rod *Prunus*, zejména pak broskvoň, meruňku, švestku a třešeň. Způsobuje typické (cytosporové) vředy na větvích a apoplexii. Dochází k oslabení stromů a menší násadě plodů. Místem vstupu infekce jsou různá poranění, například i drobná ranka po opadu listu. Vstupem jsou i odumírající větve neschopné produkovat dostatečné množství klejotoku nebo vředy na větvích způsobené infekcí jiným patogenem, typicky *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* nebo *Eutypa lata*. Nejcitlivější k napadení jsou jednoleté výhony, ze kterých se patogen šíří do nosných větví. V případě projevu apoplexie u nosné větve může strom přijít až o polovinu úrody. Typickým příznakem

napadení jsou elypsoidní nekrotické skvrny na kůře, často v místě větvení, následně se v místě nákazy se objeví silný klejotok. Xylém pod místem napadení hnědne, což je způsobeno toxiny houby. Při pokračující infekci kůra vysychá, praská a obnažuje zčernalé dřevo. Spory *C. cincta* se šíří deštěm, větrem, hmyzem a rozšiřují je i infikované sadařské nástroje. Obecně se jí nejvíce daří v oblastech s tuhou zimou. K nákaze dochází na konci podzimu nebo na začátku jara, kdy je strom v zimním klidu. Při vyšších teplotách strom ukončí dormanci a hojivé pletivo zbrzdí růst patogenu. S poklesem teplot a nástupem další dormance může houba znovu aktivovat svůj růst. Pro úplnost je třeba dodat, že *C. cincta* není jediným houbovým parazitem způsobujícím výše zmíněné příznaky. Apoplexii a cytosporové vředy rodu *Prunus* způsobuje i houba s názvem *Leucocytospora leucostoma* (syn. *Leucostoma persoonii*, *Cytospora leucostoma*) (Biggs et al., 2005).

Materiál a metody

Testované fungicidy

Byla srovnána účinnost následujících přípravků: **Dithane DG Neotec** (úč. l. mankozeb 750 g/kg; AGRO CS a.s.; aplikovaná dávka 2 kg/ha), **Horizon 250 EW** (úč. l. tebukonazol 250 g/L; Bayer AG; aplikovaná dávka 0,75 L/ha), **Luna Experience** (úč. l. fluopyram 200 g/L a tebukonazol 200 g/L; Bayer S.A.S.; aplikovaná dávka 0,75 L/ha), **Luna Privilege** (úč. l. fluopyram 500 g/L; Bayer S.A.S.; aplikovaná dávka 0,15 L/ha), **Prolectus** (úč. l. fenpyrazamin 500 g/kg; Sumitomo Chemical Agro Europe S.A.S.; aplikovaná dávka 1,2 kg/ha), **Signum** (úč. l. boskalid 267 g/kg, pyrakostrobin 67 g/kg; AGRO CS a.s.; aplikovaná dávka 0,75 kg/ha), **Talent** (úč. l. myklobutanil 200 g/l; AGRO CS a.s.; aplikovaná dávka 0,7 L/ha), **Teldor 50 SC** (úč. l. fenhexamid 500 g/L; Bayer AG; aplikovaná dávka 1 L/ha), **Zato 50 WG** (úč. l. trifloxystrobin, 500 g/kg; Bayer AG; aplikovaná dávka 0,45 kg/ha).

Metodika pokusu

Byly založeny laboratorní testy, které stanovily fungicidní účinnosti vybraných fungicidů, napříč spektrem účinných látek, které jsou registrovány především do meruněk nebo peckovin. Byl sledován jejich vliv na růst izolátů patogena z rodu *Cytospora* spp. pomocí in vitro metody růstu mycelia na agarových plotnách s přídavkem fungicidu. Izoláty rodu *Cytospora* spp. byly získány v rámci terénního průzkumu patogenních hub vyskytujících se v odumírajících meruňkách. Byly navštíveny produkční výsadby meruněk ve východních, středních a severních Čechách. Byly vyhledány stromy vykazující symptomy náhlého odumírání a odebrány napadené výhony s viditelnými nekrotickými lézemi. Izoláty byly získány následujícím způsobem. Z omytých výhonů, zejména z přechodů mezi zdravým a napadeným pletivem byly získány segmenty cca 5 mm velké, které byly omyty v destilované sterilní vodě s kapkou roztoku Tween, abychom se zbavili povrchových nečistot. Následně byly desinfikovány ponořením do 96 % etanolu na 15 sec., opláchnuty v destilované sterilní vodě a vysušeny filtračním papírem. Poté jednotlivé kousky pletiv byly umístěny na PDA medium (Himedia) s přídavkem antibiotika chloramfenikol (0,1 mg/L). Misky byly kultivovány při pokojové teplotě. Po 7 dnech byly narostlé kolonie hub přeočkovány na čisté PDA medium. Následně byla z izolátů hub extrahována DNA s použitím kitu Exgene Plant SV mini (GeneAll, Soul, Korea). Pro identifikaci izolátů hub byly použity sekvence ITS oblastí rDNA. PCR reakce probíhala za standardizovaných podmínek s využitím kombinací primerů UniFungiITS-F: (5´-GGTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3´) a UniFungiITS-R: (5´ - ACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAG - 3´). Získané PCR produkty byly přečištěny kitem ExpinTM Combo GP (GeneAll, Soul, Korea) dle návodu výrobce. Sekvenační reakce byla připravena pomocí kitu Big Dye version 3.1 (Thermo Fisher Scientific) a vzorky byly osekvenovány přístrojem GA3500 (Thermo Fisher Scientific). Získané sekvence byly

editovány v programu Chromas a k určení byly použity knihovny Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/). Izoláty hub, které byly pozitivně určeny jako *Cytospora* spp., *Cytospora cincta* a *Cytospora leucoostoma* byly použity v *in vitro* testech. Přehled informací o testovaných izolátech rodu *Cytospora* spp. je uveden v tabulce 1. Pro vlastní testy byly použity Petriho misky o průměru 10 cm. Testované fungicidy o daných koncentracích účinné látky, které v praxi odpovídají hektarovým dávkám, byly přidány do PDA media (Himedia) po autoklávování (121 °C, 20 min), při teplotě ± 45 °C a byly dobře promíchány. Kontrolní varianta byla bez přídavku fungicidu. Do každé Petriho misky se nalilo 20 ml agaru a nechaly se 24 hod. vychladnout. Doprostřed misky bylo rozočkováno po 1 výseku mycelia izolátu houby o velikosti 5 mm z aktivního okraje kolonie. Celkem byla provedena 3 biologická opakování po 5 miskách pro každou variantu. Podmínky kultivace byly následující: teplota 26 ± 1 °C, fotoperioda 12/12. Vyhodnocení testů proběhlo po 7 dnech kultivace, byla změřena průměrná velikost kolonie v mm (2 měření, orthogonálně, odečtena velikost výseku) a byla porovnána oproti kontrole. Následně byl vypočítán relativní růst (RG) v %. Výsledky jsou uvedeny v grafu č. 1. Doplněno fotodokumentací.

Tab. 1: Seznam získaných izolátů rodu Cytospora a dalších dřevokazných hub

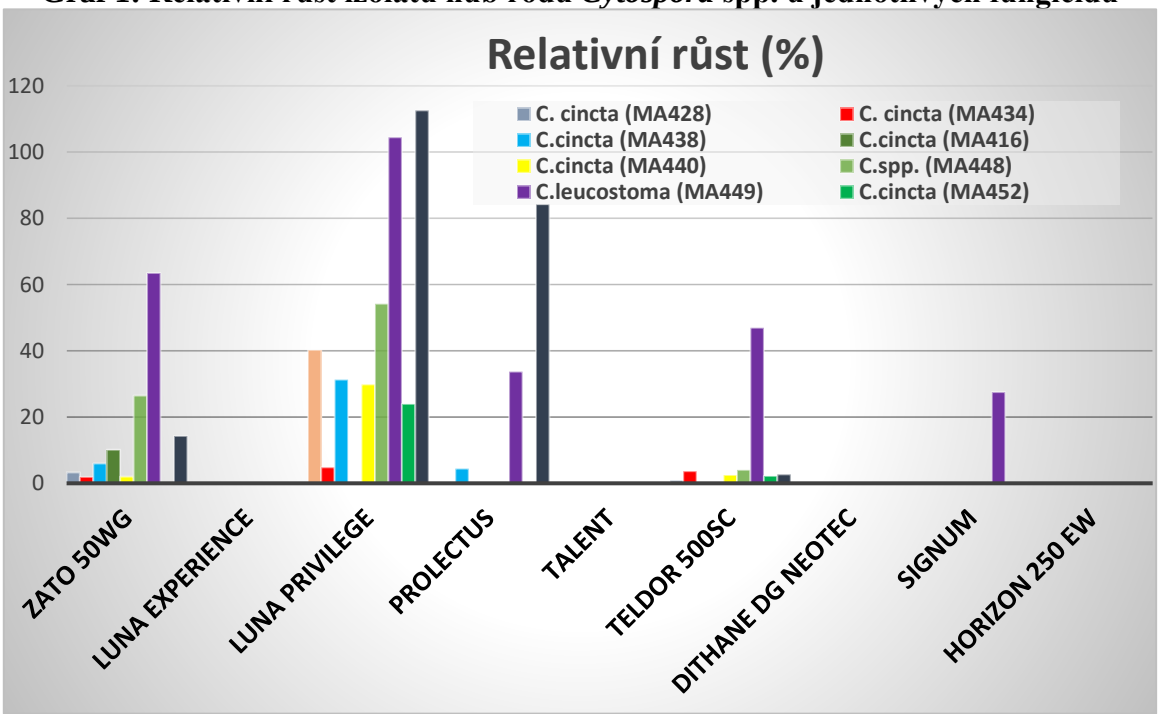
Název izolátu	Druh	LMB Kód	Lokalita	Pěstitel	Rostlinný materiál
M-MatSl2	*Cytospora cincta*	MA428	Slaný	Matoušek	meruňka, větev
M-MatSl3	*Cytospora cincta*	MA434	Slaný	Matoušek	meruňka, větev
M-MatSl4	*Cytospora cincta*	MA438	Slaný	Matoušek	meruňka, větev
M-MuchSl	*Cytospora cincta*	MA416	Slaný	Muchová	meruňka, větev
M-ZdKl1	*Cytospora cincta*	MA440	Klapý	Kroc	meruňka, větev
M-ZdKl2	*Cytospora* spp.	MA448	Klapý	Kroc	meruňka, větev
M-ZdKl3	*Cytospora leucostoma*	MA449	Klapý	Kroc	meruňka, větev
M-ZdKl4	*Cytospora cincta*	MA452	Klapý	Kroc	meruňka, větev
M-ZdKl5	*Eutypa lata*	MA446	Klapý	Kroc	meruňka, větev

Výsledky a diskuze

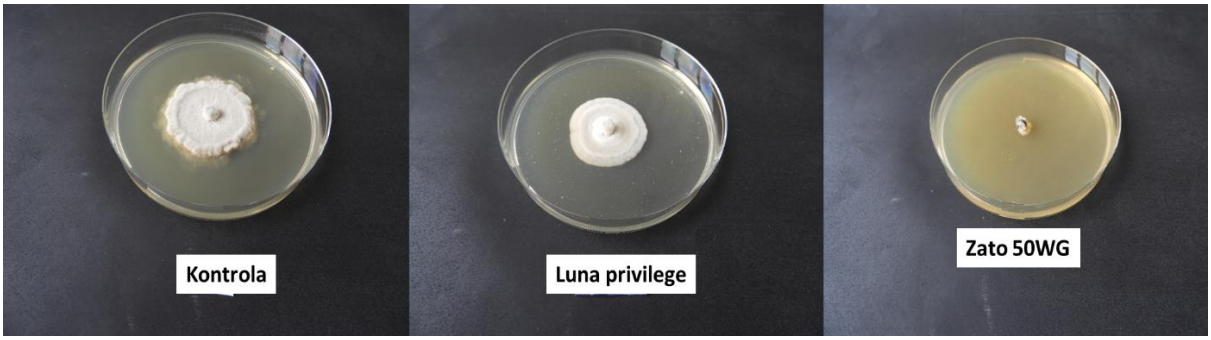
V rámci in vitro testů byla zjištěna 100% inhibice růstu u všech vybraných izolátů u 4 fungicidních přípravků: Luna Experience, Talent, Dithane DG Neotec, Horizon 250 EW (viz

graf 1). Nejméně účinnými fungicidními přípravky byla Luna Privilege a Zato 50 WG (viz obr. 1). Luna Privilege vykazovala celkově nejmenší inhibici růstu u všech vybraných izolátů, přípravek Zato 50 WG také, ale v menší míře než tomu bylo u přípravku Luna Privilege, přípravek Zato 50WG u izolátu *C. cincta* (M-ZdKl4) vykázal 100% inhibici růstu, u všech ostatních izolátů došlo k nárůstu. Fungicid Signum vykazoval inhibici růstu u všech izolátů s výjimkou izolátu *C. leucostoma* (M-ZdKl3), kde byl relativní růst 27,5 %. Jako perspektivní fungicidy se jeví systémové nebo částečně systémové přípravky Luna Experience (úč. l. fluopyram a tebukonazol), Horizon 250 EW (tebukonazol), Talent (myklobutanil) a kontaktní přípravek Dithane DG Neotec (mankozeb), u kterých byl nulový relativní růst u všech izolátů (viz obr. 2). Za nevyhovující se dá považovat Luna Privilege (fluopyram) a Zato 50 WG (trifloxystrobin). Testy neprokázaly inhibici růstu izolátů u samostatné účinné látky fluopyram, která je obsažena v přípravku Luna Privilege. Miller et al. (2018) ve své studii testovali 18 fungicidů proti *C. leucostoma* na broskvoni. Test probíhal v in vitro podmínkách a i v polních podmínkách. Účinné fungicidy zjištěné v laboratorních testech – thiofanát metyl, kaptan, vápenná síra a hydroxid měďnatý, byly dále testovány jako postřik v terénu, v kombinaci s latexovým nátěrem a kaolínem. Z vyhodnocení vychází, že thiofanát metyl, kaptan, samotný 50% latexový nátěr, thiofanát metyl s 50% latex. nátěrem, kaptan s 50% latex. nátěrem a vápenná síra jsou nejvíce účinné v redukci nekrotických poranění způsobených *C. leuscostoma*. Hydroxid měďnatý byl neúčinný ve všech pokusech, ve srovnání s kontrolou, v některých případech způsoboval dokonce rozšíření nekrotických míst. Kaptan byl neúčinný jako postřik aplikovaný v průběhu jara (Northover, 1976), ale byla prokázána inhibice růstu hub rodu *Cytospora* spp. na médiích v in vitro podmínkách (Dhanvantari, 1968; Biggs et al., 1994).

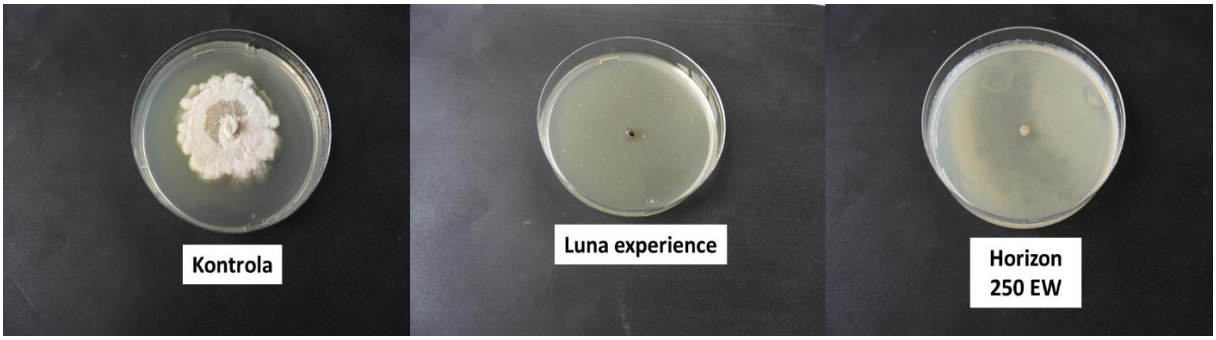
Graf 1: Relativní růst izolátů hub rodu *Cytospora* spp. u jednotlivých fungicidů



Obr. 1: Nárůst izolátu M-MuchSl u fungicidu Luna Privilege, Zato 50 WG ve srovnání s kontrolní variantou



Obr. 2: Fungicidy Luna Experience, Horizon 250 EW s nulovým nárůstem izolátu M-MuchSl



Závěr

Předmětem dalšího výzkumu je hledat fungicidy účinné v preventivních ošetřeních proti napadení patogenem *Cytospora* spp., případně zjistit vedlejší účinnost stávajících přípravků dostupných v ochraně peckovin. Výsledky získané ze screeningových laboratorních testů účinnosti fungicidů pak budou využity při dalším testování ve skleníkových podmínkách.

Dedikace

Práce byla realizována v rámci řešení projektů QK1920124 a MZe ČR RO-1519.

Použitá Literatura

Adams, G. C., Roux, J., Wingfield, M. J. (2006): *Cytospora* species (*Ascomycota*, *Diaporthales*, *Valsaceae*): introduced and native pathogens of trees in South Africa. *Australasian* Plant Pathology. 35: 521-548.

Adams, G. C., Wingfield, M. J., Common, R., Roux, J.,(2005): Phylogenetic relationships and morphology of *Cytospora* species and related teleomorphs (Ascomycota, Diaporthales, Valsaceae) from Eucalyptus. Studies in Mycology. 52: 1-144.

Biggs, A. R., El-Kholi, M. M., and ElNeshawy, S. M. (1994): Effect of calcium salts on growth,pectic enzyme activity, and colonization of peach twigs by *Leucostoma persoonii*. Plant Disease, 78: 886-890.

Biggs, A. R., Grove, G. G., (2005): Leucostoma canker of stone fruits. The Plant Health Instructor. 10: 2005-1220-1001.

Bills, G. F. (1996): Isolation and Analysis of Endophytic Fungal Communities from Woody Plants. St Paul, MN. American Phytopathological Society Press. 31-65.

Dhanvantari, B. N. (1968): Effects of selected fungicides on germination of conidia of *Cytospora cincta* and *C. leucostoma* in vitro. Canadian Journal of Plant Science, 48: 401-404.

Christensen, C. M., (1940): Studies on the biology of *Valsa sordida* and *Cytospora chrysosperma*. Phytopathology. 30: 459-475.

Lawrence, D. P., Travadon, R., Pouzoulet, J., Rolshausen, P., Wilcox, W., Baumgartner, K. (2017): Characterization of *Cytospora* isolates from wood cankers of declining grapevine in North America, with the descriptions of two new *Cytospora* species. Plant Pathology 66: 713-725.

Miller, S. T., Otto, K. L., Sterle, D., Minas, I. S., Stewart, J.E. (2018): Preventive fungicidal control of Cytospora leucostoma in Peach Orchards in Colorado. Plant Disease. 35pp.

Molnár, J. (1991): Phytopathological problems of apricots in Czechoslovakia. Acta Hortic. 293: 503-510.

Northover, J. (1976): Protection of peach shoots against species of *Leucostoma* [*persoonii*,*Leucostoma cincta*] with benomyl and captafol [Fungal diseases]. Phytopathology,66: 1125-1128.

Sinclair, W. A., Lyon, HH., Johnson, WT., (1987): Diseases of Trees and Shrubs. Ithaca, NY: Cornell University Press. 574.

Spielman, L. J. (1983): Taxonomy and biology of *Valsa species* on hardwoods of North America, with special reference to species on maples. PhD thesis, Cornell University.

Kontaktní adresa:

Mgr. Michaela Kracíková
Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.
Holovousy 129, Hořice 508 01
+420 491 848 214, Michaela.KRACIKOVA@vsuo.cz

SROVNÁNÍ INTENZITY RŮSTU U TŘÍ DRUHŮ SVAZENEK A NĚKTERÝCH DRUHŮ PLEVELŮ

The comparison of growth intensity of three species of *Phacelia* and some species of weeds

Kubíková Z., Hutyrová H.

Zemědělský výzkum, spol. s r. o.

Abstrakt

Ve skleníkových pokusech byl srovnáván růst tří druhů svazenek (svazenka vratičolistá, svazenka shloučená a svazenka modrá) a čtyř druhů plevelů (hořčice rolní, heřmánkovec přímořský, oves hluchý a bér zelený). Byly zjišťovány rozdíly ve vzcházivosti, vývoji, růstu a odumírání rostlin u jednotlivých druhů a hodnocen vliv svazenek na růst plevelů a vliv plevelů na růst svazenek. U plevelů i u svazenek byly zjištěny rozdíly ve vzcházení a intenzitě růstu. Výška plevelů pak měla rozhodující vliv na růst svazenek. V konkurenci s vyššími plevely se výška u všech druhů svazenek snížila. U svazenky shloučené a modré se při konkurenci vysokých plevelů také průkazně zvýšilo odumírání rostlin. U svazenky vratičolisté byl rozdíl v odumírání rostlin nevýznamný a jako nejvzrůstnější druh také nejvíce potlačovala růst plevelů.

Klíčová slova: svazenka vratičolistá, svazenka shloučená, svazenka modrá, vývoj

Abstract

In greenhouse experiments, the growth of three species of phacelias (*Phacelia tanacetifolia, Phacelia congesta, Phacelia campanularia*) and four weed species (*Sinapis arvensis, Matricaria maritima, Avena fatua* and *Setaria viridis*) were compared. Differences in emergence, development, growth and death of plants in individual species were determined. The mutual influences on growth were evaluated. The differences in weed and phacelia emergence and growth rates were showed. The weed height then influenced the growth of the phacelias. In competition with higher weeds, the height of all species of phacelia decreased. In the case of *Phacelia congesta* and *Phacelia campanularia* there was also a higher die back of plants, which were not determined in the *Phacelia tanacetifolia*. As the highest phacelia, *Phacelia tanacetifolia* restricted the growth of weeds most effectively.

Key words: *Phacelia tanacetifolia, Phacelia congesta, Phacelia campanularia*, development

Úvod

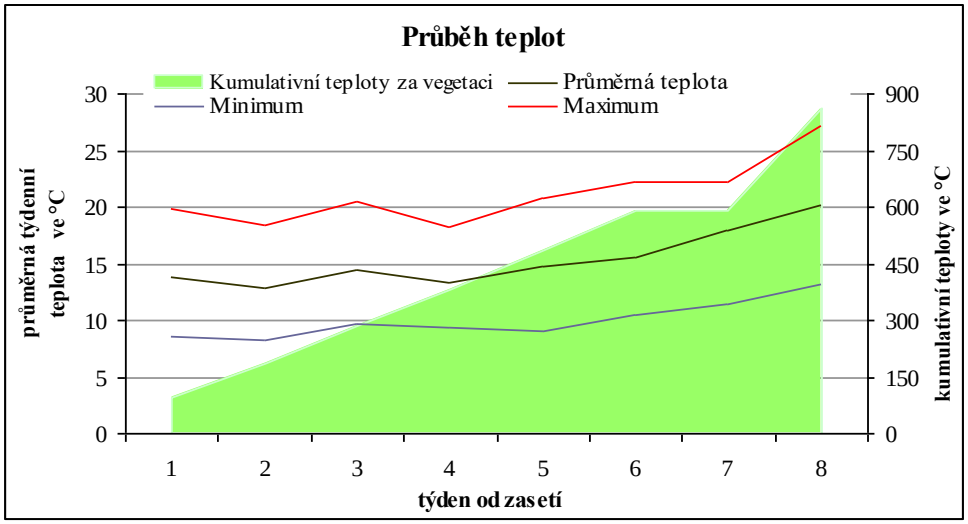
Rod svazenka (*Phacelia*) je největším a nejrozmanitějším rodem čeledi stružkovcovitých (*Hydrophyllaceae*). Z širokého druhového spektra svazenek jsou na našem území komerčně využívány pouze dva druhy: svazenka shloučená (*Phacelia congesta* Hook.) a svazenka vratičolistá (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Svazenka vratičolistá se využívá jako meziplodina na zelené hnojení a k omezení růstu plevelů (Błażevitz-Woźniak a Konopińsky 2012), a také jako pícnina (Kälber a kol. 2011) a medonosná rostlina (Orsi a Bianoi 1987, Williams a Christian 1991, Peatidou 2003). Svazenka shloučená je podobná svazence vratičolisté (Hutyrová-Marková et al. 2009) a je na našem území pěstována poměrně krátce. Je využívána převážně jako medonosná rostlina a jako zdroj potravy pro opylovače je dokonce ještě vhodnější, než svazenka vratičolistá (Vymyslický 2014). Svazenka modrá (*Phacelia campanularia* A. Gray) je u nás novým druhem, který se zatím využívá pouze jako okrasná rostlina. Rozdíly v zaplevelení svazenky vratičolisté a shloučené byly sledovány v polních pokusech (Kubíková a Komínková 2016). Ukázalo se, že svazenka vratičolistá má vyšší

konkurenceschopnost proti plevelům než svazenka shloučená. Druhové spektrum plevelů ve svazenkách je poměrně rozmanité a závisí na lokalitě. Nejvýznamnějšími plevely jsou merlík, heřmánkovec přímořský, oves hluchý a další (Horváth a Szabó 2014, Kubíková 2016). Svazenka vratičolistá se vyvíjí rychleji než svazenka shloučená (Kubíková et al. 2017) a má větší intenzitu růstu (Marková et al. 2009, Kubíková et al. 2018b). V této práci jsme se zaměřily na hodnocení a srovnání vzcházení, vývoje a intenzity růstu u tří druhů svazenek a u čtyř významných druhů plevelů.

Materiál a Metody

Pokusy probíhaly ve skleníkových podmínkách od března do května 2018 (graf 1 uvádí průběh teplot). Do nádob o rozměrech 40x60x17 cm (š x d x h) bylo vyseto po 5 řádcích vždy stejného druhu svazenky. Výsevek byl 30 semen na řádek. Do mezířádků byly ve stejném termínu provedeny přísevy jednotlivých druhů plevelů. Do hodnocení byly zařazeny dva dvouděložné druhy plevelů (hořčice rolní a heřmánkovec přímořský) a dva jednoděložné druhy (oves hluchý a bér zelený). Bylo použito osivo plevelů a svazenek získané ze sběrů a sklizní v roce 2017. U svazenky vratičolisté se jednalo o odrůdu Meva, u svazenky shloučené o odrůdu Fiona a u svazenky modré o osivo z novošlěchtění. Bylo sledováno vzcházení jednotlivých druhů a zaznamenáván celkový počet rostlin, který byl následně přepočítáván na relativní hodnotu v procentech. Dále byla u jednotlivých druhů svazenky a plevelů průběžně měřena celková výška rostlin v mm a zaznamenávány vývojové fáze dle rozšířené stupnice BBCH (Hack 1992). Byl sledován vliv druhu svazenky na růst plevelů a vliv vzrůstnosti plevelů na růst svazenek.
Získané výsledky byly zpracovány v programu Excel a statisticky vyhodnoceny v programu STATISTICA 12 metodou analýzy rozptylu s následným testováním Tukeyho testem na hladině α=0,05.

Graf 1: Průběh teplot v průběhu pokusu



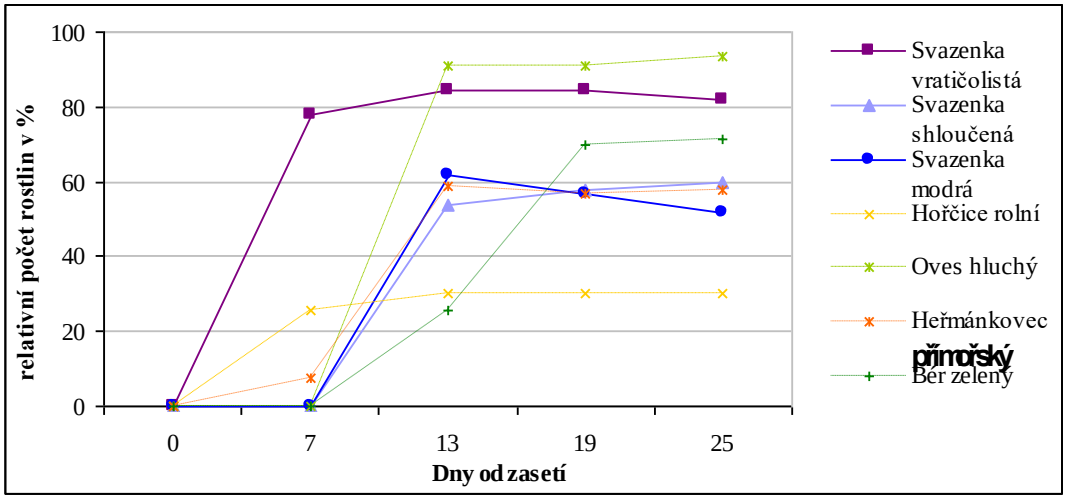
Výsledky a diskuze

Vzcházivost a přežívání rostlin

U sledovaných druhů byly zjištěny rozdíly ve vzcházivosti. Nejrychleji vzcházela svazenka vratičolistá a hořčice rolní, které byly vzešlé po 7 dnech. Po 13 dnech vzešly všechny sledované druhy rostlin. Celkově nejnižší počet vzešlých rostlin měla hořčice rolní, kde vzešlo pouze 30 % klíčenců. Rozdíl oproti ostatním sledovaným druhům byl statisticky průkazný. Nejlépe vzcházel oves hluchý, kde vzešlo 93 % rostlin. Nebyl u něj statisticky průkazný rozdíl oproti

svazence vratičolisté, u které vzešlo 85 % rostlin. Ve srovnání s ostatními druhy byl vyšší počet vzešlých klíčenců ovsa statisticky průkazný. Svazenka vratičolistá vzcházela ze všech tří druhů svazenek nejlépe. U svazenky shloučené vzešlo 60 % rostlin a u svazenky modré 62 %. Rozdíly ve vzcházení jsou znázorněny v grafu 2. Tabulka 1 uvádí relativní počty rostlin a průkaznost rozdílů na hladině α=0,05, která je znázorněna písmennými indexy. Rozdíly ve vzcházivosti byly u těchto druhů svazenek pozorovány i v dalších pokusech (Kubíková et. al 2018a), kde bylo vzcházení svazenek sledováno samostatně bez přítomnosti plevelů. Zjištěná vzcházivost svazenek byla v těchto pokusech vyšší. U svazenky vratičolisté dosahovala 98 %, u shloučené byla 88 % a u svazenky modré 95 %. Snížení vzcházivostí bylo pravděpodobně způsobeno přítomností plevelů vzcházejících v meziřádcích.

Graf 2: Rozdíly ve vzcházivosti zkoumaných druhů



Tab. 1: Rozdíly ve vzcházivosti zkoumaných druhů

Druh/ počet dní od zasetí	0		7		13		19		25	
Svazenka vratičolistá	0	a	78	c	85	de	85	b	82	bc
Svazenka shloučená	0	a	0	a	54	ac	58	a	60	a
Svazenka modrá	0	a	0	a	62	ad	57	a	52	a
Hořčice rolní	0	a	26	b	30	bc	30	c	30	d
Oves hluchý	0	a	0	a	91	e	91	b	93	c
Heřmánkovec přímořský	0	a	8	a	59	a	57	a	58	a
Bér zelený	0	a	0	a	26	b	70	ab	71	ab

*písmennými indexy jsou znázorněny statistické rozdíly na hladině α=0,05

U svazenky modré bylo pozorováno poměrně rychlé odumírání a ubývání vzešlých klíčenců, a to zejména při konkurenci s hořčicí a ovsem, které byly vzrůstnější než heřmánkovec a bér. V konkurenci s vyššími plevely došlo k poklesu počtu rostlin až na 30 %. K odumírání rostlin v konkurenci s vyššími plevely docházelo i u svazenky shloučené, kde se počet rostlin snížil až na 37 %. Ve variantách s nízkými plevely u obou druhů přežívalo až o 25 % více rostlin. Rozdíl v počtu odumřelých rostlin ve variantách s vysokými a s nízkými plevely byl statisticky průkazný. U svazenky vratičolisté činil rozdíl mezi počtem rostlin svazenky ve variantách s nízkými a s vysokými plevely pouze 6 % a rozdíl nebyl statisticky průkazný. Svazenka shloučená a modrá tak reagují na přítomnost plevelů citlivěji než svazenka vratičolistá. U svazenky modré bylo zvýšené odumírání rostlin pozorováno i v jiných pokusech (Kubíková 2018a), kde svazenka rostla bez konkurence plevelů. U svazenky shloučené k odumírání rostlin v pokusech bez konkurence plevelů téměř nedocházelo. U plevelů bylo snižování počtu rostlin minimální a druh svazenky neměl na odumírání rostlin plevelů vliv.

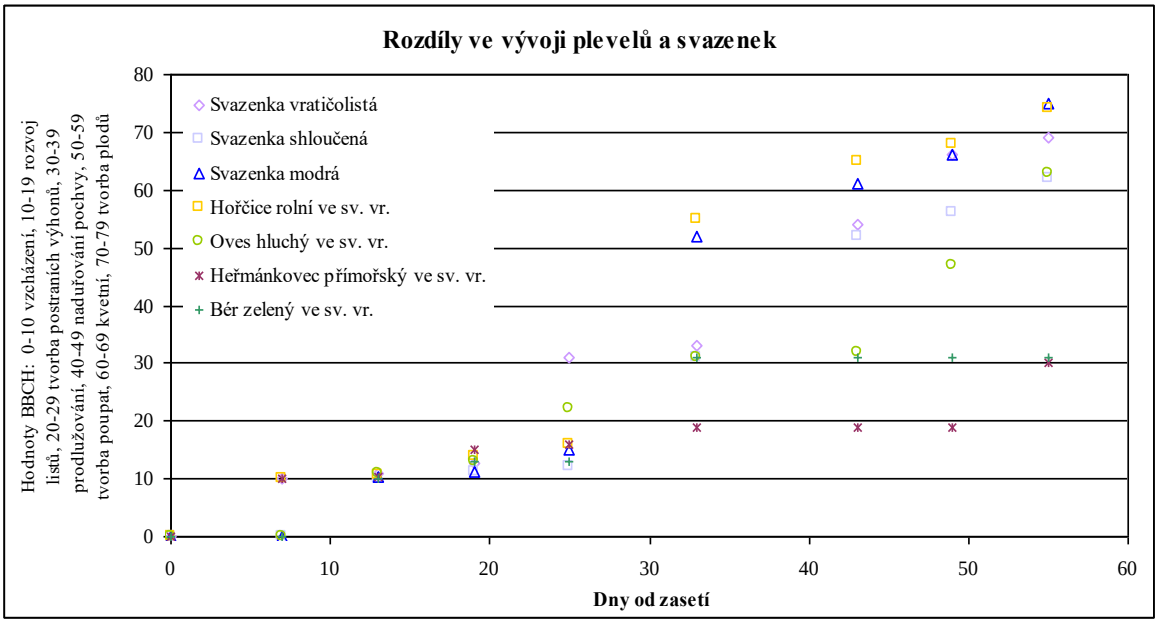
Intenzita růstu plevelů a svazenek

Ve vývoji a intenzitě růstu plevelů byly zjištěny rozdíly. Po 19 dnech po zasetí dosahoval největší výšky oves hluchý. Hořčice rolní byla na druhém místě, dále bér zelený a heřmánkovec přímořský. Heřmánkovec se v pokusu celkově vyvíjel nejpomaleji. Vytvářel pouze přízemní růžici listů a prodlužování stonku zahájil až po 55 dnech, kdy dosáhl fáze BBCH 30. S tím souvisela i jeho dosažená výška. Ostatní druhy dosáhly fáze prodlužování po 25 až 33 dnech. U béru byl růst a vývoj poměrně pomalý a dosáhl pouze fáze BBCH 31. Svazenka modrá a hořčice začaly po 33 dnech tvořit poupata a po 43 dnech kvetly. Svazenka vratičolistá a shloučená pak tvořily poupata po 43 dnech a kvetly 55 den. Rychlejší kvetení u svazenky modré ve srovnání s ostatními druhy bylo zjištěno i v dalších nádobových pokusech (Kubíková 2018a) a v polních podmínkách (Kubíková 20818 a 2019, nepublikované výsledky). Po 55 dnech kvetl také oves hluchý. Vývojové fáze dle stupnice BBCH jsou znázorněny v grafu 3.

V průběhu pokusu byly zjištěny průkazné rozdíly ve výšce plevelů dosažené v průběhu pokusu. Větší výšky průkazně dosáhly hořčice a oves. Bér a heřmánkovec měly nižší vzrůst. Rozdíly ve výšce plevelů včetně statistického hodnocení jsou uvedeny v tabulce 2. Byla srovnávána výška plevelů rostoucích v jednotlivých druzích svazenek. Celkově růst plevelů nejvíce potlačovala svazenka vratičolistá (viz grafy 4-7), která ze svazenek dosahovala nejvyššího vzrůstu (tabulka 3, grafy 8-10).

Byl srovnáván také rozdíl v růstu jednotlivých druhů svazenek v konkurenci s vyššími plevely (hořčice a oves) a s nižšími plevely (heřmánkovec a bér). Svazenka vratičolistá měla ze všech tří druhů svazenek nejvyšší intenzitu růstu. Už 19. den u ní byl průkazný rozdíl ve výšce ve srovnání s ostatními druhy svazenek. Podobné výsledky byly zjištěny i v dalších pokusech (Kubíková 2018b), kde byl studován růst svazenek samostatně bez konkurence plevelů. Konkurence plevelů měla u svazenek poměrně velký vliv na výšku rostlin. Ve vyšších plevelech dosahovaly svazenky nižšího vzrůstu. U svazenky vratičolisté a shloučené byl zjištěn průkazný rozdíl mezi výškou rostlin ve variantách s vysokými a s nízkými plevely. U svazenky modré také docházelo ke snížení výšky rostlin, ale rozdíl nebyl statisticky průkazný. Výsledky včetně statistických rozdílů jsou uvedeny v tabulce 3 a graficky znázorněny v grafech 8-10.

Graf 3: Vývoj jednotlivých druhů (fáze BBCH)



Tab. 2: Rozdíly v intenzitě růstu plevelů

Druh plevele	Druh svazenky	Počet dnů od zasetí													
		0		19		25		33		43		49		55	
		Výška plevelů v mm													
Hořčice rolní	Svazenka vratičolistá	0	a	43	bd	100	ab	164	ac	370	c	443	b	510	e
Hořčice rolní	Svazenka shloučená	0	a	65	d	120	b	208	c	540	a	670	e	740	a
Hořčice rolní	Svazenka modrá	0	a	45	cd	83	ab	130	a	445	ac	635	ce	730	a
Oves hluchý	Svazenka vratičolistá	0	a	233	e	280	c	390	e	405	ac	488	bc	645	ae
Oves hluchý	Svazenka shloučená	0	a	230	e	360	d	473	d	530	a	530	bce	745	a
Oves hluchý	Svazenka modrá	0	a	185	e	305	cd	473	d	470	ac	495	bc	633	ae
Heřmánkovec přímořský	Svazenka vratičolistá	0	a	13	a	38	a	38	b	40	b	45	a	43	b
Heřmánkovec přímořský	Svazenka shloučená	0	a	18	a	38	a	55	b	63	b	63	a	70	bc
Heřmánkovec přímořský	Svazenka modrá	0	a	15	a	43	a	53	b	68	b	68	a	68	bc
Bér zelený	Svazenka vratičolistá	0	a	23	ab	75	ab	130	a	168	bd	200	ad	223	bcd
Bér zelený	Svazenka shloučená	0	a	25	abc	65	ab	128	a	228	d	250	d	280	d
Bér zelený	Svazenka modrá	0	a	20	a	73	ab	140	ac	223	d	250	d	253	cd

*písmennými indexy jsou znázorněny statistické rozdíly na hladině α=0,05

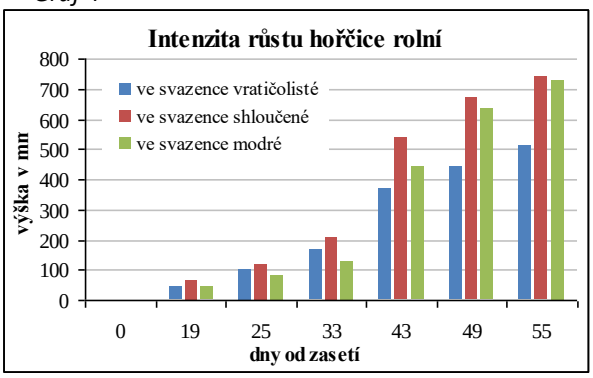
Tab. 3: Rozdíly v intenzitě růstu svazenek

Druh svazenky	Plevele	Dny od zasetí													
		0		19		25		33		43		49		55	
		Výška v mm													
Svazenka vratičolistá	Vysoké plevele	0	a	83	b	116	b	145	b	265	c	370	c	405	c
	Nízké plevele	0	a	83	b	131	b	175	b	334	d	451	d	516	d
Svazenka shloučená	Vysoké plevele	0	a	20	a	50	a	51	a	60	a	90	a	106	b
	Nízké plevele	0	a	22	a	62	a	73	a	103	ab	155	ab	205	a
Svazenka modrá	Vysoké plevele	0	a	20	a	51	a	48	a	89	ab	126	ab	137	ab
	Nízké plevele	0	a	17	a	51	a	76	a	128	b	171	b	196	a

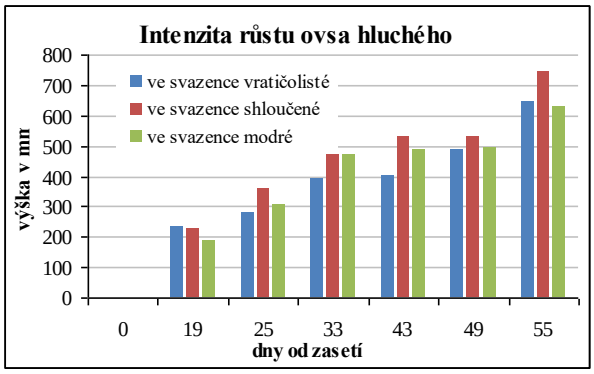
*písmennými indexy jsou znázorněny statistické rozdíly na hladině α=0,05

Grafy 4-7: Rozdíly v intenzitě růstu plevelů

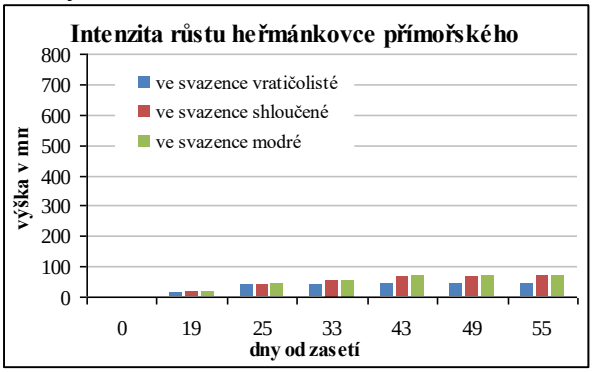
Graf 4



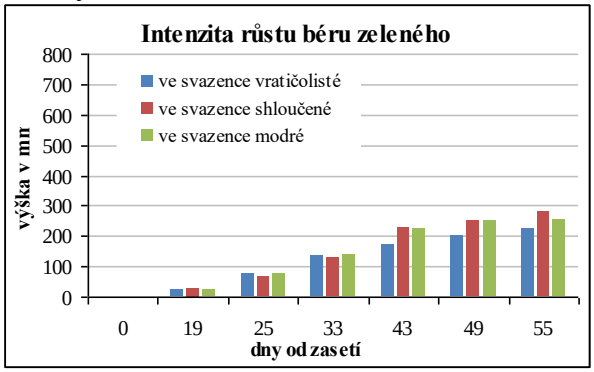
Graf 5



Graf 6

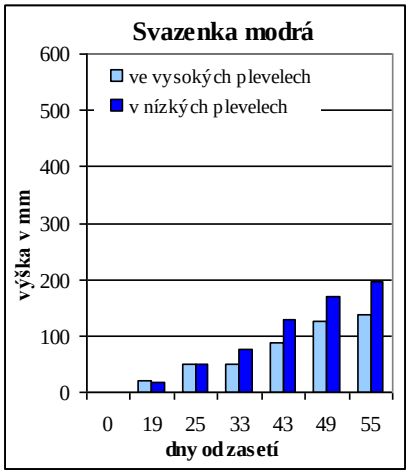


Graf 7

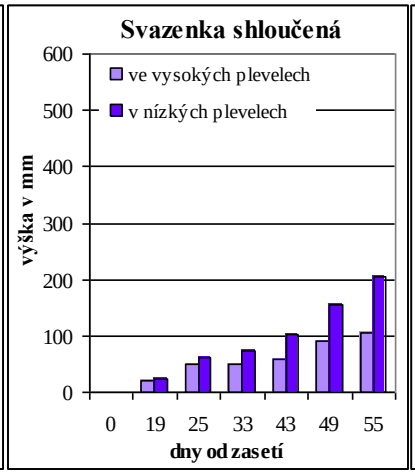


Grafy 8-10: Rozdíly v intenzitě růstu svazenek

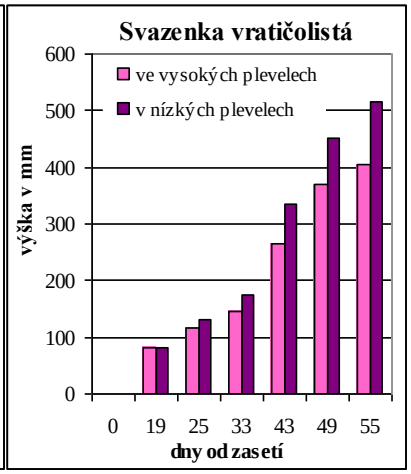
Graf 8



Graf 9



Graf 10



Závěr

Ve vzcházení, vývoji a v intenzitě růstu u tří druhů svazenek a u čtyř druhů plevelů byly zjištěny rozdíly. Plevele svým vzrůstem ovlivňovaly růst svazenek podobně jako svazenky svým vzrůstem ovlivňovaly růst plevelů. Pokud rostliny svazenky rostly v konkurenci s vyššími plevely, jejich výška se u všech druhů svazenek snížila ve srovnání s rostlinami rostoucími v konkurenci nízkých plevelů. U svazenky vratičolisté a shloučené byly rozdíly ve výšce rostlin průkazné. U svazenky shloučené a svazenky modré navíc docházelo při konkurenci s vysokými plevely ke zvýšenému odumírání rostlin. U svazenky vratičolisté nebyly významné rozdíly v počtu rostlin na variantách s vysokými a nízkými plevely. Z výsledků vyplývá, že svazenka vratičolistá se díky svému intenzivnějšímu růstu se zaplevelením se vyrovnává lépe než ostatní dva druhy.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1719

Použitá literatura

Błażevitz-Woźniak M., Konopińsky M. 2012: Influence of ridge cultivation and phacelia intercrop on weed infestation of root vegetables of the Asteraceae family. Folia Horticulturae 24 (1): 21-32.

Hack H., Bleiholder H., Burh L., Meier U., Schonck-fricke U., Weber E., Witzenberger A., 1992: Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen - Erweiterte BBCH-Skala, Allgemein -. Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd., 44: 265-270.

Horváth E, Szabó R. 2014: Weed surveying of Phacelia (Phacelia tanacetifolia L) and evaluating the efficancy of the weed control. Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.79 (2): 99-103.

Hutyrová-Marková H., Pelikán J., Knotová D., Gottwaldová P. 2009: Porovnání vybraných znaků u druhů *Phacelia congesta* a *Phacelia tanacetifolia*. Věd. příloha časopisu Úroda, 12: 37–40. ISSN: 0139-6013

Kälber T., Meier,J.S., Kreuzer M., Leiber F. 2011: Flowering catch crops used as forage plants for dairy cows: influence on fatty acids and tocopherols in milk. Journal of Dairy Science 94: 1477–1489

Kubíková Z., Hutyrová H., Kintl T. 2018b: Srovnání intenzity růstu a produkce biomasy u tří druhů svazenek. Úroda 12, roč. LXVI, vědecká příloha: 329-333

Kubíková Z., Hutyrová H., Smejkalová H. 2018a: Rozdíly ve vývoji u tří druhů svazenek. Úroda 12, roč. LXVI, vědecká příloha: 325-328

Kubíková Z., Hutyrová H., Vícha D. 2017: Nové poznatky o vývoji svazenky shloučené. Úroda 12, roč. LXV, vědecká příloha: 425-428

Kubíková Z., Komínková J., Šmahel P. 2016: Srovnání zaplevelení u dvou druhů svazenek. Úroda 12, roč. LXIV, vědecká příloha: 249-252

Orsi, S., Bionoi, A. 1987: Phacelia tanacetifolia: its honey potential. ltalia lnformatore Agrario 43(47): 53-51.

Petanidou T. 2003: Introducing plants for bee-keeping at any cost? – Assessment of Phacelia tanacetifolia as nectar source plant under xeric Mediterranean conditions. Plant Systematics and Evolution 238 (1): 155–168.

Vymyslický, T., 2014: Breeding of Minor Fodder Crops for Sustainable Agriculture. Ratar. Povrt. 51(1): 1-6.

Williams I. H., Christian D. G. 1991: Observations on Phacelia tanacetifolia Bentham (Hydrophyllaceae) as a food plant for honey bees and bumble bees. Journal of Apicultural Research 30 (1): 3-12.Vymyslický, T., 2014: Breeding of Minor Fodder Crops for Sustainable Agriculture. Ratar. Povrt. 51(1): 1-6.

Kontaktní adresa:

Zuzana Kubíková
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.,
Zahradní 1, 664 41 Troubsko
kubikova@vupt.cz

DETEKCE *ARMILLARIA CEPISTIPES* METODOU LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION

Detection *Armillaria cepistipes* using loop-mediated isothermal method

Stehlíková D.[1], Tonka T.[1], Křížová L.[1] , Čurn V.[1]

[1]*Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta*

Abstrakt

Předmětem této práce je optimalizace metody loop-mediated isothermal amplification (LAMP) pro specifickou detekci václavky *Armillaria cepistipes*, kterou by bylo možné použít při terénních determinacích tohoto druhu. Tato houba je jedním ze sedmi druhů parazitických václavek, vyskytujících se zejména na jehličnatých stromech na celém území Evropy. Pro rozlišení jednotlivých druhů václavek na molekulární úrovni byly navrženy primery a asimilační sondy pro gen kódující translační elongační faktor 1-alfa (*tefa*). LAMP metoda byla optimalizována na přenosnou platformu Smart-DART (Diagenetix, USA), kterou lze využít k přímé a rychlé, druhově specifické detekci *A. cepistipes* ještě před objevením příznaků infekce napadených stromů václavkou díky vysoké citlivosti metody, detekující i nízké koncentrace (0,4 ng/µl) DNA izolované z rhizomorf.

Klíčová slova: Primery, asimilační sonda, václavky, přenosná platforma, *tef1*

Abstract

The subject of study is optimization loop-mediated isothermal amplification method (LAMP) for field detection of the *Armillaria cepistipes*. This fungus is one of the *Armillaria* spp. parasitized coniferous stands in Europe. For complex differentiation of these species the translational elongation factor 1-alpha (*tefa*) gene was selected for the design of primers and assimilation probe. This method was optimized to the Smart-DART portable platform (Diagenetix, USA), which can be used in the field for rapid and specific detection of *A. cepistipes*. This method is highly sensitive with a detection limit of 0.4 ng /µl of DNA isolated from rhizomorph.

Key words: Primers, assimilating probe, *Armillaria* spp., portable platform, *tefa*

Úvod

Václavka cibulkotřenná (*Armillaria cepistipes*) je jedním z druhů václavek, které jsou významné zejména jako paraziti ve smrkových porostech na celém území Evropy. V minulosti byly provedeny taxonomické a morfologické studie, avšak vzhledem ke složité morfologické diferenciaci druhů václavek je významná identifikace na molekulární úrovni (Pegler, 2000). Václavka cibulkotřenná (*A. cepistipes*) a václavka hlíznatá (*A. gallica*) jsou makroskopicky téměř nerozeznatelné druhy, které se vyskytují v Evropě. Pro identifikaci na molekulární úrovni byly vyvinuty PCR-RFLP metody (Harrington a Wingfield, 1995; Lochman a kol., 2004), kde primery byly navrženy pro amplifikaci oblasti ITS. Výsledky těchto studií ale nebyly jednoznačné a tyto druhy nejde pomocí PCR-RFLP techniky spolehlivě odlišit. Sekvenování genu, kódujícího translační elongační faktor 1 - alfa (*tefa*) ze vzorků, pocházejících z oblastí České republiky, vykazovalo vysokou mezidruhovou variabilitu (Antonín a kol., 2009) a tento gen byl vybrán pro optimalizaci metody loop-mediated isothermal amplification (LAMP). Jedná se o poměrně novou metodu, která umožňuje vysoce specifickou, účinnou a rychlou amplifikaci nukleových kyselin za izotermických podmínek. V porovnání s metodou PCR je LAMP specifičtější, citlivější a rychlejší. Metoda LAMP nevyžaduje nákladné vybavení a je

ekonomicky efektivní i díky tomu, že pro vizualizaci není potřeba elektroforetické separace či fragmentační analýzy. Další výhodou metody LAMP je její rychlost a tedy možnost rychlé, a přitom dostatečně přesné analýzy i v polních podmínkách.
Pro metodu LAMP je rozhodující správný návrh primerů. Primery jsou navrhovány pro amplifikaci druhově specifických sekvencí. Vzhledem k vysoké sekvenační podobnosti jednotlivých druhů václavek byla navržena asimilační sonda, která zvyšuje specificitu reakce (Kubota a kol., 2011; Jenkins a kol., 2011). Optimalizací LAMP metody s asimilační sondou je možné specificky a rychle detekovat *A. cepistipes* bez nákladného laboratorního zařízení.

Materiál a metody

Bioinformatická analýza

Sekvence všech sedmi druhů václavek (*A. borealis, A. cepistipes, A. ectypa, A. gallica, A. mellea, A. ostoyae* a *A. tabescens*) byly porovnány v programu MEGA 7 (Kumar a kol., 2016). Použity byly sekvence dostupné z databáze GenBank (NCBI) a sekvence DNA izolované ze vzorků václavek z ČR (Holuša a kol., 2019). Primery byly navrženy v programu LAMP Designer (Optigene, UK). Jeden z loop primerů byl navržen do nejvíce druhově specifické oblasti pro budoucí asimilační sondu. Ta je tvořena fluorescenčně značeným primerem FAM (6-carboxyfluorescein). Jako zhášeč byl použit BHQ-1 (Black Hole Quencher-1). Primery byly navrženy jak pro tradiční LAMP tak pro LAMP s asimilační sondou.

Laboratorní testování

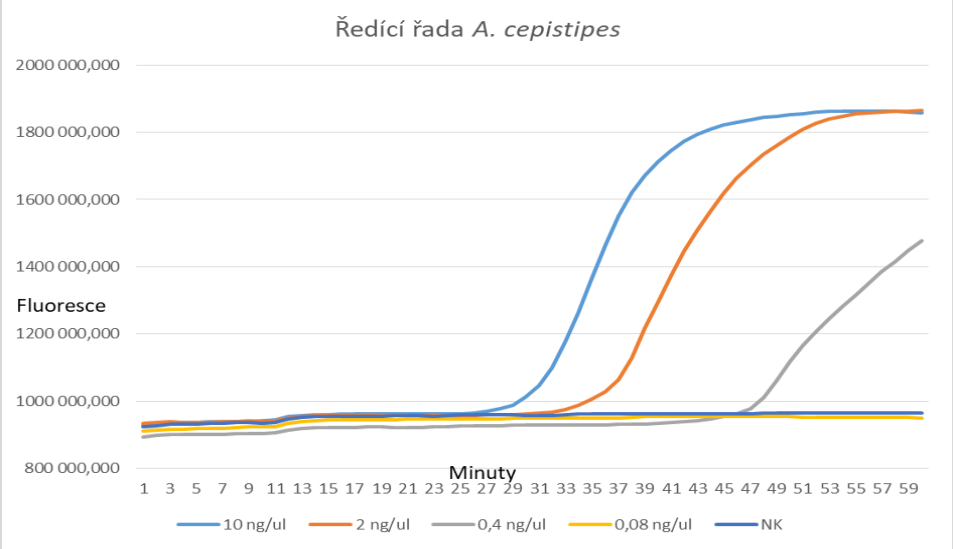
DNA jednotlivých druhů václavek byla izolována metodou CTAB-PVP z rhizomorf. Jednotlivé druhy byly detekovány sekvenací amplifikovaných úseků DNA specifickými primery ve dvoustupňové PCR (Lochman a kol., 2004). Vzorky DNA byly uchovávány při -20°. Metodou LAMP bylo testováno 42 vzorků v. cibukotřenné, v. hlíznaté, v. smrkové a v. severské. Reakční směs pro tradiční LAMP v celkovém objemu 25 µl obsahovala 0,8 µM primeru FIP, 0,8 µM primeru BIP, 0,2 µM primeru F3, 0,2 µM primeru B3, 0,4 µM primeru loopF, 0,4 µM primeru loopB a 15µl barevně značeného izotermálního mastermixu a 3µl DNA. Reakce pro LAMP s asimilační sondou obsahovala primery FIP, BIP, F3, B3 a loopB o stejné koncentraci jako reakční směs pro tradiční LAMP. Dále reakční směs obsahovala sondu (loopBprobe) v koncentraci 0,3 µM a zhášeč (BHQ-1) v koncentraci 0,5 µM. Dále reakce obsahovala 15 µl izotermálního mastermixu bez barevného značení a zbytek reakce byl do 25 µl doplněn ultračistou DEPC vodou. Všechny reakce byly testovány při 65°C po dobu 60 – 90 minut a následnou závěrečnou denaturací při 90°C v QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR. Poté byla optimalizovaná reakce převedena na přenosnou platformu Smart-DART (Diagenetix, USA). Tato platforma byla připojena pomocí bluetooth s mobilním telefonem pro realtime zobrazení. Platforma byla schopna analyzovat osm vzorků najednou.

Výsledky a diskuze

Všechny navržené primery byly *in silico* testovány na specificitu v programu Blast (NCBI). Oblast pro loopB primer byla specifická pouze pro *A. cepistipes*. Tento primer byl fluorescenčně označen a vznikla tak asimilační sonda. Modifikace této metody je výhodná hlavně z hlediska zvýšení specificity reakce ale také ji lze modifikovat na multiplex LAMP (Kubota a kol. 2011, Jenkins a kol. 2011, Kubota a Jenkins, 2015).
Tradiční LAMP metoda byla testována pro ověření funkčnosti reakčních podmínek a pro testování specificity primerů pro jednotlivé druhy václavek. DNA z rhizomorfy *A. cepistipes* byla naředěna na 10 ng/µl a dále 1:5 v ředící řadě. Nejnižší koncentrace, při které byla metoda

LAMP ještě schopná detekovat DNA ve vzorku rhizomorf byla 0,4 ng/ul (Obr. 1). Dále byly testovány všechny vzorky izolované z rhizomorf LAMP metodou s asimilační sondou v přístroji QuantStudio™ 6 Flex Real-Time PCR a také na přenosné platformě Smart-DART (Diagenetix, USA) se stejnými výsledky. 42 vzorků DNA, izolované z rhizomorf, které se ve 39 případech shodovaly s výsledky sekvenovaní DNA z rhizomorf. U 2 vzorků *A. cepistipes* určených sekvenováním vyšla detekce LAMP jako negativní. Jeden vzorek DNA z rhizomorf nebyl tradiční PCR detekován, ale metodou LAMP byl tento vzorek určen jako *A. cepistipes*.
Z výsledků je patrné, že tradiční metodou LAMP a metodou LAMP s fluorescenčně značenými primery jsme schopni detekovat václavku *A. cepistipes* v relativně krátkém čase na rozdíl od klasické PCR, kde je nutné amplifikovaný úsek navíc sekvenovat (Holuša a kol., 2019), či štěpit restrikčními enzymy (Lochman a kol., 2004). Kromě časové a ekonomické nevýhody dříve popsaných metod detekce václavek má metoda LAMP potenciál využití i v terénní praxi určení václavek v poměrně krátkém čase při terénním monitoringu a dá se tak využít i v efektivní ochraně jehličnatých porostů proti václavkám.

Obr. 1: Ředící řada vzorku *A. cepistipes* pro tradiční LAMP



Závěr

V tomto příspěvku prezentujeme výsledky testování specificky navržených oligonukleotidových primerů s asimilační sondu pro metodu LAMP při rychlé detekci václavky cibulkotřenné *A. cepistipes* z rhizomorf izolované DNA jako metodu rychlé a specifické detekce václavky v případě infekce smrkových porostů, napadených touto houbou. Optimalizací reakčních podmínek je umožněna rychlá a specifická detekce *A. cepistipes*. Tato sada primerů je vhodná pro převod na platformu Smart-DART (Diagenetix, USA) umožňující detekci v polních podmínkách.

Poděkování

Tato práce vznikla za finanční podpory projektu QK1920412 Ministerstva zemědělství ČR.

Literatura

Antonín, V., Tomšovský, M., Sedlák, P., Májek, T., & Jankovský, L. (2009). Morphological and molecular characterization of the Armillaria cepistipes–A. gallica complex in the Czech Republic and Slovakia. *Mycological Progress*, *8*(3), 259-271.

Harrington TC, Wingfield BD (1995) A PCR-based identification method for species of Armillaria. *Mycologia* 87:280–288.

Holuša J., Lubojacký J., Čurn V., Tonka T., Lukášová K., Horák J. (2018) Combined effects of drought stress and *Armillaria* infection on tree mortality in Norway spruce plantations. Forest Ecology and Management,

Jenkins, D. M., Kubota, R., Dong, J., Li, Y., & Higashiguchi, D. (2011). Handheld device for real-time, quantitative, LAMP-based detection of Salmonella enterica using assimilating probes. *Biosensors and Bioelectronics*, *30*(1), 255-260.

Kubota, R., & Jenkins, D. (2015). Real-time duplex applications of loop-mediated amplification (LAMP) by assimilating probes. *International journal of molecular sciences*, *16*(3), 4786-4799.

Kubota, R., Alvarez, A. M., Su, W. W., & Jenkins, D. M. (2011). FRET-based assimilating probe for sequence-specific real-time monitoring of loop-mediated isothermal amplification (LAMP). *Biological Engineering Transactions*, *4*(2), 81-100.

Kumar S, Stecher G, and Tamura K (2016) Molecular Biology and Evolution 33:1870-1874

Lochman J, Šerý O, Mikeš V (2004) The rapid identification of European Armillaria species from soil samples by nested PCR. FEMS Microbiol Lett 237:105–110.

Pegler DN (2000) Taxonomy, nomenclature and description of Armillaria. In: Fox RTV (ed) Armillaria root rot: biology and control of honey fungus. Intercept Press, Andover, pp 81–93

Kontaktní adresa:

Ing. Dagmar Stehlíková
Katedra speciální produkce rostlinné, Zemědělská fakulta JU
Na Sádkách 1780
37005 České Budějovice
+420720118470,
e-mail: dagmarstehlik@gmail.com

HLEDÁNÍ ZDROJŮ REZISTENCE K VIRU ŽLUTÉ MOZAIKY CUKETY (ZYMV) VE VYBRANÝCH ODRŮDÁCH TYKVE VELKOPLODÉ, *CUCURBITA MAXIMA*

Searching for resistance sources to *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) in selected cultivars of winter squash *Cucurbita maxima*

Svoboda J., Leišová-Svobodová L., Brožová J., Parnica J., Komínek P.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně

Abstrakt

Oranžové tykve 'Hokkaido' (*Cucurbita maxima* Duchesne) jsou velice populární pro své široké použití v české kuchyni a vysoký obsah karotenu. Běžně pěstované kultivary jsou však náchylné k viru žluté mozaiky cukety (ZYMV). Plody jsou po infekci tmavě zeleně skvrnité a mají zkrácenou skladovatelnost. Nejúčinnějším způsobem ochrany proti ZYMV je pěstování rezistentních odrůd. Proto byla získána semena celkem 22 českých a zahraničních odrůd a novošlechtění *C. maxima* s oranžovou dužinou a byla studována jejich rezistence k ZYMV na základě stanovení relativní koncentrace viru v rostlinách po mechanické inokulaci a porovnáním příznaků na listech a plodech. Vysoce odolné, téměř imunní byly hodnoceny 'Invincible F1' a 'Star 7026 F1'. Středně rezistentní byly hodnoceny 'Amord F1', 'Grey Queen' a novošlechtění '322/17'. Zbytek hodnocených odrůd byl tolerantní nebo náchylný k ZYMV.

Klíčová slova: relativní koncentrace viru, titr viru

Abstract

Orange winter squash 'Hokkaido' (*Cucurbita maxima* Duchesne) is very popular for its wide use in cooking and high carotene content. Commonly planted cultivars are susceptible to *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV). Fruits from infected plants are dark green-spotted, and their shelf life is shortened. The most effective way to protect them against ZYMV is growing resistant cultivars. Therefore seeds from 22 Czech and foreign cultivars and new breeding lines of *C. maxima* with orange flech were gathered and their resistance to ZYMV was examined. The level of resistance was evaluated by a comparison of the relative virus concentrations in plants after mechanical inoculation with ZYMV and by evaluation of symptoms on plants and fruits. Squashes 'Invincible F1' and 'Star 7026 F1' were evaluated as highly resistant; 'Amord F1', 'Grey Queen' and '322/17' were assessed as moderately resistant.

Key words: virus relative concentration, virus titer

Úvod

Účinná ochrana tykví před ZYMV pěstováním rezistentních odrůd může být přínosem pro pěstování tykví ve všech virem zamořených oblastech.

Virus žluté mozaiky cukety, *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) je vláknitý virus z čeledi *Potyviridae,* rod *Potyvirus* obsahující +ssRNA nukleovou kyselinu. Způsobuje mozaiku na listech infikovaných rostlin čeledi *Cucurbitaceae*, boulovitost a skvrnitost jejich plodů.

Virus se v porostu snadno šíří mšicemi neperzistentně nebo mechanicky při agrotechnických zásazích (Lisa a Lecoq, 1984). ZYMV je v České republice rozšířen již prakticky ve všech hlavních oblastech pěstování tykvovitých zelenin, zejména na jižní a střední Moravě (Svoboda, 2011). V podmínkách České republiky přezimuje na různých druzích vytrvalých plevelných rostlin (Svoboda a Polák, 2002).

Během posledních let se sytě oražové tykve 'Hokkaido' (*Cucurbita maxima* Duchesne) staly velice oblíbenými pro svoji chuť, vysoký obsah karotenu, všestranné použití v kuchyni a dlouhou skladovatelnost. Jsou však vysoce náchylné k ZYMV. Tento virus vyvolává na listech infikovaných rostlin tykví 'Hokkaido' výraznou mozaiku a deformace a způsobuje tmavě zelené nepravidelné skvrny na plodech, takže jsou neprodejné (Obr.1). Při skladování infikovaných plodů se z míst se zelenými skvrnami šíří hniloba, čím se jejich skladovatelnost rapidně zkracuje.

Výzkumem rezistence tykví k viru žluté mozaiky cukety se zabývala zejména francouzská pracoviště. Gilbert-Albertini *et al.* (1993) nalezli dominantní gen rezistence v tykvi *C. moschata* 'Menina 15'. Úkolem provedené práce bylo nalezení zdroje rezistence u tykví *C. maxima*, který by se dal využít při šlechtění tykve 'Hokkaido' na odolnost k ZYMV.

Obr. 1: Plod náchylné tykve *C. maxima* 'Hokkaido' infikované ZYMV (vlevo) ve srovnání s neinfikovaným plodem (vpravo)

Materiál a metody

Rostlinný materiál: bylo použito komerční osivo tykví *C. maxima* od firem:
Enza Zaden, Holandsko – novošlechtění E30R079 a E30R080;
SEMO a.s., Smržice, Česká republika - 'Amord F1', 'Blue Kuri', 'Grey Queen', 'Hokkaido Orange' a 'Solor F1'; novošlechtění 304/17, 307/17, 309/17, 311/17, 312/17, 313/17, 316/17, 320/17, 321/17, 322/17, 323/17, 325/17, 325A/17;
Starke Ayres Seed, South Africa - 'Invincible F1' and 'Star 7026 F1'; novošlechtění PK 262;
Seva Flora, Valtice, Česká republika - tykev cuketa *C.pepo* 'Zelená', známá svou náchylností k ZYMV, která sloužila jako náchylná kontrola.
Semena byla vyseta ve skleníku s teplotou den/noc 25/18°C. Fotoperioda byla prodloužena přisvětlováním sodíkovými výbojkami na dobu 16 hodin.

Hodnocení příznaků na plodech: ZYMV vyvolává na plodech tykví *C. maxima* deformace a barevné změny. Podle těchto příznaků byly rostliny hodnoceny jako silně rezistentní: plody zcela bez poškození; středně rezistentní: na plodech se občas vyskytly 1-2 drobné tmavě zelené skvrny nebo mírně vyvýšené boule do velikosti ø 2 cm; tolerantní: na plodech bylo max. 3-5 drobných tmavě zelených skvrn nebo boulí do velikosti ø 2 cm; náchylné: plody byly více než z 1/3 povrchu pokryty tmavě zelenými skvrnami a výraznými boulemi.

Mechanický přenos: pro inokulaci ZYMV byl použit silně virulentní kmen ZYMV-H (Svoboda and Polák, 2002), který je součástí Sbírky fytopatogenních virů (2019) ve VÚRV, v.v.i., Praha. Pro mechanický přenos bylo v třecí misce homogenizováno 10 g listů tykve cukety 'Zelená' infikované kmenem ZYMV-H se 30 ml fosfátového pufru (0,03 M Na_2HPO_4 s přídavkem 0,2 % DIECA, pH 9,3) podle Mahgouba *et al.* (1997). K homogenátu bylo přidáno aktivní uhlí a karborundum mesh 200 pro zvýšení účinnosti přenosu a byla provedena mechanická inokulace třením děložních listů tykví. Veškeré chemikálie a nádoby byly předem vychlazeny v chladničce a připravený homogenát byl uchováván až do skončení inokulace v misce s drceným ledem pro zajištění dlouhé infekčnosti inokula. Kontrola infekčnosti použitého inokula byla na závěr mechanických přenosů provedena inokulací 3 rostlin tykve cukety 'Zelená'. Infekčnost byla posuzována vizuálně po 14 dnech, tj. po vzniku systémové infekce, hodnocením příznaků ZYMV.

Stanovení relativní koncentrace ZYMV: čtyři týdny po provedené inokulaci, tj. ve stadiu 4-5. pravého listu, kdy již byly na rostlinách náchylných odrůd zřetelně viditelné příznaky systémové infekce ZYMV, byly odebrány vzorky mladých listů. Vzorky byly vzaty z deseti rostlin jedné odrůdy, poté smíšeny dohromady z alikvotních dílů a vzniklý směsný vzorek byl použit k testu rezistence této odrůdy.

Pro určení koncentrace ZYMV ve vzorku byl v něm stanoven titr viru jako nejvyšší ředění vzorku rozetřeného v extrakčním pufru, které ještě dávalo v ELISA pozitivní reakci. Koncentrace virového proteinu (c) je nepřímo závislá na titru (t), tj. čím větší ředění ještě dává pozitivní reakci, tím vyšší je koncentrace virového proteinu v listu. Závislost lze vyjádřit jako podíl specifické konstanty (k) a stanoveného titru

$$c = k / t .$$

Pro porovnání koncentrací téhož virového proteinu v listech různých rostlin není nutné znát přesnou hodnotu konstanty (k) protože je pro všechny rostliny při použití stejné metody a antisera totožná. Poměr koncentrací viru v hodnocených rostlinách potom je

$$c_1 : c_2 = 1 / t_1 : 1 / t_2$$

a převrácenou hodnotu (1/t) lze považovat za relativní koncentraci virového proteinu, která nemá přesně hodnotu koncentrace ZYMV ve vzorku, ale je ve správném poměru k vypočteným relativním koncentracím ZYMV ostatních hodnocených vzorků.

Pro stanovení titru viru byla použita imunoenzymatická metoda DAS-ELISA popsaná Clarkem a Adamsem (1977), komerční protilátky k ZYMV a pracovní postup firmy Loewe Biochemica GmbH, Německo.

Výsledky a diskuze

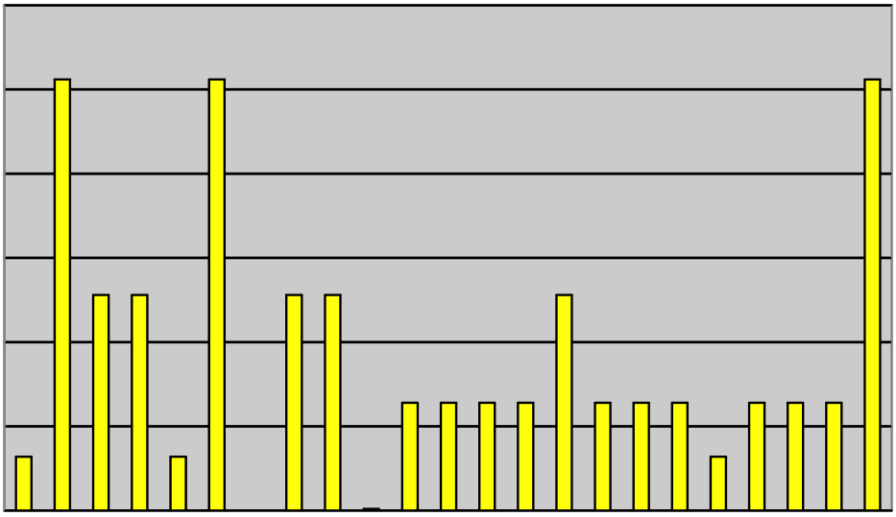
Nalezení skutečně rezistentních odrůd tykví k ZYMV bylo cílem této práce. Pro hodnocení jejich rezistence má zásadní význam výběr kmene viru, protože vedle silně virulentních kmenů existují také mírně virulentní kmeny, které by celé hodnocení mohly výrazně zkreslit mírností

vyvolaných příznaků. Proto jsme použili silně virulentní kmen ZYMV-H, který byl spolu se slovenským kmenem ZYMV-CIF06 hodnocen jako nejvirulentnější ze souboru 11 středoevropských kmenů ZYMV (Glasa *et al.*, 2007) a pochází z jižní Moravy, hlavní oblasti pěstování zelenin v České republice. Zavedení pěstování rezistentních odrůd právě v oblastech zamořených ZYMV by mělo obrovský význam, protože by se tím získala kvalitní produkce nepoškozených plodů s vyloučením nutnosti chemické ochrany proti hmyzím přenašečům viru.

Stanovení titru viru v rostlinách právě 4 týdny po provedené mechanické inokulaci má zásadní význam, protože do této doby narůstá jak koncentrace ZYMV v rostlinách, tak i rozdíly v koncentracích mezi jednotlivými odrůdami. Po této době se koncentrace a rozdíly zase snižují (Svoboda *et al.*, 2013). Stejně tak je důležité pracovat se směsnými vzorky pocházejícími z více rostlin jedné odrůdy, protože i mezi nimi existují drobné rozdíly, které se tím zprůměrují. Právě výběrem odolnějších rostlin v rámci jedné odrůdy by bylo možné zvýšit její rezistenci.

Zjištěné relativní koncentrace ZYMV v listech vybraných tykví ukazuje graf 1. Celkem bylo hodnoceno 22 odrůd a novošlechtění tykví *C. maxima* s oranžovou dužinou a bylo zjištěno, že jednoznačně nejodolnější jsou 'Invincible F1' a 'Star 7026 F1', ve kterých se ZYMV prakticky nemnožil. Zjištěná koncentrace ZYMV v rostlinách byla téměř nulová a na jejich listech a plodech nebyly pozorovány žádné příznaky. Mechanický přenos viru z listů těchto rostlin na mladé indikátorové rostliny tykve 'Zelená' však jednoznačně prokázal přítomnost ZYMV v rostlinách. To znamená, že tyto odrůdy nejsou imunní, ale silně rezistentní k ZYMV.

Graf 1: Relativní koncentrace virového proteinu ZYMV v listech vybraných tykví



Ve zbytku hodnocených tykví vynikaly 'Amord F1', 'Grey Queen' a novošlechtění 322/17. Koncentrace ZYMV v jejich listech byla 8x nižší než u náchylné kontroly 'Zelená', a proto byly hodnoceny jako středně rezistentní. Virová infekce u těchto tykví však způsobila mírnou mozaiku listů a občasné malé deformace plodů. Novošlechtění 304/17, 307/17, 309/17, 311/17,

312/17, 316/17, 320/17, 321/17, 323/17, 325/17 a 325A/17 byla hodnocena jako tolerantní; koncentrace viru v jejich listech byla 4x nižší než u kontroly 'Zelená'. Jejich listy vykazovaly virovou mozaiku a plody byly mírně deformované nebo tmavě skvrnité.

Zbytek hodnocených tykví 'Blue Kuri', 'Hokkaido Orange', 'Solor F1', novošlechtění 304/17, 307/17, 309/17, 311/17, 312/17, 313/17, 316/17, 320/17, 321/17, 323/17, 325/17, 325A/17, E30R079, E30R080 a PK 262 měl koncentraci ZYMV v listech poloviční nebo dokonce stejně tak vysokou jako měla náchylná kontrola 'Zelená'. Rostliny těchto odrůd a novošlechtění byly po inokulaci ZYMV-H zakrslé, na listech měly výraznou mozaiku a plody byly nepoužitelné pro jejich boulovitost a skvrnitost. Tyto rostliny přestávaly plodit a často předčasně hynuly. Uvedené odrůdy a novošlechtění byly hodnoceny jako náchylné k ZYMV.

Závěr

Ve svém příspěvku jsme se pokusili přinést širší studii rezistence tykví *C. maxima* k ZYMV, než byla dosud publikována. Naši metodu založenou na kvantitativním vyhodnocení relativních koncentrací ZYMV v rostlinách po inokulaci považujeme za nezbytný nástroj hodnocení rezistence. Tato metoda ukazuje přesnější rozdíly v hodnocení odrůd než je samotné posuzování podle příznaků.

Na základě našeho výzkumu můžeme jednoznačně doporučit pěstování tykví 'Invincible F1' a 'Star 7026 F1'. Tyto odrůdy se vyznačují bílou, respektive šedou slupkou, což prodejní řetězce odmítají. Jejich dužina je ale jasně oranžová a chuť byla hodnocena lépe než u plodů u nás běžně pěstované tykve 'Hokkaido'. Bude proto potřeba vyvinout značné úsilí např. v podobě reklamních kampaní, aby se podařilo zlomit jejich odmítavý postoj. Tyto odrůdy by měli využít také šlechtitelé tykví jako zdroje rezistence k ZYMV.

Poděkování

Provedený výzkum byl financován z projektu MZe RO0419.

Literatura

Clark M. F., Adams A. N., 1977: Characteristic of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant virus. Journal of General Virology 34: 51-57.

Gilbert-Albertini, F., Lecoq, H., Pitrat, M., and Nicolet, J.L., 1993: Resistance of *Cucurbita moschata* to watermelon mosaic virus type 2 and its genetic relation to resistance to zucchini yellow mosaic virus. Euphytica, 69: 231-237.

Glasa, M., Svoboda, J., and Nováková, S. (2007). Analysis of the Molecular and Biological Variability of *Zucchini yellow mosaic virus* isolates from Slovakia and Czech Republic, Virus Genes 35:415-421.Lisa V., Lecoq H., 1984: Zucchini yellow mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses No. 282, Unvin Brothers Press, Surrey (GB).

Mahgoub H. A., Desbiez C., Wipf-Scheibel C., Dafalla G., Lecoq H., 1997: Characterization and occurrence of zucchini yellow mosaic virus in Sudan. Plant Pathology 46: 800-805.

Sbírka fytopatogenních virů [www dokument]. [cit. 18. 9. 2019]. Dostupné na: http://www.vurv.cz/collections/vurv.exe/search?org=VI.

Svoboda J., 2011: Pathogenic Viruses on Cucurbitaceous Vegetables and their Spread in the Czech Republic. Acta Hort. (ISHS) 917: 309-315.

Svoboda J., Leisova-Svobodova L., Amano M. (2013): Evaluation of selected *Cucurbitaceous* vegetables for resistance to *Zucchini yellow mosaic virus.* Plant Disease 97:10, 1316-1321. ISSN: 0191-2917.

Svoboda J, Polák J., 2002: Distribution, Variability and Overvintering of Zucchini yellow mosaic virus in the Czech Republic. Plant Protection Science, 38 (4): 125-130.

Kontaktní adresa:

Ing. Jiří Svoboda, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 161 06 - Praha 6 - Ruzyně
e-mail: jiri.svo@vurv.cz

VZTAH MEZI BLÝSKÁČKY (BRASSICOGHETES SPP.) A STŘEVLÍKY (COLEOPTERA) V POROSTECH OZIMÉ ŘEPKY POMOCÍ SADIE ANALÝZY

The distributions of pollen beetle (Brassicoghetes spp.) and ground beetle (Carabidae) in winter oilseed rape using Sadie analysis

Šafář J., Seidenglanz M.

Agritec Plant Research s.r.o.

Abstrakt

V letech 2016-18 (Šumperk) byl hodnocen vývoj výskytů a charakter disperze u blýskáčka řepkového *Brassicogethes aeneus* (Fabricius, 1775) a střevlíkovitých brouků (Coleoptera, Carabidae) a analyzovány (SADIE, QUICK analysis) prostorové asociace v jejich disperzích (blýskáček vs. střevlíci) v určitých obdobích okupace řepkových porostů. Z výsledků vyplývá, že prostorová disperze blýskáčků v porostech není rovnoměrná s tendencí k agregaci do určitých zón výskytu larev i kukel blýskáčků

Klíčová slova: blýskáček řepkový, střevlíci, řepka olejka, SADIE analýza, disperze

Abstract

In the course of 2016 -18 the abundances and distributions of *Brassicogethes aeneus* (Fabricius, 1775) adults and carabids (Coleoptera: Carabidae) were assessed (SADIE) and their spatio-temporal associations were analysed (QUICK analysis) in untreated winter oilseed rape stands at different periods of the crop occupation. Pollen beetles proved to be distributed non-uniformly in the crops with clear tendency for aggregation to some zones the occurrence of larvae and pupae of pollen beetle.

Key words: pollen beetle, carabids beetles, winter oilseed rape, SADIE, distribution

Úvod

Blýskáček řepkový (*Brassicoghetes aeneus* (Fabricius, 1775)) patří mezi klíčové škůdce řepky olejky, je dominantním druhem blýskáčků vyskytující se v porostech řepky olejky. Jeho letová aktivita začíná brzy na jaře, kdy teploty přesáhnou 10 °C (Láska & Kocourek 1991). Samičky kladou vajíčka již do poupat velikých okolo 2-3 mm, kdy dochází ke kladení 2-3 vajíček na pupen, kdy průměrná plodnost samiček blýskáčků se pohybuje okolo 250 vajíček na samičku (Scherney 1953). Nejen dospělci ale i larvičky blýskáčků dokážou květní pupen poškozovat. V důsledku toho dochází k nezanedbatelným ztrátám na výnose řepky olejky (ztráty až 70 % sklizně, Williams & Free 1978). Mnoho autorů vědeckých prací se zabývalo potenciálním vlivem přirozených nepřátel škůdců řepky a dopadem na populace blýskáčků. Autoři považují za klíčový vztah predátor vs. kořist zejména vůči larvám blýskáčků (Alford 2003, Williams et al 2010). U vylíhlých larev z vajíček blýskáčků dochází před ukončením larválního stádia k samovolnému pádu na půdní povrch odehrávající se na konci druhého instaru, tzn. po cca 14 dnech života larev. Klidové stádium kukly přetrvává do letního období, posléze se líhnou dospělci, kteří přezimují v různých biotopech mimo oblast pole, kde byl započat vývoj jedinců. Tato práce doplňuje a rozšiřuje poznatky o vztahu střevlíkovitých brouků k blýskáčkům (Williams et al. 2010).

Materiál a metody

Odchyt probíhal na monitorovacím poli (neošetřováno insekticidy a fungicidy) poblíž města Šumperk ve 2016–2018 (0,9 – 1,1 ha). Porost ozimé řepky byl rozdělen pravidelnou mřížkou typu 5 × 5 = 25 (vzniklo tak 25 odběrných míst se známými souřadnicemi). V každém odběrovém místě byla pro odchyt blýskáčků umístěna žlutá Mörickeho miska naplněná vodou se smáčedlem (25 žlutých misek na lokalitu). Výběr misek probíhal 2× týdně, s následným uchováním hmyzu v 70% alkoholu. V každém termínu hodnocení byl vypočítán průměrný počet zachycených dospělců *B. aeneus*/žlutou misku. Ve shodných termínech byly vybírány zemní pasti (do půdy zapuštěné plastové 0,5 l kelímky přikryté stříškou z linolea), které byly na monitorovacím poli rozmístěny poblíž jednotlivých Mörickeho misek (nebylo použito žádné konzervační činidlo; zachycení střevlíci byli po determinaci vraceni zpět do okolí misek, z nichž byli vytaženi). Pro sumy zachycených jedinců blýskáčků a jednotlivých druhů střevlíků v pastech 1 – 25 (sumy byly vyjadřovány pro každou past zvlášť) za 10-dní trvající období (dekáda) byly vypočteny indexy agregace I_a (Spatial Analysis of Distance IndicEs; SADIE, Pearce & Zalucki 2006). Zároveň byly zjištěny hodnoty *clustering indices* (další výstup SADIE analýzy) pro hodnocená období (dekády duben – konec června) a hodnocené druhy, které byly dále jako mezi-výpočet využity pro analýzu (Quick analasis, Pearce & Zalucki 2006) vzájemných prostorových asociací disperzí porovnávaných druhů (blýskáček vs. některý ze střevlíků) ve vytýčených časových úsecích (dekády březen – květen). Tak byly získány indexy celkové asociace X (*overall association index*) pomocí kterých lze interpretovat, jestli mezi disperzí jedinců posuzované dvojice druhů (blýskáček x vybraný střevlík) existovala v daném období (vybraná dekáda pro jeden druh a vybraná dekáda pro druhý druh) signifikantní asociace (hodnoty X větší než 0, $p < 0{,}025$), signifikantní disociace (X menší než 0; $p > 0{,}975$) nebo nebyly jejich disperzní vzorce významně asociovány (p mezi 0,026 – 0,974).

Výsledky a diskuze

Celkově bylo odchyceno v roce 2016–2018 dohromady cca 86000 dospělců blýskáčků, 13338 jedinců střevlíků náležících k 31 druhům. Z celkového množství druhů byly k analýzám vybírány ty, které se vyskytovali ve vyšších početnostech a též v literatuře o nich bylo referováno jako o potencílních predátorech larev blýskáčků (např. Williams *et al.* 2010, Ferguson et al. 2003 a další). Jednalo se konkrétně o *Poecilus cupreus* (De Geer, 1774), *rod Amara spp.* zastoupen zejména druhy *A. similata* (Gyllenhal, 1810) a *A. ovata* (Fabricius, 1792), *Anchomenus dorsalis* (Pontoppidan, 1763), *Harpalus affinis* (Schrank, 1781), *Pterostichus melanarius* (Illiger, 1798), *Pseudoophonus rufipes* (De Geer, 1774) *a Pseudoophonus griseus* (Panzer, 1797).

Z minulosti přetrvává úsilí a tlak na zpřesnění termínů plošných aplikací proti škůdcům řepky olejky. Funkce a vliv přirozených nepřátel na populace škůdců je stále opomíjena, podobně jako studium nerovnoměrné disperze škůdců v porostech. Přitom znalost charakteru disperze škůdců (a jejich přirozených nepřátel) v porostech je velice důležitá z hlediska zpřesňování aplikací (prostorový aspekt). Jedinci různých druhů hmyzu (škůdci, užitečné druhy, necílové druhy) jsou v porostech málokdy dispergováni rovnoměrně. Častější naopak je, že se v některých zónách koncentrují, jiným se vyhýbají. V zónách, kde se jedinci škodlivého druhu agregují (v tzv. *patch clusterech;* mohou být různě velké a mít různý tvar a v průběhu času měnit polohu), lze očekávat vyšší poškození rostlin než v částech porostu, kterým se z nějakých důvodů nenáhodně vyhýbají nebo z nich v průběhu času mizí (v tzv. *gap clusterech*). Různé části porostu mohou tedy čelit rozdílným úrovním napadení a v důsledku i rozdílným úrovním

výsledného poškození (např. ztrátám na výnosech). Navíc disperzní vzorce různých druhů (hostitel – predátor, resp. škůdce – přirozený nepřítel) mohou být v některých případech asociovány. Z analýzy prostorových disperzí více druhů v jednom porostu si však také můžeme udělat obrázek, jestli např. nějaký predátor dokáže účelně vyhledávat v porostech svou kořist (např. larvy škůdce), tedy o tom, jestli je s takovým druhem (skupinou druhů) možné počítat jako s potenciálně účinným bioagens (v takových případech by měly být jejich časo-prostorové disperze v porostech silně asociovány). Tento příspěvek se zaměřuje na hodnocení časo-prostorových asociací mezi disperzí důležitého škůdce řepky blýskáčka řepkového (*Brassicogethes aeneus*) a potenciálně významných predátorů (*Carabidae*) jeho larev a velice pravděpodobně, jak dokládají výsledky autorů práce, dochází k asociacím a vazbou i na klidové vývojové stádium kukly blýskáčků (Tab 1.1. a 1.2).

Tab 1.1: Indexy asociace (*X*) a pravděpodobnosti (*p*). Tučně zvýrazněny patch clustery, kurzívou gap clustery. Období vypadávání larev znázorněno šedě, přerušovaná čára značí období, kdy docházelo ke kuklení blýskáčků (Brassicoghetes spp.). Šedá barva zvýrazňuje období pádu larev z květů řepky. Přerušovanou čárou je znázorněno období, kdy docházelo ke kuklení vypadnuvších larev z květů řepky. * období vrcholné aktivity dospělců blýskáčků.

		X - index							***p - index***						
B. aeneus		**Střevlíci, Coleoptera (Carabidae)**							**Střevlíci, Coleoptera (Carabidae)**						
		20-30.IV	**1-10.V**	**10.-20.V**	**20-.31.V**	**1-10.VI**	**10.-20.VI**	**20-.30.VI**	**20-30.IV**	**1-10.V**	**10.-20.V**	**20-.31.V**	**1-10.VI**	**10.-20.VI**	**20-.30.VI**
20-31.III	**2016**		**c 0,291** **o 0,366** **s 0,381** *g -0,652*	*r -0,573*	*d -0,464* *r -0,652*	*c -0,481* *d -0,428*				**c 0,018** **s 0,023** **o 0,025** *g 0,999*	*r 0,998*	*d 0,990* *r 0,999*	*c 0,990* *d 0,975*		
1-10.IV	**2016**		**o 0,366** **g 0,422**	**r 0,424**	**r 0,422**		**a 0,475** **r -0,410**			**o 0,025,** **g 0,021**	**r 0,194**	**r 0,018**		**a 0,014** *r 0,980*	
	2017		**s 0,732** **g 0,556**	**c 0,404** **s 0,415** **g 0,875**						**s 0,0001** **g 0,003**	**c 0,025** **s 0,023** **g 0,0001**				
	2018	**c 0,413**	**s 0,616** **r 0,430**				**d -0,629**		**c 0,026**	**s 0,03** **r 0,019**				*d 0,998*	
10-20.IV	**2017**	**c 0,442**	**c 0,442** **s 0,584**	**g 0,727** *a -0,453* *r -0,453*	*s -0,442*				**c 0,025**	**c 0,025** **s 0,003**	**g 0,0003** *a 0,975* *r 0,975*	*s 0,983*			
	2018	**c 0,522** **s 0,524**						*r -0,544*	**c 0,008** **s 0,012**						*r 0,994*
20-30.IV	**2016***		*g -0,426*	**o 0,480** *r -0,415*	**o 0,477** *d -0,478* *r -0,415*	**g 0,485**		*m -0,601* *r -0,514*		*g 0,985*	**o 0,006** *r 0,983*	**o 0,008** *d 0,986* *r 0,980*	**g 0,012**		*m 0,998* *r 0,994*
	2017			**g 0,497**		*a -0,402* *r -0,402*	*a -0,475*				**g 0,006**		*a 0,973* *r 0,976*	*a 0,014*	
	2018*			**r 0,505**	*d -0,626*		**g 0,560** **r 0,485**	**g 0,566**			**r 0,007**	*d 0,997*		**g 0,005** **r 0,017**	**g 0,006**

Legenda: c - *P. cupreus,* s - *A. similata,* o - *A. ovata,* d - *A. dorsalis,* a - *H. affinis,* m – *P. melanarius,* r – *P. rufipes,* g – *P. griseus.*

Tab 1.2: Indexy asociace (*X*) a pravděpodobnosti (*p*). Tučně zvýrazněny patch clustery, kurzívou gap clustery. Období vypadávání larev znázorněno šedě, přerušovaná čára značí období, kdy docházelo ke kuklení blýskáčků (Brassicoghetes spp.). Šedá barva zvýrazňuje období pádu larev z květů řepky. Přerušovanou čárou je znázorněno období, kdy docházelo ke kuklení vypadnuvších larev z květů řepky. * období vrcholné aktivity dospělců blýskáčků.

B. aeneus		*X - index* Střevlíci, Coleoptera (Carabidae)							*p - index* Střevlíci, Coleoptera (Carabidae)						
		20-30.IV	1-10.V	10.-20.V	20-.31.V	1-10.VI	10.-20.VI	20-.30.VI	20-30.IV	1-10.V	10.-20.V	20-.31.V	1-10.VI	10.-20.VI	20-.30.VI
1-10.V	2016*			*d -0,429*	*d -0,383*		**g 0,386**				*d 0,977*	*d 0,975*		**g 0,022**	
	2017*			**c 0,404** **d 0,474** *a -0,471* *r -0,471*	**c 0,634**						**c 0,025** **d 0,019** *a 0,985* *r 0,983*	**c 0,009**			
	2018*	*c -0,539;* *d -0,531*	*c -0,505* *s -0,634*		*m -0,460*	**a 0,481** **m 0,443**			*c 0,994* *d 0,992*	*c 0,991* *s 0,997*		*m 0,985*	**a 0,012** **m 0,027**		
10-20.V	2016						*o -0,541*							*o 0,995*	
	2017				**c 0,467**			**c 0,428** **d 0,414**				**c 0,018**			**c 0,025** **d 0,023**
20-.31.V	2016						**r 0,469**							**r 0,0089**	
1-10.VI	2016						**o 0,445**	**o 0,398**						**o 0,019**	**o 0,025**

Legenda: c - *P. cupreus,* s - *A. similata,* o - *A. ovata,* d - *A. dorsalis,* a - *H. affinis,* m – *P. melanarius,* r – *P. rufipes,* g – *P. griseus.*

Závěr

Tato práce rozvíjí a přináší poznatky o disperzi a aktivitě střevlíkovitých brouků jako přirozených nepřátel vývojových stádií blýskáčků. V řadě publikovaných prací jsou střevlíkovití brouci považováni za predátory larev blýskáčků a jejich vliv na predaci kukel je opomíjen (Alford 2003, Williams 2010). Autoři práce v průběhu tříletého výzkumu potvrdili pomocí SADIE analýz vztah mezi aktivitou střevlíků a jejich asociací s larvami blýskáčků (Tab 1.1 a 1.2 šeddou barvou) ale i asociací s kuklami blýskáčků (období označeno přerušovanou čárou v Tab 1.1 a 1.2), kde pravděpodobně dochází rovněž k predaci, což není v literatuře doposud dostatečně reflektováno (Alford 2003, Williams 2010). Autoři prací zaměřených na predaci blýskáčků střevlíky prakticky zmiňují pouze predaci larev blýskáčků. Schopnosti střevlíků lézt do puklin v půdě bylo autory využito ke sběru střevlíků pomocí padacích zemních pastí a byly prokázány asociace střevlíků k rozmístění larev (padajících na půdní povrch před kuklením) ale i kukel kuklících se blýskáčků těsně pod povrchem půdy.

Dedikace

Tato práce byla podpořena zdroji MZe NAZV: QK1820081, QJ1610217 a institucionální podporou RO1018.

Seznam litratury

Alford d. V. (ed.), 2003: *Biocontrol of oilseed rape pests*. Blackwell, Oxford, UK. 355 s.

Ferguson A. W. et al., 2003: Spatio–temporal distributions of *Meligethes aeneus* and its parasitoids in an oilseed rape crop and their significance for crop protection. In: *11th International Rapeseed Congress,* 6. – 10. 7. 2003, Copenhagen, Denmark, 1057 – 1059 s.

Láska P. a Kocourek F. 1991: Monitorin of flight aktivity in some crucifer-feeding pests by means of yellow water traps. *Acta Entomologica Bohemslovakia* 88: 25-32 s.

Pearce S. a Zalucki M., 2006: Do predators aggregate in response to pest density in agroecosystem? Assessing within–field spatial patterns. *Journal of Applied Ecology*, 43: 128 – 140.

Scherney, 1958: Zur biology der an Raps vorkommenden Meligethesarten. *Pflanzenbau und Pflanzenschutz* 4: 154-176

Williams I. H., (ed.), 2010: Ground Beetles as Predators of Oilseed Rape Pests: Incidence, Spatio–Temporal Distributions and Feeding, *Biocontrol–Based Integrated Management of Oilseed Rape Pests*, 115–149 s.

Williams I. H. a Free J. B., 1978: The feeding and mating behaviour of pollen beetles (*Meligethes aeneus* Fab.) and seed weevils (*Ceutorhynchus assimilis* Payk.) on oil-seed rape (*Brassica napus* L.). *Journal of Agriculture Science* 91: 453-459.

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Šafář, Ph.D.
Agritec Plant Research, s.r.o.
787 01 Šumperk
Zemědělská 16
tel.: 776 748 289, safar@agritec.cz

PRODUKCE A ZDRAVOTNÍ STAV JARNÍHO JEČMENE PŘI ODLIŠNÉM ZPŮSOBU ZALOŽENÍ POROSTU A POUŽITÍ BIOPREPARÁTŮ

The production and health state of spring barley upon different way of establishing state and using of biopreparations

Vach M., Žabka M., Hlisnikovský L., Nerušil P.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha 6 – Ruzyně

Abstrakt

Z polních pokusů ve VÚRV Praha-Ruzyně byl v letech 2014-2018 vyhodnocen vliv odlišných technologií zpracování půdy a založení porostů v kombinaci s aplikací vybraných biofungicidů ve formě mořidla na hospodářskou produkci a zdravotní stav ječmene jarního. Použito bylo klasické zpracování půdy, přímé setí do nezpracované půdy bez mulče a setí do mělce zpracované půdy se zapravenými rozdrcenými zbytky předplodiny pšenice ozimé. Pětileté výsledky prokázaly, že oproti klasickému způsobu založení porostů byl vyšší výnos zrna zjištěn při využití obou technologií redukovaného zpracování půdy. Byly také vyhodnoceny účinky aplikovaných biopreparátů na redukci houbových chorob ječmene jarního.

Klíčová slova: ječmen jarní; pěstitelské technologie; zpracování půdy; biofungicidy; houbové choroby

Abstract

In the period 2014-2018 on field trials in CRI Prague-Ruzyne, the influence of different technologies of crop stand establishment in combination with various methods of application of selected biofungicides on grain yield and health state of spring barley was evaluated. Beyond conventional soil tillage and sowing, direct drilling into no tilled soil without mulch, and sowing into shallowly loosened soil, with incorporated plant residues of preceding crop winter wheat, was used. In the average of evaluated four years, the results showed higher production of grain in both variants with minimization technologies, compared with conventional soil tillage. Applied biofungicides favourably influenced the health state of plants, and suppressed fungal diseases on the leaves of both cereals.

Key words: spring barley; crop production technologies; soil tillage; biofungicides; fungal diseases

Úvod

Především snahou o maximální uchování vláhy v půdě se v České republice stále více uplatňují redukované způsoby zpracování půdy a založení porostů polních plodin. Dochází při nich ke snížení hloubky zpracování půdy, ale zároveň je efektivně využívána organická hmota (Houšť et al. 2012; Smutný et al. 2018). Ta se buď mělce zapravuje do půdy, nebo slouží k zakrytí jejího povrchu v podobě mulče z posklizňových zbytků předplodin nebo strniskových meziplodin. Avšak z důvodů nižšího počtu prováděných agrotechnických zásahů pak následně dochází k vyššímu nebezpečí výskytu zejména houbových chorob. Proto se zvláště v ekologickém zemědělství při produkci biopotravin rozšiřuje používání biofungicidů, které mají schopnost bez negativního vlivu na půdní prostředí potlačovat parazitickou mykoflóru (Pacholczyk et al. 2015). Využitím biofungicidů, které byly založeny na účinku bakterie *Bacillus subtilis* a houby *Trichoderma harzianum* se zabývali např. Wharton et al. 2014. Výsledky aplikace bakterií a řasových olejů proti houbovým patogenům vyhodnotili von

Bennewitz, Hlušek, 2006. Nejnovější výsledky s použitím bakterie *Xenorhabditis budapestensis* proti *Candida species* publikoval Böszörmenyi et al. 2018.

Materiál a metody

V letech 2014-2018 byly v polních pokusech vyhodnoceny tři rozdílné technologie zpracování půdy a založení porostů ječmene jarního odrůdy Sebastian.

- klasický (konvenční) způsob zpracování půdy s orbou
- přímé setí do nezpracované půdy bez mulče předplodiny (ozimá pšenice)
- setí do mělce zpracované půdy diskovým podmítačem se zapravenými rozdrcenými zbytky předplodiny ozimé pšenice (minimalizace)

Osivo, včetně kontrolní varianty, bylo již osivářskou firmou předem namořeno fungicidním přípravkem Kinto Duo. Před setím bylo aplikováno další moření vybranými biopreparáty na bázi antagonistických hub a homogenizováno ve směsi s již chemicky ošetřeným osivem. Sledovány a vyhodnoceny byly přípravky: Gliorex (obsahující konidie hub rodů *Clonostachys* a *Trichoderma*), Trianum P (*Trichoderma harzianum)* a Koni (účinná houba *Coniothyrium minitans*). U jednotlivých variant (viz tab.1), bylo použito 3-5 g biopreparátu na 1 kg osiva. Účelem bylo zjištění vlivu kombinace fungicidního mořidla s biopreparáty na výši napadení porostů ječmene jarního fytopatogenními houbami v porovnání pouze s chemicky mořenou variantou. V polních podmínkách byl navíc zkoušen nový podpůrný preparát ve formě suchého mořidla, na bázi některých rostlinných terpenoidních látek s majoritním podílem terpenoidů z rostlin rodu Mentha L. ve směsi s vhodným inertním nosičem v určitém poměru. Silné antifungální účinky byly potvrzeny laboratorně. Použitá koncentrace byla 30 g přípravku na 1 kg osiva. V pokusech byl kromě výnosu zrna vyhodnocen také účinek aplikovaných biofungicidů na redukci nejrozšířenějších fytopatogenních hub rodů *Rhynchosporium, Drechslera* a *Blumeria*. Ve stěrech z povrchu rostlin byly vzorky odebírány v měsíčních intervalech.

Výsledky a diskuze

Z produkce zrna jarního ječmene (tab. 1) je zřejmé, že v průměru pěti sledovaných let byly v porovnání s variantami s klasickým způsobem založení porostů zjištěny vyšší výnosy na parcelách s redukovaným způsobem zpracování půdy (+4,7 %, resp. 4,1 %). Nejvyšší výnosy zrna jarního ječmene (8,02 $t.ha^{-1}$) i nejvyšší přírůstky výnosů oproti kontrolní variantě (0,57 $t.ha^{-1}$, tj. +7,7 %) byly zjištěny na parcelách s přímým výsevem do nezpracované půdy (resp. na pozemcích s využitím minimalizace) a osivem ošetřeným přípravkem Gliorex formou suchého moření – (var. 2). Jen o málo nižší výnosy byly dosaženy opět na variantách s přímým setím do nezpracované půdy i minimalizační technologie s osivem ošetřeným přípravkem Trianum P formou moření. Pozitivní účinek aplikace biofungicidů byl poměrně vyrovnaný a pohyboval se v průměru let od +5,8 % do +6,8 %. Také Javůrek et al. (2011), obdobně jako Smutný et al. (2018) zaznamenali především v sušších letech na půdách typu luvizem vyšší produkci zrna obilnin na parcelách s redukovaným zpracováním půdy, oproti výnosům, získaným při konvenční technologii s orbou. Porovnáme-li naše získané výsledky v hodnocených letech, jsou vlivem použité biologické ochrany, oproti neošetřené kontrole, zřejmé výrazné pozitivní výsledky jak v hospodářských výnosech, tak i ve zdravotním stavu rostlin jarního ječmene.

Tab. 1: Produkce zrna jarního ječmene z hodnocených variant (průměr let 2014-2018)

Varianta		Způsob zpracování půdy					
		klasický		bez zpracování		minimalizace	
		(t.ha^{-1})	(%)	(t.ha^{-1})	(%)	(t.ha^{-1})	(%)
1.	kontrola	7,17	100,0	7,47	100,0	7,41	100,0
2.	osivo + Gliorex	7,66	106,8	**8,02**	**107,4**	**7,98**	**107,7**
3.	osivo + Trianum P	7,60	106,0	7,94	106,3	7,93	107,0
4.	osivo + Koni	7,49	104,5	7,89	105,6	7,84	105,8
Průměrný výnos zrna:		**7,48**		**7,83**		**7,79**	
Účinek biofungicidů:		**7,58**	**105,8**	**7,95**	**106,4**	**7,92**	**106,8**
Vliv způsobu zpracování půdy:		**100 %**		**104,7 %**		**104,1 %**	

Tab. 2: Účinek sledovaných biopreparátů na napadení listů jarního ječmene houbovými patogeny (průměr let 2014-2019)

Patogenní houba	Napadení plochy listů (%)			
	kontrola	osivo + Gliorex	osivo + Trianum P	osivo + Koni
Rhynchosporium secalis	18	12	9	14
Drechslera teres	21	13	8	13
Blumeria graminis	19	9	8	11

Ve sledovaných šesti letech jsme každoročně vyhodnotili procento napadení listů jarního ječmene fytopatogenními houbami (tab.2). Na ošetřených parcelách s aplikovanými biofungicidy na osivo jsme (především ve srážkově alespoň průměrných letech) zaznamenali na listech ječmene, a to i u nově zařazeného preparátu na bázi rostlinných terpenoidů (podle bonitační stupnice napadení chorobami - podle ÚKZÚZ), výraznější snížení výskytu patogenních hub *Drechslera teres* a *Blumeria graminis*, ve srovnání s neošetřenou kontrolou.

V posledních několika letech jsou v ochraně rostlin proti škodlivým činitelům testovány extrakty z rostlin (Žabka a Pavela, 2014). Vliv rostlinného preparátu v roce 2018 a 2019 byl však pod hranicí statistické průkaznosti. Zejména na pozemcích s redukovaným zpracováním půdy jsme prakticky ve všech letech pozorovali výrazné potlačení hub rodů *Drechslera* a *Rhynchosporium,* nejúčinnější efekt byl zjištěn při aplikaci biopreparátu Trianum P ve formě suchého mořidla.

K obdobným výsledkům především s využitím houby *Trichoderma harzianum* dospěli také zahraniční autoři Vinale et al. (2008), kteří u této houby prokázali nejvyšší inhibiční účinek ze všech mikrobiálních preparátů, a to jak v inhibici klíčení spor, tak růstu mycelia. Výhodou této houby je rychlý růst a velké množství enzymů degradujících polysacharidy, čímž se nabízí možnost jednoduchého a levného substrátu pro produkci biomasy. V současném období jsou ve větší míře využívány kmeny rodu *Clonostachys* proti plísni šedé. Např. Pacholczyk et al. (2015) vyzkoušeli biofungicidy, založené na přirozených látkách k podpoře rhizogeneze prýtů *Cortinus coggygria.* Uvedené biopreparáty dezinfikují rovněž povrch osiva a omezují tak růst mikromycet na povrchu i v zárodku semen.

Závěr

Z vyhodnocených výsledků je pro zemědělskou praxi důležité zjištění, že použití vybraných biopreparátů mělo oproti kontrolní variantě pozitivní vliv na hospodářskou produkci i zdravotní stav jarního ječmene. V porovnání s klasickou technologií byly zjištěny vyšší výnosy zrna na parcelách s přímým výsevem do nezpracované půdy (+ 4,7 %) a při setí do mělce zpracované půdy se zapravenými rostlinnými zbytky předplodiny (+ 4,1 %). Přírůstky výnosů zrna se po aplikaci biopreparátů pohybovaly v průměru let od 5,8 % do 6,8 %, nejvyšší výnosový efekt byl dosažen u přípravku Gliorex. Použití primárně aplikovaného fungicidního mořidla Kinto Duo v kombinaci s novými vybranými biopreparáty mělo pozitivní vliv na zdravotní stav jarního ječmene, především potlačením fytopatogenních hub rodu *Rhynchosporium* a *Drechslera*. Také námi testované preparáty na bázi extraktů z rostlin ve formě mořidla mohou být do budoucna rovněž využívány a to zejména v ekologickém zemědělství, kde mohou příznivě působit na zdravotní stav rostlin i půdní prostředí.

Literatura

Böszörmenyi, E.B., Nemeth, S., Fodor, A., Bakó, K.B., Vozik, D., Csima, Z., Barcs, I. (2018): The antifungal effect of the biopreparation of Xenorhabditis budapestensis bacteria on some Candida species. *Developments in Heath Scienses.* DOI: 10.1556/2066.2.2018.17

Houšť, M., Procházková, B., Hledík, P. (2012): Effect of different tillage intensity on yields and yield-forming factors in winter wheat. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendel. Brun.,* LX (5):89-96.

Javůrek, M. et al. (2011): Hodnocení dlouhodobého efektu půdoochranných technologií na výnosy ozimé pšenice a vlastnosti půdy typu luvisol: *Úroda*, 59 (12):355-358.

Pacholczyk, A., Petelewicz, P., Jagiello-Kubiec, K., Ilczuk, A. (2015): The effect of two biopreparations on rhizogenesis in stem cuttings of *Cortinus coggygria* Scop. Eur.J.Hortic.Sci. 80 (4):183–189.

Smutný,V., Neudert, L., Dryšlová, T., Lukas, V., Handlířová, M., Vrtílek, P., Vach, M. (2018): Current arable farming systems in the Czech Republic – agronomic measures adapted to soil protection and climate change. *Agriculturae Conspectus Scientificus*. Vol.83, No 1, pp.11-16.

Vinale, F. et al. (2008): Trichoderma – plant – pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry* 40:1-10.

Von Bennewitz, E., Hlušek, J. (2006): Effect of application of two biopreparations on the nutritional status, vegetative and generative behaviour of Jonagold apple trees. *Acta Horticulture* 721:129-136.

Wharton P.S., Kirk W.W. (2014): Evaluation of biological seed treatments in combination with management practices for the control of Fusarium dry rot of potato. *Biological Control* 73: 23-30.

Žabka, M., Pavela, R. (2014): Přípravek na ochranu před houbami z rostlin rodu *Litsea*. Užitný vzor, UPV, číslo zápisu 27124.

Poděkování

Tento příspěvek byl finančně podpořen projektem MZe ČR – RO0418

Kontaktní adresa 1. autora:

Ing. Milan Vach, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha - Ruzyně, v.v.i., Drnovská 507
e-mail: vach@vurv.cz

ANTIFUNGÁLNÍ EFEKT SLABĚ POLÁRNÍCH SEKUNDÁRNÍCH METABOLITŮ *EUGENIA CARYOPHYLLATA* A *CINNAMONUM CASSIA* PŘI EXTRAKCI VODOU

Antifungal efficacy of weak polar secondary metabolites of *Eugenia caryophyllata* a *Cinnamonum cassia* after water extraction

Žabka M.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha-Ruzyně

Abstrakt

Vodní extrakty antifungálně vysoce účinných rostlinných druhů *Eugenia caryophyllata* a *Cinnamonum cassia*, které se běžně užívají jako koření, byly porovnány se zaměřením na antifungální vlastnosti. Inhibiční efekt byl testován na modelu vybraných patogenních a toxinogenních houbových druhů: *Fusarium oxysporum, Penicillium expansum* a *Aspergillus fumigatus* v souladu s jejich ekonomickým zdravotním a hygienickým významem. Antifungální potenciál byl sledován i na základě průběhu dose response křivky na jednotlivé patogeny. V rámci testovaného souboru byly popsány rozdíly mezi jednotlivými druhy. Výraznější antifungální efekt byl pozorován u druhu z *E. caryophyllata* v průběhu experimentálních koncentrací.

Klíčová slova: Vodní extrakce, Antifungální aktivita, Patogenní houby, Toxinogenní houby, Slabě polární metabolity.

Abstract

Water extracts of highly effective plant species *Eugenia caryophyllata* a *Cinnamonum cassia*, often used as a spice, were compared with the focus on the antifungal properties. The Inhibitory effect was compared on the scale of concentration gradient covering all effective doses. Antifungal effect was tested against selected important fungal pathogens *Fusarium oxysporum, Penicillium expansum* and *Aspergillus fumigatus* in accordance with their health and economic significance. Antifungal potential was observed on the base of dose response curves in the case of every pathogens. Within the experimental set were described differencies in efficacy between plant species. More significant efficacy was observed in the case of *E. caryophyllata* within all experimental concentrations.

Keywords: Water extraction, Antifungal activity, Pathogenic fungi, Toxinogenic fungi, Weak-polar metabolites.

Úvod

Environmentálně bezpečné a přitom účinné preparáty na bázi rostlinných látek jsou v současnosti předmětem narůstajícího zájmu nejen v oblasti ekologického zemědělství. Aktivita těchto extraktů je založena na obsahu biologicky aktivních látek, zahrnujících např. přirozené terpenoidy, fenoly a alkaloidy, které bývají obecně v rostlinách přítomny. Tyto sloučeniny společně nebo nezávisle vykazují různou antifungální aktivitu, která se projevuje měřitelnou inhibicí růstu houbových patogenů. Při volbě rostlin s potenciální využitelností pro přírodní fungicidy je potřeba volit druhy s vysokou účinností, ale i vysokou a ověřenou bezpečností pro člověka. Z tohoto důvodu se jeví soubor rostlin běžně užívaných např. jako koření velmi výhodné (Zabka et al. 2009; 2013). Houby z rodu *Fusarium, Penicillium Aspergillus* patří díky produkci většiny nebezpečných mykotoxinů mezi nejvíce problematické (Palumbo et al. 2008). Patogenní houby jsou největší měrou kontrolovány aplikací syntetických

fungicidů. Syntetické fungicidy a jejich rezidua však mohou, díky své vysoké přímé či nepřímé toxicitě, být v mnoha případech problémem. Posklizňové ošetření produktu při skladování může tak představovat riziko ještě vyšší. (Nakanishi 2007; Costa et al. 2008; Singh et al. 2009). V tomto ohledu mohou preparáty na bázi přirozených rostlinných látek velmi výhodné. Extrakce organickými rozpouštědly nebo přímo hydrodestilace esenciálních olejů je díky extrakčnímu potenciálu či výtěžku účinných látek nejvíce prozkoumanou, nicméně nebývá vždy zcela prakticky dostupnou a ekonomicky nejvýhodnější. Tato práce porovnala účinnost dvou vysoce antifungálně účinných rostlin Hřebíčkovce vonného (*Eugenia caryophyllata*) a skořicovníku čínského (*Cinnamonum cassia*) při jednoduché a prakticky dostupné vodní extrakci. Antifungální efekt extraktů a tzv. dose response křivky byly jednotlivě hodnoceny a porovnán na souboru třech významných patogenů.

Materiál a metodika

Inhibiční vlastnosti testovaných rostlinných extraktů na myceliární růst hub byly testovány pomocí diluční metody. Rostlinné extrakty byly získány vodní extrakcí vybraných vzorků při počáteční teplotě 80°C. Extrakce byla prováděna po dobu 24 hod. Získané vodní výluhy byly důkladně rozpuštěny v bramboro dextrózovém agaru (PDA) v přesné základní koncentraci při teplotě pod 50°C. Základní koncentrace odpovídala v přepočtu ekvivalentu výluhu 1:20 droga:voda (w/w). Gradient testovacích koncentrací (Graf 1 a 2) byl získán ředěním. Směs byla po té doplněna o agar a klávována při teplotě 105° po dobu 5 min. Kontrolní sada byla připravena přidáním ekvivalentního množství sterilní destilované vody. Připravené Petriho misky (9 cm) byly sterilně naočkovány pomocí myceliárních disků (0,4 cm) odebraných z okrajů 7 denních povrchových kultur cílových hub. Kultivace probíhala po dobu 7 dní, při teplotě 21°C. Následné srovnání průměru kolonií v porovnání s kontrolními sety bylo převedeno na procentuální vyjádření inhibičního potenciálu. Seznam vybraných rostlinných druhů pro základní skríning antifungálního potenciálu vodních extraktů je uveden v **Tab. 1**. Testované cílové druhy hub spolu s původem izolace jsou uvedeny v **Tab. 2**.

Tab. 1: Rostlinné druhy použité při základním skriningu antifungálních vlastností

Druh	Testovaná část	Obecný název
Eugenia caryophyllata Thunb.	Květ	Hřebíček
Cinnamomum cassia (L.) J.Presl	Kůra	Skořice

Tab. 2: Cílové patogenní a toxinogenní druhy hub

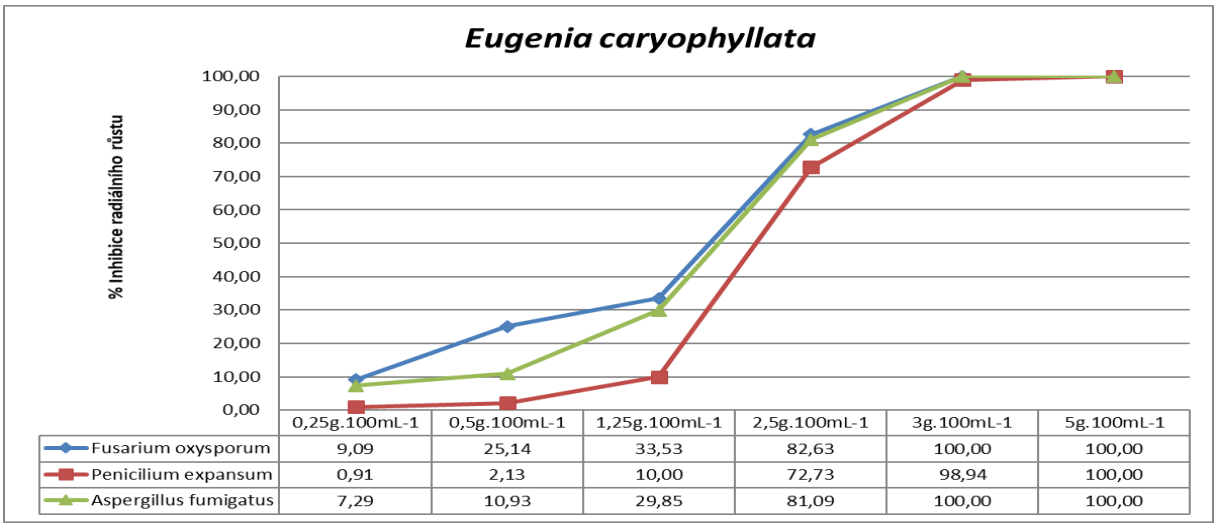
Houbový druh	Status a významnost houby	zdroj izolace
Fusarium oxysporum	rostlinný patogen, toxinogen, kontaminant	zrno pšenice
Penicillium expansum	toxinogenní, kontaminant potravin	napadené jablko
Aspergillus fumigatus	toxinogenní, lidský patogen, kontaminant	skladovaná kukuřice

Výsledky a diskuse

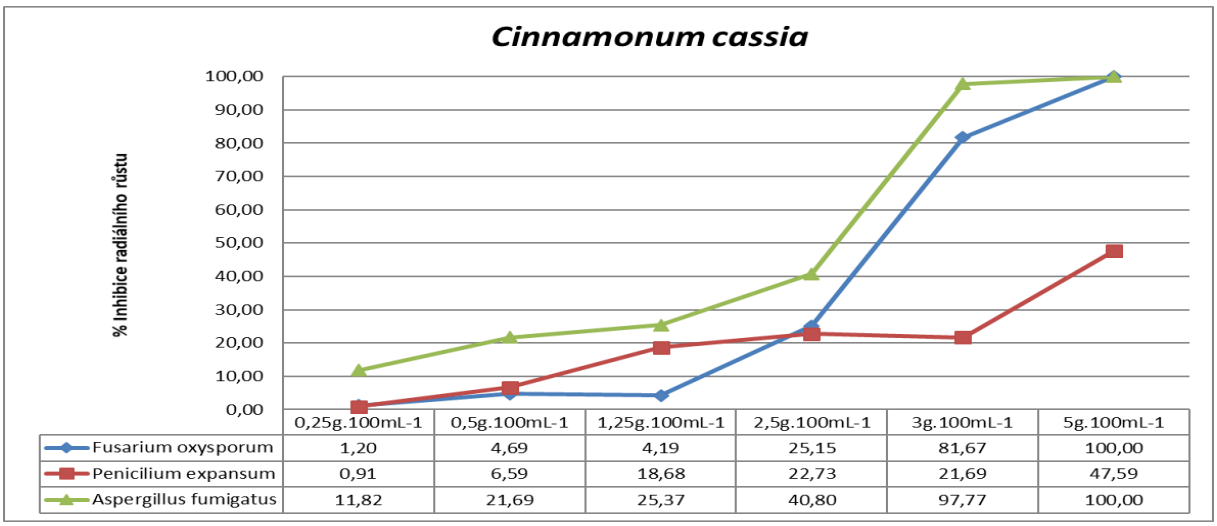
Výsledky potvrzují, že i pomocí jednoduchá levné a prakticky výhodné vodní extrakce lze získat antifungálně velmi účinné extrakty a to z obou použitých druhů. Oba rostlinné druhy byly vybrány pro svou vysokou antifungální aktivitu, která se potvrdila již v předchozí práci (Žabka 2016). Vyšší účinnost by byla jistě dosažena extrakcí např. methanolem, především díky extrakční schopnosti rozpouštědla a povaze molekul hlavních účinných látek. Výsledy potvrzují, že hlavní antifungální složky, byť spíše nepolární ve vodě slabě rozpustné, začínají inhibovat růst cílových patogenních hub již při velmi malé koncentraci vstupní rostlinné drogy v extraktu 0,5g.100 mL^{-1} (Graf 1 a 2). Jedná se především o slabě polární látky jako je eugenol,

iso-eugenol u *E. caryophyllata* a slabě polární cinnamaldehyd, cinnamyl acetát a kyselinu skořicovou u *C. cassia*. Společně jsou zastoupeny i látky vodorozpustné, s více polární molekulou. Ty jsou mnohdy minoritní či nemají významný antifungální efekt (Žabka and Pavela 2013). Z výsledků vyplývá, že vodní extrakt *E. caryophyllata* vykazoval významně vyšší antifungální účinek, což je patrné z průběhu dose response křivek testovaných patogenů. 100% inhibice zde bylo navíc dosahováno již při koncentraci 3g.100 mL^{-1}. Celková vyšší účinnost byla patrná i při nejnižších experimentálních koncentracích a především z celkového vyrovnaného efektu na všechny tři patogeny včetně nejvíce odolného *P.expansum*, proti němuž *C. cassia* byla spíše neefektivní. Mechanismus specifické odolnosti toho druhu právě proti *C. cassia* je nejasný a v literatuře není příliš popsán. Podobný závěr je zmíněn společně s odolností *Aspergillus flavus* i v předchozí práci (Zabka et al 2013). Oba druhy jsou hojně lidově užívány pro různé účely především v lidové medicíně a kulinářství. Oba rostlinné druhy obsahují velmi bohatou skladbu účinných přírodních sloučenin (Mayaud et al 2008; Wang et al 2005). V naší předchozí práci byl navíc prakticky realizován a testován výhodný synergismus antifungálních účinku obou druhů (Pavela and Žabka 2016).

Graf 1 a 2: Dose response křivky jednotlivých patogenů v testovaných koncentracích vodních výluhů



	0,25g.100mL-1	0,5g.100mL-1	1,25g.100mL-1	2,5g.100mL-1	3g.100mL-1	5g.100mL-1
Fusarium oxysporum	9,09	25,14	33,53	82,63	100,00	100,00
Penicilium expansum	0,91	2,13	10,00	72,73	98,94	100,00
Aspergillus fumigatus	7,29	10,93	29,85	81,09	100,00	100,00



	0,25g.100mL-1	0,5g.100mL-1	1,25g.100mL-1	2,5g.100mL-1	3g.100mL-1	5g.100mL-1
Fusarium oxysporum	1,20	4,69	4,19	25,15	81,67	100,00
Penicilium expansum	0,91	6,59	18,68	22,73	21,69	47,59
Aspergillus fumigatus	11,82	21,69	25,37	40,80	97,77	100,00

Závěr

V této práci se podařilo porovnat a prokázat účinnost jednoduše a prakticky realizovatelných vodních extraktů z různých částí velice známých rostlinných druhů. Záměrně byly vybrány tak, aby reprezentovali historicky ověřené druhy používané lidmi pro různé léčivé, povzbuzující a především kulinářské účely. Podařilo se prokázat, že i velice jednoduchou vodní extrakcí je možno dosáhnout vysokého antifungálního efektu. Na rozdíl od vědecky prozkoumané klasické extrakce methanolem nebo jinými organickými a často drahými ekologicky rizikovými rozpouštědly je princip vodního výluhu daleko bezpečnější. I když mnohé účinné látky mají daleko větší potenciál extrakce organickými rozpouštědly, v této práci jsme prokázali, že extrakce do vody může poskytovat dostatečnou antifungální účinnost. I touto jednoduchou metodou a přes nízkou polaritu účinných látek došlo k výrazné i absolutní inhibici růstu cílových patogenních a toxinogenních hub. Následná práce by měla směřovat k výzkumu minimálních inhibičních koncentrací a ověření synergismu i u dalších patogenů a to při různých kombinacích jiných účinných extraktů. Dále k výzkumu a popisu dalších méně známých substancí obsažených v těchto rostlinných extraktech a potenciálnímu vývoji složek, ekologicky přijatelných antifungálních preparátů s vysokou účinností na cílové patogeny a vysokou bezpečností pro člověka a ekosystém.

Dedikace

Tato práce byla financována z následujícího výzkumného projektu: MZe ČR – RO0418

Použitá literatura:

Costa L.G., Giordano G., Guizzetti M., Vitalone A. (2008) Neurotoxicity of pesticides: a brief review. Front Biosci 13:1240-1249.

Mayaud L., Carricajo A., Zhiri A., Aubert G (2008) Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. Letters in Applied Microbiology 47: 167-173.

Nakanishi T. (2007) Potential toxicity of organotin compounds via nuclear receptor signaling in mammals. J Health Sci 53:1-9.

Palumbo J.D., O'Keeffe T.L., Abbas, H.K. (2008) Microbial interactions with mycotoxigenic fungi and mycotoxins. Toxin Rev 27:261-285.

Singh P., Kumar A., Dubey NK., Gupta R. (2009) Essential Oil of Aegle marmelos as a Safe Plant-Based Antimicrobial Against Postharvest Microbial Infestations and Aflatoxin Contamination of Food Commodities. J Food Sci 74:302-307.

Wang S., Chen P., Chang S. (2005) Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon leaves against wood decay fungi, Bioresource Technology, Volume 96, Issue 7, May 2005, 813-818

Pavela R., Zabka M. (2016) Speciální aplikační sáčky bylinné směsi zvyšující plodnost a obranyschopnost rostlin před houbovými chorobami, technicky realizovaný výsledek,

Zabka M., Pavela R., 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., Pavela R. (2013): Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi, Chemosphere 93: 1051-1056.

Žabka M., Pavela R. (2016): Testování antifungálních vlastností vybraných rostlinných extraktů. Úroda, 64(12); 309-312.

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Žabka, Ph.D., Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, Praha6 – Ruzyně,
e-mail: zabka@vurv.cz

ANTIFUNGÁLNÍ POTENCIÁL VYBRANÝCH ROSTLINNÝCH EXTRAKTŮ

Antifungal potential selected plant extracts

Žabka M., Pavela R.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha-Ruzyně

Abstrakt

Léčivé a aromatické byliny jsou zdrojem přírodních antifungálně účinných sekundárních metabolitů. Methanolové extrakty celkem dvanácti léčivých rostlin (převážně bylin) byly užity při skreeningové studii se zaměřením na testování antifungálních vlastností. Inhibiční efekt byl testován na modelu tří vybraných patogenních a toxinogenních houbových druhů: *Fusarium culmorum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium brevicompactum* v souladu s jejich ekonomickým významem. Možnost užít některé testované rostlinné extrakty jako složku pesticidů na přírodní bázi byla indikována v případě pěti rostlinných druhů. Nejvíce efektivními byly extrakty z *Angelica archangelica*, *Angostura trifoliata* a *Foeniculum vulgare*.

Klíčová slova: Rostlinný extrakt, antifungální aktivita, Patogenní houby, Toxinogenní houby, Botanické fungicidy.

Abstract

Medicinal and aromatic herbs are a source of natural antifungal secondary metabolites. Methanol extracts of twelve medicinal plants (mostly herbs) were used in a screening assay for antifungal activity. Growth inhibitory effect was tested against three very important pathogenic and toxinogenic fungal species: *Fusarium culmorum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium brevicompactum* in accordance with their health and economic significance. Possibility to use some of plant extracts as a component of natural pesticide in a future was indicated in the case of five plant species. The most effective were *Angelica archangelica*, *Angostura trifoliata* and *Foeniculum vulgare* extracts.

Keywords: Plant extract, Antifungal activity, Pathogenic fungi, Toxinogenic fungi, Botanical fungicides.

Úvod

V oblasti produkce hygienicky nezávadných zemědělských komodit jsou mikromycety z rodu *Fusarium* nebo *Penicillium* největším problémem díky schopnosti produkovat většinu nebezpečných mykotoxinů (Edwards et al. 2002; Niessen 2007; Palumbo et al. 2008). Obecně jsou patogenní houby kontrolovány aplikací syntetických fungicidů. Syntetické fungicidy a jejich rezidua však představují riziko díky přímé či nepřímé toxicitě (Costa et al. 2008; Nakanishi 2007; Scordino et al. 2008). Posklizňové ošetření produktu při skladování může tak představovat riziko ještě vyšší (Singh et al. 2009; Dalvie et al. 2006). Krom otázek toxicity a reziduální aktivity pesticidů, lze zmínit i stále častější výskyt méně citlivých či úplně rezistentních populací patogenních hub a to díky mnohdy v historii jednostranné a necitlivé chemizaci. Na rozdíl od jiných škodlivých biogenních vlivů vyvstává u houbových patogenů další rozměr škodlivosti, kterým je produkce toxických a extrémně nebezpečných sekundárních metabolitů tzv. mykotoxinů. Tyto nebezpečné metabolity, jejichž toxicita se může porovnávat s toxicitou moderních bojových látek a jejichž biologická aktivita je stále předmětem výzkumu, jsou předmětem dnes již samostatně profilované problematiky (Žabka et al., 2002; 2008). Environmentálně bezpečné fungicidy na bázi rostlinných extraktů jsou zajímavým tématem výzkumu. 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., 2013; 2018). Jejich význam stoupá společně s rostoucím uvědomováním si rizik spojených s plošným používáním syntetických pesticidů a také s rostoucími restrikcemi chystanými či zaváděnými nejen v EU, ale i v jiných vyspělých oblastech světa. Slibný je tím i narůstající zájem o pěstování aromatických či léčivých bylin s obsahem přirozených antifungálních látek.

Materiál a metody

Inhibiční vlastnosti testovaných rostlinných a především bylinných extraktů na myceliární růst hub byly testovány pomocí diluční metody. Rostlinné extrakty byly získány z vlastních zdrojů methanolickou extrakcí nasbíraného materiálu. Výtěžek byl vyjádřen v procentech hmotnosti do sucha odpařeného extraktu v poměru k původní sušině extrahované rostlinné drogy. Každý extrakt byl důkladně rozpuštěn v malém množství (0,5ml) methanolu a následně rozmíchán v bramboro dextrózovém agaru (PDA) v přesně dané koncentraci 2 $mg.ml^{-1}$, při teplotě pod 50°C. Kontrolní sada byla připravena přidáním ekvivalentního množství methanolu. Připravené Petriho misky (9 cm) byly sterilně naočkovány pomocí myceliárních disků (0,4 cm) odebraných ze 7 denních povrchových kultur cílových hub. Kultivace probíhala po dobu 7 dní, při teplotě 21°C. Následné srovnání průměru kolonií v porovnání s kontrolními sety bylo převedeno na procentuální vyjádření inhibičního potenciálu. Seznam vybraných rostlinných druhů pro základní skríning je uveden v **Tab. 1** včetně a výtěžku. Pro extrakci byla použita nadzemní část rostlin. Testované cílové druhy hub spolu s procentickým výtěžkem izolace jsou uvedeny v **Tab. 2**.

Tab. 1: Rostlinné druhy použité při základním skriningu antifungálních vlastností

Druh	Čeleď	Sbíraná část	Výtěžek (%)
Achillea nobilis L.	Asteraceae	Stem	10.9
Angelica archangelica L.	Apiaceae	Fruits	6.1
Angostura trifoliata (Willd.) T.S.Elias	Rutaceae	Bark	11.7
Astragalus glycyphyllos L.	Fabaceae	Stem	9.1
Citrus bergamia (Risso) Wright & Arn	Rutaceae	Pericarp	9.9
Foeniculum vulgare Mill.	Apiaceae	Seeds	5.9
Guaiacum officinale L.	Zygophyllaceae	Xylem	5.3
Harpagophytum procumbens (Burch.) DC	Pedaliaceae	Stem	5.2
Hyssopus seravschanicus (Dub.) Pazij	Lamiaceae	Stem	11.0
Plantago lanceolata L.	Plantaginaceae	Stem	18.6
Pyrethrum parthenium (L.) Sm.	Asteraceae	Stem	12.3
Salvia officinalis L.	Lamiaceae	Stem	14.0

Tab. 2: Cílové patogenní a toxinogenní druhy hub

Houbový druh	Status a významnost houby	zdroj izolace
Fusarium culmorum	toxinogen, patogenní druh, kontaminant	Napadený klas pšenice
Penicillium expansum	toxinogen, kontaminant skladovaných produktů	Skladovaná jablka, léze
Penicilium brevicompactum	toxinogen, kontaminant skladovaných produktů	Zrno kukuřice, povrch zrna

Výsledky a diskuse

Výsledky potvrzují, že v rámci testovaných rostlinných extraktů (**Tab. 1.**) většina prokázala určitý stupeň inhibice radiálního růstu alespoň jednoho houbového patogenního druhu, která však nepřesahovala efektivních 50%. Pro účely studie však bylo finálně označeno jako efektivní a potenciálně využitelných 5 z celkového souboru 12 testovaných rostlinných extraktů, jejichž inhibiční efekt vykazoval hladinu inhibice nad úroveň 50% (**Tab. 3**). Tyto extrakty byly vybrány pro další výzkum, jehož výsledky budou uplatněny v dalších experimentech. Jako

nejvíce zajímavé považujeme extrakty prokazující efektivitu (nad 50%) více než u jednoho z cílových houbových patogenních druhů. Takovýto antifungální efekt byl patrný u třech extraktů: *Angelica archangelica*, *Angostura trifoliata* a *Foeniculum vulgare* a to nejen po stránce hladiny inhibičního efektu na jednotlivé druhy, ale i po stránce šíře spektra inhibovaných patogenních hub, kdy byla efektivní inhibice nad 50% pozorována u všech cílových patogenů. U druhu *Angelica archangelica* (andělika lékařská) byly popsány také cytoprotektivní účinky (Yeh et al. 2003). Mnoho studií je zaměřeno především na kumariny, což je pravděpodobně jedna z nejzajímavějších bioaktivních skupin látek obsažených v tomto druhu. Kumariny a jejich deriváty jsou často popisovány z hlediska jejich antifungální aktivity (Hiermann et al. 1996; Adams et al. 2009). Předpokládáme tedy, že námi pozorovaná inhibice může být spojena právě s obsahem těchto látek. Slibný účinek byl pozorován i u *Angostura trifoliata* (angostura trojlistá). Biologická aktivita této původem jihoamerické dřeviny, používané v lidové medicíně, bývá v literatuře spojována nejvíce s obsahem chinolinových alkaloidů jako je např. galipin. Kromě antimikrobiálních účinků bývá též využívána jako antimalarikum. (O'Byrne and Evans, 2008; Rakotoson et al., 1998). Výzkum účinku na vláknité patogenní houby není zatím v literatuře příliš popsán. Z výsledků dále vyplývá, že nejvíce účinným byl extrakt *Foeniculum vulgare* (fenykl obecný). Ve spojitosti těmito výraznými antifungálními vlastnostmi bývají v literatuře nejčastěji uváděny izomery anetholu (Mimica-Dukic et al. 2003). Protože je tento nenasycený ether hlavní součástí silic i mnoha dalších účinných druhů (anýz apod.), je možné předpokládat, že obsah této látky je skutečně jedním z nejdůležitějších faktorů experimentálně pozorované antifungální účinnosti fenyklu.

Tab. 3: Nejefektivnější rostlinné extrakty s inhibicí nad 50% růstu patogenů

Testovaná rostlina	Inhibiční efekt nejúčinnějších rostlinných extraktů na růst patogenů v dávce 2 mg.ml^{-1} (v %)		
	Fusarium culmorum	*Penicillium expansum*	*Penicilium brevicompactum*
Angelica archangelica	86.19±0.00	64.71±0.09	59.54±0.05
Angostura trifoliata	60.86±0.12	52.00±0.00	69.22±0.05
Foeniculum vulgare	72.94±0.05	69.81±0.05	97.96±0.09
Guaiacum officinale	65.41±0.00	19.51±0.00	20.75±0.00
Salvia officinalis	78.82±0.05	33.69±0.05	46.67±0.00

Závěr

V této práci se z dvanácti testovaných druhů rostlin podařilo nalézt celkem pět efektivních rostlinných extraktů schopných dostatečně inhibovat růst významných patogenních hub. Z tohoto počtu efektivních extraktů tři prokázaly účinnost na většinu testovaných patogenních druhů. V dalších experimentech se nyní zabýváme hlouběji sledovanou antifungální aktivitou zkoumanou napříč daleko širším spektrem hub. Následné práce by měly směřovat k přímé identifikaci a výzkumu samotných efektivních substancí obsažených v těchto rostlinných extraktech a potenciálnímu vývoji složek komerčních ekologicky přijatelných antifungálních preparátů s vysokou účinností na cílové patogeny a vysokou bezpečností pro člověka a ekosystém.

Dedikace

Tato práce byla financována z následujících zdrojů: MZe ČR – RO0418

Použitá literatura

Adams M, Berset C, Kessler M, Hamburger M (2009) Medicinal herbs for the treatment of rheumatic disorders-A survey of European herbals from the 16th and 17th century. J Ethnopharmacol 121:343-359.

Costa LG, Giordano G , Guizzetti M, Vitalone A (2008) Neurotoxicity of pesticides: a brief review. Front Biosci 13:1240-1249.

Dalvie D, Smith E, Deese A, Bowlin S (2006) In vitro metabolic activation of thiabendazole via 5-hydroxythiabendazole: Identification of a glutathione conjugate of 5-hydroxythiabendazole. Drug Metab Disposition 34:709-717.

Edwards SG, O'Callaghan J, Dobson ADW (2002) PCR-based detection and quantification of mycotoxigenic fungi. Mycol Res 106:1005-1025.

Hiermann A, Schantl D, Schubert-Zsilavecz M, Reiner J (1996) Coumarins from *Peucedanum ostruthium*. Phytochemistry 43:881-883.

Mimica-Dukic N, Kujundzic S, Sokovic M (2003) Essential Oil Composition and Antifungal Activity of Foeniculum vulgare Mill. Obtained by Different Distillation Conditions.
Phytother. Res. 17:368-371.

Nakanishi T (2007) Potential toxicity of organotin compounds via nuclear receptor signaling in mammals. J Health Sci 53:1-9.

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

O'Byrne, A., and P. Evans. 2008. Rapid synthesis of the tetrahydroquinoline alkaloids: angustureine, cuspareine and galipinine. Tetrahedron 64:8067-8072.

Palumbo JD, O'Keeffe T L, Abbas, HK (2008) Microbial interactions with mycotoxigenic fungi and mycotoxins. Toxin Rev 27:261-285.

Rakotoson, J.H., N. Fabre, I. Jacquemond-Collet, S. Hannedouche, I. Fouraste, and C. Moulis. 1998. Alkaloids from Galipea officinalis. Planta Medica 64:762-763.

Scordino M, Sabatino L, Traulo P, Gagliano G, Gargano M, Panto V, Gambino GL (2008) LC/MS/MS detection of fungicide guazatine residues for quality assessment of commercial citrus fruit. Eur Food Res Technol 227:1339-1347.

Singh P, Kumar A, Dubey NK, Gupta R (2009) Essential Oil of Aegle marmelos as a Safe Plant-Based Antimicrobial Against Postharvest Microbial Infestations and Aflatoxin Contamination of Food Commodities. J Food Sci 74:302-307.

Yeh ML; Liu, CF; Huang, CL; Huang, TC (2003) Hepatoprotective effect of Angelica archangelica in chronically ethanol-treated mice. Pharmacology, 68:70-73.

Žabka M., Jegorov A. (2002): Návrat houby, jež dala vzniknout jménu trichotheceny, Chemické listy 96: 607-610.

Zabka M. (2008): Less known secondary metabolites of pathogenic fungi: Vědecká příloha časopisu Úroda–Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů, 317-321.

Zabka M., Pavela R. (2013): Antifungal efficacy of some natural phenolic compounds against significant pathogenic and toxinogenic filamentous fungi, Chemosphere 93: 1051-1056.

Zabka, M., & Pavela, R. (2018). Review Chapter: Fusarium Genus and Essential Oils. In *Natural Antimicrobial Agents*(pp. 95-120). Springer, Cham.

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Žabka, Ph.D, e-mail: zabka@vurv.cz; Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, Praha6 –Ruzyně

VLIV ŘÁDKOVÉ APLIKACE ORGANICKÉ HMOTY V MEZIŘADÍ VINIC A SADŮ NA PŮDNÍ VLASTNOSTI

Impact of organic material application in vineyard and orchards between rows on the soil properties

Badalíková B.[1], Vašinka M.[1], Jelínek A.[2], Roy A.[2], Burg P.[3], Zemánek P.[3]

[1]*Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko*
[2]*Výzkumný ústav zemědělské techniky v.v.i. Praha*
[3]*Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta v Lednici*

Abstrakt
V tříletém pokusu byl zkoumán vliv organické hmoty na vybrané fyzikální vlastnosti půdy. K hodnocení byly zvoleny dvě lokality ve vinicích a jedna lokalita v ovocném sadu. Lokality se lišily klimatickými a půdními podmínkami. Každoročně na podzim byl na všechny tři lokality aplikován kompost různého složení. Bylo zjištěno, že dodaná organická hmoty do půdy ve formě kompostů měla pozitivní vliv na utuženost půdy, na její provzdušněnosti, půdní strukturu i vlhkost. Příznivý význam měl zapravený kompost na obsah C_{org} i na výnosy hroznů a jablek.
Klíčová slova: fyzikální vlastnosti půdy, kompost, vinice, sad

Abstract
In a three-year experiment the influence of organic matter on selected physical soil properties was investigated. Two vineyard sites and one orchard site were selected for evaluation. The localities differed in climatic and soil conditions. Every autumn was applied compost of different composition to all three sites. It was found that the organic matter supplied to the soil in the form of composts had a positive effect on soil compaction, its aeration, soil structure and moisture. The prepared compost for the content of C_{org} and for the grapes and apples yields had a positive effect.
Key words: physical soil properties, compost, vineyards, orchard

Úvod

Organická hmota příznivě ovlivňuje veškeré vlastnosti půdy, zejména sorpční schopnost, tvorbu strukturních agregátů, vzdušný a tepelný režim, využitelnost živin, mikrobiální aktivitu a další. (Badalíková a kol., 2016). Umožňuje vázat živiny v půdě a omezit jejich ztráty vyplavováním. Přísun organického materiálu může být různý např. formou hnoje, kompostu, posklizňových zbytků, slámy či zaorávání meziplodin. Kompostováním se získává z organických odpadních látek cenný humus, který lze využít pro zlepšení půdních vlastností (Quattaraa a kol., 2007; Thompson a kol., 2008). Bylo také zjištěno, že přidáním kompostu se zlepšují hydraulické schopnosti půdy (Jandák a kol., 2001).
Příspěvek prezentuje výsledky vlivu aplikace organické hmoty ve formě kompostu na vybrané fyzikální vlastnosti půdy, obsah celkového uhlíku a výnosy plodin.

Materiál a metody

V letech 2017-2019 byly hodnoceny půdní podmínky v provozním pokusu po zapravení různých druhů kompostů na dvou lokalitách ve vinicích v oblasti Jižní Moravy a jedné lokalitě v jabloňovém sadu ve středních Čechách.
Na experimentálních plochách byly založeny tyto varianty:

Vinice: I. kontrola – bez kompostu, II. kompost (30t/ha), III. kompost + Lignohumax 20 (30t/ha)
Jabloňový sad: varianta I – kompost – separovaný digestát, kravský hnůj, tráva (v poměru 3:3:2, celkem kompostu 30t/ha), varianta II kompost – separovaný digestát, rybniční bahno, tráva (v poměru 4:2:2, celkem kompostu 30t/ha), varianta III kompost – separovaný digestát, tráva (v poměru 3:6 + Lignohumax 20 -0, 4 l/ha, celkem kompostu 30t/ha), varianta IV kontrola – bez kompostu.
Kompost byl aplikován vždy na podzim po sklizni hroznů. Prvním rokem byl kompost aplikován do vyhloubené brázdy do 0,25 m, druhým rokem bylo již zkoušeno rozmetadlo kompostu s přesným dávkováním. Zapravení bylo vedeno ve vzdálenosti 0,7 m od kmenů vinic. Kompost aplikovaný ve vinicích byl vyroben z matoliny, zelinářského odpadu a odpadu z údržby trávníkových ploch z areálu Zahradnické fakulty. Piliny a sláma byly pro doplnění dovezeny. Přípravek Lignohumaxu 20 je koncentrovaný vodný roztok přípravku získaného hydrolyticko-oxidačním rozkladem technických lignosulfonátů. Přípravek podporuje využití živin obsažených v půdě a do kompostu se přidává pro aktivaci mikroorganizmů a tím k urychlení rozkladu organické hmoty a zrání kompostu.

V rámci sledování půdních podmínek byly zjišťovány nejpodstatnější fyzikální vlastnosti, a sice: objemová hmotnost redukovaná, minimální vzdušná kapacita (neporušené vzorky dle Kopeckého, 1928), struktura půdy (suchou agregací), vlhkost půdy gravimetrickou metodou (vážkovou). Obsah organického uhlíku byl stanoven (C_{org}) oxidimetrickou titrací (Nelson, Sommers, 1996). Vzorky půdy byly odebírány z hloubek 0-0,05; 0,05-0,10; 0,10-0,20 a 0,20-0,30 m, vždy na začátku a na konci vegetace.

Půdní a klimatické podmínky stanoviště:
Lokalita Lednice: výrobní typ kukuřičný, subtyp kukuřično-ječný, nadmořská výška 186 m, klimatický region velmi teplý, suchý, dlouhodobá průměrná roční teplota 9^0 C, dlouhodobé průměrné množství srážek 500 mm za rok. Půdní typ černozemě modální na spraši, půdní druh hlinitopísčitý, půdy jsou středně těžké bez skeletu, hloubka ornice se pohybuje v rozmezí 0,3 – 0,4 m, viniční trať se nachází na rovině.

Lokalita Velké Bílovice: výrobní typ kukuřičný, nadmořská výška 190 m, klimatický region velmi teplý, suchý, dlouhodobá průměrná roční teplota 9^0 C, dlouhodobé průměrné množství srážek 519 mm za rok. Půdy jsou černozemního typu na spraších, půdní druh převážně hlinitý s výrazným zastoupením prachových, jílnatých částic, středně těžké s hloubkou ornice 0,4 m, viniční trať se nachází na rovině.

Lokalita Žabonosy: jedná se o jabloňový sad situovaný ve Středočeském kraji, v okrese Kolín, v obci Žabonosy. Z hlediska zemědělského je lokalita zařazena do řepařské výrobní oblasti s nadmořskou výškou 219 m. Řadí se do klimatického regionu teplý, mírně vlhký, dlouhodobá průměrná roční teplota $8,5^0$ C, dlouhodobé průměrné množství srážek 575 mm za rok. Půdy jsou zde převážně černozemního typu na spraších, zrnitostně jílovitohlinité, středně hluboké až hluboké, středně až dobře odvodněné, s obsahem skeletu do 10 %. Sledovaná lokalita se nachází na rovině.

Výsledky a diskuze
Organická hnojiva představují cenný zdroj půdní organické hmoty, která hraje důležitou roli v udržení integrity struktury půdy, kterou podporuje kontrolou mnoha půdních funkcí. Pokles půdní organické hmoty v agroekosystémech je úzce spojen s degradací fyzikálních půdních vlastností (Li *et al.*, 2007).

V tab. 1 jsou uvedeny průměrné hodnoty základních fyzikálních vlastností půdy ve vinici na lokalitě Lednice. Hodnoty objemové hmotnosti redukované (OHr), značící utužení půdy, naznačují prospěšnost zapravování kompostu. U varianty III (kompost + Lignohumax 20) byly zjištěny hodnoty nejnižší a během třech sledovaných let měly sestupný trend. U varianty II (kompost) byly také naměřeny nižší hodnoty oproti variantě I (kontrolní). Minimální vzdušná kapacita (MVK) byla zjištěna nejnižší u varianty kontrolní v roce 2017. Nejvyšší MVK byla zjištěna u varianty II a III, tedy s kompostem. I zde se projevil pozitivní vliv kompostu, neboť dodaná organická hmota touto formou napomáhá lepší provzdušněnosti půdy. Půdní struktura vyjádřená koeficientem strukturnosti závisí mimo jiné na obsahu organické hmoty v půdě, což vede ke snižování zhutnění půdy, zlepšení infiltrační schopnosti a další (Stalker, 2010). Z tabulky je jasně patrné, že varianty s kompostem ovlivnily pozitivně půdní strukturu. Půdní struktura je ve většině případů právě narušena vlivem nízké biologické aktivity půdní a nedostatku organických látek. V důsledku těchto poruch se pak výrazně zhoršují fyzikální vlastnosti půdy a vzniká první předpoklad zhoršení zasakování srážkové vody do půdy a jejího udržení v půdním profilu. (Stefanovits, 1992). Stabilnější půdní struktura vede také k lepšímu využití srážkové vody a udržení vlhkosti půdy, jak je patrné z tab. 1. Vlhkost půdy byla zjištěna vyšší u variant se zapraveným kompostem ve srovnání s variantou kontrolní.

Tab. 1: Vlastnosti půdy u variant se zapravenými různými typy kompostů Lednice 2017-2019

varianta	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019
	objemová hmot. red. ($g.cm^{-3}$)			minimální vzdušná kapacita % obj.			půdní struktura (koeficient strukturnosti)			vlhkost půdy (% hmot.)		
I	1,49	1,54	1,31	9,18	10,79	11,14	1,02	1,92	1,97	15,13	8,27	15,45
II	1,38	1,50	1,17	13,51	9,34	15,73	1,38	2,53	1,89	16,83	13,37	18,33
III	1,37	1,36	1,16	13,68	9,89	15,65	1,44	2,58	1,61	17,05	14,90	17,74

Obdobné výsledky byly zjištěny na lokalitě Velké Bílovice. Jak uvádí tab. 2 aplikovaný kompost příznivě ovlivnil OHr, MVK i půdní strukturu. Vlhkost půdy byla mimo jiné ovlivněna klimatickými podmínkami během vegetace, ale i tak vyšší podíl organické hmoty v půdě u variant s kompostem zajistil lepší vláhové podmínky.

Tab. 2: Vlastnosti půdy u variant se zapravenými různými typy kompostů Velké Bílovice 2017-2019

varianta	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019
	objemová hmot. red. ($g.cm^{-3}$)			minimální vzdušná kapacita % obj.			půdní struktura (koeficient strukturnosti)			vlhkost půdy (% hmot.)		
I	1,48	1,24	1,29	7,77	15,73	12,89	1,03	2,21	1,61	16,55	16,36	18,83
II	1,42	1,19	1,24	9,52	15,48	13,16	1,99	3,04	1,41	20,30	16,44	20,38
III	1,42	1,18	1,20	11,85	17,01	15,43	1,99	3,53	1,02	23,02	17,17	21,16

Sledované vlastnosti půdy na lokalitě v sadu v Žabonosích shrnuje tab. 3. Zde u varianty kontrolní (var. IV) byla zjištěna nejvyšší OHr a nejnižší MVK během sledovaných let. Půdní struktura byla zjištěna také nejhorší, dokonce v roce 2017 byly naměřeny hodnoty pod koeficinet 1, což značí velmi špatnou strukturu. I půdní vlhkost byla nejnižší ve srovnání s variantami s kompostem. Nejlepší půdní vlastnosti byly vyhodnoceny u varianty I (kompost – separovaný digestát, kravský hnůj, tráva) a III (kompost – separovaný digestát, tráva, Lignohumax 20). Výsledky v jednotlivých letech byly částečně ovlivněny teplotními a srážkovými podmínkami.

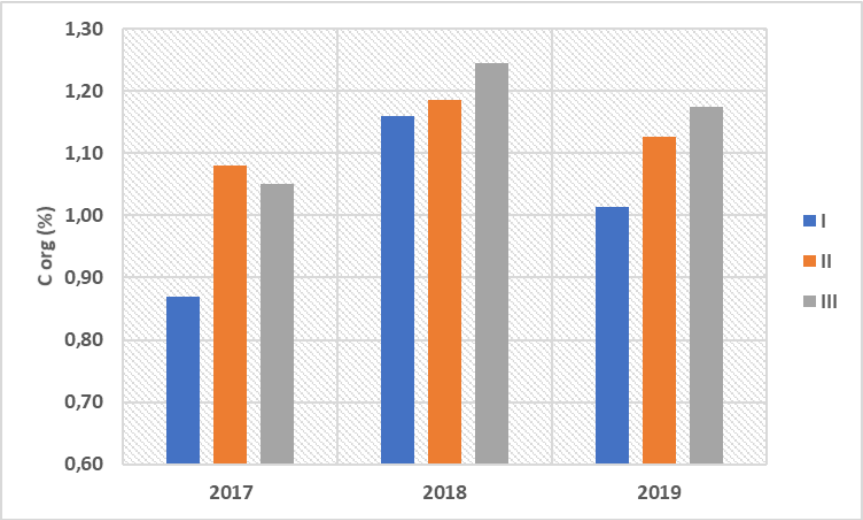
Tab. 3: Vlastnosti půdy u variant se zapravenými různými typy kompostů Žabonosy 2017-2019

varianta	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019	2017	2018	2019
	objemová hmot. red. ($g.cm^{-3}$)			minimální vzdušná kapacita % obj.			půdní struktura (koeficient strukturnosti)			vlhkost půdy (% hmot.)		
I	1,34	1,30	1,14	9,09	11,19	17,18	1,31	3,90	3,88	17,81	17,45	18,62
II	1,32	1,38	1,31	8,23	9,32	11,25	2,34	3,32	3,28	14,95	16,86	14,68
III	1,34	1,32	1,21	10,05	10,97	13,54	2,68	4,57	3,81	14,98	16,31	20,28
IV	1,36	1,46	1,33	7,28	6,91	10,03	0,82	1,82	2,41	13,86	11,55	17,41

Na základě výsledků na sledovaných lokalitách se zřetelně projevil příznivý vliv zapravení různých kompostů do půdy na její fyzikální vlastnosti půdy, což se projevilo na nižší objemové hmotnosti, na vyšší provzdušněnosti půdy, zlepšení půdní struktury a vyšší půdní vlhkosti. Pozitivní vliv hnojení organickou hmotou na fyzikální vlastnosti půdy v polních pokusech také uvádějí Hůla a kol. (2012). Také Vopravil a kol. (2010) zjistil, že odpovídající množství organické hmoty v půdě zajišťuje její dobrý biologický, fyzikální a chemický stav.

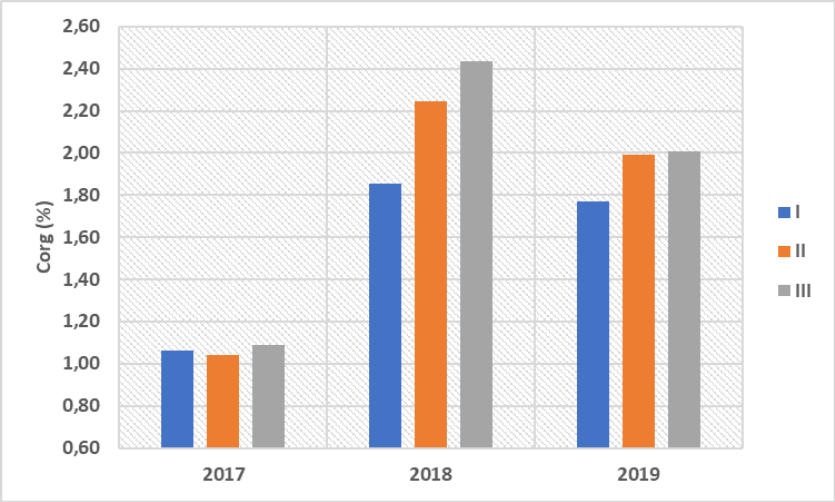
V následujících grafech 1–3 jsou vyhodnoceny obsahy organického uhlíku C_{org} na sledovaných lokalitách během tří let. Ze všech grafů je patrné, že varianty z aplikovaným kompostem obsahovaly více C_{org} ve srovnání s kontrolní variantou (var. I u vinic a var. IV v sadu).
Z grafů 1 a 2 z vinic je patrné, že nejvíce C_{org} bylo naměřeno v roce 2018 u varianty III. Dynamika obsahu C_{org} poněkud poklesla v roce 2019 u všech variant na lokalitě Lednice i Velké Bílovice, což mohlo být způsobené deficitem srážkové vody a vysokými teplotami během vegetace.

Graf 1: Obsah C_{org} na lokalitě Lednice – 2017-2019



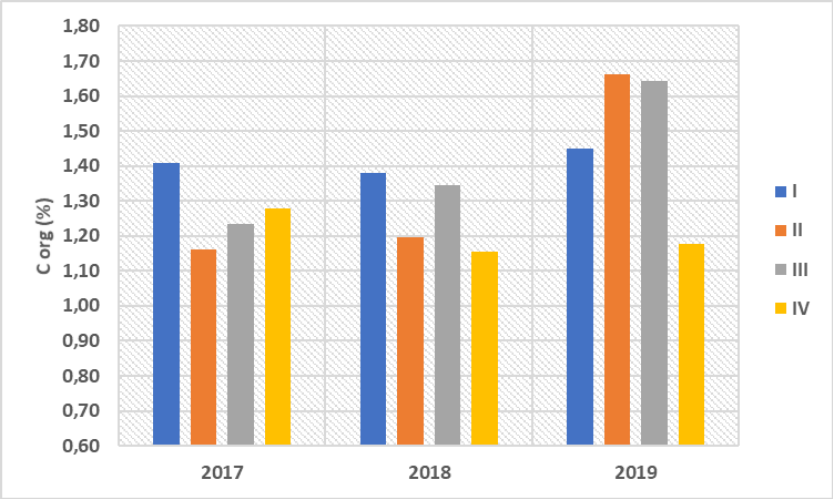
Graf 2 představuje obsah C_{org} na lokalitě ve Velkých Bílovicích, kde byl naměřen vyšší obsah C_{org} než na lokalitě v Lednici. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány opět u variant se zapraveným kompostem. Varianta III s Lignohumaxem se jeví jako nejefektivnější z hlediska obsahu organické hmoty v půdě díky rychlejšímu rozkladu kompostu. Projevil se zde pozitivní vliv huminových kyselin obsažených v tomto přípravku. To vede k vyšší aktivitě mikroorganizmů, a tedy podpoře zrání kompostu.

Graf 2: Obsah C_{org} na lokalitě Velké Bílovice – 2017-2019



V grafu 3 jsou vyhodnoceny výsledky na lokalitě Žabonosy v sadu. Výsledky jsou obdobné jako ve vinicích s tím, že mezi kontrolní variantou (var. IV) a variantami s kompostem jsou v roce 2018 a 2019 větší rozdíly, zvláště u var. I (digestát, kravský hnůj, tráva) a III (digestát, tráva, Lignohumax 20).

Graf 3: Obsah C_{org} na lokalitě Žabonosy – 2017-2019



Výnosy

Změny půdních podmínek ovlivněné zapravením kompostů různého složení se projevily i na výnosech plodů, a to jak ve vinicích, tak v jabloňovém sadu.

Rok 2019 byl ve středních Čechách na lokalitě v Žabonosích z hlediska klimatu poněkud nestandardní ve srovnání s rokem 2017 a 2018. Od počátku vegetace byly vysoké teploty a málo srážek. To se projevilo velkou násadou květů, ale v důsledku nepřítomnosti vláhy byla velikost plodů menší. Oproti kontrole však došlo k navýšení hmotnosti sklizených plodů., a sice v roce 2018 u var. 1 o 25 %, u var. 2 o 16 % a u var. 3 o 23 %. V roce 2019 u var. 1 o 13 %, u var. 2 o téměř 1 % a u var. 3 o 15 %. Rok 2017 se vyznačoval ve vinicích výrazným stresem způsobeným suchem, a proto byly počáteční výnosy hroznů nižší na lokalitě Lednice v průměru o 26 % a na lokalitě Velké Bílovice až o 114 %.

Výsledky z roku 2018 naznačují pozitivní vliv aplikovaného kompostu zejména na stanovišti Velké Bílovice, přičemž nejlepší efekt byl dosažen po aplikaci kompostu v kombinaci s lignohumaxem. V porovnání s kontrolní variantou zde byl výnos hroznů vyšší o 23 %. Na stanovišti v Lednici se však aplikace kompostu neprojevila a nejvyšší výnos byl u kontrolní varianty. Rok 2019 ještě nebyl vyhodnocen.

Závěr

Výsledky pokusu na sledovaných lokalitách potvrdily pozitivní vliv pravidelného zapravování organické hmoty do půdy ve formě kompostu různého složení na zlepšování a stabilitu fyzikálních vlastností půdy jako je utužení půdy, její provzdušněnost, vlhkost půdy a obsah celkového organického uhlíku. To vede k lepší odolnosti půdy vůči vláhovým a teplotním stresům a celkově ke zvyšování výnosů ovoce. Nejlepší výsledky byly zaznamenány u varianty kompost s Lignohumaxem, a to na všech třech sledovaných lokalitách.

Dedikace

Výsledky jsou součástí projektu TA ČR Epsilon č. TH02030467 pod názvem „Vývoj a ověření zařízení pro hloubkové zapravení organické hmoty do půdy ve vinicích a sadech“.

Použitá literatura

Badalíková B., Novotná J., Pospíšilová Ľ., 2016. Vliv zapravení organické hmoty na půdní vlastnosti a snížení vodní eroze. Uplatněná certifikovaná metodika 33/16, 41 s.

Hůla, J., Badalíková, B., Kovaříček, P., Vlášková, M., 2012. Úprava fyzikálních vlastností půdy a retenční schopnosti půdy zapravením kompostů z odpadní biomasy, Metodická příručka, 30 s.

Li X. G., Li F. M., Zed R., Zhan Z. Y., 2007. Soil physical properties and their relations to organic carbon pools as affected by land use in an alpine pastureland. Geoderma, 139, 98-105.

Jandák J., Prax A., Pokorný E., 2001. Půdoznalství. MZLU Brno, 142 s.

Nelson D. W., Sommers L. E., 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter.In: Sparks D. L. et al. (eds.) Methods of Soil Analysis. Part 3, 961–1010.

Ouattaraa K., Ouattaraa B., Nybergh G., Sédogoa M. P., Malmerb A., 2007. Ploughing frequency and compost application effects on soil infiltrability in a cotton–maize (Gossypium hirsutum–Zea mays L.) rotation system on a Ferric Luvisol and a Ferric Lixisol in Burkina Faso. Soil & Tillage Research, Vol. 95, iss. 1 - 2, p.288–297.

Stalker B., 2010. Infiltration and water holding capacityof kompost. CA deptofResources Recycling and Recovery, in www.CalRecycle.ca.gov

Stefanovits P., 1992. Soil sicence. Mezőgazda Kiadó. Budapest

Thompson A. M.; Paul A. C.; Balster N. J., 2008. Physical and hydraulic properties of engineered soil media for bioretention basins. Transactions of the asable, vol. 51, iss. 2, p.499–514.

Vopravil J. a kol., 2010. Půda a její hodnocení v ČR. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, str. 54, 2009-2011. 2 sv., 148 s.

Kontaktní adresa:

Ing. Barbora Badalíková
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1, 664 41 Troubsko
e-mail: badalikova@vupt.cz

VLIV OBOHACENÉHO BIOUHLU NA PŮDNÍ VLASTNOSTI

Effect of Enriched Biochar on Soil Parameters

Dokulilová T.[1], Brtnický M.[1], Holátko J.[1], Látal O.[2], Kintl A.[3]

[1]*Mendelova univerzita v Brně, Česká republika*
[2]*Agrovýzkum Rapotín s.r.o., Česká republika*
[3]*Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko, Česká republika*

Abstrakt
V současné době je běžné aktivovat biouhel fyzikálně či chemicky. Tato studie je prvním krokem k vytvoření bioaktivace šetrnější k přírodě. Máčením ve 3 aktivačních kapalinách – demi. vodě, minerálním médiu M9, mikrobiální kultuře na bázi M9 byl připraven obohacený (aktivovaný) biouhel. Během nádobového pokusu s hlávkovým salátem (*Lactuca sativa*) byl testován vliv takto upraveného a neaktivovaného biouhlu na obsah mikrobiálního uhlíku, dehydrogenázovou aktivitu, množství mikroorganismů a produkci rostlinné biomasy. Půda s přídavkem biouhlu obohaceného půdními mikroorganismy vykazovala výrazně vyšší počet kopií genu amoA (amoniak oxidující bakterie), což může naznačovat vyšší nitrifikační aktivitu v této variantě půdy ošetřené biouhlem. Nejvyšší výnos rostlinné biomasy vykazovala varianta s biouhlem obohaceným živinami (médium M9).
Klíčová slova: aktivace, dehydrogenasová aktivita, gen amoA (amoniakmonooxygenasa), nádobový pokus

Abstract
Currently, it is common to activate biochar physically or chemically. This study is the first step towards engineering more environment-friendly bioactivation method. Soaking in 3 activating fluids – demi-water, M9 mineral medium, M9-based microbial culture - enriched (activated) biochar was prepared. During a pot experiment with lettuce (*Lactuca sativa*), the effect of activated and unactivated biochar on the microbial carbon content, dehydrogenase activity, microbial abundance and plant biomass production was tested. The soil with the amendment of biochar enriched with soil microorganisms showed a significantly higher copy number of the amoA gene (ammonia oxidizing bacteria), which may indicate a higher nitrifying activity in this biochar treated soil variant. The highest yield of plant biomass was shown by the nutrient enriched biochar variant (M9 medium).
Key words: activation, dehydrogenase activity, amoA gene (ammonium monooxygenase), pot experiment

Úvod

Biouhel je na uhlík bohatý produkt pyrolýzního procesu, který probíhá za omezeného přístupu kyslíku. Biouhel se často využívá jako přípravek zlepšující půdní vlastnosti a k sekvestraci uhlíku (Spokas *et al.*, 2012). Přídavek biouhlu do půdy zlepšuje její fyzikálně chemické a biochemické vlastnosti. Zvyšuje půdní reakci a kationtovou výměnou kapacitu, zlepšuje půdní strukturu, ovlivňuje půdní ekosystém a zvyšuje zadržování živin v půdě (Lehmann a Joseph, 2015).

Biouhel přidávaný do půdy je velmi stabilní materiál, který v přírodě perzistuje stovky až tisíce let. Jeho přítomnost pozitivně ovlivňuje půdní ekosystém, dlouhodobě zvyšuje úrodnost a biologickou aktivitu (Gul *et al.*, 2015). Aplikace biouhlu do půdy ne vždy bezprostředně zlepšuje půdní aktivitu. Některé studie ukázaly, že biouhel může působit na půdní mikroflóru také negativně (Paz-Ferreiro *et al.*, 2012). Ačkoli je biouhel pro půdní mikroorganismy zdrojem živin a mineralizovatelného uhlíku, kvůli svým silným adsorpčním vlastnostem odnímá půdě

část živin a zhoršuje jejich dostupnost pro půdní mikrobiom a rhizosféru (Lehmann *et al.*, 2003). Modifikace (aktivace) surového biouhlu je důležitá pro potlačení tohoto nežádoucího efektu. Fyzikální a chemické modifikace jsou běžnými metodami aktivace biouhlu (Dalai a Azargohar, 2007). Chemické modifikace jsou účinnější než fyzikální z hlediska zvýšení porosity, zvětšení specifického povrchu, snížení obsahu aromatických sloučenin a zvýšení obsahu kyslíkatých chemických skupin. Avšak chemická modifikace vyžaduje užití silných chemikálií, které zvyšují riziko znečištění životního prostředí. V současnosti jsme ohroženi rostoucím znečištěním, proto roste potřeba levných k přírodě šetrných metod modifikace biouhlu (Selvaraju a Bakar, 2018), prospěšných zemědělcům, tak přírodě. Dosud málo běžná biologická aktivace biouhlu vyhovuje oběma aspektům.
Tato studie je prvním krokem k vytvoření metody biologické modifikace (aktivace) biouhlu, která nevyžaduje užití potenciálně znečišťujících chemikálií. Zlepšení vlastností biouhlu předpokládá vyloučení residuí polutantů do kapaliny, jejich neutralizaci či výměnu účinkem rozpuštěných zdrojů živin či utilizaci přítomnými mikroorganismy. Kolonizace povrchu biouhlu může napomoci rozrušit strukturu biouhlu a zvětšit jeho specifický povrch, na který mohou se navázat zdroje živin.

Materiál a Metody

Úprava biouhlu

Podstatou úpravy (aktivace) bylo máčení biouhlu v různých aktivačních kapalinách. Jako aktivační kapaliny byly zvoleny: demineralizovaná voda (AB – dH_2O); minerální médium M9 (AB – M9), které obsahovalo zdroj C, N, P, S, K, Mg; a mikrobiální kultura na bázi média M9 (AB – Rewital Pro+). Mikrobiální kultura byla připravena třídenní inkubací komerčního přípravku Rewital Pro+ (Biogen, Polsko) obsahujícího definovanou směs taxonů půdních bakterií s médiem M9 v poměru 1:4 za intenzivní aerace a pokojové teploty. Pro pokus byl použit komerční biouhel připravený z rostlinných zbytků, který byl navážen po 15 g do uhelovoných sáčků (velikost oka 42 µm). Vždy 2 sáčky s biouhlem byly umístěny do promývací lahve o objemu 500 ml naplněné 350 ml příslušné aktivační kapaliny (viz **Obr. 1**). Každá varianta byla připravena ve 3 opakováních. Máčení biouhlu probíhalo 14 dní za stálé aerace a pokojové teploty.

Obr. 1: Úprava (obohacování) biouhlu

Nádobový pokus

Účinek úpravy biouhlu na jeho hnojivé vlastnosti byl testován v nádobovém pokusu pomocí růstu rostlin hlávkového salátu (*Lactuca sativa*). Pokusné nádoby o objemu 1 dm^3 byly

naplněny 1 kg půdy. Kontrolní varianta byla ponechána bez dalšího přídavku, do varianty NB byl přidán neupravený biouhel, do variant AB byl přidán obohacený (aktivovaný) biouhel upravený namáčením v příslušných aktivačních kapalinách. Dávka biouhlu byla přepočítána jako ekvivalent 10 t suchého biouhlu/ha. Do naplněných květináčů bylo zaseto vždy 5 semen hlávkového salátu *(Lactuca sativa)* odrůdy Smaragd. Sazenice byly po 14 dnech vyjednoceny. Nádobový pokus (viz **Obr. 2**) probíhal po dobu 6 týdnů v řízených podmínkách růstové komory Climacell Evo (BMT, Česká republika): dvanáctihodinová fotoperioda, bílé osvětlení, intenzita světla 20 000 lx, teplota den/noc 22/18 °C, relativní vzdušná vlhkost 70 %.
Na konci pokusu byly jednotlivé sazenice sklizeny (zvlášť nadzemní a podzemní část) a byla určena hmotnost čerstvé a následně i suché (sušení při 60 °C) biomasy.

Obr. 2: Nádobový pokus – hlávkový salát *(Lactuca sativa)*

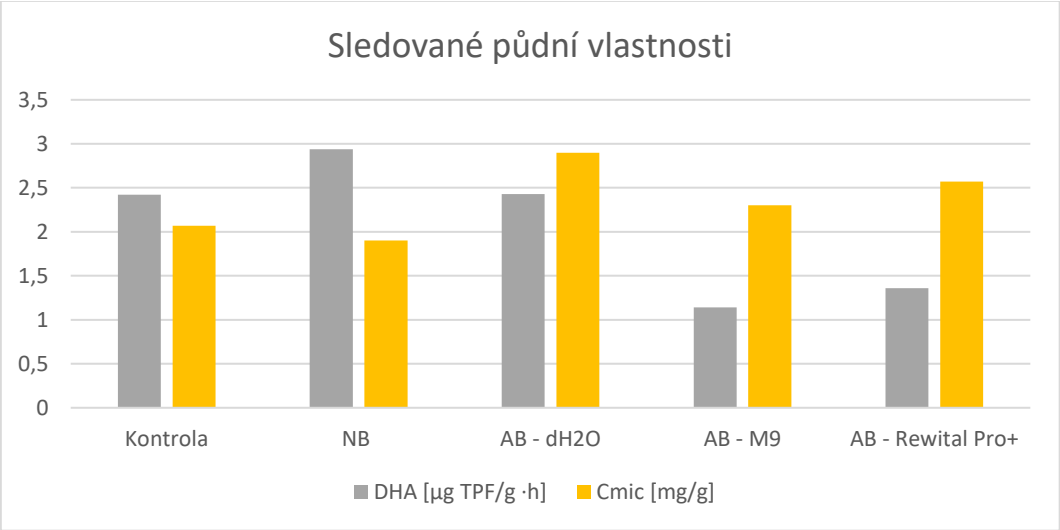
Při ukončování nádobového pokusu byly také odebrány půdní vzorky, u kterých byly dále analyzovány následující parametry. Obsah mikrobiálního uhlíku (Cmic) byl určen pomocí fumigační extrakční metody podle (Zbíral *et al.*, 2011). Podle metodiky publikované v práci (Casida *et al.*, 1964) byla změřena dehydrogenázová aktivita (DHA), která slouží pro hodnocení mikrobiální aktivity v půdě. Složení půdního mikrobiomu bylo určeno pomocí real-time qPCR (16S rDNA - bakterie, 18S rDNA - houby, 16S rDNA Actino – actinomycety, gen amoA – amoniak oxidující bakterie). Pro kvantifikaci jednotlivých skupin půdních mikroorganismů byly využity následující primery: pro bakterie 1108F (5‘ ATGGYTGTCGTCAGCTCGTG 3‘) a 1132R (5‘ GGGTTGCGCTCGTTGC 3‘) (Amann *et al.*, 1995), pro houby FF390 (5‘ ATACGATAACGAACGAGACCT 3‘) a FR1 (5’ AICCATTCAATCGGTAIT 3‘) (Vainio a Hantula, 2000), pro aktinomyceny 517F (5' CCAGCAGCCGCGGTAAT 3') a Act704R (5' TCTGCGCATTTCACCGCTAC 3') (Xiao *et al.*, 2011), pro amoniak oxidující bakterie AMOA1F (5' GGGGTTTCTACTGGTGGT 3') a AMOA1R (5' CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC 3') (Rotthauwe *et al.*, 1997).

Výsledky a diskuze

Vliv aplikace biouhlu do půdy na DHA je z literatury nejasný, různí autoři dosáhli odlišných výsledků, od pozitivního ovlivnění (Kumar *et al.*, 2013) až k negativnímu vlivu (Paz-Ferreiro *et al.*, 2012). Přidáním neaktivovaného biouhlu došlo ke zvýšení DHA o 21 % ve srovnání s kontrolou, naopak přidání biouhlu aktivovaného minerálním médiem M9 a mikrobiálním přípravkem Rewital vedlo k výraznému snížení DHA, o 53 %, resp. 44 % ve srovnání s kontrolou. To může být způsobeno zvýšenou mikrobiální aktivitou na povrchu biouhlu na počátku testu (během aktivace), která vedla k následnému vyčerpání živin a k útlumu aktivity mikroorganismů. Dřívější publikace vysvětluje, že je vliv biouhlu na DHA závislý na míře

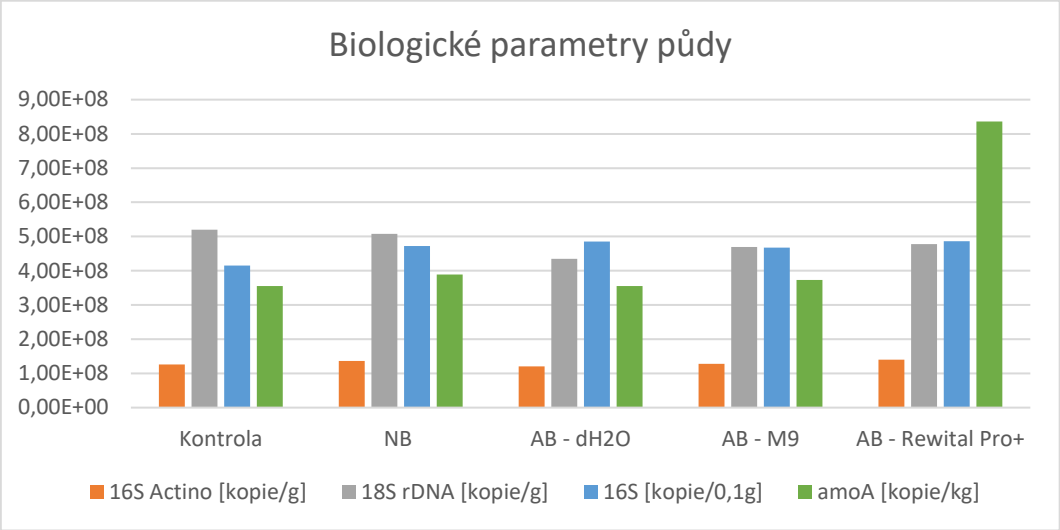
interakce mezi subsrátem, enzymem a biouhlem (např. sorpce a desorpce substrátů na povrchu biouhlu) (Lammirato, *et al.*, 2011). Substráty a enzymy jsou přitahovány funkčními skupinami přítomnými na povrchu biouhlu. Snížení DHA může být důsledkem sorpce enzymu na biouhel, čímž dochází k inaktivování enzymu (Czimczik a Masiello, 2007). Změna v DHA může tedy být vyvolaná i změnou funkčních skupin na povrchu aktivovaných biouhlů.

Po přidání neaktivovaného biouhlu došlo ke snížení Cmic o 8 % vůči kontrole, pokles v Cmic po aplikaci biouhlu uvádí např. i další práce (Zhang *et al.*, 2014). Obsah Cmic je u variant aktivovaných M9 a Rewitalem vyšší než u kontroly (o 11 %, resp. 24 %). Nejvyšší hodnoty Cmic (o 40 % více než kontrola) bylo dosaženo přidáním biouhlu promytého demineralizovanou vodou, což může být zapříčiněno vymytím residuí polutantů obsažených v biouhlu a zároveň omezeným množením mikroorganismů během aktivace. U variant aktivovaných na bázi M9 došlo pravděpodobně k výraznému vzrůstu biomasy mikroorganismů a vyčerpání zdrojů uhlíku pro další růst, jak je zmíněno výše. Výsledky analýz DHA a obsahu Cmic jsou zobrazeny na **Obr. 3**, který ukazuje, že změna v DHA není závislá na množství mikrobiální biomasy.



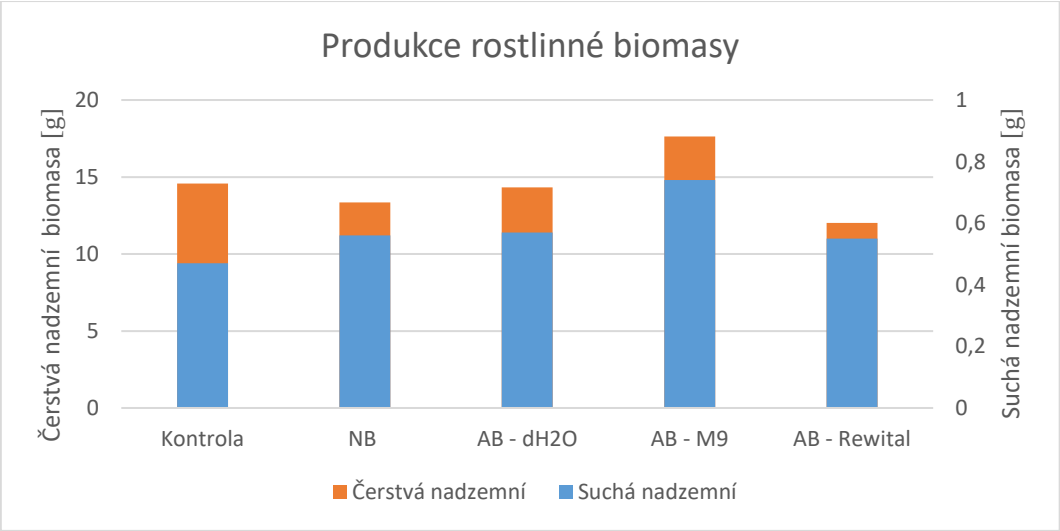
Obr. 3: Sledované parametry půdy na konci nádobového pokusu (DHA, Cmic)

Množství aktinomycet nejvíce vzrostlo (o 10 % vůči kontrole) u varianty obohacené o biouhel aktivovaný Rewitalem, pravděpodobně vlivem baterií přítomných v tomto typu inokula. Pozitivní vliv na aktinobakterie odpovídá předchozím pozorováním vlivu neaktivovaného biouhlu v půdě (Watzinger *et al.*, 2014). Naopak k největšímu poklesu (o 5 % vůči kontrole) došlo u varianty s biouhlem promytým v dH_2O. V počtech hub jsou mezi jednotlivými variantami výraznější rozdíly. K poklesu (o 17 % vůči kontrole) došlo u varianty s promytým biouhlem. Možnou příčinou je vyluhování či spotřebování komplexních forem zdrojů uhlíku, které houby přednostně využívají jako substrát (Meidute *et al.*, 2008), z aktivovaného biouhlu. K tomuto vysvětlení přispívá i fakt, že pokles množství hub nastal i u dalších modifikovaných variant (AB-M9 a AB-Rewital), o 10 %, resp. 8 % vůči kontrole. Největší rozdíly v množství lze pozorovat u amoniak oxidujících bakterií, kdy došlo k nárustu jejích množství o 135 % vůči kontrole po přidání biouhlu aktivovaného Rewitalem. Opět mohlo dojít k pomnožení bakteriálních taxonů oxidujících amoniak z inokula, zejména rodů *Arthrobacter* a *Pseudomonas* (Abeliovich, 1992; Kloos *et al.*, 1998). U bakterií došlo ke zvýšení o 13 až 17 % u všech variant s (ne)aktivovaným biouhlem, z čehož lze odvodit, že biouhel vytváří příznivé prostředí pro život bakterií bez ohledu na jeho případnou modifikaci, což uvádí i Lehmann a Joseph (2015). Množství sledovaných skupin mikroorganismů je zobrazeno na **Obr. 4**.



Obr. 4: Biologické parametry půdy na konci nádobového pokusu

Množství čerstvé rostlinné biomasy (viz **Obr. 5**) se po přidání neaktivovaného biouhlu snížilo o 18 % oproti kontrole, což může být způsobeno sorpcí živin přístupných rostlině z půdy na biouhel. Naopak u varianty obohacené médiem M9, tedy živinami vzrostlo množství čerstvé biomasy o 20 % vůči kotrole. Z tohoto faktu lze vyvodit, že pro růst rostlin (na rozdíl od mikrobiální biomasy v půdě) je důležité obohacení biouhlu o živiny. Nejhoršího výsledku v produkci nadzemní biomasy (o 18 % nižší než kontrola) dosáhla varianta aktivovaná Rewitalem. Toto pozorování lze vysvětlit možným přemnožením mikroorganismů během aktivace, případně na počátku nádobového pokusu, a vyčerpání živin potřebných k růstu rostliny. Zajímavý je také obsah sušiny nadzemní biomasy, který je u všech variant s (ne)aktivovaným biouhlem výrazně vyšší (3,98 - 4,57 %) než u kontrolní varianty (3,22 %). Tuto skutečnost lze přisuzovat schopnosti biouhlu vázat vodu a udržet tak půdu déle a rovnoměrněji vlhkou, takže rostlina nemá potřebu zadržovat vyšší množství vláhy v biomase.



Obr. 5: Produkce nadzemní biomasy na konci nádobového pokusu

Závěr

Tato studie je prvním krokem k vytvoření metody biologické modifikace (aktivace) biouhlu, která nevyžaduje užití potenciálně znečišťujících chemikálií. Máčením ve 3 aktivačních kapalinách – demi. vodě, minerálním médiu M9, mikrobiální kultuře na bázi M9 byl připraven obohacený (aktivovaný) biouhel. Během nádobového pokusu s hlávkovým salátem (Lactuca sativa) byl testován vliv takto upraveného a neaktivovaného biouhlu na obsah mikrobiálního uhlíku, dehydrogenázovou aktivitu, množství mikroorganismů a produkci rostlinné biomasy. Z dosažených výsledků lze vyvodit, že máčením biouhlu v aktivačních kapalinách lze dosáhnout zlepšení jeho vlastností zejména vyluhováním příp. reziduí polutantů z povrchu. Také lze z aktivačních médií na biouhel navázat živiny, které následně přispívají k obohacení půdy živinami a k vyšším rostlinným výnosům. Dále je třeba testovat způsoby a účinnost obohacení biouhlu o prospěšné mikroorganismy, které by mohly přispět k využitelnosti biouhlu jako zdroje uhlíku a dalších vázaných živin v půdě.

Dedikace

Tato studie byla finančně podpořena projektem TAČR TH03030319: Podpora funkční diverzity půdních organismů aplikací klasických a modifikovaných stabilních organických hmot při zachování produkčních vlastností půd.

Použitá literatura

Abeliovich, A. (1992) ‘Transformations of ammonia and the environmental impact of nitrifying bacteria’, *Biodegradation*, 3(2–3), pp. 255–264. doi: 10.1007/BF00129087.

Amann, R. I., Ludwig, W. and Schleifer, K. H. (1995) ‘Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivati’, *Microbiological Rewiews*, 59(1), pp. 143–169.

Azeem, M. *et al.* (2016) ‘Effect of biochar amendment on soil microbial biomass, abundance and enzyme activity in the mash bean field’, *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences*, 8, pp. 1–13. Available at: http://www.innspub.net/wp-content/uploads/2016/06/JBES-Vol8No6-p1-13.pdf.

Casida, L. E. J., Klein, D. A. and Santoro, T. (1964) ‘Soil dehydrogenase activity’, *Soil Science*, 98(6), pp. 371–376. Available at: https://journals.lww.com/soilsci/Citation/1964/12000/SOIL_DEHYDROGENASE_ACTIVITY.4.aspx.

Clough, T. *et al.* (2013) ‘A Review of Biochar and Soil Nitrogen Dynamics’, *Agronomy*, 3(2), pp. 275–293. doi: 10.3390/agronomy3020275.

Czimczik, C. I. and Masiello, C. A. (2007) ‘Controls on black carbon storage in soils’, *Global Biogeochemical Cycles*, 21(3), p. n/a-n/a. doi: 10.1029/2006GB002798.

Dalai, A. K. and Azargohar, R. (2007) ‘Production of Activated Carbon from Biochar Using Chemical and Physical Activation: Mechanism and Modeling’, in, pp. 463–476. doi: 10.1021/bk-2007-0954.ch029.

Gul, S. *et al.* (2015) ‘Physico-chemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: Mechanisms and future directions’, *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 206, pp. 46–59. doi: 10.1016/j.agee.2015.03.015.

Kloos, K., Hüsgen, U. M. and Bothe, H. (1998) ‘DNA-Probing for Genes Coding for Denitrification, N2-Fixation and Nitrification in Bacteria Isolated from Different Soils’, *Zeitschrift für Naturforschung C*, 53(1–2), pp. 69–81. doi: 10.1515/znc-1998-1-214.

Kumar, S. *et al.* (2013) ‘Biochar preparation from Parthenium hysterophorus and its potential use in soil application’, *Ecological Engineering*, 55, pp. 67–72. doi: 10.1016/j.ecoleng.2013.02.011.

Lammirato, C., Miltner, A. and Kaestner, M. (2011) 'Effects of wood char and activated carbon on the hydrolysis of cellobiose by β-glucosidase from Aspergillus niger', *Soil Biology and Biochemistry*, 43(9), pp. 1936–1942. doi: 10.1016/j.soilbio.2011.05.021.

Lehmann, J. *et al.* (2003) 'Nutrient availability and leaching in an archaeological Anthrosol and a Ferrasol of the Central Amazon basin: Fertilizer, manure, and charcoal amendments', *Plant and Soil*, (249), pp. 343–357. Available at: http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.183.414&rep=rep1&type=pdf.

Lehmann, J. and Joseph, S. (eds) (2015) *Biochar for environmental management: Science, Technology and Implementation*. Second. London, New York: Routledge, Taylor & Francis Group.

Meidute, S., Demoling, F. and Bååth, E. (2008) 'Antagonistic and synergistic effects of fungal and bacterial growth in soil after adding different carbon and nitrogen sources', *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), pp. 2334–2343. doi: 10.1016/j.soilbio.2008.05.011.

Paz-Ferreiro, J. *et al.* (2012) 'Soil biochemical activities and the geometric mean of enzyme activities after application of sewage sludge and sewage sludge biochar to soil', *Biology and Fertility of Soils*, 48(5), pp. 511–517. doi: 10.1007/s00374-011-0644-3.

Rotthauwe, J. H., Witzel, K. P. and Liesack, W. (1997) 'The ammonia monooxygenase structural gene amoA as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations.', *Applied and environmental microbiology*, 63(12), pp. 4704–12. Available at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9406389.

Selvaraju, G. and Bakar, N. K. A. (2018) 'Process conditions for the manufacture of highly micro-mesoporous eco-friendly activated carbon from artocarpus integer bio-waste by steam activation', *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 93, pp. 414–426. doi: 10.1016/j.jtice.2018.08.011.

Spokas, K. A. *et al.* (2012) 'Biochar: A Synthesis of Its Agronomic Impact beyond Carbon Sequestration', *Journal of Environment Quality*, 41(4), p. 973. doi: 10.2134/jeq2011.0069.

Vainio, E. J. and Hantula, J. (2000) 'Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA', *Mycological Research*, 104(8), pp. 927–936. doi: 10.1017/S0953756200002471.

Watzinger, A. *et al.* (2014) 'Soil microbial communities responded to biochar application in temperate soils and slowly metabolized 13 C-labelled biochar as revealed by 13 C PLFA analyses: results from a short-term incubation and pot experiment', *European Journal of Soil Science*, 65(1), pp. 40–51. doi: 10.1111/ejss.12100.

Xiao, Y. *et al.* (2011) 'Changes in the actinomycetal communities during continuous thermophilic composting as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative PCR', *Bioresource Technology*, 102(2), pp. 1383–1388. doi: 10.1016/j.biortech.2010.09.034.

Zbíral, J. *et al.* (2011) *Jednotné pracovní postupy - Analýza půd III*. Brno: ÚKZÚZ.

Zhang, H., Voroney, R. P. and Price, G. W. (2014) 'Effects of Biochar Amendments on Soil Microbial Biomass and Activity', *Journal of Environment Quality*, 43(6), p. 2104. doi: 10.2134/jeq2014.03.0132.

Kontaktní adresa:

Ing. Tereza Dokulilová
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1
613 00 Brno
e-mail: tereza.dokulilova@mendelu.cz

VLIV AGROTECHNICKÝCH FAKTORŮ NA VÝNOS JARNÍHO JEČMENE (*HORDEUM VULGARE* L.)

Effect of agronomy measures on the grain yield of spring barley (*Hordeum vulgare* L.)

Dryšlová, T., Smutný, V., Křen, J., Procházková, B.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Cílem příspěvku je ukázat výsledky vlivu různého hospodaření se slámou v kombinaci s různým zpracováním půdy a diferencovanými dávkami minerálního hnojení na výnos zrna jarního ječmene pěstovaného v monokultuře v dlouhodobém stacionárním polním pokusu, v suchých a teplých podmínkách kukuřičné výrobní oblasti. Pokus je veden od r. 1969 na pokusné stanici Ústavu agrosystémů a bioklimatologie v Žabčicích. V příspěvku je zhodnoceno období roků 2003-2018 (období s vyšší variabilitou průběhu povětrnostních podmínek v jednotlivých ročních). Při hodnocení vlivu různých způsobů hospodaření se slámou na výnos zrna jarního ječmene pěstovaného v monokultuře byl v průměru dosažen po orbě i po mělkém zpracování půdy nejvyšší výnos vždy na variantě s pálením slámy, dále na variantě se zapravováním slámy do půdy a nejnižší po sklizni slámy. V rámci hodnocení vlivu různého zpracování půdy jsou vyšší výnosy dosahovány na variantách se zpracováním půdy orbou. Při hodnocení vlivu různé úrovně minerálního hnojení bylo zjištěno, že se stupňovanou dávkou dusíku se výnosy pravidelně zvyšovaly. V rámci hodnoceného souboru dat se výrazně projevoval vliv ročníku.

Klíčová slova: dlouhodobý pokus, monokultura, jarní ječmen, zpracování půdy, hospodaření se slámou, dávky dusíku

Abstract

The aim of this paper is to introduce the results of long-term effects of different straw management practices in combination with different soil tillage techniques and mineral fertilization on yields of continuous (monoculture) spring barley under dry and warm conditions of the maize-growing region. Long-term field experiment with monoculture of spring barley (*Hordeum vulgare* L.) was established in autumn of 1969 in Žabčice, on the field of Department af Agrosystems and Bioclimatolgy. The paper evaluates the period of years 2003-2018 (the period with higher variability of annual weather conditions). Effect of different straw management on the yield of spring barley grain grown in monoculture, the average yield after ploughing and after shallow soil cultivation was always the highest in the variant with straw burning, further on the variant with incorporation of straw into the soil and lowest after straw harvest. Evaluation of the effect of different tillage, higher yields were achieved on the variants with ploughing. Assessing of the effect of varying levels of mineral fertilization, it was found that yields increased with increasing nitrogen. Within the data set evaluated, the influence of the year was markedly manifested.

Key words: long-term experiments, monoculture, spring barley, soill tillage, straw management, nitrogen doses

Úvod

Vliv technologií zpracování půdy s kombinací zapravené slámy či jiné organické hmoty na výnosy následných plodin je velmi aktuální. Experimentální zaměření pracoviště poskytuje zázemí pro řadu informací právě k této problematice (např. Procházková et al., 2002; Hůla, Procházková et al., 2002; Hůla, Procházková et al., 2008; Smutný et al., 2015; Dryšlová at al.,

2018), v návaznosti na předchozí poznatky (Kos, 1977; Vymětal, 1982; aj.). Výsledky pozorování zejména varianty zapravování slámy do půdy jsou značně závislé na stanovištních podmínkách prováděných pokusů. Dále na vhodné kombinaci sytému zpracování půdy a managementu (způsobu zapravování) organické hmoty, a v neposlední řadě vztahu ke střídání plodin. Při monokulturním pěstování obilnin může být opakované zapravování slámy do půdy obecným problémem. Při pomalém rozkladu slámy, zejména v sušších podmínkách, může zůstávat v půdě větší množství nerozložených organických látek, které mohou způsobovat opoždění počátečního růstu následné plodiny. Dlouhodobý stacionární polní pokus byl koncipován tak, aby poskytnul informace o výnosech při různé koncentraci obilnin a poukázal i na krajní možnost pěstování obilnin, a to pěstování jarního ječmene v monokultuře (Krejčíř, 1996).

Materiál a metody

Dlouhodobý stacionární polní pokus s monokulturou jarního ječmene (*Hordeum vulgare* L.) byl založen na podzim r. 1969 v Žabčicích v kukuřičné výrobní oblasti. Dnes je pokus veden Ústavem agrosystémů a bioklimatologie AF MENDELU. Lokalita Žabčice se nachází v rovinatém terénu nivy řeky Svratky v Dyjskosvrateckém úvalu v nadmořské výšce 180 m, s průměrnou roční teplotou 9,2 °C a ročním úhrnem srážek 480 mm (průběh povětrnostních podmínek v hodnocených letech je uveden v Tab. 1 a 2). Půda je fluvizem glejová, jílovitohlinitá, s dobrým obsahem přístupných živin a obsahem humusu 2,5 %.

V pokusu jsou dlouhodobě sledovány následující faktory:

- dvě varianty zpracování půdy: I. tradiční zpracování půdy (tj. orba na hloubku 0,22 m); II. minimální zpracování půdy (tj. mělké zpracování půdy talířovým nářadím na 0,12-0,15 m);
- tři varianty hospodaření se slámou: a) sláma sklizená, b) sláma po sklizni zapravovaná do půdy, c) sláma pálená;
- tři varianty rozdílného minerálního hnojení, diferencované zejména dávkami dusíku (uvedeno v kg čistých živin), a to: 30 (kg $N.ha^{-1}$), 60 (kg $N.ha^{-1}$), 90 (kg $N.ha^{-1}$).

V příspěvku je vyhodnoceno období roků 2003-2018 (s vyloučením ročníků, kde došlo vlivem nepříznivého průběhu povětrnostních podmínek k poškození porostů – vyloučeny byly roky: 2006, 2007, 2012, 2013, 2016). Ke statistickému vyhodnocení byla použita ANOVA, s následným testováním dle Tukeye na hladině prvděpodobnosti 95 % v programu Statistica.

Tab. 1: Průměrné měsíční a roční teploty vzduchu (°C), Žabčice 2003-2018

Měs./rok	1961-1990	2003	2004	2005	2008	2009	2010	2011	2014	2015	2017	2018
I	**-2,0**	0,5	-2,9	0,1	1,8	-3,3	-3,9	-0,4	1,1	1,9	-5,8	2,0
II	**0,2**	-2,31	2,1	-2,0	2,6	0,4	-0,6	-0,9	2,7	1,5	1,5	-1,9
III	**4,3**	5,1	4,3	2,6	4,8	5,0	4,8	5,4	8,5	5,4	7,7	2,4
IV	**9,6**	9,5	11,8	11,0	10,1	14,5	10,2	12,4	11,8	9,9	9,0	14,6
V	**14,6**	17,4	13,9	15,0	15,4	15,6	14,0	15,3	14,5	14,4	15,8	18,3
VI	**17,7**	21,4	18,0	17,9	19,8	17,3	18,7	19,4	18,8	19,0	20,8	20,1
VII	**19,3**	20,6	19,6	19,9	20,4	20,7	21,9	19,2	21,5	22,9	21,1	21,8
VIII	**18,6**	22,6	20,1	18,1	20,0	21,1	19,3	20,5	17,9	23,3	21,7	23,8
IX	**14,7**	15,2	14,6	16,1	14,3	17,2	13,7	17,1	15,6	16,5	14,1	16,6
X	**9,5**	7,2	11,0	9,9	9,8	8,9	7,3	9,3	11,5	9,7	10,4	12,0
XI	**4,1**	6,1	4,5	2,8	6,5	5,7	6,7	2,5	7,5	6,2	4,6	5,8
XII	**0,0**	0,2	0,0	-0,9	1,8	0,1	-3,9	2,2	2,4	3,1	1,4	1,5
průměr	**9,2**	**10,3**	**9,7**	**9,2**	**10,6**	**10,3**	**9,0**	**10,2**	**11,2**	**11,2**	**10,2**	**11,5**

Tab. 2: Měsíční a roční úhrny srážek (mm), Žabčice 2003-2018

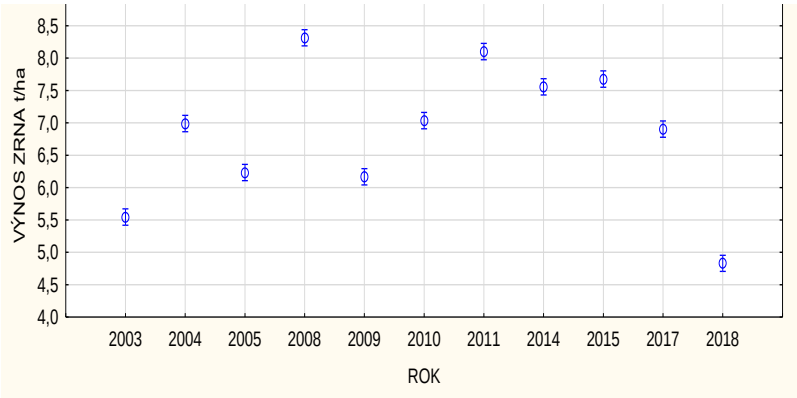
Měs./rok	1961-1990	2003	2004	2005	2008	2009	2010	2011	2014	2015	2017	2018
I	**24,8**	18,2	41,9	19,4	15,7	20,0	46,8	21,4	22,0	19,2	32,1	46,2
II	**24,9**	0,4	27,6	44,4	10,4	57,6	22,8	4,6	12,6	6,8	10,7	14,5
III	**23,9**	3,0	59,8	5,8	32,9	78,1	9,8	39,3	5,6	16,4	18,7	15,6
IV	**33,2**	18,2	34,0	49,5	29,3	3,6	53,1	33,2	11,2	19,6	42,4	9,6
V	**62,8**	42,2	28,3	66,8	53,5	42,4	102,4	46,2	62,8	32,2	24,0	51,2
VI	**68,6**	11,6	65,2	46,2	19,6	114,7	79,8	42,9	43,4	22,0	25,8	45,6
VII	**57,1**	48,6	28,6	103,1	49,9	74,0	87,9	79,8	85,0	22,0	68,2	36,0
VIII	**54,3**	29,6	33,2	80,7	55,9	29,6	75,8	42,4	113,6	105,8	22,4	14,2
IX	**35,5**	28,2	43,8	33,2	46,1	24,7	57,8	31,1	116,2	23,4	83,0	114,8
X	**31,8**	57,6	66,2	6,2	27,3	21,2	10,4	22,6	46,4	48,0	35,8	10,4
XI	**36,8**	31,6	35,0	23,4	22,1	55,4	32,8	1,6	29,2	21,8	23,8	11,6
XII	**26,3**	51,0	18,0	30,2	31,1	37,6	11,1	14,6	28,7	17,8	20,4	28,6
úhrn	**480,0**	**340,2**	**481,6**	**508,9**	**393,9**	**559,0**	**590,6**	**379,7**	**576,7**	**355,0**	**407,3**	**398,1**

Výsledky a diskuze

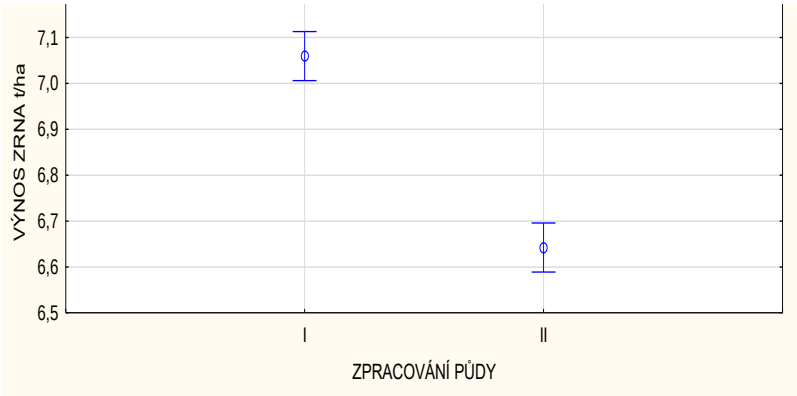
Průměrný výnos zrna za sledované období a v průměru všech pokusných variant byl 6,54 t/ha. Výsledky statistického hodnocení jsou graficky znázorněny na grafech 1-5 (vliv faktorů viz Graf 1-4, interakce zpracování půdy se způsoby hospodaření se slámou viz. Graf 5).

V rámci hodnoceného souboru dat se výrazně projevoval *vliv ročníku*; u ročníků s dosaženými nízkými výnosy (r. 2003, 2005, 2009 a zejména 2018) oproti průměru, můžeme v průběhu povětrnostních podmínek pozorovat výkyvy oproti dlouhodobému normálu zejména v měsících březnu, dubnu a květnu, měsících stěžejní pro tvorbu výnosu. V rámci hodnocení vlivu různého *zpracování půdy* jsou vyšší výnosy dosahovány na variantách se zpracováním půdy orbou. Největší rozdíly ve prospěch orby byly zaznamenány na variantě se zapravováním slámy do půdy. Při hodnocení vlivu různých způsobů *hospodaření se slámou* na výnosy zrna jarního ječmene pěstovaného v monokultuře byl dosažen po orbě i po mělkém zpracování půdy nejvyšší výnos vždy na variantě s pálením slámy, dále na variantě se zapravováním slámy do půdy a nejnižší po sklizni slámy. Při hodnocení vlivu různé úrovně *minerálního hnojení* bylo zjištěno, že se stupňovanou dávkou dusíku se výnosy pravidelně zvyšovaly, a to jak na všech variantách hospodaření se slámou, tak na obou variantách zpracování půdy.

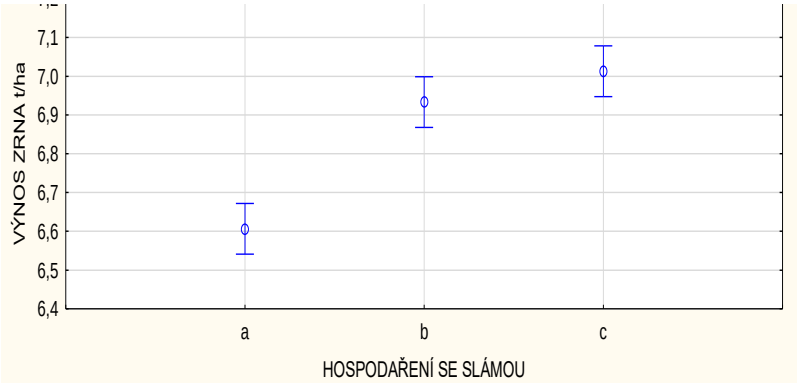
Graf 1: Vliv ročníku na průměrný výnos zrna (t/ha) j. ječmene, Žabčice 2003-2018



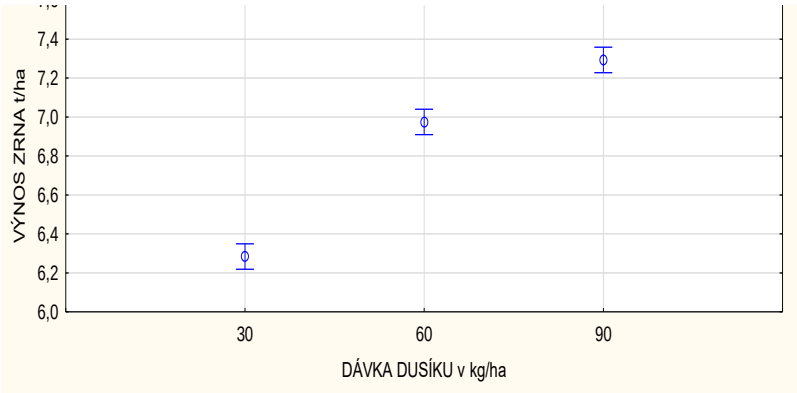
Graf 2: Vliv zpracování půdy na výnos zrna (t/ha) j. ječmene, Žabčice 2003-2018



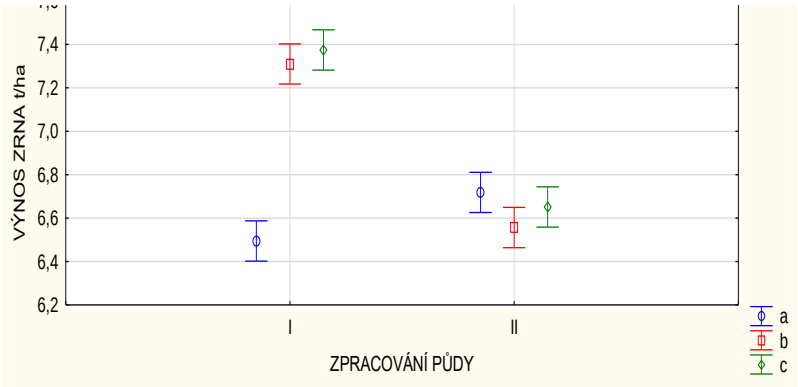
Graf 3: Vliv hospodaření se slámou na výnos zrna (t/ha) j. ječmene, Žabčice 2003-2018



Graf 4: Vliv různé úrovně dusíkatého hnojení na výnos zrna (t/ha) ječmene jarního, Žabčice 2003-2018



Graf 5: Interakce faktorů zpracování půdy a hospodaření se slámou - výnos zrna (t/ha), ječmene jarního, Žabčice 2003-2018



Smutný et al. (2011) s výsledky z obdobných stanovištních podmínek, ale s pěstováním jarního ječmene v osevním postupu, uvádějí, že pro jarní ječmen jsou vhodné oba způsoby zpracování půdy, a že při povětrnostně standardním průběhu ročníku způsoby zpracování půdy nejsou limitní svým vlivem na výši výnosu ani kvalitu produkce.

Závěr

Ve výsledcích s pěstováním jarního ječmene v monokultuře, v sušších podmínkách Žabčic, jak ukazují interakce zpracování půdy a zapravování slámy, je zřejmá odlišná situace (Graf 5). Tento fakt potvrzují výsledky řady sledování uvedených ve společné studii autorů Hůly, Procházkové et al. (2002). Uvádí se, že mělké zpracování půdy zajišťuje horší zapravení slámy do půdy než orba, horší kontakt s půdou a následné mikrobiální procesy vedoucí k rozkladu slámy, právě v sušších podmínkách. Tento efekt do jisté míry zmírňuje varianta pálené slámy, využitelná však pouze v experimentálních podmínkách (Hrubý et al., 2009; Dryšlová et al., 2015).

Dedikace

Příspěvek vznikl za finanční podpory NAZV MZe projekty č. QK1810186 a QJ1610547.

Použitá literatura

Dryšlová, T., Křen, J., Procházková, B., Smutný, V. Grain yield of spring barley (Hordeum vulgare L.) grown in long-term continuous culture. In „*60 let dlouhodobých polních pokusů v České republice*“, sborník recenzovaných příspěvků. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 2015, s. 10-12. ISBN 978-80-7427-177-9

Dryšlová, T., Smutný, V., Procházková, B., et al. *Optimalizace agrotechnických opatření při hospodaření v suchých oblastech.* Certifikovaná metodika. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2018, 60 s. ISBN 978-80-7509-629-6

Hůla, J., Procházková, B., et al. *Vliv minimalizačních a půdoochraných technologií na plodiny, půdní prostředí a ekonomiku.* Zemědělské informace č. 3/2002. Praha: ÚZPI, 2002, 104 s. ISBN 80-7271-106-7

Hůla, J., Procházková, B., et al. *Minimalizace zpracování půdy*. Praha: Profi Press, s.r.o., 2008, 248 s. ISBN 978-80-86726-28-1

Hrubý, J., Vejražka, K., Badalíková, B., Janeček, M. Obsah N-látek a výnos zrna sladovnického ječmene v monokulturních systémech pěstování. *Kvasný průmysl,* 2009, 55 (6): 143-149 | DOI: 10.18832/kp2009014

Kos, M. Výzkum fytosanitárních opatření v monokultuře jarního ječmene. *Rostinná výroba*, 1977, 23 (4): 405-411.

Krejčíř, J. Koncepce a metodika dlouhodobého stacionárního polního pokusu v Žabčicích a problematika jeho hodnocení. In *Sborník Význam a perspektivy dlouhodobých polních pokusů v České republice*, 1996, s. 43.

Procházková, B., Málek, J., Dovrtěl, J. Effect of different straw management practices on yields of continuous spring barley. *Rostlinná výroba*, 2002, 48 (1): 27-32.

Smutný, V., Neudert, L., Dryšlová, T. Jarní ječmen v suchých oblastech. *Úroda*, 2011, LIX (2): 68-69.

Smutný, V. et al. *Význam technologií zpracování půdy a dalších agrotechnických opatření při pěstování obilnin.* Certifikovaná metodika. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015, 60 s. ISBN 978-80-7509-369-1

Vymětal, M. Možnosti pěstování jarního ječmene v dlouhodobé monokultuře. *Acta Univ. Agric. Fac. Agron.*, 1982, 30 (3): 111-115.

Kontaktní adresa:

Tamara Dryšlová
Ústav agrosystémů a bioklimatologie
Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta
Zemědělská 1
613 00 Brno
e-mail: dryslova@mendelu.cz

Úroda 12/2019, vědecká příloha časopisu

VLIV ZÁVLAHY A SUCHA NA VÝNOS A EFEKTIVNOST VYUŽITÍ VODY ODRŮD PŠENICE

Effect of drought and irrigation on yield and water use efficiency of wheat cultivars

Haberle J., Svoboda P., Kurešová G., Henzlová B.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, Praha

Abstrakt

Ve dvouletém polním pokusu byl sledován vliv závlahy a sucha na výnos odrůd ozimé pšenice a pšenice špaldy. Sucho bylo indukováno od metání zakrýváním mobilním krytem, optimální dostupnost vody byla zajištěna kapkovou závlahou, kontrola závisela pouze na srážkách. V porovnání s kontrolou sucho snížilo výnos odrůd Ponticus a Rebell o 3,4 až 4,1 t/ha a závlaha zvýšila výnos u pěti (2018) nebo tří (2019) odrůd o 0,5 až 2,1 t/ha, u špaldy pouze o 0,1 a 0,2 t/ha. Efektivnost využití vody (na základě bilance od fáze jarní regenerace) byla v průměru 3,2 g, 1,8 g a 2,1 g zrna/l vody (2018) a 2,0 g, 1,5 g a 1,6 g zrna/l vody (2019) u kontrolní varianty, závlahy a sucha; u špaldy o 50 a více procent nižší.

Klíčová slova: závlaha; stres suchem; výnos pšenice, využití vody

Abstract

The impact of water shortage and irrigation on yield of five winter wheat and one spelt wheat cultivars was studied in two-year field experiment. The drought was induced with mobile rain shelter, optimal water supply was ensured with drip irrigation, control treatment depended only on precipitation. Compared to control treatment, drought reduced grain yield of cultivars Ponticus a Rebell by 3,4 to 4,1 t/ha and irrigation increased yield by 0,5 to 2,1 t/ha, only at spelt by 0,1 and 0,2 t/ha. The water efficiency (WUE) was on average 3,2 g, 1,8 g and 2,1 g grain/l water (2018) and 2,0 g, 1,5 g and 1,6 g grain/l water (2019) for the control, irrigation and stress treatments, respectively. The WUE of spelt was by 50 and more percent lower.

Keywords: irrigation; water shortage; wheat yield; water use

Úvod

Na problematiku půdního sucha, tolerance a adaptace plodin a systémů pěstování k měnícímu se klimatu se oprávněně zaměřuje v posledních letech pozornost nejen zemědělského výzkumu. Sucho je vnímáno především jako problém nízkých srážek a zadržení vody v půdě a krajině. Z hlediska produkce s omezenými zdroji je podstatná efektivnost využití vody (WUE). WUE (polní, integrovaná), množství biomasy nebo hospodářského výnosu, které porost vytvoří na jednotku spotřebované vody (transpirací a evaporací), je důležitým znakem plodin a odrůd v podmínkách nedostatku vody (např.: Huang et al. 2019). Hodnoty WUE se pohybují v širokém rozmezí a jsou výsledkem vlastnosti odrůdy, agrotechniky a podmínek prostředí; cílem pěstitele je vysoká produkce s nízkou spotřebou vody. Pro výpočet WUE je nutné stanovit skutečnou spotřebu vody - evapotranspiraci porostu (např. Zábranský et al. 2015).

Cílem pokusu bylo určit v polních podmínkách vliv sucha a závlahy v období tvorby zrna na výnos a efektivnost využití vody odrůd ozimé pšenice.

Materiál a Metody

Maloparcelkový polní pokus v letech 2018 a 2019 v Praze Ruzyni (černozem luvická, 340 m n. m., průměrný roční úhrn srážek a teplota 477 mm a 8,5°C).

Varianty: nedostatek vody (S), optimální obsah vody v půdě (V) a kontrola (R), závislá pouze na srážkách. Nedostatek vody (S) byl indukován u 3 (2018) nebo 2 (2019) odrůd pomocí mobilního krytu v porostu, optimální zásoba vody (V) byla zajištěna u 6 (2018) a 4 (2019) odrůd kapkovou závlahou (Svoboda et al. 2016). Pšenice byly pěstovány na stejné úrovni hnojení dusíkem, 160 kg N/ha. Odrůdy pšenice a jejich charakteristika jsou uvedeny v tab. 1.

Objem vody byl počítán z vlhkosti půdy (gravimetricky) do hloubky 90 cm a 130 cm a objemové hmotnosti vrstev půdy. Spotřeba a efektivnost využití vody (WUE) byla vypočtena z výnosu zrna (u špaldy vč. pluch) a bilance vody, rozdílu obsahu vody v půdě na počátku jara a ve zralosti, množství vody ze srážek a závlahy. Na pokusném pozemku nedošlo v průběhu růstu k povrchovému odtoku a průsaku (ztrátě) vody pod kořenovou zónu. Vzhledem k malým rozdílům ve vlhkosti půdy mezi odrůdami a vysoké variabilitě vlhkosti v hlubších vrstvách podorničí (v důsledku obsahu skeletu a nízké hustoty kořenů) byly pro výpočet použity průměrné hodnoty obsahu vody v půdním profilu u dané varianty. Srážky byly měřeny ve stanici vzdálené 50-100 m od pokusu (www.vurv.cz/meteostanice), a rovněž byly vypočteny denní hodnoty referenční evapotranspirace.

Výsledky a diskuse

Vliv sucha a závlahy na výnos zrna:

Sucho snížilo, v porovnání s kontrolou, výnos zrna odrůd Ponticus a Rebell v roce 2018 o 3,7 a 4,1 t/ha a v roce 2019 o 3,4 a 3,8 t/ha; naopak u špaldy byl v roce 2018 výnos při suchu vyšší o 0,5 t/ha. Závlaha zvýšila výnos pěti (2018) a tří (2019) odrůd pšenice oproti kontrole o 0,5 až 2,0 t/ha a 1,1 až 2,1 t/ha, výnos špaldy pouze o 0,1 a 0,2 t/ha (obr. 1).

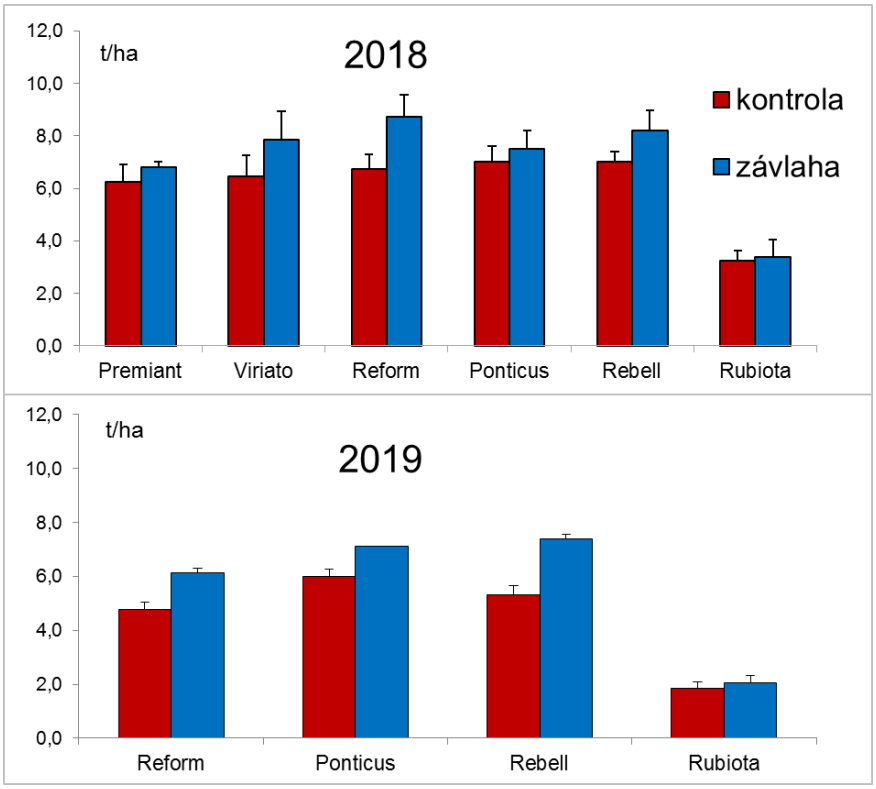
Výnosový rozdíl mezi stresovanými a zavlažovanými pšenicemi dosáhl v roce 2018 v průměru 3,9 t/ha a v roce 2019 3,6 t/ha. Nejvyšší výnos dosáhly v obou letech odrůdy Ponticus a Rebell, nejnižší výnos, podle očekávání, odrůda Rubiota (pšenice špalda), (obr. 1).

Vliv stresu a závlahy byl o něco vyšší než v pokusu se šesti liniemi pšenic v předchozích dvou suchých letech 2016 a 2017, kdy došlo v průměru ke snížení výnosu u stresované varianty o 2,9 t/ha a zvýšení v případě závlahy o 1,7 t/ha, ve srovnání s kontrolou (nepublikováno). V sérii podobných pokusů na stejném pozemku v Ruzyni v letech 2004-2013 byl v průměru čtyř odrůd pšenice efekt závlahy menší (zvýšení výnosu o 0,61 t/ha), protože v tomto období se vyskytly srážkově bohatší ročníky (2006, 2010, 2011), kdy měla závlaha malý nebo i slabě negativní vliv na výnos (Haberle et al. 2015).

Tab. 1. Charakteristiky odrůd pšenice v polním pokusu (Ruzyně 2018 a 2019).

Označení	Odrůda	Třída	Ranost	Výška	Varianty 2018	Varianty 2019
1	Premiant	E	raná	vysoká	R, V	R
2	Viriato	A	raná	malá	R, V	R
3	Reform	A	polopozdní až pozdní	střední až nižší	R, V	R, V
4	Ponticus	E	středně raná až pp	střední	R, V, S	R, V, S
5	Rebell	A	polopozdní	krátké stéblo	R, V, S	R, V, S
6	Rubiota	špalda	pozdní	velmi vysoká	R, V, S	R, V

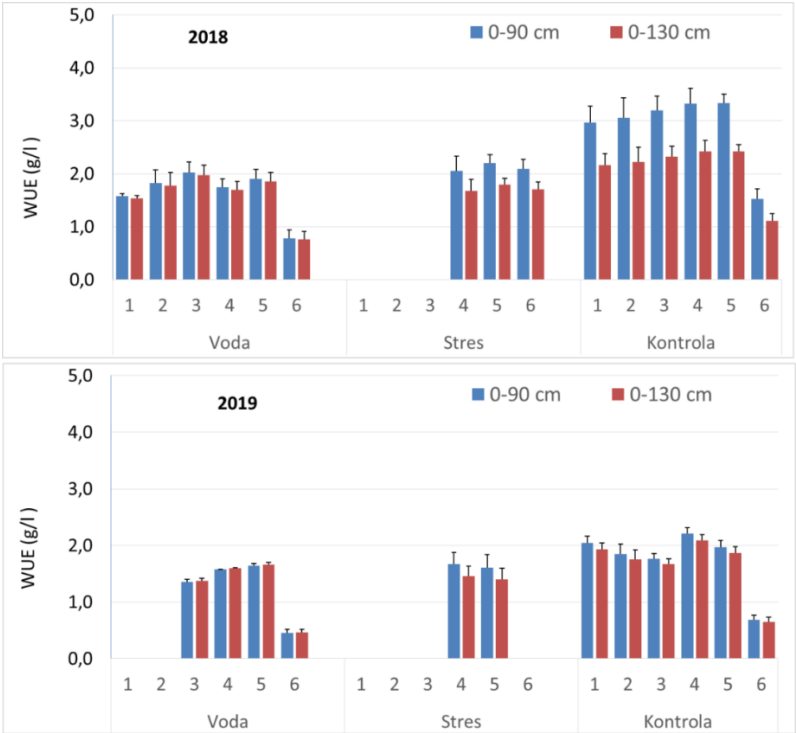
Varianty: R-kontrola, V-závlaha (voda), S-stres



Obr. 1: Vliv diferencované dodávky vody v období tvorby zrna na výnosy pšenice v roce 2018 a 2019.

Vliv diferencované dodávky vody na efektivnost využití vody:
Efektivnost využití vody (WUE) byla v případě kalkulace obsahu vody do 90 cm v průměru odrůd (bez špaldy) 3,2 g, 1,8 g a 2,1 g zrna/l (2018) a 2,0 g, 1,5 g a 1,6 g zrna/l vody (2019) u kontrolní varianty, závlahy a stresu. Protože pro výpočet byly u jednotlivých variant použity průměrné hodnoty obsahu vody na jaře a ve sklizni, odpovídaly rozdíly hodnot WUE rozdílům ve výnosu. Nejvyšší efektivnosti využití vody tak dosáhly odrůdy Ponticus a Rebell, nejnižší pšenice špalda (kromě suché varianty v roce 2018). Při kalkulaci průměrné změny obsahu vody až do hloubky 130 cm se hodnoty WUE na variantách S a R snížily, zvláště v roce 2018, kdy pšenice kvůli suchu čerpala vodu i z hloubky pod 1 m (obr. 2).

Efektivnost závlahy dosáhla v průměru (bez špaldy) 12,4 kg zrna/mm vody (2018) a 19,7 kg zrna/mm vody (2019), což odpovídá 1,24 g a 1,97 g zrna na 1 litr vody. Hodnoty WUE byly v obou letech nejvyšší na kontrole, WUE při suchu a závlaze bylo nižší. Tyto výsledky se lišily od série pokusů s odrůdami ozimé pšenice v letech 2013-2015, kdy efektivnost využití vody byla systematicky vyšší v případě nedostatku vody (Svoboda et al. 2016). Tento efekt se v tomto dvouletém pokusu, a podobně i v letech 2016 a 2017 (nepublikováno), plně neprojevil, pravděpodobně v důsledku nižšího obsahu vody již před počátkem tvorby zrna, silnějšího stresu a nižšího výnosu zrna. To ukazuje potřebu získat údaje o WUE i z dalších lokalit a ročníků.



Obr. 2: Vliv diferencované dodávky vody v období tvorby zrna na efektivnost využití vody (WUE) v roce 2018 a 2019.

Závěr

Publikované hodnoty WUE se podle očekávání pohybují v širokém rozmezí. Například Huang et al. (2019) zjistil pro dvanáct genotypů ozimé pšenice hodnoty WUE od 12,7 do 18,9 a od 15,1do 19,2 kg/mm vody u dvou rozdílně vodou zásobených variant, ale bilance vody byla měřena od setí do sklizně. V případě, že by do výpočtu WUE v prezentovaném pokusu v Ruzyni byla zahrnuta evapotranspirace již od setí, byly by hodnoty WUE nižší.

Dedikace

Příspěvek byl podpořen projektem MZe ČR č. RO0418.

Použitá literatura

Haberle, J., Svoboda, P., Raimanová, I. & Kurešová, G. 2015. Vliv závlahy a nedostatku vody na výnos pšenice. In: Rožnovský, J. a kol. (eds.). Závlahy a jejich perspektiva. Mikulov, 2015, 1-8 (CD).

Huang G, Zhang X, Wang Y, Feng F, Mei X, Zhong X. 2019. Comparisons of WUE in twelve genotypes of winter wheat and the relationship between δ13C and WUE. PeerJ 7:e6767 https://doi.org/10.7717/peerj. 6767.

Svoboda, P., Kurešová, G., Neumannová, A. & Haberle, J. 2016. Efektivnost využití vody ozimou pšenicí při diferencované dostupnosti vody. In: Hnilička, F. (ed.). Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2016. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha. pp. 187-190.

Zábranský P., 2016: Analýza vláhové potřeby polních plodin v oblasti s častým výskytem sucha. Doktorská práce. ČZU Praha. 116 s.

Kontaktní adresa:

Jan Haberle,
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, Drnovská 507, 161 06 Praha 6,
e-mail: haberle@vurv.cz

VLIV TECHNOLOGIE ZPRACOVÁNÍ PŮDY NA OBSAH A KVALITU HUMUSU

Effect of soil tillage on humus content and quality

Horáková E.[1], Klobásová G.[1], Pospíšilová L.[1], Dryšlová T.[2], Smutný V.[2]

[1,2]Mendelova univerzita v Brně
[1]Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin
[2]Ústav agrosystémů a bioklimatologie

Abstrakt
V průběhu let 2017 a 2018 byly hodnoceny základní půdní parametry u fluvizemě glejové při Norfolkském osevním postupu a pod monokulturou ječmene jarního. U obou systémů hospodaření se rovněž uplatňují dva různé způsoby zpracování půdy (minimalizace a klasická orba). Dlouhodobý stacionární polní pokus je veden od r. 1969 na pokusné stanici v Žabčicích Ústavem agrosystémů a bioklimatologie AF MENDELU. Základní půdní vlastnosti jako textura, půdní reakce, tlumící schopnost, obsah živin a obsah humusových látek byly stanoveny standardními analytickými metodami. Ke zpracování dat byl využit program Statistica CZ12, software (StatSoft software Inc., Tulsa, Oklamoha, USA). Výsledky ukázaly statisticky průkazné rozdíly mezi Norfolkem a monokulturou u obsahu organického uhlíku, obsahu humusu a humusových látek. Vliv zpracování půdy neměl průkazný vliv na obsah humusových látek u Norfolku. Statisticky průkazně vyšší obsah humusových látek byl zjištěn pod monokulturou ječmene jarního při minimalizačním zpracování půdy.
Klíčová slova: monokultura, Norfolk, humusové látky

Abstract
During 2017 and 2018 basic properties of Gleyic Fluvisol under Norfolk crop rotation system and monoculture of spring barley were evaluated. Both systems of management have been also studied from point of view of applying different soil tillage systems (minimum tillage and conventional tillage). Long-term field experiment with spring barley (*Hordeum vulgare* L.) was established in autumn of 1969 in Žabčice, on the field of Department af Agrosystems and Bioclimatology, Faculty of AgriSciences of MENDELU. Basic soil properties such as texture, soil reaction, buffering capacity, nutrients content, humus content, humic substances quality were determined using standard analytical methods. For statistical data set evaluation, the programme Statistica CZ12, software (StatSoft software Inc., Tulsa, Oklamoha, USA) was using. Obtained results showed statistically significant differences between Norfolk and monoculture of spring barley in the following parameters: organic carbon content, humus and humic substances content. No effect of tillage onto humic content was found in Norfolk crop rotation system. On the other hand, statistical significantly higher amount of humic substances was found in monoculture of spring barley under minimum tillage.
Keywords: monoculture, Norfolk, humic substances

Úvod

Důsledkem intenzivního hospodaření na půdě je aberace půdy. Je to odklon od původních vlastností půdy. Ke změnám půdních vlastností dochází buď přirozenými procesy, nebo jsou způsobeny člověkem, a to v pozitivním anebo negativním smyslu. Mezi přirozené aberační procesy patří eroze, záplavy, požáry apod. Mezi negativní antropogenní změny patří například utužení půd, které je důsledkem nesprávné technologie zpracování (Vilček a kol., 2005). Dále sem řadíme monokulturní způsob hospodaření a únavu půdy. Některé monokulturní postupy, známé především ze stacionárních pokusů, jako je tomu například v anglickém Rothamstedu,

trvají již déle než 150 let. Křen a kol. (2015) uvádějí, že nejméně vhodnou obilninou pro monokulturní pěstování je pšenice, tolerantnější je potom ječmen a žito. U ječmene jarního lze monokulturní pěstování kompenzovat minerálním hnojením. Jak je uvedeno dříve aberace půdy může být rovněž procesem přirozeným a může se jednat o procesy vratné anebo nevratné (Varrallya, 1994). Kromě monokulturního hospodaření a utužení půdy je dalším negativním jevem okyselování půd. Intenzita okyselování souvisí s resiliencí půdy a její pufrační schopností. Pod resiliencí rozumíme schopnost půdy vrátit se za určitý čas z narušeného stavu do dřívějšího stavu. Resilience je ovlivněna statistickými i dynamickými půdními vlastnostmi (např. textura, charakter jílových minerálů, struktura, organická hmota, dynamika edafonu, vegetace apod. (Šarapatka a kol., 2002). Půda je schopna do určité míry tlumit výkyvy pH a udržovat stabilní koncentraci vodíkových a hydroxidových iontů v půdním roztoku. Tato schopnost souvisí s obsahem výměnných bazí a kvalitou humusových látek (Šarapatka, 2014). Cílem této práce je vyhodnotit vliv různého osevního postupu (Norfolk, monokultura) a různého způsobu zpracování půdy (minimalizace a orba) na chemické půdní vlastnosti a na obsah a kvalitu humusu. Norfolk v našem případě zahrnuje tento sled plodin: vojtěška setá; pšenice ozimá; kukuřice na zrno; ječmen jarní. Monokultura ječmene jarního je oseta odrůdou Bojos.

Materiál a metody

Dlouhodobé pokusy na stacionáři v Žabčicích byly založeny v roce 1970 metodou dělených dílců, jejichž velikost je 5,3 m x 7 m. Pokus byl částečně upraven v roce 2002. Studuje se zde, kromě jiného, např. vliv různých dávek minerálního hnojení, vliv agrotechniky a různých způsobů zpracování půdy, vliv předplodin, vliv různého způsobu zapracování posklizňových zbytků, různé koncentrace a odrůdy ječmene jarního v osevním postupu, výnosy plodin a půdní vlastnosti. Monokultura ječmene jarního (odrůda Bojos) byla sledována při dvou způsobech zpracování půdy – orba (0-30 cm) a minimalizace (0-15 cm). Rovněž při Norfolkském osevním postupu byly sledovány dva způsoby zpracování půdy – orba a minimalizace. Odběry půdních vzorků byly prováděny vždy na jaře a na podzim daného roku ze svrchního humusového horizontu (0 – 30 cm a 0-10 cm). Byly použity tyto metody stanovení: půdní reakce (pH/H2O a pH/KCl) – potenciometricky; textura – pipetovací metoda; pufrační schopnosti půdy – titračně; obsah humusu – oxidimetrická titrace; kvalita humusu – krátká frakcionace. Podrobné postupy analýz uvádějí Zbíral a kol. (2010) a Pospíšilová a kol. (2016).

Výsledky a diskuze

Fluvizem glejová představuje půdu zrnitostně těžkou, jílovitohlinitou. Při různém způsobu zpracování půdy (orba x minimalizace) je aktivní půdní reakce (pH/H2O) slabě kyselá (6,30). Výměnná půdní reakce u orby byla v průměru 5,10 a značí to kyselou výměnnou půdní reakci. U minimalizace byla hodnota v průměru 5,3, tj. kyselá reakce. Výměnná reakce je příznivější u minimalizace. Pod monokulturou byly zjištěny nižší hodnoty u aktivní i výměnné půdní reakce. U Norfolkského osevního postupu jsou naměřené hodnoty vyšší, a to v rozmezí hodnocení kyselá až slabě kyselá. Novák a Pelíšek (1935), kteří porovnávali půdní reakci na uvedených pozemcích, stanovili aktivní půdní reakci pH/H2O = 7,2 – 8. Výměnná půdní reakce pH/KCl = 6,2 – 7. Lze tedy konstatovat, že vlivem hospodaření došlo k acidifikaci půdy. Pufrační schopnost byla u fluvizemě glejové na obou variantách velmi silná. Z tohoto vyplývá, že půda má dostatečně silnou pufrační schopnost a dovede mírnit a tlumit kyselost způsobenou hospodařením a aplikací minerálních hnojiv. Fluvizem glejová obsahuje od 1 % do 1,42 % organického uhlíku, v závislosti na hnojení a osevním postupu. Nižší obsah humusu je pod monokulturou a vyšší u Norfolku. Naměřené hodnoty dokumentujeme v Tab. 1 a 2. Statisticky průkazné rozdíly u obsahu uhlíku (C) mezi Norfolkem a monokulturou dokumentuje graf 1. Z grafu je patrné, že rozdílný způsob zpracování půdy neovlivnil celkový obsah organického

uhlíku u Norfolku. Výrazně a statisticky průkazně se projevil vliv způsobu zpracování pod monokulturou ječmene jarního a obsah uhlíku je statisticky vyšší při minimalizaci. Když porovnáme frakční složení humusových látek (HL), tak situace je podobná. Norfolk má vyšší obsah HL, HK a FK a jejich obsah není ovlivněn způsobem zpracování. Monokultura má nižší obsah HL a závisí na způsobu zpracování (vyšší hodnoty jsou při minimalizaci). Poměr HK/FK je vyšší než 1 na Norfolkském osevním postupu na monokultuře je menší než 1. Rozdíly jsou statisticky průkazné (graf 2). Kvalitu HL ovlivňuje více faktorů, např. množství posklizňových zbytků, hnojení, vápnění a jak ukazují naše výsledky i osevní postup a zpracování půdy. Lze konstatovat, že osevní postup Norfolk má příznivější vliv na kvalitu a množství humusových látek. Odůvodňujeme to tím, že je zde bohatší vstup rostlinné biomasy.

Závěr

Obsah humusu a humusových látek u půdy pod Norfolkem a monokulturou ječmene jarního ukazuje je statisticky průkazně odlišný. Vyšší hodnoty u daných parametrů jsou u Norfolku. Způsob zpracování půdy se výrazně projevil při monokulturním hospodaření, kde při minimalizačním zpracování je vyšší obsah humusu a HL než na orbě. Způsob zpracování u Norfolku se neprojevil statisticky průkazně u obsahu humusu a humusových látek. Nelze tedy jednoznačně říct, že zpracování výrazně ovlivňuje obsah humusu obecně. Závisí to více na osevním postupu. Rovněž kvalita humusových látek více souvisí s osevním postupem než se způsobem zpracování půdy.

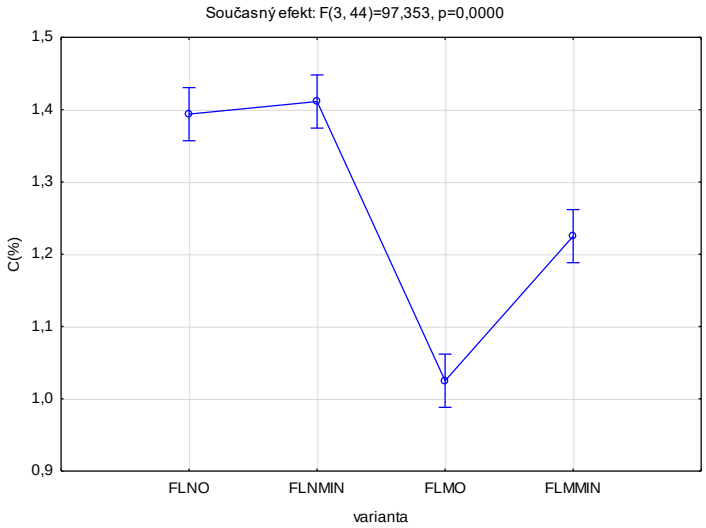
Tab. 1: Frakční složení humusu na variantě monokultura (kde: JJ – ječmen jarní; C – celkový obsah organického uhlíku; Σ HL – celkový obsah humusových látek; Σ HK – celkový obsah huminových kyselin; Σ FK – celkový obsah fulvokyselin; SH – stupeň humifikace)

Monokultura JJ 2017	**C (%)**	**Humus (%)**	**Σ HL (%)**	**Σ HK (%)**	**Σ FK (%)**	**HK/FK**	**SH (%)**
Orba	1,20	2,07	0,46	0,26	0,20	1,28	21,00
Minimalizace	1,30	2,24	0,51	0,27	0,24	1,13	21,00
Orba	1,20	2,07	0,45	0,23	0,22	1,04	19,00
Minimalizace	1,30	2,24	0,51	0,27	0,24	1,13	21,00
Orba	1,20	2,07	0,47	0,27	0,20	1,35	23,00
Minimalizace	1,30	2,24	0,51	0,27	0,24	1,13	21,00
Monokultura JJ 2018							
Orba	1,24	2,13	0,53	0,27	0,26	1,04	22,00
Minimalizace	1,39	2,39	0,40	0,20	0,20	1,00	14,00
Orba	1,01	1,75	0,57	0,3	0,27	1,11	30,00
Minimalizace	1,31	2,26	0,60	0,30	0,30	1,00	23,00
Orba	1,01	1,75	0,60	0,35	0,25	1,40	35,00
Minimalizace	1,39	2,39	0,60	0,30	0,30	1,00	22,00

Tab. 2. Frakční složení humusu na variantě Norfolkský osevní postup (kde: C – celkový obsah organického uhlíku; Σ HL – celkový obsah humusových látek; Σ HK – celkový obsah huminových kyselin; Σ FK – celkový obsah fulvokyselin; SH – stupeň humifikace)

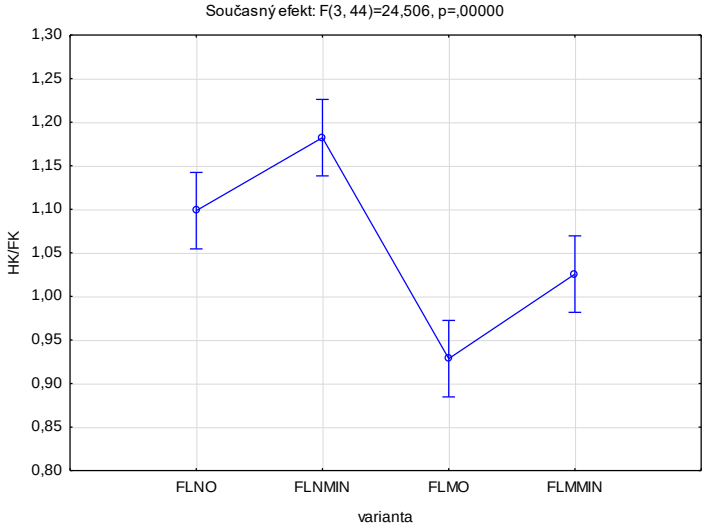
Norfolk 2017	C (%)	Humus (%)	Σ HL (%)	Σ HK (%)	Σ FK (%)	HK/FK	SH (%)
Orba	1,39	2,39	0,61	0,33	0,28	1,18	23,80
Minimalizace	1,44	2,48	0,64	0,35	0,29	1,21	24,30
Orba	1,46	2,52	0,60	0,32	0,28	1,13	21,54
Minimalizace	1,44	2,48	0,65	0,35	0,33	1,06	24,30
Orba	1,41	2,43	0,64	0,33	0,31	1,06	23,40
Minimalizace	1,37	2,37	0,65	0,35	0,30	1,17	25,50
Norfolk 2018							
Orba	1,49	2,57	0,63	0,33	0,30	1,10	22,10
Minimalizace	1,19	2,06	0,63	0,33	0,30	1,10	27,60
Orba	1,42	2,44	0,60	0,32	0,28	1,13	22,20
Minimalizace	1,38	2,38	0,63	0,34	0,29	1,17	24,60
Orba	1,27	2,19	0,63	0,32	0,31	1,03	25,20
Minimalizace	1,46	2,51	0,63	0,34	0,29	1,17	23,40

Graf 1: Statisticky průkazné rozdíly u obsahu organického uhlíku (C)



(kde: FLNO = Fluvizem Norfolk orba; FLNMIN = Fluvizem Norfolk minimalizace; FLMO = Fluvizem monokultura orba; FLMMIN = fluvizem monokultura minimalizace)

Graf 2: Statisticky průkazné rozdíly u poměru HK/FK



(kde: FLNO = Fluvizem Norfolk orba; FLNMIN = Fluvizem Norfolk minimalizace; FLMO = Fluvizem monokultura orba; FLMMIN = fluvizem monokultura minimalizace)

Poděkování

Práce vznikla s podporou projektu Ministerstva zemědělství České republiky ZEMĚ QK 1810233: Kvantifikace dopadu hospodaření na erozi, kvalitu půd a výnosy pěstovaných plodin s návrhem pěstebních technologií šetrných k životnímu prostředí.

Použitá literatura

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.

Novák V., Pelíšek J. (1935): Reakce půd na vysokoškolském statku Žabčickém a její variabilita. Sbor. ČAZ. Praha,

Pospíšilová L., Vlček V., Hybler V., Hábová M., Jandák J. (2016): Standardní analytické metody a kritéria hodnocení fyzikálních, agrochemických, biologických a hygienických parametrů půd. Mendelova univerzita v Brně. Folia Univ. Agric. et Silvic. Mendel. Brun. ISSN 1803-2109; IX, 2016,3.

Šarapatka B., Dlapa P., Bedrna Z. (2002): Kvalita a degradace půdy. Olomouc: Univerzita Palackého, 246 s. ISBN 8024405849.

Šarapatka B. (2014): Pedologie a ochrana půdy. Olomouc: Univerzita Palackého, 232 s. ISBN 9788024437361.

Varrallya G. (1994): Climate change, soil salinity and alkalinity. In: Soil Responses to Climate change [Rounsevell, M.D.A. and P.J. Loveland (eds.)]. NATO ASI Series I, Global Environmental Change, vol.23, Springer-Verlag, Heidelberg, Germany, pp. 39-54.

Vilček J., Hronec O., Bedrna Z. (2005): Environmentálna pedológia. Nitra: Slovenská polnohospodárska univerzita v Nitre, 298 s. ISBN 8080695016.

Zbíral J., Honsa I., Malý S., Váňa M. (2010): Analýza půd. Vyd. 3. Brno.Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. ISBN 978-80-7401-031-6.

Kontaktní adresa:

Lubica Pospíšilová,
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Zemědělská 1,
613 00 Brno
e-mail: pospisi1@mendelu.cz

STUDIUM VLIVU VELIKOSTI VÝSEVKU NA PRODUKCI ZELENÉ HMOTY SVAZENKY SHLOUČENÉ

Study of the influence of sowing rate on harvested forage yield of *Phacelia congesta* Hook

Hutyrová H.[1], Pelikán J.[2], Kubíková Z.[1], Kintl A.[1], Kadaňková P.[1]

[1] *Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko*
[2] *Výzkumný ústav pícninářský spol. s r. o., Troubsko*

Abstrakt
V letech 2018 a 2019 byl založen v polních podmínkách maloparcelkový pokus se svazenkou shloučenou. Pokus byl založen ve třech opakováních, zvoleny byly tři varianty výsevku 7 g, 14 g a 21 g na 10 m^2. Kontrolní plodinou byla svazenka vratičolistá, s výsevkem 14 g na 10 m^2. Na začátku kvetení byla zelená hmota sklizena a zvážena. V roce 2018 svazenka vratičolistá, statisticky průkazně překonala svazenku shloučenou, ve výnosech zelené hmoty. Mezi variantami svazenky shloučené, statisticky průkazný rozdíl ve výnosech zelené hmoty zjištěn nebyl. V roce 2019 také svazenka vratičolistá, statisticky průkazně překonala svazenku shloučenou, ve výnosech zelené hmoty. Mezi variantami svazenky shloučené, byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl ve výnosech zelené hmoty, největší výnos zelené hmoty byl u varianty s výsevkem 21g/10m^2.
Klíčová slova: svazenka vratičolistá, výnosy píce, hustota setí

Abstract
In 2018 and 2019, a small-plot experiment with *Phacelia congesta*, was established under field conditions. The experiment was set up in three replicates, three seed rates of 7 g, 14 g and 21 g per 10 m^2 were selected. The control crop was *Phacelia tanacetifolia*, with a seed rate of 14 g per 10 m^2. At the beginning of flowering, the green matter was harvested and weighed. In 2018, *Phacelia tanacetifolia* statistically significantly exceeded *Phacelia congesta* in yields of green matter. There was no statistically significant difference in the yields of green matter between the variants of *Phacelia congesta*. In 2019, also *Phacelia tanacetifolia* statistically significantly exceeded *Phacelia congesta* in yields of green matter. Among the variants of the *Phacelia congesta* showed a statistically significant difference in yields of green matter. The highest yield of green matter was in the variant with seed rate 21g / 10m^2.
Key words: *Phacelia tanacetifolia*, yield, seeding density

Úvod

Zemědělsky obdělávaná půda je nedílnou součástí české krajiny. Podle statistické ročenky ČÚZK 2018 tvoří rozloha zemědělské půdy 53 % a rozloha orné půda 37,5 %. Počet druhů rostlin používaných v regionu nebo na jednotlivých farmách je významným indikátorem diverzity zemědělství (Boháč *et al*. 2006) a zásadně ovlivňuje také celkovou diverzitu kulturní krajiny. Význam biologické rozmanitosti v zemědělství podtrhuje skutečnost, že zemědělské plochy nejen pokrývají rozsáhlá území, ale také jsou klíčovými pro přežití lidské populace. V současné době je u nás diverzita zemědělství poměrně nízká a na orné půdě převládají celkově čtyři nejpěstovanější druhy, tj. pšenice, ječmen, kukuřice a řepka. Jednou z možností jak zvýšit druhovou pestrost pěstovaných plodin jsou meziplodiny, mezi které řadíme také svazenky.

Svazenky náleží do čeledi stružkovcovitých (*Hydrophyllaceae*) a u nás jsou na našem území komerčně využívány pouze dva druhy: svazenka shloučená (*Phacelia congesta* Hook.) a svazenka vratičolistá (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Svazenka vratičolistá se pěstuje v Evropě

od konce 19. století (Smither-Kopperl, 2018) převážně jako meziplodina a nektarodárná rostlina. Svazenka shloučená se pěstuje teprve krátce. Je podobná svazence vratičolisté (Hutyrová-Marková *et al.* 2009; Hutyrová *et al.*, 2018a), ale je přizpůsobivější extrémním podmínkám, a proto je vhodná na písčité a neúrodné půdy. Je možné ji využít také jako zdroj potravy pro opylovače, kdy je dokonce ještě vhodnější, než svazenka vratičolistá (Vymyslický 2014). V této práci byly srovnávány výnosy zelené hmoty u svazenky shloučené a svazenky vratičolisté a u svazenky shloučené byl hodnocen také vliv výsevku na výnos zelené hmoty.

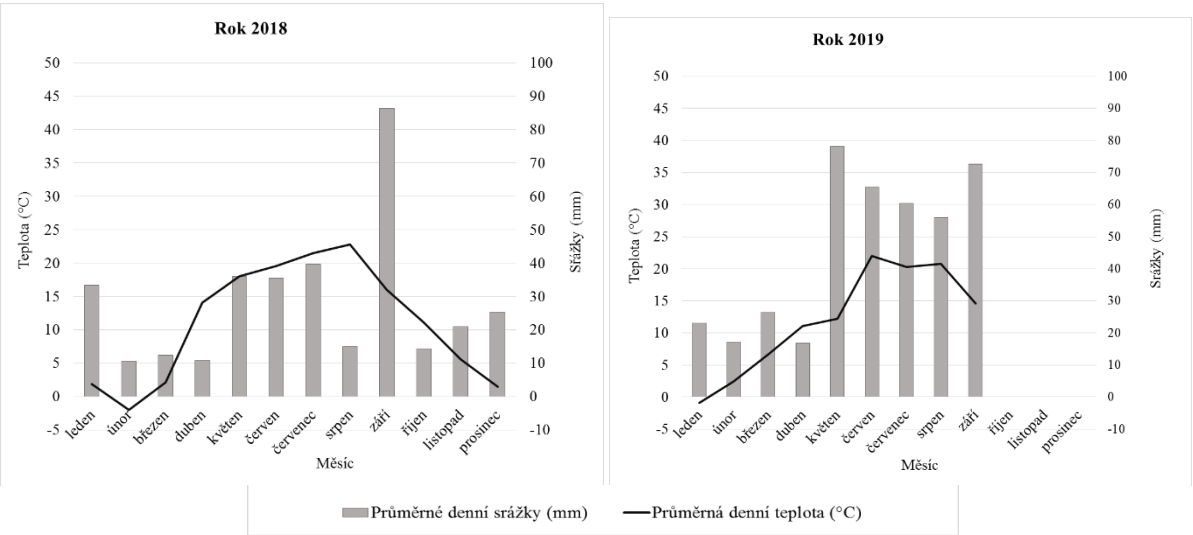
Materiál a Metody

V roce 2018 se počasí vyznačovalo poměrně vysokými teplotami a nízkými srážkami v průběhu jara a léta. Celkové úhrny srážek v jarních a letních měsících nepřesahovaly 40 mm. Navíc toto množství srážek přicházelo v podobě několika přeháněk s nízkými srážkovými úhrny, které se ve vysokých teplotách velmi rychle vypařily. Rok 2019 byl srážkově i teplotně příznivější. Březen a duben byly srážkově podprůměrné, ale v květnu pak srážky dosáhly téměř 80 mm. Teploty byly v jarních měsících poměrně nízké. Vysokými teplotami se vyznačovaly až letní měsíce, srážkově však byly poměrně příznivé. Průběh počasí v jednotlivých letech je znázorněn v grafu 1.

V druhé polovině měsíce dubna byly v obou letech metodou znáhodněných bloků založeny pokusy se svazenkou shloučenou, odrůdou Fiona a svazenkou vratičolistou, odrůda Meva. Velikost parcely činila 10 m^2. Pokusy byly založeny ve třech opakováních se třemi různými velikostmi výsevků - 7, 14 a 21 $kg.ha^{-1}$. U svazenky vratičolisté byl použit pouze střední výsevek 14 $kg.ha^{-1}$. Ve vegetační fázi BBCH 59 (na konci butonizace), kdy začínaly nakvétat první květy, proběhla sklizeň zelené hmoty maloparcelovým sklízecím strojem Hege. Přímo při sklizni byla zelená hmota zvážena.

Výnosy hmoty v jednotlivých letech sklizně byly statisticky vyhodnoceny metodou analýzy variance ANOVA a následným testováním statistické významnosti rozdílů středních hodnot pomocí Tukeyova HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$. Porovnání výnosů jednotlivých variant mezi sklizňovými roky bylo provedeno pomocí bodového a intervalového odhadu střední hodnoty na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$ a graficky znázorněno.

Graf 1: Klimadiagramy z let 2018 a 2019



Výsledky a diskuze

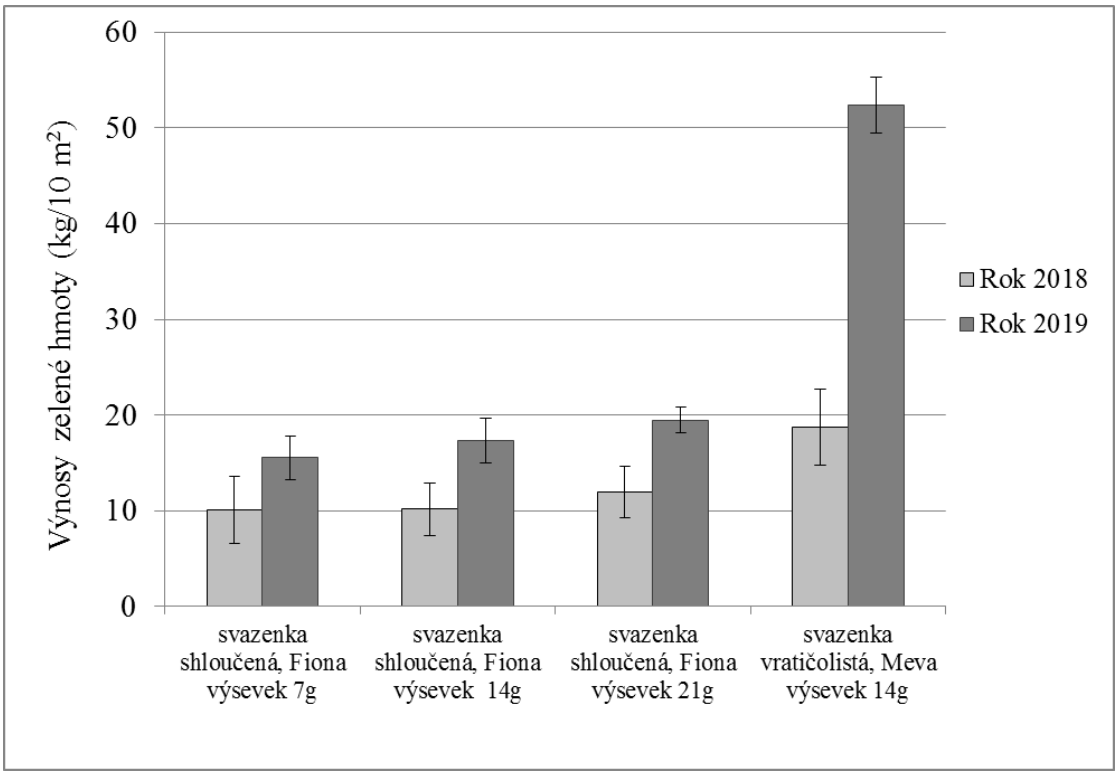
V roce 2018, který byl velmi suchý, dosahovaly oba druhy svazenky poměrně nízkých výnosů. Výnos svazenky vratičolisté byl 19 t/ha a výnos svazenky shloučené se pohyboval v rozmezí

10 až 12 t/ha. Ve výnosech zelené hmoty mezi svazenkou shloučenou a vratičolistou byl statisticky průkazný rozdíl. Vliv výsevku u svazenky shloučené se v roce 2018 neprojevil a mezi jednotlivými výsevky u svazenky shloučené nebyly statisticky průkazné rozdíly.ve výnosech zelené hmoty. V roce 2019 se projevil příznivý vliv počasí a vyšších srážek a u obou druhů byly výnosy ve srovnání s rokem 2018 vyšší. U svazenky vratičolisté byl rozdíl mezi výnosy v obou letech velmi výrazný. Na nedostatek srážek reagovala velmi citlivě. U svazenky shloučené pak nebyly mezi rokem 2018 a 2019 tak výrazné rozdíly. V roce 2019 se projevily i rozdíly mezi jednotlivými výsevky u svazenky shloučené, s výsevkem se výnos zelené hmoty zvyšoval. Rozdíly byly statisticky průkazné (Tab. 1). V grafu 2 je provedeno srovnání výnosů jednotlivých zkoušených variant ve sklizňových letech. Z grafu je patrné, že pouze u výsevku 7g u svazenky shloučené nebyl zaznamenán statisticky průkazný rozdíl mezi sklizňovými roky. U zbývajících variant výsledky roku 2019 statisticky průkazně překonaly výsledky roku 2018. Výnosy zelené hmoty u letních výsevů svazenky vratičolisté sledoval ve státních odrůdových zkouškách Zehnálek (2007, 2009, 2011, 2012, 2013, 2015, 2016, 2017). Průměrný výnos se pohyboval v rozmezí do 25 do 35 t čerstvé hmoty na ha. V našich pokusech byly v roce 2018 výnosy u svazenky vratičolisté nižší, což bylo pravděpodobně způsobeno nepříznivým průběhem počasí. Naopak v roce 2019 byly výnosy výrazně vyšší. Vyšší výnosy pravděpodobně souvisely s pozdější sklizní zelené hmoty, než je tomu u letních výsevů. Navíc průběh počasí byl pro růst svazenky velmi příznivý. Výnosy zelené hmoty svazenky vratičolisté v tomto roce odpovídaly spíše výsledkům Atese *et al.* (2010), kteří sledovali výnosy u svazenky vratičolisté v letech 2006 – 2007 a výnosy zde dosahovaly v průměru 60 $t.ha^{-1}$. Hutyrová *et al.* (2018b) se zabývali také rozdíly v kvalitě píce u obou druhů svazenek. Svazenka shloučená sice dávala menší výnosy, ale měla vyšší obsah dusíkatých látek a nižší obsah vlákniny. Výnosy zelené hmoty u svazenek se ve skleníkových podmínkách zabývali také Kubíková *et al*. (2018). Také v této práci byl zjištěn rozdíl mezi výnosem svazenky shloučené a svazenky vratičolisté. Nižší výnosy souvisejí s odlišným vývojem u svazenky shloučené. Přesto, že se jedná o poměrně vzrůstnou plodinu, její počáteční vývoj je poměrně pomalý, což ji znevýhodňuje zejména v příznivějších letech, kdy je vyšší výskyt plevelů (Kubíková *et al*. 2016). Rozdílný vývoj a dosažení jednotlivých fázi v polních podmínkách studovali Kubíková *et al.* (2017). Ukázalo se, že svazenka shloučená má sice pomalejší vývoj, ale protože nakvétá postupně má oproti svazence vratičolisté prodlouženou fázi butonizace a kvetení a pomaleji stárne. Dlouhé období kvetení z ní dělá velmi vhodnou medonosnou plodinu, která zajišťuje potravu pro opylovače v době, kdy v přírodě se již nedostává kvetoucích rostlin.

Tab. 1: Satistické vyhodnocení

Rok sklizně	**2018**		**2019**	
Druh, odrůda – výsevek na 10 m^2	**$t.ha^{-1}$**	**% K**	**$t.ha^{-1}$**	**% K**
svazenka shloučená, odrůda Fiona - 7 g	$10{,}08^b$	53,67	$15{,}53^d$	29,66
svazenka shloučená, odrůda Fiona - 14 g	$10{,}18^b$	54,22	$17{,}28^c$	33,00
svazenka shloučená, odrůda Fiona - 21 g	$11{,}92^b$	63,49	$19{,}48^b$	37,20
svazenka vratičolistá, odrůda Meva - 14 g	$18{,}78^a$	100,00	$52{,}37^a$	100,00
D_T (0,05)		2,99		1,72
D_T (0,01)		5,00		2,87

Graf 2: Výnosy zelené hmoty v letech 2018 a 2019



Závěr

U svazenky shloučené byly výnosy nižší než u svazenky vratičolisté. Mezi výnosy u obou druhů byly statisticky průkazné rozdíly. U svazenky shloučené bylo také pozorováno zvyšování výnosů při zvýšeném výsevku. V roce 2018 se výnosy zvýšily jen mírně a rozdíl nebyl statisticky průkazný. V roce 2019 pak bylo zvýšení nápadnější a rozdíly byly *statisticky* průkazné. Zvýšení výnosů vlivem zvýšeného výsevku se projevilo v příznivých podmínkách, ale v nepříznivých podmínkách byly výnosy při různých výsevcích téměř srovnatelné.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení projektu "Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity", Jeteloviny a ostatní pícniny, VÚP Troubsko 51834/2017-MZE-17253/6.2.2. a DKRVO, číslo MZE-RO1719, financovaného Ministerstvem zemědělství.

Použitá literatura

Ates E., Coskuntuna L., Tekeli A. S., 2010. Plant growth stage effects on the yield, feeding value and some morphological characters of the fiddleneck (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Cuban Journal of Agricultural Science, Volume 44, Number 4, s. 425 – 429.

Boháč J., Moudrý J., Desetová L. (2006): Biodiversity and Agriculture. Život. Prostr., Vol. 41 (1): 24-29

Hutyrová H., Pelikán J., Kubíková Z. (2018a): Svazenky – modrofialové krásky na poli. Agromanuál 6, ročník. 13, 108 – 109, ISSN 1801 – 7673

Hutyrová H., Vícha D., Knotová D., Pelikán J. (2018b): Svazenka shloučená (*Phacelia congesta* Hook.). Pícninářské listy 2018 (XXIV): s. 45 – 44.

Hutyrová-Marková H., Pelikán J., Knotová D., Gottwaldová P. (2009): Porovnání vybraných znaků u druhů *Phacelia congesta* a *Phacelia tanacetifolia*. Vědecká příloha časopisu Úroda, 12: 37–40 s.

Kubíková Z., Smejkalová H., Hutyrová H., 2018. Rozdíly ve vývoji u tří druhů svazenek. Úroda 12, roč. LXVI, vědecká příloha, s. 223 - 226, ISSN 0139-6013

Kubíková Z., Hutyrová H., Vícha D. 2017: Nové poznatky o vývoji svazenky shloučené. Úroda 12, roč. LXV, vědecká příloha: 425-428

Kubíková Z., Komínková J., Šmahel P. 2016: Srovnání zaplevelení u dvou druhů svazenek. Úroda 12, roč. LXIV, vědecká příloha: 249-252

Smither-Kopperl, M. (2018). Plant Guide for Lacy Phacelia (*Phacelia tanacetifolia*). USDA-Natural Resources Conservation Service, Lockeford Plant Materials Center, Lockeford, CA 95237.

Vymyslický, T., 2014: Breeding of Minor Fodder Crops for Sustainable Agriculture. Ratar. Povrt. 51(1): 1-6.

Zehnálek P. (2007, 2009, 2011, 2012, 2013, 2015, 2016, 2017). Svazenka vratičolistá – meziplodina letní výsev. Výsledky zkoušek užitné hodnoty ze sklizně 2007, 2009, 2011, 2012, 2013, 2015, 2016, 2017. s. 10.

Kontaktní adresa:
Mgr. Helena Hutyrová
Zemědělský výzkum spol. s r. o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko
e-mail: hutyrova@vupt.cz

HODNOCENÍ VÝNOSŮ SEMENE JETELE PANONSKÉHO PŘI RŮZNÝCH ZPŮSOBECH ZAKLÁDÁNÍ POROSTŮ BEZ KRYCÍ PLODINY

Evaluation of seed yields in different ways of establishing of Pannonian clover in pure stands

Knotová D[1]., Pelikán J.[2]

[1]*Zemědělský výzkum, spol. s r.o.*
[2]*Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o.*

Abstrakt
V roce 2016 byl založen pokus s jetelem panonským na semeno bez krycí plodiny. Byly zkoušeny varianty se dvěma typy řádkových roztečí (25 a 12,5 cm) v kombinaci s dvěma typy výsevného množství a porovnávány byly varianty ošetřené vláčením s variantami neošetřenými. V letech 2017, 2018 a 2019 se ledovaly výnosy semene. Mezi zkoušenými variantami byly v letech 2017 a 2019 nalezeny statisticky průkazné rozdíly. Na základě dosažených výsledků lze doporučit výsev do řádků 25 cm s výsevkem 14 kg.ha^{-1} v termínu březen, duben. V užitkových letech je velmi vhodné porosty jetele panonského na jaře provláčet prutovými branami, aby došlo k provzdušnění kořenů a odstranění stařiny.
Klíčová slova: produkce osiva, *Trifolium pannonicum*, agrotechnika, čistosev

Abstract
In 2016, the experiment with Pannonian clover was established. The stands were established in two row distance (12.5 and 25 cm) in combination with two variants of sowing rate and two variants of agrotechnical interventions during vegetation (lugging and variant without agrotechnical interventions). In 2017, 2018 and 2019 seeds were harvested. In 2017 and 2019, statistically significant differences were found between the tested variants. Based on the achieved results, sowing up to the rows of 25 cm with the sowing rate of 14 kg.ha^{-1} in the period March, April can be recommended. In the utility years, it is very suitable to harrow the Pannonian clover stands by spike harrow in the spring because is necessary to aerate the roots and remove the old biomass.
Key words: seed production, *Trifolium pannonicum*, agrotechnology, pure stands

Úvod

Jetel panonský je perspektivní mrazuvzdornou plodinou do sušších podmínek. Je to druh, který roste na hlubších výživných vysychavých půdách se zásaditou reakcí. Na našem území se vyskytuje v oblasti Bílých Karpat. Je to bylina s řepovitým kořenem a vytváří krátké plazivé oddenky. Lodyhy má přímé a mohou být až 90 cm vysoké. Listy má trojčetné a lístky dlouze kopinaté a chlupaté stejně jako lodyhy (Pelikán et al. 2012). V přírodě může být zaměňován s jetelem bledožlutým od kterého se liší robustnějším habitem a květenstvím. Hlávky jetele panonského jsou větší a dlouze stopkaté, zatímco u jetele bledožlutého jsou hlávky jsou téměř přisedlé v paždí nejvrchnějších listů (Prančl 2012). Květy jetele panonského jsou žlutobílé, lusky obvejcovité se zobánkem a jednosemenné. Semena jsou nepravidelně srdcovitá, žlutá a lesklá. HTS se pohybuje okolo 2,8 gramů (Pelikán et al. 2016).
Jetel panonský může být využíván jako komponenta do účelových jetelotravních směsí na vytrvalé louky a pastviny. Je to velmi vytrvalý druh.

V roce 2009 byla u nás registrována odrůda Panon, která vznikla individuálním výběrem z plané flóry (Pelikán et al. 2014). Výnosy semene jetele panonského v režimu ekologického zemědělství byly sledovány v letech 2011, 2012 a 2013 (Pelikán, 2014).
Studiem devíti populací jetele panonského pocházejících z území Srbska se z hlediska kvality zabývali Petrovic et al. 2016. Při studiu kvality byl zjištěn vyšší obsah dusíkatých látek oproti druhům jetel alpský a jetel plazivý. Také Tomić et al., 2005 zjistil vyšší obsah dusíkatých látek oproti vojtěšce seté a jeteli lučnímu.
Vzhledem ke zvýšenému obsahu bioaktivních látek v jeteli panonském (flavonoidy, fenoly) je tento druh velmi odolný vůči chorobám a škůdcům. To je dobrým předpokladem k pěstování v ekologickém zemědělství, neboť při jeho pěstování není potřeba používání ochranných chemických prostředků (Petrovic et al. 2016).

Materiál a metody

V roce 2016 byl na lokalitě Troubsko vyset bezezbytkovým secím strojem Oyord polní pokus s jetelem panonským pěstovaným na semeno. Lokalita Troubsko patří do mírně suché řepařské oblasti s nadmořskou výškou 270 m n. m., průměrný roční úhrn srážek je 512 mm a průměrná roční teplota je 9,4°C. Půda v místě pokusů je klasifikována jako luvizem modální, zrnitostním složením hlinitá až jílovitohlinitá s půdní reakcí neutrální. Průměrná zásoba P střední, zásoba K dobrá, zásoba Mg vysoká, dlouhodobý obsah humusu 1,61 % - obsah nízký, půdy jsou tedy mírně humózní.
Pokus byl založen 21. 3. 2016 metodou znáhodněných bloků ve čtyřech opakováních, velikost parcel 10 m^2. Varianty se lišily velikostí výsevku jetele panonského odrůdy Panon (28 a 14 $kg.ha^{-1}$), šířkou řádků (12,5 a 25 cm) a způsobem ošetření porostu během vegetace (neošetřené a vláčené na jaře prutovými branami, výrobce APV, záběr 6 m). Termíny vláčení: 3.4. 2017, 5.4. 2018 a 20.3. 2019. Semeno bylo sklizeno sklízecí mlátičkou Sampo, porost byl v průběhu vegetace ošetřen insekticidem Mospilan, termíny ošetření: 22.5. 2017, 10.5. 2018 a 21.5. 2019. Před sklizní semene proběhla desikace přípravkem Reglone, termíny desikace: 24.7. 2017, 3.7. 2018, 2.7. 2019. Termíny sklizní: 1.8. 2017, 10.7. 2018, 10.7. 2019.
Výsledky byly zpracovány metodou analýzy rozptylu užitím statistického softwaru STATISTICA 12 (Statista, Inc.; US) a následným testováním statistické významnosti rozdílů středních hodnot pomocí Tukeyova testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky

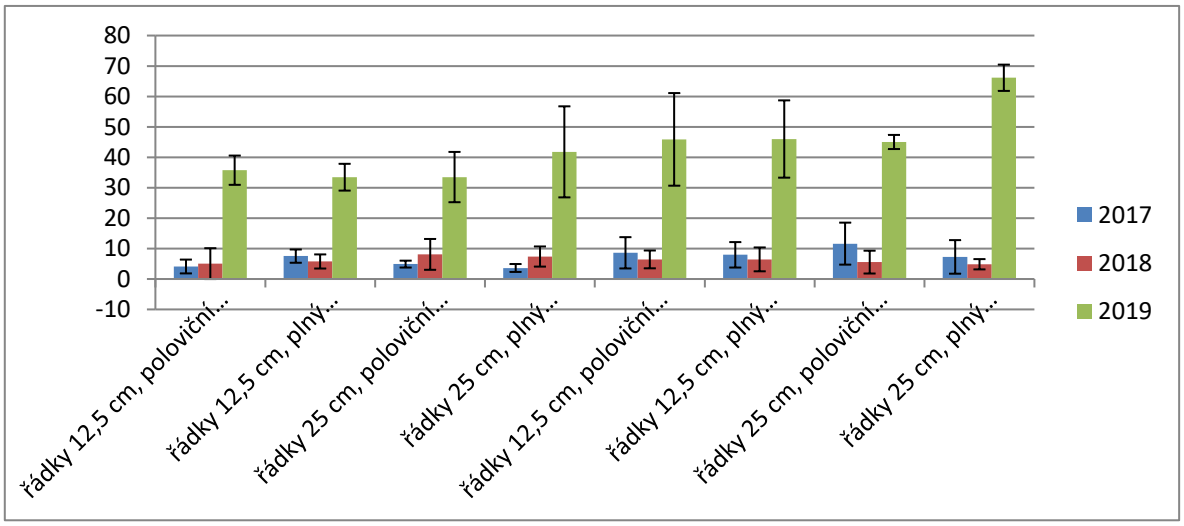
V roce 2017 se výnosy semene jetele panonského pohybovaly v rozmezí od 36,15 $kg.ha^{-1}$ do 116,20 $kg.ha^{-1}$ (tab. 1). Mezi zkoušenými variantami byly nalezeny statisticky průkazné rozdíly. Nejvyššího výnosu bylo v prvním užitkovém roce dosaženo u varianty vyseté do řádků 25 cm s polovičním výsevkem a ošetřované vláčením.
Ve druhém užitkovém roce statisticky průkazné rozdíly nebyly nalezeny mezi žádnou ze zkoušených variant. Výnosy se pohybovaly od 48,47 $kg.ha^{-1}$ do 80,9 $kg.ha^{-1}$. Zde je nutné se zmínit, že rok 2018 byl teplotně nadnormální a srážkově podnormální. Od měsíce února až do období měsíce srpna bez významného výskytu dešťových srážek. Tím došlo k ovlivnění celkového výnosu sklizeného semene u sledovaných pícnin z důvodu průběhu povětrnostních podmínek v celém vegetačním období. Ve třetím užitkovém roce 2019 byly oproti předchozím letům výnosy více než šestinásobné. Pohybovaly se v rozmezí 334,5 $kg.ha^{-1}$ – 661,25 $kg.ha^{-1}$. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u vláčené varianty vyseté do řádků širokých 25 cm s plným výsevkem. Tato varianta byla statisticky průkazně lepší než ostatní varianty. Z grafu 1 je patrné, jak je tento rok je statisticky průkazně lepší oproti letům 2017 a 2018.
HTS se v roce 2017 pohybovala od 3,30 do 3,57 g a nejvyšší byla u vláčené varianty při šířce řádků 25 cm a polovičním výsevku. Klíčivost se v tomto roce pohybovala od 60,75 do 74,75 % a nejvyšší byla dosažena u vláčené varianty při šířce řádků 12,5 cm a plném výsevku. V roce

2018 se HTS pohybovala od 2,57 do 2,77 g a nejvyšší byla u neošetřené varianty při šířce řádků 25 cm a polovičním výsevku. Klíčivost se v tomto roce pohybovala od 66,00 do 75,25 % a nejvyšší byla dosažena u vláčené varianty při šířce řádků 25 cm a plném výsevku.
Jeteloviny jsou známé svou tvrdosemenností, což způsobuje problémy při jejich pěstování. Je pravděpodobné, že po vysetí pokusu nevyklíčila a nevzešla značná část semen a vyklíčila až dalších letech. Na tvrdosemennost mají vliv i klimatické podmínky a rok založení (2016) a dále roky 2017 a 2018 byly roky srážkově podprůměrné. Teprve rok 2019 byl srážkově příznivý. Vývoj počasí je znázorněn na klimadiagramech obr. 1–3. Obdobné pokusy s jetelem panonským běžely na stanovišti Troubsko v letech 2011–2013. Výnosy jetele panonského byly realizovány v režimu ekologického zemědělství. Výnosy semene se pohybovaly v rozmezí 18 – 30,7 kg.ha^{-1} v prvním užitkovém roce, 16 – 31,7 kg.ha^{-1} v druhém užitkovém roce a 127,3 – 228 kg.ha^{-1} v třetím užitkovém roce (Pelikán, 2014). Další výsledky z obdobných pokusů s jetelem panonským nejsou v tuzemsku ani zahraničí známy. Na velikost výnosů semene tak mělo pravděpodobně velký vliv ošetření proti škůdcům a desikace porostů před sklizní.

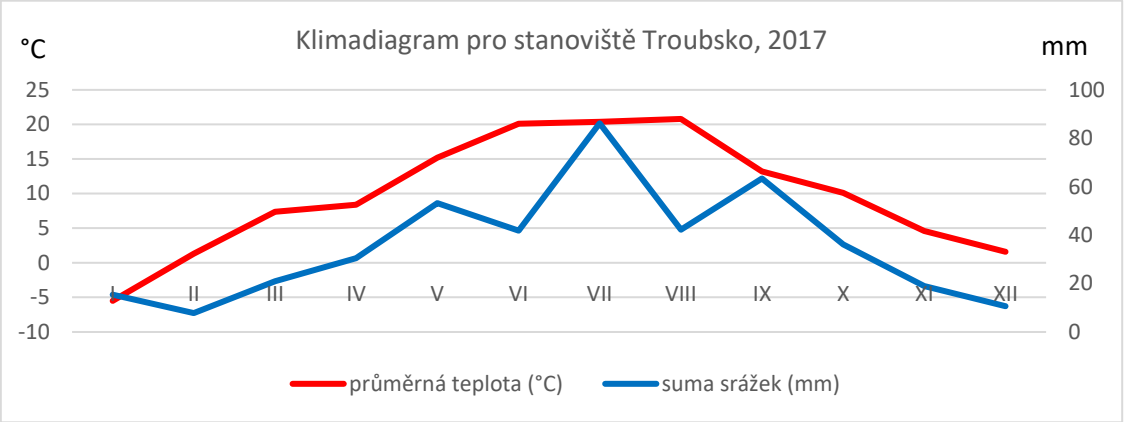
Tab. 1: Výnosy semene a jetele panonského založeného v čistosevu v užitkových letech 2017, 2018 a 2019 ***(Tukeyův HSD test; α=0,05)***

			2017		2018		2019	
ošetření	řádky	výsevek	kg.ha^{-1}	poř.	kg.ha^{-1}	poř.	kg.ha^{-1}	poř.
bez ošetření	12,5 cm	pol.	41,15^{cd}	7	50,47^{a}	7	357,50^{cd}	6
bez ošetření	12,5 cm	plný	73,25^{bcd}	4	57,58^{a}	5	334,50^{d}	8
bez ošetření	25 cm	pol.	48,95^{bcd}	6	80,90^{a}	1	335,00^{d}	7
bez ošetření	25 cm	plný	36,15^{d}	8	73,85^{a}	2	417,75^{bcd}	5
vláčení	12,5 cm	pol.	86,07^{ab}	2	64,38^{a}	4	458,75^{b}	3
vláčení	12,5 cm	plný	79,48^{abc}	3	64,55^{a}	3	460,00^{b}	2
vláčení	25 cm	pol.	116,20^{a}	1	55,50^{a}	6	450,25^{bc}	4
vláčení	25 cm	plný	72,63^{bcd}	5	48,47^{a}	8	661,25^{a}	1
D_T (0,05)			38,92		37,27		93,69	
D_T (0,01)			57,05		54,63		137,32	

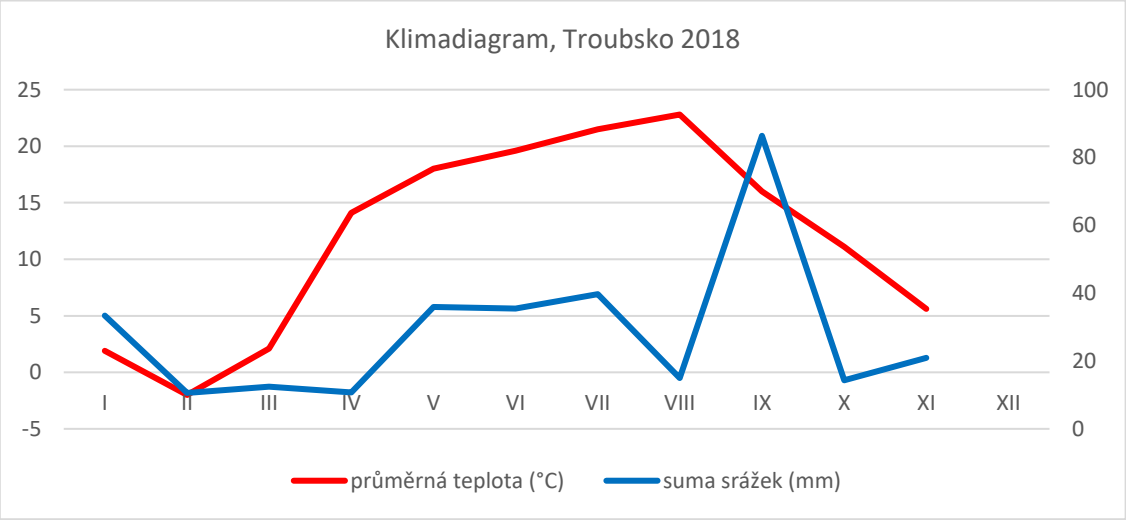
Graf 1: Porovnání výnosů mezi hodnocenými roky 2017, 2018 a 2019 pomocí chybových úseček



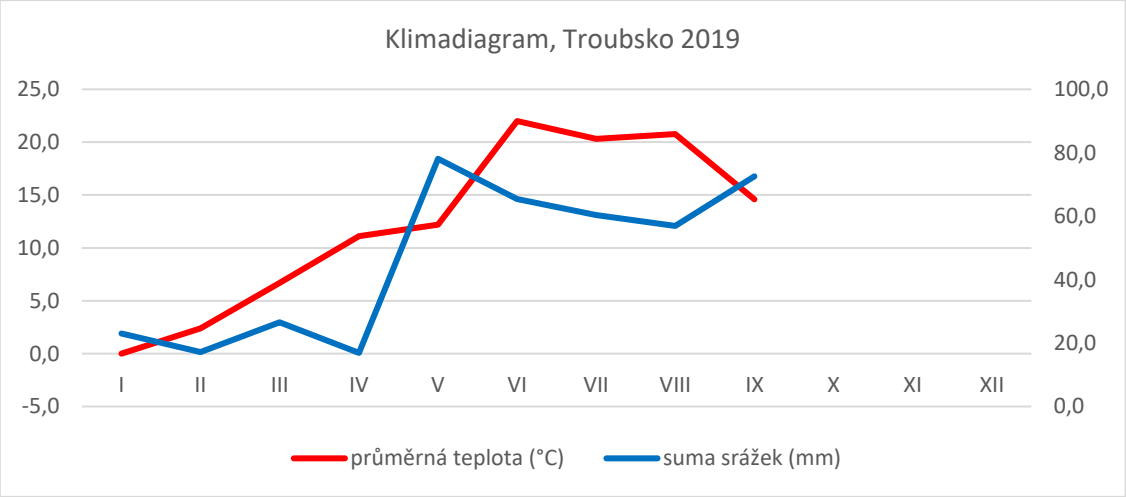
Obr. 1: Klimadiagram, 2017



Obr. 2: Klimadiagram, 2018



Obr. 3: Klimadiagram, 2019



Závěr

Jetel panonský je perspektivní plodinou používanou především do lučních a pastevních směsí, do směsí pro opylovače a do pestře kvetoucích směsí určených pro zkrášlení výsušných stanovišť. Pro jeho širší využívání je nutné zabezpečit dostatečné množství osiva. V současné době je u nás k dispozici jediná domácí odrůda Panon.

Pro jeho pěstování na semeno v čistosevu lze doporučit výsev do řádků 25 cm s výsevkem 14 $kg.ha^{-1}$ v termínu březen, duben. V užitkových letech je velmi vhodné porosty jetele panonského na jaře provláčet prutovými branami, aby došlo k provzdušnění kořenů a odstranění stařiny.

Literatura

Pelikán J., Hýbl M. et al. (2012): Rostliny čeledi Fabaceae LINDL. (bobovité) České republiky. 1. vyd., Vydavatelství Ing. Petr Baštan, Olomouc, 230 s.

Pelikán J., Knotová D. (2014): Metodika pěstování vybraných druhů čeledi Fabaceae na semeno v podmínkách ekologického zemědělství. Uplatněná certifikovaná metodika 26/14. ZV Troubsko. 37 s. ISBN: 978-80-88000-01-3

Pelikán, J., Knotová, D., Hofbauer, J. (2016): Méně známé druhy zemědělských plodin. Troubsko: Výzkumný ústav pícninářský, spol. s.r.o. Troubsko, 2016. ISBN 978-80-88000-06-8.

Petrovic, M. et al. (2016): Quality Parameters and Antioxidant Activity of Three Clover Species in Relation to the Livestock Diet. NOTULAE BOTANICAE HORTI AGROBOTANICI CLUJ-NAPOCA, Volume: 44, Issue: 1, Pages: 201-208, DOI: 10.15835/nbha44110144

Prančl, J. (2012): *Trifolium pannonicum* Jacq. – jetel panonský / Ďatelina panónska, dostupné z: https://botany.cz/cs/trifolium-pannonicum/

Tomić Z, Nešić Z, Krnjaja V, Žujković M (2005). Parameters of production and quality of new cultivars of perennial leguminous plants as livestock feed. Biotechnology in Animal Husbandry 21(3-4):89-96.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení DKRVO, číslo MZE-RO1718, financovaného Ministerstvem zemědělství a v rámci řešení projektu "Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity", Jeteloviny a ostatní pícniny, VÚP Troubsko 51834/2017-MZE-17253/6.2.2.

Kontaktní adresa:

Ing. Daniela Knotová, Ph.D.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1, 66441 Troubsko
knotova@vupt.cz

HODNOCENÍ VÝNOSŮ SEMENE JETELE PANONSKÉHO PŘI RŮZNÝCH ZPŮSOBECH ZAKLÁDÁNÍ POROSTŮ V KRYCÍ PLODINĚ

Evaluation of seed yields in different ways of establishing of Pannonian clover stands in cover crops

Knotová D[1]., Pelikán J.[2]

[1]*Zemědělský výzkum, spol. s r.o.*
[2]*Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o.*

Abstrakt
V roce 2016 byl založen pokus s jetelem panonským pěstovaným na semeno v krycí plodině. Experiment byl umístěn na lokalitu Troubsko. Porosty byly založeny ve dvou řádkových roztečích (12,5 cm a 25 cm) v kombinaci se dvěma typy výsevku a ošetřenou (vláčení odplevelovacími prutovými branami) a neošetřenou variantou (kontrola). Sklizeň semene proběhla v letech 2017, 2018 a 2019. Bylo zjištěno, že nejvhodnější je zakládat semenářské porosty v krycí plodině do širších řádků (25 cm) s výsevkem 14 kg.ha^{-1}. Příznivě se projevuje vláčení odplevelovacími prutovými branami na počátku vegetace. Ve fázi butonizace je důležitý monitoring výskytu hmyzích škůdců, kteří mohou výrazně ovlivnit výnosy semene v daném roce. V případě napadení je nutné použít insekticidní povolené přípravky.
Klíčová slova: *Trifolium pannonicum*, agrotechnika, produkce osiva, krycí plodina

Abstract
In 2016, the experiment with Pannonian clover grown for seed was established in the cover crops. The experiment was placed in the locality Troubsko. The stands were established in two row distance (12.5 and 25 cm) in combination with two variants of sowing rate and two variants of agrotechnical interventions during vegetation (lugging and variant without agrotechnical interventions). The seeds were harvested in 2017, 2018 and 2019. It was found that it is best to sow in the cover crop into rows 25 cm with a seed rate of 14 kg.ha^{-1}. Harrowing the Pannonian clover stands by spike harrow in the spring has a favourable effect. In the butonization phase, the monitoring of the occurrence of insect pests can significantly affect on the seed yields in the year. In case of attack by pest sis necessary used insecticidal products.
Key words: *Trifolium pannonicum*, agrotechnology, seed production, cover crops

Úvod

Jetel panonský (*Trifolium pannonicum* L) je perspektivní vytrvalý druh s dobrou pícní kvalitou a dlouhým kůlovitým kořenem. Planě je rozšířen v Maďarsku, na Ukrajině a v balkánských zemích. Vyskytuje se na suchých stepních loukách, v křovinách a na výslunných stráních. U nás roste především v oblasti Karpat. Lodyhy jsou přímé nebo vystoupavé, vysoké 50 a více cm. Květní hlávky mají vejcovitý nebo válcovitý tvar, jsou dlouhé 5 až 8 cm. Barva květů je žlutobílá. Semena jsou nesouměrně srdcovitá až elipsovitá, světle žluté až pískově hnědé barvy (Pelikán et al. 2012). Výnosy poskytuje po dobu sedmi let a v každém roce dává dvě seče. Dobytek jej přijímá o něco hůře než jetel luční. V současné době je v ČR právně chráněna odrůda Panon (Pelikán a Knotová 2014). Lugic et al. (2009) zjišťovali u pěti planých druhů rodu *Trifolium* některé morfologické charakteristiky. Zjistili nízkou produkci osiva u druhů *Trifolium pannonicum* a *Trifolium alpestre* a vysokou produkci zelené hmoty u druhů *Trifolium pratense* a *Trifolium pannonicum*. Kuznetsova a Plennik (1988) zkoušeli jetel panonský v oblasti Novosibirska ve srovnání s jetelem lučním. Jetel panonský je vhodná komponenta do trvalých jetelotravních společenstev. V roce 2009 byla u nás registrována odrůda Panon, která vznikla individuálním výběrem z plané flóry (Pelikán et al. 2014). Výnosy semene jetele

panonského v režimu ekologického zemědělství byly sledovány v letech 2011, 2012 a 2013 (Pelikán, 2014).
Studiem devíti populací jetele panonského pocházejících z území Srbska se z hlediska kvality zabývali Petrovic et al. 2016. Při studiu kvality byl zjištěn vyšší obsah dusíkatých látek oproti druhům jetel alpský a jetel plazivý. Také Tomić et al., 2005 zjistil vyšší obsah dusíkatých látek oproti vojtěšce seté a jeteli lučnímu.
Vzhledem ke zvýšenému obsahu bioaktivních látek v jeteli panonském (flavonoidy, fenoly) je tento druh velmi odolný vůči chorobám a škůdcům. To je dobrým předpokladem k pěstování v ekologickém zemědělství, neboť při jeho pěstování není potřeba používání ochranných chemických prostředků (Petrovic et al. 2016).

Materiál a metody

V roce 2016 byl na lokalitě Troubsko vyset bezezbytkovým secím strojem Oyord polní pokus s jetelem panonským, odrůda Panon, pěstovaným na semeno. Lokalita Troubsko patří do mírně suché řepařské oblasti s nadmořskou výškou 270 m n. m., průměrný roční úhrn srážek je 512 mm a průměrná roční teplota je 9,4°C.
Pokus byl založen 21. 3. 2016 metodou znáhodněných bloků ve čtyřech opakováních. Jako krycí plodina byla vyseta pšenice jarní s výsevkem 110 kg.ha^{-1}, odrůda Epos. Varianty se lišily velikostí výsevku jetele panonského (28 a 14 kg.ha^{-1}), šířkou řádků (12,5 a 25 cm) a způsobem ošetření porostu během vegetace (neošetřené a vláčené na jaře prutovými branami, výrobce APV, záběr 6 m). Termíny vláčení: 3.4. 2017, 5.4. 2018 a 20.3. 2019. Semeno bylo sklizeno sklízecí mlátičkou Sampo, porost byl v průběhu vegetace ošetřen insekticidem Mospilan, termíny ošetření: 22.5. 2017, 10.5. 2018 a 21.5. 2019. Před sklizní semene proběhla desikace přípravkem Reglone, termíny desikace: 24.7. 2017, 3.7. 2018, 2.7. 2019. Termíny sklizní: 1.8. 2017, 10.7. 2018, 10.7. 2019.
Výsledky byly zpracovány metodou analýzy rozptylu užitím statistického softwaru STATISTICA 12 (Statista, Inc.; US) a následným testováním statistické významnosti rozdílů středních hodnot pomocí Tukeyova testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky

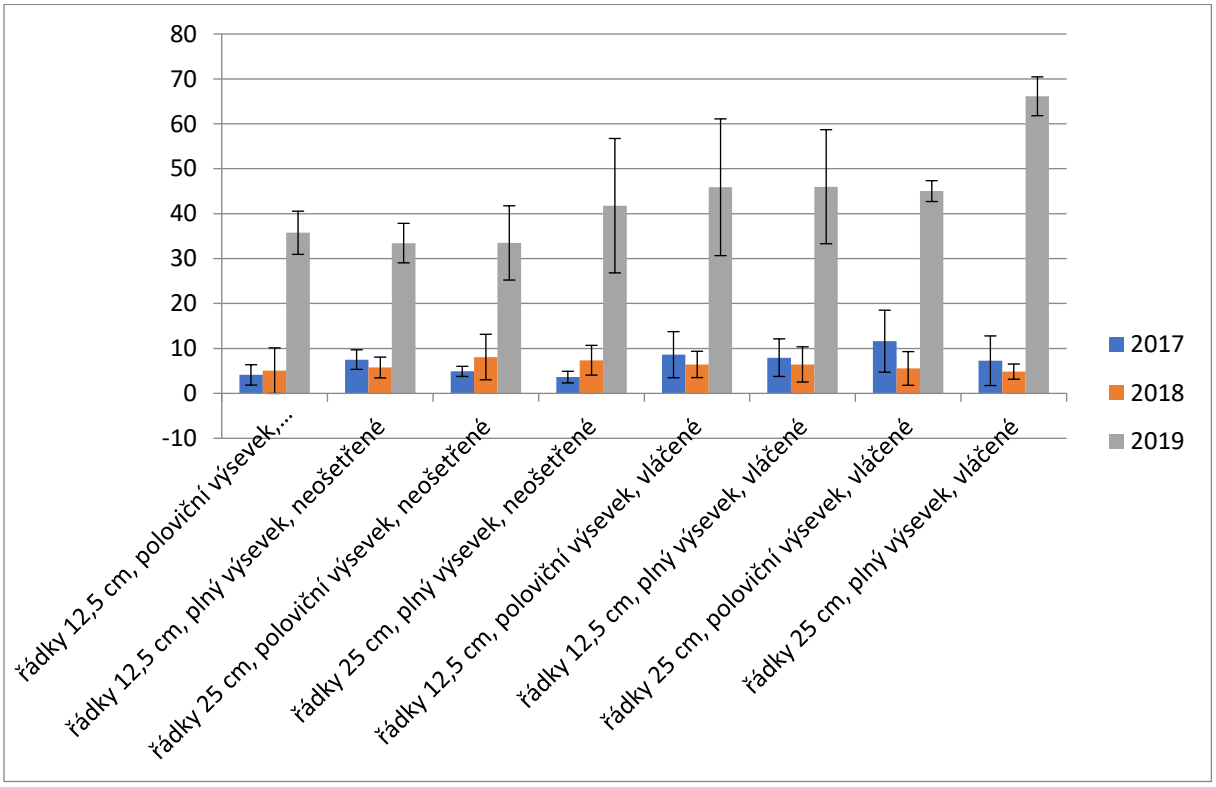
Výnos semene jetele panonského (tab. 1) se v prvním užitkovém roce (2017) pohyboval od 82,5 kg.ha^{-1} do 197,52 kg.ha^{-1}, nejvyšší výnos poskytla varianta založená do řádků 25 cm s polovičním výsevkem a ošetřována vláčením. Tato varianta statisticky průkazně překonala variantu založenou do řádků 25 cm s plným výsevkem bez ošetření.
Ve druhém užitkovém roce (2018) bylo dosaženo nejvyšších výnosů ve variantě založené do řádků 25 cm s plným výsevkem a ošetřené vláčením. Tato varianta byla statisticky průkazně lepší než ostatní varianty, kromě vláčené varianty založené do řádků 12,5 cm s polovičním výsevkem.
V roce 2019 se výnosy ve zkoušených variantách pohybovaly v rozmezí od 99,5 kg.ha^{-1} do 441,25 kg.ha^{-1}. Varianta založená do řádků 25 cm s plným výsevkem dosáhla nejvyšších výnosů a statisticky průkazně překonala všechny varianty kromě variant vláčených s roztečí řádků 25 cm s polovičním výsevkem a 12,5 cm také s polovičním výsevkem. Z grafu 1 je patrné, že v roce 2019 bylo dosaženo statisticky průkazně vyšších výnosů semene oproti letům 2017 a 2018.
HTS se v roce 2017 pohybovala od 3,36 do 3,56 g a nejvyšší byla u neošetřené varianty při šířce řádků 25 cm a polovičním výsevku. Klíčivost se v tomto roce pohybovala od 59,25 do 75,75 % a nejvyšší byla dosažena u neošetřené varianty při šířce řádků 12,5 cm a polovičním výsevku. V roce 2017 se HTS pohybovala od 2,69 do 2,92 g a nejvyšší byla u vláčené varianty

při šířce řádků 25 cm a plném výsevku a klíčivost se v tomto roce pohybovala od 57,75 do 67,50 % a nejvyšší byla dosažena u vláčené varianty při šířce řádků 12,5 cm a plném výsevku. Obdobné pokusy s jetelem panonským běžely na stanovišti Troubsko v letech 2011–2013. Výnosy jetele panonského byly realizovány v režimu ekologického zemědělství. Výnosy semene se pohybovaly v rozmezí 18 – 30,7 kg.ha^{-1} v prvním užitkovém roce, 16 – 31,7 kg.ha^{-1} v druhém užitkovém roce a 127,3 – 228 kg.ha^{-1} v třetím užitkovém roce (Pelikán, 2014). Na velikost výnosů semene tak mělo pravděpodobně velký vliv ošetření proti škůdcům a desikace porostů před sklizní. Další výsledky z obdobných pokusů s jetelem panonským nejsou známy ani z tuzemska ani ze zahraničí.

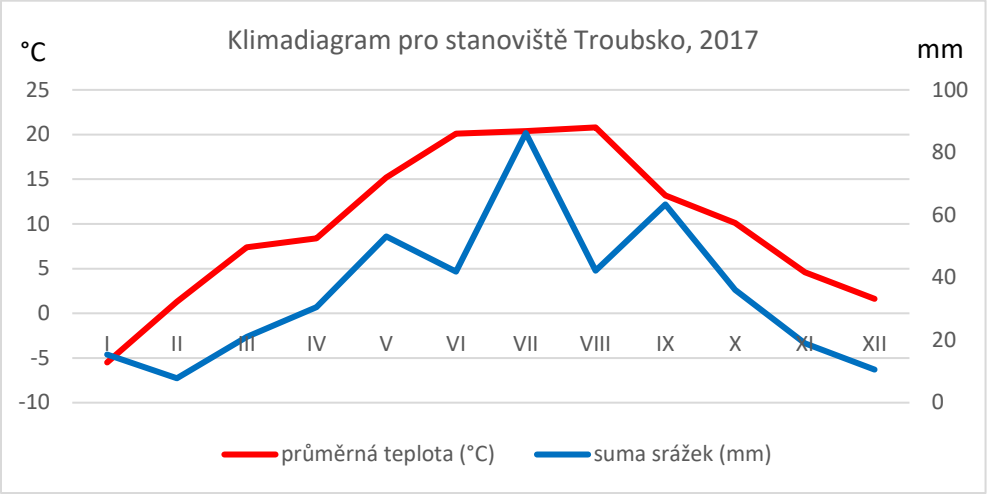
Tab. 1: Výnosy semene a jetele panonského založeného v krycí plodině v užitkových letech 2017, 2018 a 2019 *(Tukeyův HSD test; α=0,05)*

			2017		2018		2019	
Ošetření	**Řádky**	**Výsevek**	**kg.ha^{-1}**	**poř.**	**kg.ha^{-1}**	**poř.**	**kg.ha^{-1}**	**poř.**
bez ošetření	12,5 cm	pol.	152,53^{ab}	4	134,43^{b}	5	151,50^{c}	6
bez ošetření	12,5 cm	plný	134,70^{ab}	5	153,85^{b}	3	99,50^{c}	8
bez ošetření	25 cm	pol.	161,13^{ab}	3	136,48^{b}	4	176,25^{c}	5
bez ošetření	25 cm	plný	82,50^{b}	8	132,57^{b}	7	148,75^{c}	7
vláčení	12,5 cm	pol.	170,65^{ab}	2	173,53^{ab}	2	354,25^{ab}	3
vláčení	12,5 cm	plný	126,13^{ab}	6	128,43^{b}	8	346,00^{b}	4
vláčení	25 cm	pol.	197,52^{a}	1	133,52^{b}	6	356,00^{ab}	2
vláčení	25 cm	plný	118,75^{ab}	7	209,88^{a}	1	441,25^{a}	1
D_T (0,05)			98,07		46,53		91,65	
D_T (0,01)			143,75		68,21		134,34	

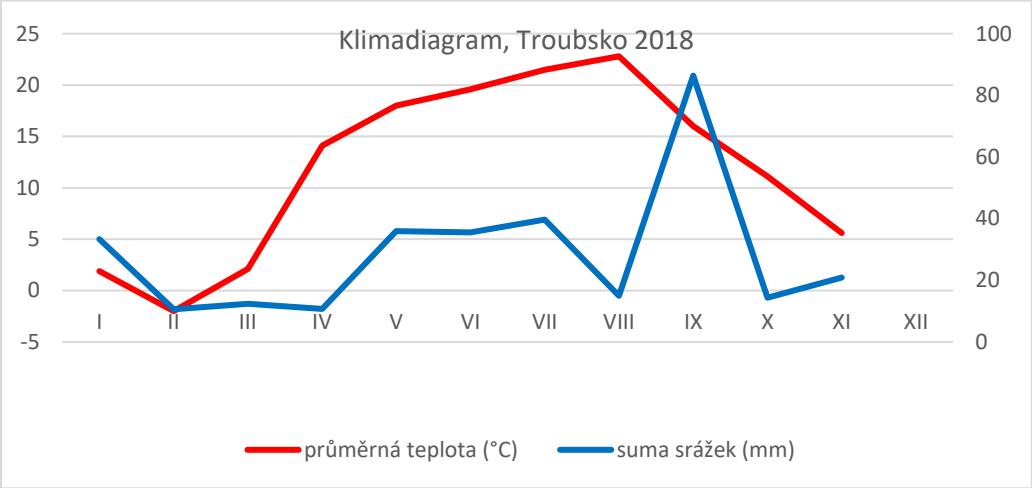
Graf 1: Porovnání výnosů mezi hodnocenými roky 2017, 2018 a 2019 pomocí chybových úseček



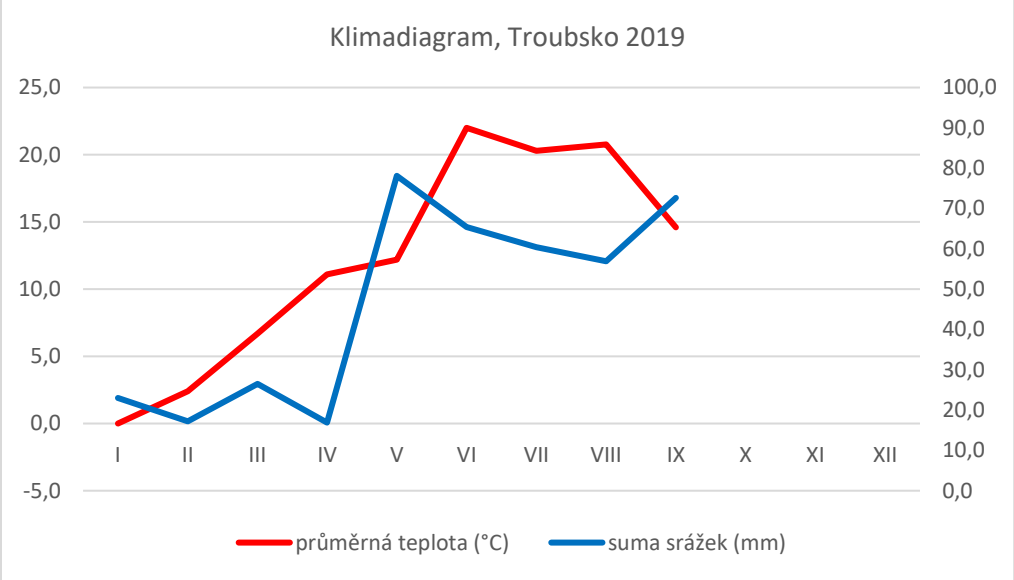
Obr. 1: Klimadiagram, 2017



Obr. 2: Klimadiagram, 2018



Obr. 3: Klimadiagram, 2019



Závěr

Vzhledem k dosaženým výsledkům je nejvhodnější při zakládání semenářských porostů jetele panonského s využitím krycí plodiny volit širší řádky (25 cm) s výsevkem 14 kg.ha^{-1} (v pokuse jako poloviční) a to z toho důvodu, že porost jetele panonského má tendenci se každým rokem rozrůstat pomocí oddenků. Vláčení odplevelovacími prutovými branami na počátku vegetace se projevilo velmi příznivě, neboť se tímto zásahem odstraní stařina podobně jako u trav a dojde k provzdušnění kořenů. V období fáze butonizace je důležitý monitoring proti hmyzím škůdcům, kteří mohou výrazně ovlivnit výnosy semene v daném roce. V případě napadení je nutné použít insekticidní povolené přípravky.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení DKRVO, číslo MZE-RO1718, financovaného Ministerstvem zemědělství a v rámci řešení projektu "Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity", Jeteloviny a ostatní pícniny, VÚP Troubsko 51834/2017-MZE-17253/6.2.2.

Literatura

Kuznetsova, G. V.; Plennik, R. Ya. (1988): Introduction of Trifolium pannonicum into the forest steppe of western Siberia. Byulleten' Glavnogo Botanicheskogo Sada, No. 148: 26-28

Lugic Z., Radovic J., Sokolovic D., Vasic T. and Jevtic G. (2009): Morphological traits and seed production potential of some wild Trifolium species in Serbia. Alternative functions of grassland. Proceedings of the 15th European Grassland Federation Symposium, Brno, Czech Republic, 7-9 September 2009: 406-409

Pelikán J., Hýbl M. et al. (2012): Rostliny čeledi Fabaceae LINDL. (bobovité) České republiky. 1. vyd., Vydavatelství Ing. Petr Baštan, Olomouc, 230 s.

Pelikán J., Knotová D. (2014): Metodika pěstování vybraných druhů čeledi Fabaceae na semeno v podmínkách ekologického zemědělství. Uplatněná certifikovaná metodika 26/14. ZV Troubsko. 37 s. ISBN: 978-80-88000-01-3

Kontaktní adresa:

Ing. Daniela Knotová, Ph.D.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1, 66441 Troubsko
knotova@vupt.cz

VLIV SYSTÉMU A INTENZITY PASTVY NA POROSTOVOU SKLADBU, PRODUKTIVITU A MIMOPRODUKČNÍ FUNKCE DLOUHODOBÉHO PASTEVNÍHO POROSTU

The influence of grazing systém and intensity on botanical composition, productivity and nonproductive functions of long term pasture sward

Kobes M., Hejna O., Peterka J, Tonka T.

Zemědělská fakulta JU v Č. Budějovicích,
Katedra genetiky a speciální produkce rostlinné

Abstrakt
V letech 2000 – 2015 byl ověřován vliv systémů pastvy s různým zatížením pastevního porostu na vývoj porostové skladby pastevních porostů, produkci biomasy, množství nedopasků a spasené pícní biomasy při pastvě masného skotu plemene Charolais. Pokusné pastevní porosty se nacházely v podhorské oblasti Šumavy (Velký Chuchelec, 650 m n.m., Rojovský hřbet). Bylo vyhodnoceno zatížení pastvin při různých systémech a intenzitě pastvy. Nejpříznivější porostovou skladbu vykázaly porosty rotačně oplůtkově spásané 3x a 4x ročně a hnojené ročně 100 kg N + PK a kontinuální pastva. Vyšší produkce biomasy i spasené biomasy byla u porostů spásaných oplůtkově 2x ročně (hnojených i nehnojených) a 3x i 4x ročně s hnojením NPK ($p < 0,05$). Pastva 2x ročně však měla i nejvyšší podíl nedopasků. Naopak kontinuální pastva vykázala nižší produkci biomasy.
Klíčová slova: Pastviny; intenzita pastvy; zatížení; botanická skladba; produkce biomasy.

Abstract
The influence of grazing systém with different load (livestock density) of pastures on sward composition development, biomass production, the amount of residual biomass and grazed fodder biomasss by grazing of beef cattle breed Charolais were evaluated in the years 2000 – 2015. Experimental pasture plots were in submountain region of Šumava mountains (Velký Chuchelec, 650 m a.s.l., Rojovský rigde). The most optimal sward composition had pastures grazed 3x and 4x per year by rotationally strip grazing, fertilised by dose 100 kg N + PK and continuously grazed pastures. Higher biomass production and intaked biomasss were at swards grazed by rotationally strip grazing 2x per year (fertilized and nonfertilized) and grazed 3x and 4x per year with NPK ferilization ($p < 0.05$). However, grazing 2x per year had higher share of no intaked biomass. Contrarily continuous grazing showed lower biomass production.
Keywords: Pastures; grazing intensity; load; botanical composition; biomass production.

Úvod

V posledních třiceti letech zaznamenáváme v ČR trvalý nárůst ploch trvalých travních porostů, kdy výměra TTP v ČR přesáhla v roce 2015 1 milion hektarů a současně se zvyšuje podíl TTP na celkové zemědělské půdě. Vzhledem k potřebě nízkých nákladů na ustájení a výživu zvířat nabývá zvláště u skotu bez TPM na významu pastevní využívání travních porostů a plochy pastvin se zvyšují (Šarapatka, 2002, Pozdíšek a kol., 2004). S rostoucím podílem pastevních porostů v zemědělských podnicích vzrůstá zatížení pastevních porostů, průměrné zatížení pastevních porostů u různých zemědělských podniků se pohybuje nejčastěji v rozpětí 0,30 – 1,2 DJ/ha s maximální frekvencí hodnot 0,5 – 0,85 DJ/ha (Moudrý, Friebel, Konvalina, 2008). Zatížení pastevního porostu výrazně ovlivňuje druhovou skladbu, výšku porostu a půdní prostředí a v interakci s ekologickými podmínkami stanoviště rozhoduje o výši produkce pastevní píce i mimoprodukčních funkcích pastevních porostů. Vedle zatížení pastviny je

důležitý také systém pastvy, kdy při oplůtkové pastvě je obvykle zatížení vyšší, avšak krátkodobé a porost má možnost regenerace. Naopak při kontinuální pastvě je sice celkové zatížení zpravidla nižší, avšak zvířata působí na porost delší dobu a navíc mají tendenci vypásat již jednou spasené plochy a trvale poškozovat porosty v místech kumulace (okolí krmišť apod.). Způsob vyjadřování zatížení pastvin není zcela jednotný a obvykle se vyjadřuje jako počet DJ na 1 ha pastevního porostu, TTP nebo zemědělské půdy, přičemž se předpokládá přítomnost zvířat v podniku po celé pastevní období (nebo rok). Celkové zatížení (obsazení) pastviny (Czp.) je hmotnost zvířat (v t ž.h.), připadajících na 1 ha pastevní plochy v průměru pastevního období. Hustota obsazení oplůtku je pak celková hmotnost zvířat, připadajících na 1 ha, Hop = Ž : Po (Mrkvička, 1998). Hustota osazení oplůtku (Hop), okamžité zatížení oplůtku (OZop), roční průměrné zatížení oplůtku (RZop) se vypočte (Mrkvička, 1998): Hop = Ž / Po; OZop = Hop .2; RZop = Hop . 2 . a_t / t.

V LFA oblastech existují i podniky s výrazně vyšším zatížením v zimě, kdy jsou zde navezena zvířata z podniků v horských oblastech. U zimovišť sněhová pokrývka a promrzání půdy výrazně snižuje reálné zatížení, neboť zvířata se soustřeďují v okolí krmišť a promrzlá půda se nezhutňuje. Naopak v jarních měsících je vliv pasoucích se zvířat na půdu nejvyšší, neboť zvířata spásají porost již při výšce 10 – 15 cm (Svobodová, Šantrůček, Skalický, 2016) a půda je vlhká. Zatížení pastevního porostu ovlivňuje nejvýrazněji velikost asimilační plochy porostu a zhutnění půdy (infiltrační schopnost) a také množství a pohyb živin v půdě.

Vedle produkčního uplatnění jsou u travních porostů stále více ceněny jejich mimoprodukční funkce (Novák, 2000; Šantrůček et al., 2004). V naprosté většině případů je třeba orientovat pratotechnické postupy tak, aby byly vhodně harmonizovány produkční i mimoprodukční funkce těchto cenóz (Opitz Von Boberfeld, 1994; Holůbek at al., 2001; Jančovič, Ďurková, Vozár, 2003; Klimeš at al., 2007).

V uvedených intencích je tato práce zaměřena na hodnocení zatížení pastevního porostu při kontinuální a rotační pastvě při různé době spásání pastevních porostů a posouzení vlivu systému a intenzity pastvy na druhovou skladbu, produkci pastevní biomasy a efektivní výnos pastevního porostu.

Materiál a metody

S ohledem na rozšíření a uplatnění pastevních porostů v podhorské oblasti Šumavy a ve vyšších polohách jižních Čech byly v letech 2001 – 2015 ověřovány různé způsoby a intenzita pastevního využívání trvalého travního porostu. S využitím terénních pokusů, založených v oblasti Kaplice (Velký Chuchelec, 650 m n.m.), byly hodnoceny vlivy diferencované výživy (nehnojené porosty, porosty s aplikací 100N + 30P + 50K), způsobu pastvy (pastevní systém kontinuální a rotační) a frekvence spásání (2, 3 a 4 pastevní cykly při rotační oplůtkové pastvě) a zatížení pastviny na porostovou skladbu a produkci píce pastevního porostu. Pro hodnocení vlivu pastvy na porost byl vybrán pokusný pozemek původně spásaný 3x ročně oplůtkovým systémem pastvy masných plemen skotu. Porosty byly dále experimentálně využívány rotační pastvou masného skotu plemene Charolais 2x až 4x ročně, nebo kontinuální pastvou s vyšším a nižším zatížením (tabulka 1). Při oplůtkovém systému pastvy byla vypásána plocha 1,62 ha, zahrnující pokusné parcely (4 opakování o ploše 30 m^2, celkem 120 m^2) stádem o průměrném počtu 52 ks krav (70 – 73 DJ). Průměrná doba spásání porostu v jednom pastevním cyklu činila 2-3 dny (48-72 hodin). Dále byly sledovány dvě plochy kontinuálně spásané (s vyšším zatížením – zimoviště a s nižším zatížením), obě plochy nehnojené. Před každým pastevním cyklem byla zhodnocena druhová skladba porostů – pokryvnost druhů a agrobotanických skupin a zjištěn výnos píce vysečením a zvážením pásu o ploše 6 m^2. Pro fytocenologické analýzy byly využívány botanické snímky, zapsané metodou redukované projektivní dominance dle Veselé (Veselá et al. 1994) každoročně před 1. pastevním cyklem. Po vypasení byly posečeny (2 – 4 cm nad zemí) a zváženy nedopasky a byl vypočten efektivní výnos, tedy

množství spasené biomasy jako rozdíl výnosu před spasením a odečtených nedopasků. U kontinuální pastvy byly využívány pro hodnocení přírůstků biomasy přenosné klece (velikost 2x2 m), přemisťované po vysečení (1x za 6-7 dní) na spasenou plochu. Nedopasky byly u kontinuální pastvy orientačně hodnoceny vysečením plochy porostu odpovídající ploše klece (4 m^2) 2 - 4 cm nad zemí a vážením. U všech pastevních systémů bylo vypočteno okamžité zatížení pastevní plochy (DJ/ha) a zatížení vztažené k 180 dnům pastevního období a celkové roční zatížení jako násobek okamžitého zatížení a poměru skutečné doby spásání a doby pastevního období, nebo roku ve dnech. U experimentálních i provozních (kontinuální pastva) pastevních porostů bylo vypočteno okamžité zatížení spásané plochy, zatížení za pastevní období a celkové zatížení (tabulka 1).

Výsledky a diskuze

Z teoretických principů oplůtkového systému pastvy vyplývá, že výnos a využití pastevní píce je tím větší, čím je doba spásání jednoho oplůtku kratší (Mrkvička, 1998). Zatížení pastvin je však velmi výrazně ovlivněno dobou pobytu zvířat na pastvině, respektive oplůtku, jak v pastevním období, tak i mimo pastevní sezónu. Zatímco při vyjadřování zatížení pastevních porostů postačuje vztáhnout celkovou hmotnost zvířat na plochu pastvin, u jednotlivých částí pastvin nebo oplůtků je třeba do výpočtu zahrnout i dobu pobytu zvířat na konkrétním oplůtku nebo pastvině. Pokud budou zvířata přesouvána opravdu pravidelně, je zatížení oplůtku rovno průměrnému zatížení celé plochy všech pastvin. Uvedené vztahy popisují rovnice: RZop = Czp = Ozop . a_t / t. Czp / Ozop = a_t / t. Z uvedeného vyplývá, že zatížení pastvin (oplůtku) ovlivňují zejména tři proměnné: (1) počet zvířat ve stádě (skupině), (2) délka pastevního období (resp. i vegetační doby) a (3) doba pobytu zvířat na pastvinách (v oplůtku).

Během experimentálního období došlo ke změně porostové skladby zkoumaných porostů. U nehnojeného 2x spásaného porostu se jako dominantní druh uplatnila kostřava luční se subdominantním jílkem vytrvalým (při hnojení NPK dominantní druh), který postupně zaujal subdominantní pozici i u hnojených 4x spásaných porostů (10 – 14 % D). U nehnojených 3x a 4x spásaných porostů se do subdominantní pozice prosadil psineček tenký (11 až 12 % D). Tento rozvoj psinečku tenkého koresponduje s jeho bioindikační charakteristikou, spojenou s výraznějším ochuzováním trofického režimu intenzivně využívaných a nehnojených porostů (Klimeš, 2007). Toto výrazné ochuzování stanoviště o živiny obzvláště signifikantně (na hladině statistické významnosti $p < 0,01$) potvrzují zejména rozdíly v průměrných výnosech hnojených a nehnojených porostů při jejich využívání ve 4 pastevních cyklech. Porost spásaný dvakrát ročně vykazuje tendence k ruderalizaci. V dominantním postavení se udržela srha říznačka, vyšší pokryvnost vykazují také kostřava červená výběžkatá a bojínek luční a v porostu se objevuje i pýr plazivý. Jeteloviny mají nízké zastoupení (8 – 14 %) a jsou reprezentovány popínavými druhy (*Vicia cracca, Lathyrus pratensis*). Postupně dochází k zaplevelování porostu, kdy vyšší pokryvnost vykazují zejména pcháč oset (*Cirsium arvense*), řebříček obecný (*Achillea millefolium*) a svízel bílý (*Galium album*). Vypásání porostu 2x ročně při oplůtkovém systému pastvy se jeví jako zcela nedostatečné i při absenci hnojení. U oplůtkové pastvy s frekvencí 3x a 4x ročně byla zjištěna vyšší pokryvnost jetele lučního, kdy pokryvnost tohoto druhu je dokonce vyšší než při pastvě 2x ročně. Potvrzuje se tak vhodnost tohoto druhů pro přísevy do oplůtkově spásaných pastevních porostů.

U 3x spásaného a hnojeného porostu dosahují 4 dominantní trávy pokryvnosti nad 50 % D a rozvíjí se zejména jílek vytrvalý a lipnice luční. Z vyhodnocení změn porostové skladby experimentálních pastevních porostů v letech 2010 - 2015 a v předcházejícím období (2000 – 2010) se ukazuje, že optimální porostové skladby je při oplůtkové pastvě dosahováno při vypásání porostů 3x ročně a v menší míře též při jejich vypásání 4x ročně při aplikaci 100 Kg N/ha + PK. Původní porost s dominantní srhou říznačkou a trojštětem žlutavým (*Dactylideto-*

Trisetetum) se během 15-ti letého vypásání 3x ročně změnil na porost s dominantní kostřavou luční a jílkem vytrvalým (*Festuceto-Lolietum*) s vyšší kvalitou píce. Pokryvnost trojštětu žlutavého poklesla pod 6 %, čímž se snížilo riziko vzniku kalcinózy při dlouhodobějším spásání. Zároveň tento porost vykazuje příznivý poměr agrobotanických skupin (jeteloviny v rozmezí 18 – 26 %). U nehnojené varianty se však již uplatňují nízké druhy trav (*Agrostis capillaris, Poa angustifolia*) a bylin (*Plantago lanceolata, Leontodon autumnalis*). U 4x spásaného nehnojeného porostu dosahují 4 kvalitní druhy trav pokryvnosti jen 20 %. Při vypásání porostů 4x ročně se udržuje příznivá porostová skladba při hnojení porostu 100 kg N/ha + PK, kdy dominantním druhem v porostu je jílek vytrvalý a lipnice luční. Porost bez hnojení vykazuje při 4 pastevních cyklech již nadměrný podíl nízkých druhů trav a bylin, vyšší podíl prázdných míst a v letním období i vysoký podíl jetele plazivého, avšak s velmi drobnými lístky (nízká produkce biomasy).

Jako méně vhodný způsob pastvy se jeví pastva kontinuální, kdy při vyšším zatížení (3,5-6 DJ/ha) dochází k rozvoji nízkých druhů bylin - pampelišky podzimní (*Leontodon autumnalis*), sedmikrásky chudobky (*Bellis perennis*), smetánky lékařské (*Taraxacum* sect. *ruderalia*) aj. a trav – psinečku tenkého (*Agrostis capillaris*), lipnice úzkolisté (*Poa angustifolia*), poháňky hřebenité (*Cynosurus crisatus*) a při nízkém zatížení pod 1 DJ dochází k ruderalizaci porostů. Kontinuální pastva však zvyšuje také pokryvnost hodnotných trav jílku vytrvalého a lipnice luční. Při oplůtkovém systému pastvy s nižší frekvencí (2x až 3x ročně) se zvýšila pokryvnost trav, naopak při vyšší frekvenci pastvy nebo při volném (kontinuálním) systému pastvy se zvýšila pokryvnost bylin.

Vysoké výnosy sušiny dosahuje pravidelně porost 2x ročně spásaný (tabulka 2 a 3) a dále porosty spásané 3x a 4x při hnojení NPK. Kontinuální pastva poskytuje pravidelně ve všech ročnících nižší produkci, což je dáno redukcí asimilační plochy porostu stálým spásáním a sešlapáváním. Příznivý vývoj produkce při nízké variabilitě výnosů byl zaznamenán u porostů 3x spásaných a to jak hnojených, tak i nehnojených, avšak statisticky průkazně vyšší výnosy ($p < 0,05$) byly zaznamenány jen u hnojených porostů při jejich využití ve 2 a 4 pastevních cyklech, kdy však je v prvním případě příliš vysoký obsah vlákniny v pastevní píci (25,83 – 28,63 % abs. sušiny) a ve druhém případě již postupně klesá produkce a projevuje se též vysoké utužení půdy (až o 24 % ve srovnání s nižší frekvencí spásání). U kontinuální pastvy je obecně obtížné stanovit produkci pastevní píce, neboť porost je průběžně spásán a současně průběžně dorůstá, ve formě nedopasků zde zůstává reziduální nadzemní biomasa. Jednou z možností jak stanovit výnos se jeví použití talířového měřidla, které prověřila Štýbnarová (2016) pro horské metlicové a smilkové porosty. Protože část vyprodukované biomasy při kontinuální pastvě na pastvině průběžně zůstává, jedná se o měření okamžitého množství nadzemní biomasy (spíše než efektivního výnosu). U sledovaných kontinuálně spásaných porostů byly použity přenosné klece, tím však byl porost krátkodobě vyňat z pastevního využití.

Efektivitu pastevní techniky lze posoudit rovněž podle množství nedopasků (tabulky 4 a 5) a množství skutečně spasené pícní biomasy (tabulky 6 a 7). Nejnižší množství nedopasků vykazuje porost spásaný oplůtkově 4x ročně, nebo kontinuálně při vyšším zatížení (2,5 VDJ/ha). Porost spásaný oplůtkově 3x ročně vykazuje o něco vyšší množství nedopasků, avšak též vyšší celkovou produkci (při obsahu hrubé vlákniny 19 – 23 %) a množství spasené pícní biomasy. Porost spásaný 2x ročně vykazuje celkově nejvyšší produkci, avšak též nejvyšší množství nedopasků a horší kvalitu (obsah vlákniny je až 27 % a je vyšší ve druhé seči s vyšším podílem lodyh bylin). Pastva spásaná oplůtkově dvakrát ročně však vykazuje vysoké množství skutečně spasené píce i přes vyšší množství nedopasků. V porostu spásaném dvakrát se objevují tuhé nebo méně hodnotné byliny - pcháč oset (*Cirsium arvense*), svízel bílý (*Galium album*), kopřiva dvoudomá (*Urtica dioica*), řebříček obecný (*Achillea millefolium*) a porostová skladba se postupně zhoršuje. Také kvalita porostu je v době spásání již horší, což vede k větším ztrátám pošlapáním porostu.

Tab. 1: Přehled ověřovaných variant pastvy a zatížení při pastvě 52 ks krav plemene Charolais (průměrná hmotnost 670 kg) – 34,8 t ŽH, 69,7 DJ

Varianta	Celková doba vypásání	Ozop[1)] (DJ/ha)	Czop[2)] (DJ/ha)	DJ/ha/rok
Pastva 2x/0, OP[3)], 1,6188 ha	6 dnů	43,04	1,43	0,71
Pastva 2x/NPK, OP, 1,6188 ha	6 dnů	43,04	1,43	0,71
Pastva 3x/0, OP 1,6188 ha	8 dnů	43,04	1,91	0,94
Pastva 3x/NPK, OP, 1,6188 ha	8 dnů	43,04	1,91	0,94
Pastva 4x/0, OP, 1,6188 ha	10 dnů	43,04	2,39	1,18
Pastva 4x/NPK, OP, 1,6188 ha	10 dnů	43,04	2,39	1,18
Kontinuál. I 10,59 ha	238 dnů	6,58	8,70	4,29
Kontinuální II 23,84 ha	126 dnů	2,92	2,04	1,01

[1)]Ozop – okamžité zatížení oplůtku, [2)]Czop – celkové zatížení oplůtku vztažené na pastevní období 180 dní, [3)] OP – oplůtková pastva.

Tab. 2 Průměrné výnosy pícní biomasy u ověřovaných trvalých travních porostů při různých způsobech jejich obhospodařování na jednotlivých pokusných lokalitách (2000 – 2004)

Systém pastvy	Varianta	Výnos sena v t . ha^{-1}					
		2000	2001	2002	2003	2004	**X_{00-04}**
Rotační oplůtková	P-2x/O	6,91	6,45	5,12	6,76	9,87	**7,02**
	P-2x/NPK	8,56	7,79	7,01	5,90	11,33	**8,12**
	P-3x/0	6,85	5,72	5,22	4,22	6,70	**5,74**
	P-3x/NPK	8,33	6,71	6,45	5,20	8,15	**6,97**
	P-4x/0	8,10	5,85	4,38	3,75	7,01	**5,82**
	P-4x/NPK	9,96	7,37	5,79	4,57	10,00	**7,54**
Kontinuální	KP I	5,56	4,49	4,38	2,95	4,88	**4,45**
	KP II	4,80	4,75	4,21	2,57	4,75	**4,21**

Tab. 3 Průměrné výnosy pícní biomasy u ověřovaných trvalých travních porostů při různých způsobech jejich obhospodařování na jednotlivých pokusných lokalitách

Systém pastvy	Varianta	Výnos sena v t . ha^{-1}					
		2005	2006	2007	2008	2009	**X_{05-09}**
Rotační oplůtková	P-2x/O	7,65	7,24	4,06	7,40	6,58	**6,59**
	P-2x/NPK	9,02	9,38	4,94	8,44	7,08	**7,77**
	P-3x/0	6,75	6,59	3,58	8,03	6,49	**6,29**
	P-3x/NPK	7,81	8,29	5,72	8,83	7,48	**7,63**
	P-4x/0	7,15	5,91	3,22	5,66	6,66	**5,72**
	P-4x/NPK	8,37	8,30	5,10	6,92	7,51	**7,24**
Kontinuální	KP I	5,12	5,52	3,89	4,61	4,19	**4,66**
	KP II	4,62	4,18	2,62	2,73	3,17	**3,46**

Tab. 4 Podíl nedopasků (v %) z celkové produkce pastevní píce u ověřovaných porostů při jejich pastevním využívání

Systém pastvy	Varianta	Nedopasky %					
		2000	2001	2002	2003	2004	**X_{00-04}**
Rotační oplůtková	P-2x/O	12,99	22,81	31,44	12,99	10,46	**18,14**
	P-2x/NPK	12,06	24,78	34,16	18,51	9,98	**19,90**
	P-3x/0	15,52	13,32	15,06	11,95	10,65	**13,30**
	P-3x/NPK	14,31	14,64	17,75	12,71	8,83	**13,65**
	P-4x/0	15,59	13,29	10,23	10,26	6,78	**11,23**
	P-4x/NPK	13,10	11,64	12,15	15,00	5,03	**11,38**
Kontinuální	KP I	15,12	17,20	13,50	10,60	14,50	**14,18**
	KP II	12,50	13,25	10,50	9,80	14,10	**12,03**

Tab. 5 Podíl nedopasků (v %) z celkové produkce pastevní píce u ověřovaných porostů při jejich pastevním využívání

Systém pastvy	Varianta	Nedopasky %					
		2005	2006	2007	2008	2009	**X_{05-09}**
Rotační oplůtková	P-2x/O	17,99	20,76	40,74	9,70	12,25	**20,29**
	P-2x/NPK	17,84	18,12	39,70	9,14	13,03	**19,57**
	P-3x/0	17,51	23,38	35,48	6,43	9,78	**18,52**
	P-3x/NPK	19,83	25,64	28,43	7,60	10,73	**18,45**
	P-4x/0	11,85	22,87	25,32	5,71	8,66	**14,88**
	P-4x/NPK	15,29	20,72	24,61	7,48	8,01	**15,22**
Kontinuální	KP I	14,10	15,60	18,25	13,30	12,26	**14,70**
	KP II	11,10	8,10	7,51	9,25	10,16	**9,12**

Tab. 6 Výnosy využité (spasené) pícní biomasy (v $t.ha^{-1}$ sena) u pastevně využívaných porostů

Systém pastvy	Varianta	Výnos využité (spasené) píce ($t . ha^{-1}$ sena)					
		2000	2001	2002	2003	2004	**X_{00-04}**
Rotační oplůtková	P-2x/O	6,03	4,99	3,51	5,88	8,84	**5,85**
	P-2x/NPK	7,53	5,89	4,63	4,86	10,18	**6,62**
	P-3x/0	5,79	4,98	4,43	3,74	5,98	**4,98**
	P-3x/NPK	7,15	5,74	5,31	4,57	7,43	**6,04**
	P-4x/0	6,84	5,08	3,93	3,37	6,51	**5,15**
	P-4x/NPK	8,65	6,51	5,09	3,89	9,49	**6,73**
Kontinuální	KP I	4,72	3,72	3,79	2,64	4,17	**3,81**
	KP II	4,20	4,12	3,77	2,32	4,08	**3,70**

Tab. 7 Výnosy využité (spasené) pícní biomasy (v $t.ha^{-1}$ sena) u pastevně využívaných porostů

Systém pastvy	Varianta	Výnos využité (spasené) píce ($t . ha^{-1}$ sena)					
		2005	2006	2007	2008	2009	**X_{05-09}**
Rotační oplůtková	P-2x/O	6,28	5,74	2,46	6,69	5,78	**5,39**
	P-2x/NPK	7,42	7,68	3,02	7,68	6,15	**6,39**
	P-3x/0	5,60	5,07	2,32	7,53	5,85	**5,27**
	P-3x/NPK	6,29	6,17	4,12	8,17	6,68	**6,29**
	P-4x/0	6,29	4,56	2,41	5,34	6,08	**4,94**
	P-4x/NPK	7,10	6,58	3,81	6,39	6,91	**6,16**
Kontinuální	KP I	4,40	4,66	3,18	4,00	3,68	**3,98**
	KP II	4,11	3,84	2,42	2,48	2,85	**3,14**

Závěr

Oplůtkový systém pastvy vykazuje příznivější druhovou skladbu porostu, kdy při vypásání porostu 3x a 4x ročně dochází k rozvoji kvalitních druhů trav (kostřava luční, jílek vytrvalý, lipnice luční) a jetelovin (jetel plazivý, jetel luční). Při vypásání porostů pouze dvakrát ročně dochází k ruderalizaci porostu a ke zvýšení pokryvnosti méně hodnotných druhů (kostřava červená, pýr plazivý, pcháč oset aj.). Kontinuální pastva vede ke snížení počtu druhů a ke zvýšení výskytu bylin s nízkou přízemní listovou růžicí (pampeliška podzimní, smetánka lékařská, jitrocel kopinatý) a nízkých trav (psineček tenký, lipnice luční). Produkce píce je nejvyšší při vypásání porostů rotačně (oplůtkově) 2x ročně, při vyšší frekvenci rotační pastvy pak u porostů hnojených NPK. Porost spásaný 2x ročně vykazuje vyšší množství nedopasků. Nejvyšší kvalita a nejméně nedopasků je při rotačním vypásání porostů 4x ročně. Kontinuální pastva vykazuje při vyšším zatížení velmi nízkou produkci při malém množství nedopasků, při nízkém zatížení množství nedopasků vzrůstá a dochází k postupné ruderalizaci porostu. U 4x spásaných porostů je vhodná aplikace NPK výživy.

Použitá literatura

Holúbek, R., Jančovič, J., Krajčovič, V., Beňuška, N., Knotek, S., Šúr, D.: Lúkarstvo a pasienkarstvo. Nitra, SPU 2001, 136 s.

Jančovič, J., Ďurková, E., Vozár, Ľ.: 2003: Trávne porasty a poľné krmoviny. SPU, Nitra 2003 , 127 s.

Klimeš, F., Kobes, M., Švehla, J., Voženílková, B., Koukolová, V., Suchý, K.: Možnosti rozvíjení multifunkčního uplatnění pastevních cenóz. In: Súčasnosť a perspektívy krmovinárského výzkumu a vzdelávania v multifunkčnom využívániu krajiny. SPU Nitra, 2007, 59 – 61.

Moudrý, J., Friebel, L., Konvalina, P.: Hospodaření na trvalých travních porostech a využívání agroenvironmentálních programů v ČR. *Acta Universitatis Bohemiae Meridionales.* Č. Budějovice, 2008, XI., s. 95 – 99.

Mrkvička, J.: Pastvinářství. AF ČZU Praha, 1998, 81 s.

Novák, J.: Ekosystémy krmovín. VES Nitra, SPU 2000

Opitz Von Boberfeld, W.: Grünlandlehre. Stuttgart, Verl. E. Ulm., 1994. 336 p.

Pozdíšek, J., a kol.: Využití trvalých travních porostů chovem skotu bez tržní produkce mléka. Zemědělské informace, ÚZPI, Praha, 2, 2004, 103 s.

Svobodová, M., Šantrůček, J., Skalický, M.: Pastva a zastoupení jetelovin v TTP. Úroda, 2016, dostupné z www.úroda.cz, [on line], cit. 27.1.2017

Šantrůček, J., Mrkvička, J., Svobodová, M., Veselá, M., Vrzal, J.: Základy pícninářství. Praha, AF ČZU 2001, 139 s.

Šarapatka, B.: Ekologické zemědělství a biodiverzita, Farmář 12, 2002, s. 6-9.

Štýbnarová, M.: Využití talířového měřidla k odhadu výnosu pastevních porostů o rozdílném floristickém složení. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2016. FAPPZ ČZU Praha, 2016, s. 69 – 74.

Veselá, M., Mrkvička, J., Šantrůček, J., Štráfelda, J., Velich, J., Vrzal, J.: Návody ke cvičení z pícninářství. AF VŠZ Praha 1994, 205 s.

Kontaktní adresa:

Ing. Milan Kobes, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta, Katedra genetiky a speciální produkce rostlinné
Na sádkách 1780
370 05 České Budějovice, kobes@zf.jcu.cz

PESTOVANIE MOHÁRU TALIANSKEHO (*SETARIA ITALICA* (L.) P. BEAUV.) V SUCHÝCH OBLASTIACH SLOVENSKA

Cultivation of the Hungarian millet (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) in dry areas of Slovakia

Kováč L., Jakubová J., Hecl J.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav agroekológie Michalovce, SR

Abstrakt

V rokoch 2016 – 2018 boli na experimentálnom pracovisku NPPC – VÚA Michalovce v Milhostove zakladané pokusy s mohárom talianskym (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.). Pokusy boli zakladané pri konvenčnej technológii s orbou a redukovanou technológiou bez orby pri troch úrovniach výživy, a to hnojenie NPK, NPK + liadok amónny a NPK + organická rastlinná výživa Riverm. Na úrody moháru talianskeho preukazne vplýval pestovateľský ročník s priebehom meteorologických faktorov. V pokusoch sa preukazne vyššie úrody zrna moháru potvrdili pri jeho pestovaní konvenčnou agrotechnikou. Pri aplikácii liadku amónneho a organickej rastlinnej výživy Riverm sa preukazne zvyšovala úroda zrna moháru talianskeho v porovnaní s nehnojenou kontrolou.

Kľúčové slová: Mohár taliansky, úrody, obrábanie pôdy, hnojenie

Abstract

In Milhostov, at Experimental work place of NAFC – Agroecology Research Institute in Michalovce, the field experiments with Hungarian millet (*Setaria italica* (L.) P. Beauv.) were carried out between years 2016 and 2018. Two tillage technologies, namely conventional technology with ploughing and reduced technology without ploughing, were tested. Three variants of nutrition were examined as follows: variant with NPK fertilization, variant with NPK fertilizer + ammonium nitrate, NPK fertilizer + organic plant nutrition Riverm. Meteorological factors of each experimental year had the statistically significant effect on Hungarian millet grain yields. Higher yields were determined for Hungarian millet cultivated under conventional technology. Application of ammonium nitrate and organic plant nutrition Riverm statistically significantly increased the Hungarian millet yield in compare to variant with NPK fertilization.

Key words: *Hungarian millet*, yields, soil tillage, fertilisation

Úvod

Mohár taliansky je jednou z najstarších kultúrnych rastlín. Jeho význam v rokoch klesal a v súčasnej dobe významné pestovateľské plochy zaberá len v severných aridných oblastiach Číny. Podľa Léder (2004) sa mohár v Ázii pestuje najmä na ľudský konzum . Zrno sa melie na múku, z ktorej sa vyrába kaša, placky a ďalšie produkty. U nás je to alternatívna plodina, ktorej zrno nachádza uplatnenie medzi funkčnými potravinami. Obsah lepku v zrne moháru je na nízkej úrovni a preto je vhodný na bezlepkovú diétu (Petr et al. 2003). Tým rozširuje spektrum bezlepkových potravín. Porast moháru sa využíva aj na zeleno, siláž a na výrobu sena. Jeho výhodou je suchovzdornosť a pre kratšiu vegetačnú dobu sa môže využiť ako medziplodina (Antal 1992, Baltensberger 1996). Hermuth et al. (2015) uvádzajú, že hoci mohár je teplomilnejšia plodina ako proso na pôdu a pestovateľské podmienky má podobné nároky. Mohár má pomalý počiatočný vývoj a preto je dôležité, aby sa porast udržal nezaburinený

(Chrappán et al. 1997). Podľa Antala (2000) je mohár v porovnaní s ostatnými obilninami náročný na živiny a to najmä ak sa pestuje ako hlavná plodina.
Cieľom príspevku bol výskum vplyvu prípravy pôdy a výživy na úrodu zrna moháru talianskeho na ťažkých pôdach Východoslovenskej nížiny.

Materiál a metódy

Pokus s mohárom talianskym bol zakladaný v rokoch 2016 až 2018 na experimentálnom pracovisku NPPC – VÚA v Milhostove. Pôdy sú charakterizované ako ťažké, ílovito-hlinité fluvizeme glejové s priemerným obsahom ílovitých častíc vyšším ako 53 %. Pokus sa zakladal dvoma spôsobmi obrábania pôdy, a to konvenčnou agrotechnikou (KA) spojenou s orbou a redukovanou agrotechnikou (RA) bez orby.
Pri konvenčnom obrábaní pôdy sa po zbere predplodiny urobila podmietka, potom stredná orba, jarná predsejbová príprava radličkovým kypričom a sialo sa sejačkou Pneusej. Pri redukovanom variante sa po zbere predplodiny urobila podmietka a na jar pred sejbou sa pôda pripravila radličkovým kypričom. Sledovali sa tri úrovne výživy: 1.NPK , 2.NPK+LAD a 3.NPK+Riverm. Kombinované priemyselné hnojivo NPK (15:15:15) sa aplikovalo pri predsejbovej príprave pôdy v dávke 200 kg.ha^{-1} pod všetky varianty. Liadok amónny (LAD 27%) sa aplikoval na začiatku steblovania v dávke 100 kg.ha^{-1}. Tak isto na konci steblovania sa aplikovala tekutá organická výživa Riverm v 4 % koncentrácii. K sejbe sa využila odroda Šarolta. Výsevok bol vo výške 15 kg.ha^{-1}. Porasty sa zakladali v druhej polovici apríla. Pokusy boli zberané maloparcelkovým kombajnom Seedmaster a úrody sa vyhodnotili matematicko-štatistickými metódami (analýza variancie), ktorými sa zistili základné charakteristiky súboru údajov a otestovali sa hypotézy.

Výsledky a diskusia

Priebeh agro-meteorologických faktorov v pokusnom období je uvedený v tabuľkách 1 a 2. Hodnoty priemernej teploty vzduchu a sumy zrážok sú porovnávané s dlhodobým normálom (DN) týchto parametrov z rokov 1981 – 2010.

Priemerné teploty vzduchu a sumy zrážok monitoruje SHMÚ na monitorovacej meteorologickej stanici nachádzajúcej sa priamo v Milhostove. Dlhodobá priemerná teplota vzduchu v období apríl až september v Milhostove je 16,6 °C, za celý rok 9,4 °C. Ako vyplýva z údajov v tabuľke 1., vo vegetačných obdobiach rokov 2016 – 2018 bola priemerná teplota vzduchu vyššia ako dlhodobý 30-ročný priemer. Odchýlka od tohto teplotného normálu (od +0,6 °C do +2,6 °C) poukazuje na to, že vegetačné obdobie 2016 bolo teplé, v roku 2017 teplotne normálne a v roku 2018 bolo vegetačné obdobie mimoriadne teplé. Aj priemerné teploty vzduchu celého roka boli vyššie ako dlhodobý normál o 0,6 až 1,9 °C. Týmto odchýlkam zodpovedá teplý rok 2016 a 2017 a silne teplý rok 2018.

Tab. 1: Priemerné mesačné teploty vzduchu v Milhostove [°C]

Mesiac		DN	2016			2017			2018		
			° C	odch.	hodn.	° C	odch.	hodn.	° C	odch.	hodn.
$\bar{x}$	I. – XII.	9,4	10,5	+1,1	T	10,0	+0,6	T	11,3	+1,9	VT
$\bar{x}$	IV. – IX.	16,6	17,7	+1,1	T	17,2	+0,6	N	19,2	+2,6	MT

Kde: N – normálny, T – teplý, VT – veľmi teplý, MT – mimoriadne teplý

Pre optimálny priebeh produkčného procesu pestovaných plodín sú veľmi dôležité zrážkové úhrny. Z tabuľky 2 vyplýva nielen variabilita zrážok v rokoch 2016 – 2018, ale aj ich nerovnomerné rozdelenie počas vegetačného obdobia. Vegetačné obdobie hodnotených rokov 2016 – 2018 so sumami zrážok dosahujúcimi 318 – 368 mm, t. j. 85,0 – 98,4 % DN, boli

zrážkovo normálne. Z pohľadu celého roka bol rok 2016 so sumou zrážok 697 mm (t. j. 122,9 % DN) hodnotený ako vlhký. Sumy zrážok v rokoch 2017 a 2018 dosiahli 90,3 – 102,8 % DN, čo boli zrážkovo normálne roky.

Tab. 2: Mesačné úhrny zrážok v Milhostove [mm]

Mesiac	DN	2016			2017			2018		
		mm	% DN	hodn.	mm	% DN	hodn.	mm	% DN	hodn.
Σ I. – XII.	567	697	122,9	V	583	102,8	N	512	90,3	N
Σ IV. – IX.	374	350	93,7	N	368	98,4	N	318	85,0	N

Kde: N – normálny, V – vlhký

Úrody zrna moháru talianskeho za roky 2016 – 2018 sú uvedené v tab. 3. V roku 2016 sa úrody pohybovali od 1,45 t.ha^{-1} až do 1,96 t.ha^{-1}. Nižšie úrody sa dosahovali pri samotnom NPK hnojení. Aplikáciou liadku amónneho resp. Rivermu sa úrody zvyšovali. Podľa Chrappána et al. (1997) aplikáciou 30 až 50 kg .ha^{-1} dusíka na začiatku steblovania sa zvyšuje úroda a zlepšuje odolnosť porastu moháru proti stresovým faktorom. Úrody zrna dosiahnuté v roku 2016 sú na úrovni zodpovedajúcej mohárom typu moharia 1,5-2,0 t.ha^{-1}, ako to uvádzajú Lazányi (1999), Romhány et al. (2010) a Zsombik et al. (2015). Hermuth et al. (1997) v podmienkach Českej republiky uvádzajú úrody pohybujúce sa v rozmedzí od 1,5 do 4,0 t.ha^{-1}.

V porovnaní s rokom 2016 sa v roku 2017 dosahovali nižšie úrody. Pri porovnaní obrábaní pôdy boli nižšie úrody na redukovanej agrotechnike a pri porovnaní variantov hnojenia na kontrole hnojenej len samotným priemyselným hnojivom NPK.

Najnižšie úrody moháru talianskeho sa dosahovali v mimoriadne teplom roku 2018. Aj keď zrážkový úhrn za vegetáciu bol v roku 2018 normálny, jeho rozloženie počas vegetácie nezodpovedalo potrebám porastu moháru. V čase sejby bolo mimoriadne teplé počasie, ktoré pretrvávalo dlhú dobu po sejbe a malo za následok nekompletne vzídený a preriedený porast. Apríl 2018 bol najteplejším aprílom od začiatku meteorologických pozorovaní na území Slovenska, v Milhostove s odchýlkou teploty vzduchu o +4,6 °C v porovnaní s normálom 1961-1990, Zrážky v neskoršom období už nemohli kompenzovať výpadok porastu, čo sa prejavilo na výške úrod, ktoré sa pohybovali od 0,62 do 0,83 t.ha^{-1}. Veľmi nízke úrody v roku 2018 ovplyvnili celkový priemer za tri roky 1,10 až 1,31 t.ha^{-1}. V pokuse bol využitý moharia typ moháru. Chrappán et al. (1997) a Gocs (2002) uvádzajú, že vyššie úrody zrna ako moharia typy poskytujú moháre typu media a predovšetkým typu maxima (čumiza). Moharia typy mohárov sú zas lepšie využiteľné na produkciu sena, siláže a biomasy.

Tab. 3: Úrody zrna moháru talianskeho [t.ha^{-1}] pri 14 % vlhkosti

Obrábanie pôdy	Hnojenie	2016	2017	2018	Priemer
Konvenčné	NPK	1,45	1,03	0,81	1,10
	NPK+LAD	1,83	1,24	0,71	1,26
	NPK+Riverm	1,96	1,14	0,83	1,31
Redukované	NPK	1,78	0,92	0,59	1,10
	NPK+LAD	1,92	1,03	0,64	1,20
	NPK+Riverm	1,91	1,11	0,62	1,21

Produkčné parametre moháru siateho boli vyhodnotené aj štatisticky. Štatistické hodnotenia potvrdili preukazne vyššie úrody pri konvenčnej agrotechnike s orbou v porovnaní s redukovanou agrotechnikou. Aplikácia liadku amónneho a Rivermu preukazne zvyšovala úrodu oproti kontrole, ktorou bola sólo aplikácia NPK. Na úrodu preukazne vplýval pestovateľský ročník. Preukazne vyššie úrody sa dosiahli v roku 2016, pred rokom 2017 a suchým a teplým rokom 2018.

Tab. 4: Viacfaktorová analýza rozptylu a viacnásobné porovnanie úrod zrna moháru talianskeho LSD-testom

Zdroj variability	Stupne voľnosti	F-test	Preukaznosť	Úrody [t.ha^{-1}]	Skupina homogenity			
Obrábanie pôdy	1	4,40	++	1,22	KA		x	
				1,17	RA	x		
Hnojenie	2	15,69	++	1,10	NPK	x		
				1,23	NPK+LAD		x	
				1,26	NPK+Riverm		x	
Roky	2	654,37	++	1,81	2013			x
				1,08	2014		x	
				0,70	2015	x		
Rezíduá	63							
Celkom	71							

Záver

Z výsledkov dosiahnutých v pokusoch s mohárom talianskym vyplývajú nasledovné závery:

- Na úrody zrna moháru talianskeho preukazne vplýval pestovateľský ročník s priebehom meteorologických faktorov.
- Pri porovnaní technológií zakladania porastov zrnových cirokov sa preukazne vyššie úrody dosahovali pri využití konvenčnej agrotechniky s orbou ako pri redukovanej agrotechnike bez orby.
- Pri aplikácii liadku amónneho a tekutej organickej výživy Riverm sa preukazne zvyšovala úroda v porovnaní s nehnojenou kontrolou.

Poďakovanie

Práca bola podporovaná Agentúrou pre vedu a výskum na základe zmluvy č. APVV-15-0489: Analýza sucha viackriteriálnymi metódami štatistiky a data miningu z pohľadu návrhu adaptačných opatrení v krajine.

Použitá literatúra

Antal, J., 1992: Mohar. In: Bocs, E. (eds.) Szántóföldi növénytermesztés. Mezőgazda kiadó. Budapest, 1992, p. 360-361.

Antal, J., 2000.: Moharfélék. Növénytermesztők zsebkönyve. Mezőgazda kiadó. Budapest, 2000, p. 291-294.

Baltensperger, D. D., 1996: Foxtail and Proso Millet. In: Janick, J. (eds.) Progress in New Crops. ASHS Press. Alexandria, 1996, p. 182-190.

Gocs, L., 2002: Mohar (*Setaria italica* L.) Debreceni Egyetem ATC Kutató Központ Nyíregyháza. In: Lazányi, J. (eds.) A Debreceni Agrártudományi Egyetem kutatóhelyein nemesített és fentartott növényfajták ismertetése. Licium-Art Kft., 2002. Debrecen, p. 186-187.

Hermuth, J. et al., 1997: Netradiční a perspektivní meziplodiny.In: Úroda, 1997, č.7, s. 14. ISSN: 0139-6013

Hermuth, J. et al., 2015: Bér vlašský *Setaria italica* (l.) Beauv. Vhodná plodina do měnícího se klimatu České republiky. Metodika pro praxi. VÚRV,v.v.i., Praha-Ruzyně. 2015. 33 s. ISBN 978-80-7427-175-5.

Chrapppán et al., 1997: Amit a cirok- és madáreleség-félékről tudni kel. Agroinform Kiadó. Budapest, 1997, p.102.

Lazányi, J., 2012 : Foxtail millet. In: Lazányi, J. and Dobranszki, J. (eds.) Agricultural research in Nyirség region. Research centre of Debrecen university. RIM Printing Company, Nyiregyháza 88p.

Léder, L., 2004: Moharújdonság. Egy ősi kultúrnövény modern kontösben. Gabona kutatóhiradó. A gabonatermesztési kutató Közhasznú Társaság lapja , 2004. 18. évf. 2. sz. p. 13.

Petr J., et al., 2003: Extension of the Spektra of Plant Products for the Diet in Coeliac Disease. Czech J. Food Sci. 21 (2), 2003, s. 8-15.

Romhány, L. et al., 2010: Mohar (*Setaria italica* L. P. Beav.). In: Az alternatív növények szerepe az Észak-alföldi Régióban (Szerk.: Gondola, I.), DE AGTC KIT Kutatóintézet, Nyíregyháza, 2010. pp. 277-286, ISBN 978-963-473-386-7.

Zsombik, L. et al. 2015. Szaktanácsadási központok a magyar-szlovák határmenti régióban – Poradenské centrá v maďarsko-slovenskom prihraničnom regióne. Debrecen : Debreceni Egyetem, 2015. - 200 s.

Kontaktná adresa:
Ing. Ladislav Kováč, PhD.
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav agroekológie Michalovce,
Špitálska 1273, 071 01 Michalovce
Email: ladislav.kovac@nppc.sk

VLIV RŮZNÝCH ZPŮSOBŮ HNOJENÍ DIGESTÁTEM NA VÝNOS KUKUŘICE, DOSTUPNOST A ZTRÁTY ŽIVIN

Effect of different digestate application on maize yield, losses and availability of nutrients

Kusá H., Růžek P., Vavera R.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

Abstrakt

V polním pokusu na stanovišti v Praze-Ruzyni byl sledován vliv různých způsobů aplikace digestátu na ztráty amoniaku, výnos a odběr živin zrnem kukuřice. Největší ztráty amoniaku byly zjištěny v průběhu dvanácti hodin po povrchové aplikaci. Při podpovrchové byly zanedbatelné. Různý termín, hloubka a vzdálenost uložení digestátu od řádku ovlivnily výnos zrna a příjem dusíku zejména v suchém roce 2018. Nejvyšší výnos byl dosažen po podpovrchové aplikaci digestátu do vzdálenosti 10 cm od řádku dva týdny před setím kukuřice. V roce 2019 nebyly zjištěny významné rozdíly mezi hnojenými variantami.

Klíčová slova: digestát, volatilizace amoniaku, dostupnost živin, výnos plodin

Abstract

The effect of various ways of application of digestate on ammonia losses, yield and nutrient uptake by corn grain was investigated in a field experiment in Prague-Ruzyně. The greatest losses of ammonia were detected within 12 hours after topical application. They were negligible in subsurface one. The different term, depth and distance of digestate placement from row have influenced grain yield and nitrogen uptake especially in the dry year 2018. The highest yield was achieved after subsurface application of digestate up to 10 cm besides row two weeks before maize sowing. In 2019 there were no significant yield differences among fertilized variants.

Key words: digestate, ammonia volatilization, nutrients availability, crop yield

Úvod

Digestáty ze zemědělských BPS patří mezi typová organická hnojiva. Jejich složení je proměnlivé dle druhu a zastoupení jednotlivých surovin, průběhu digesce či době zdržení ve fermentoru. Např. vyšší podíl kukuřice se projevuje vyšším obsahem přístupného fosforu a železa, absence kejdy na vstupu vede k nižšímu obsahu přístupného fosforu a amonného dusíku apod. (Tlustoš a kol., 2014). V průběhu ananerobní digesce dochází k uvolnění živin z organických vazeb, které jsou pak rostlinám rychleji přístupné než ze statkových hnojiv (Dimitru, 2014). Vykazují tak nižší obsah labilnějších frakcí uhlíku a vyšší hodnotu pH (7,9 – 9,0), jež vede k vyšším ztrátám dusíku ve formě emisí amoniaku. Digestáty bez další úpravy vykazují poměr C : N < 10 (zpravidla C : N = 4 – 6) náleží k hnojivům s rychle uvolnitelným dusíkem. Jsou významným zdrojem živin, zejména dusíku (4 - 7 g/l, přičemž 50 – 70% představuje dusík amonný) a draslíku (3 – 5 g/l). Dalších makroprvků obsahují sice podstatně méně (1 – 2 g Ca /l; 0,3 – 0,6 g Mg/l; 0,4 – 0,6 g P/l), ale příznivě ovlivňují výnosy různých plodin, i ve srovnání s minerálními hnojivy (Abubaker a kol, 2012; Jaša a kol., 2019). Používání digestátů na zemědělské půdě však může vést ke zhoršování jejich fyzikálních vlastností (objemové hmotnosti, struktury apod.). Badalíková a kol. (2018) zjistili pokles vodostálosti půdních agregátů se stoupající četností aplikace digestátu na pozemku.

Materiál a metody

Polní pokus s různými způsoby aplikace digestátu a minerálních hnojiv ke kukuřici byl založen na stanovišti v Praze-Ruzyni (řepařská výrobní oblast; 340 m n. m.; roční úhrn srážek 472 mm, průměrná roční teplota 7,9°C; hnědozem na spraši) v letech 2018 a 2019. Porovnávány byly dva způsoby lokální aplikace digestátu 2 týdny před setím, a dvě kombinace minerálního hnojení močovinou při setí a digestátem ve fázi 6. listu (Tab. 1). Byly sledovány ztráty amoniaku po aplikaci digestátu na povrch a do půdy nasáváním vzduchu pomocí LI-COR 8100 do roztoku kyseliny borité a následným kolorimetrickým stanovením koncentrace NH_4-N. Všechny varianty byly založeny ve čtyřech opakováních s celkovou dávkou dusíku 120 kg N/ha, což dle složení digestátu (Tab. 2) představovalo 27,1 nebo 24 m^3 digestátu/ha. Kukuřice na zrno (DKC 3511, DKC 3787) byla zaseta na pozemku po ozimé pšenici (3. 5. resp. 26. 4.). Ve fázi 10. listu (11. 6. resp. 18. 6.) byly odebrány vzorky rostlin ke sledování nárůstu nadzemní hmoty a odběru živin a vzorky půdy v místě uložení digestátu a ve vzdálenosti 10 cm od středu aplikace ve vrstvách po 5 až 10 cm ke sledování rozdělení živin v půdním profilu. Kukuřice byla sklizena 5. 9. resp. 17. 9. Zvlášť byl stanoven výnos a odběr živin zrnem a zbytkem rostlin, residuální obsah živin v půdě v 5 až 10 cm vrstvách.

Výsledky byly statisticky hodnoceny s využitím softwaru (Statistika.cz) za pomoci jednofaktorové analýzy rozptylu a Tukeyova HSD testu.

Tab. 1: Varianty polního pokusu s různým hnojením kukuřice

Aplikace	**20.4. 18 10.4. 19**		**3.5. 18 26.4.19**		**29.5. 18 4.6. 19**	
varianta	Hnojivo	Uložení	Hnojivo	Uložení	Hnojivo	Uložení
Ko	-		-		-	
10-10	Digestát 120 kg N/ha	10 cm pod povrch, 10 cm od řádku, po jedné straně				
25-10	Digestát 120 kg N/ha	10 cm pod povrch, 25 cm od řádku, po jedné straně				
V25-10			Močovina 40 kg N/ha	Plošně, zapraveno pod povrch	Digestát 80 kg N/ha	10 cm pod povrch, 25 cm od řádku po obou stranách
V25-P			Močovina 40 kg N/ha	Plošně, zapraveno pod povrch	Digestát 80 kg N/ha	Na povrch, 25 cm od řádku po obou stranách

Tab. 2: Základní parametry použitého digestátu

g/l	**Sušina**	**N**	**NH4-N**	**P**	**K**	**Ca**	**Mg**	**pH**
2018	52,5	4,42	3,13	0,50	4,08	1,45	0,42	8,0
2019	45,5	4,99	3,56	0,46	4,75	1,67	0,43	7,8

Výsledky a diskuse

Oba ročníky byly mimořádně teplé (prům. denní teplota v průběhu vegetace 1,5 – 2,5°C nad dlouhodobým normálem stanoviště), ale srážkově velice odlišné (Graf 1), což se projevilo především na rozdělení živin v půdě a jejich dostupnosti pro rostliny.

Emise amoniaku. Intenzita ztrát amoniaku závisí na řadě faktorů, zejména vlastnostech hnojiva (obsah NH_4-N, pH, obsah sušiny. .) a půdy, povětrnostních podmínkách i způsobu aplikace. Po

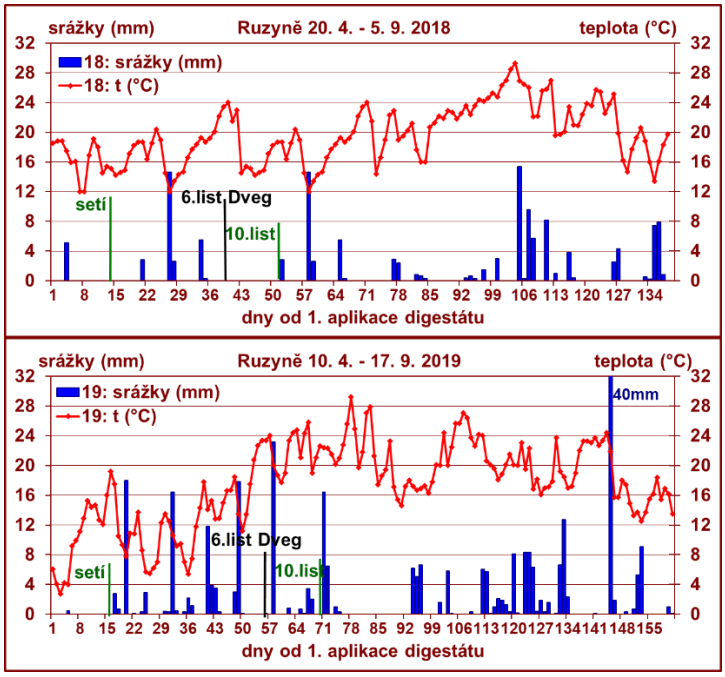
přihnojení kukuřice digestátem byly zjištěny významné ztráty amoniaku po povrchové aplikaci, vyjádřené v grafu 2 jako koncentrace amoniaku v ovzduší nad pokusnými parcelami. Digestát byl aplikován v ranních hodinách při nižších teplotách. Nejvyšší ztráty amoniaku zjištěny po aplikaci a s časem rychle klesaly, jak se digestát vsakoval do půdy. Reakce na kolísání teploty půdy během dne nebyla pozorována. K vyšším ztrátám amoniaku v roce 2018 přispěla vyšší hodnota pH a obsah sušiny v digestátu. Koncentrace měřitelné zvolenou metodou byly zjištěny v průběhu 30 hodin po aplikaci, významné během prvních dvanácti. Z toho vyplývá, že legislativní požadavek na zapravení hnojiv s poměrem C:N <10 do 24 hodin po aplikaci je z hlediska omezení ztrát amoniaku neúčinný. Při podpovrchové aplikaci do 10 cm hloubky byly ztráty amoniaku zanedbatelné, což potvrzují i výsledky Wanga a kol. (2016), kteří sledovali významnou volatilizaci amoniaku do aplikační hloubky 6 cm, při 10 cm byla hraniční hloubka a dále již byly ztráty zanedbatelné. Měření prováděli v modelových podmínkách při nižší stálé teplotě, proto pozorovali únik amoniaku s menší intenzitou a delší dobu než zde, kde teplota povrchu půdy během dne přesahovala i 50°C.

Živiny v půdě. Po povrchové aplikaci se digestát pomalu vsakoval a zůstával na povrchu i několik hodin, při podpovrchové aplikaci vzlínal k povrchu, a to především v roce 2018, kdy byla aplikována mírně vyšší dávka digestátu a do sušší půdy než v roce 2019. Způsob aplikace digestátu ovlivnil dostupnost živin a jejich odběr rostlinami především v roce 2018, kdy během vegetace kukuřice spadlo méně než 50% dlouhodobého srážkového normálu pro toto období. Ve fázi 10. listu byla zjištěna nejvyšší koncentrace živin v neprokořeněné povrchové 5 cm vrstvě půdy a živiny nemohly být dočasně využity rostlinami. Pozitivní byla skutečnost, že 95% minerálního dusíku bylo v nitrátové, tedy mobilní formě, která byla po srážkách posunuta do půdního profilu. Po sklizni byl v půdě nalezen dusík pouze v nitrátové formě (koncentrace NH_4-N byla u všech variant téměř na hranici detekce použité metody, a proto zde nejsou data uvedena). Kvůli omezenému vsakování digestátu do půdy byly nejvyšší koncentrace všech sledovaných prvků zjištěny vždy v místě aplikace, v paralelních odběrech byly srovnatelné s nehnojenou kontrolou. Pohyblivý nitrátový dusík byl jedinou živinou, jejíž zvýšené obsahy po hnojení digestátem byly zjištěny ve vzdálenosti 10 cm od středu aplikace a nebyly vždy nejvyšší v povrchové vrstvě půdy (Tab. 3). Draslík vázaný na půdní komplex zůstal zakoncentrován v povrchové vrstvě po celou dobu vegetace. Ještě po sklizni kukuřice byly u všech variant zjištěny nejvyšší koncentrace draslíku v povrchové vrstvě půdy do 5 cm a s hloubkou odběru výrazně klesaly až na úroveň srovnatelnou s kontrolní nehnojenou variantou, jak dokládají data uvedená v Tab. 3 (analýzy z roku 2019 ještě nejsou dokončeny). Nejvyšší koncentrace draslíku v povrchové vrstvě byla samozřejmě zjištěna po povrchové aplikaci digestátu. I při jeho uložení do hloubky 10 cm byly v důsledku vzlínání digestátu výrazně vyšší obsahy nejen v této hloubce, ale i v povrchové vrstvě. Stejné trendy byly zjištěny u i fosforu.

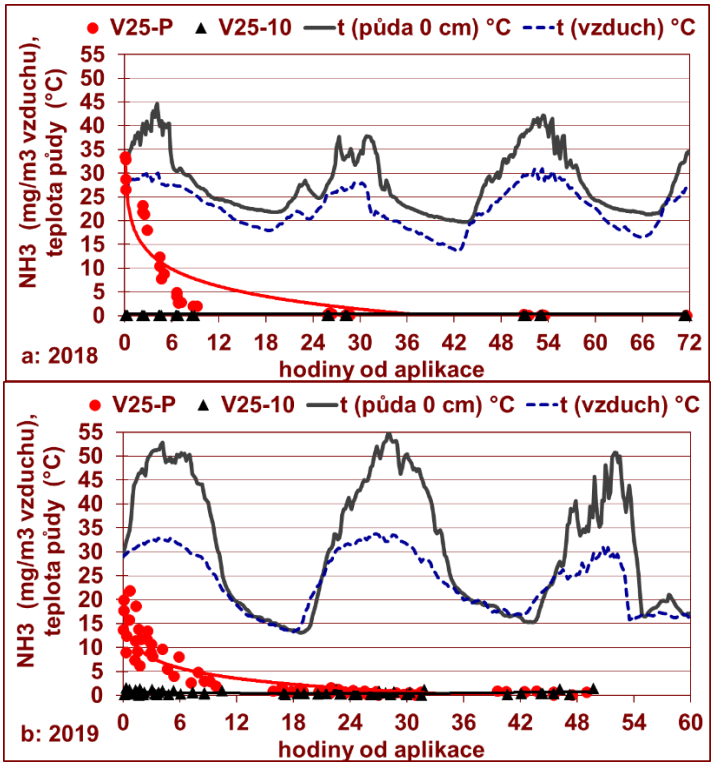
Výnos zrna kukuřice, odběr N. Z výše uvedených dat o rozdělení živin v půdě vyplývá, že čím dále od řádku byl digestát aplikován, tím hůře byly živiny dostupné pro rostliny. Umístění digestátu vzhledem k rostlinám se více projevilo v suchém roce 2018, kdy v období od přihnojení za vegetace do odběru vzorků ve fázi 10. listu nespadly žádné srážky. Nejvyšší nárůst rostlin i odběr dusíku v této fázi (Graf 3) byl zjištěn po aplikaci před setím 10 cm od řádku. U této varianty bylo dosaženo i nejvyššího výnosu zrna (Graf 4), i když rozdíly mezi variantami nebyly velké a statisticky významné. Ročník 2019 byl ještě vyrovnanější. V době mezi aplikací digestátu a odběrem vzorků přišly efektivní srážky (celkem 117 mm od aplikace před setím a 30 mm od přihnojení), které zlepšily dostupnost živin pro rostliny. Mezi hnojenými variantami nebyly v této fázi rozdíly v nárůstu hmoty, odběr dusíku byl pozitivně ovlivněn uložením hnojiva blíže k řádku (var. 10-10) nebo po obou stranách řádku (V25-10) (Graf 3). Během vegetace se kromě lepší dostupnosti živin po srážkách projevila i vyšší zásoba živin, která zůstala v půdě v důsledku nízkého výnosu plodin v předcházejícím suchém roce. Proto použití digestátu v tomto ročníku významně nezvýšilo výnos zrna kukuřice, ale projevilo se pouze

průkazně vyšším odběrem dusíku zrnem. Rovněž Jaša a kol. (2019) zjistil pozitivní, ale stat. nevýznamný vliv hnojení digestátem na výnos kukuřice a převažující vliv intenzity srážek v ročníku

Graf 1: Povětrnostní podmínky v průběhu vegetace kukuřice



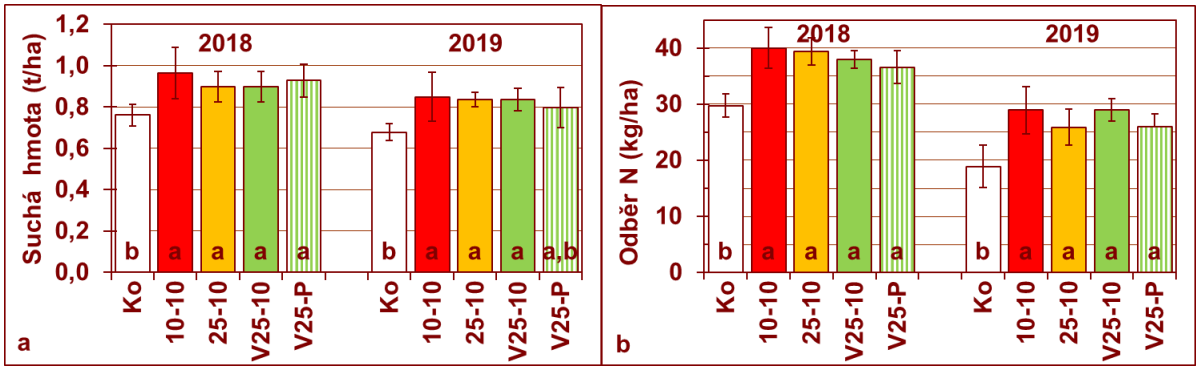
Graf 2: Koncentrace amoniaku v ovzduší nad parcelami s různými způsoby aplikace digestátu do porostu kukuřice



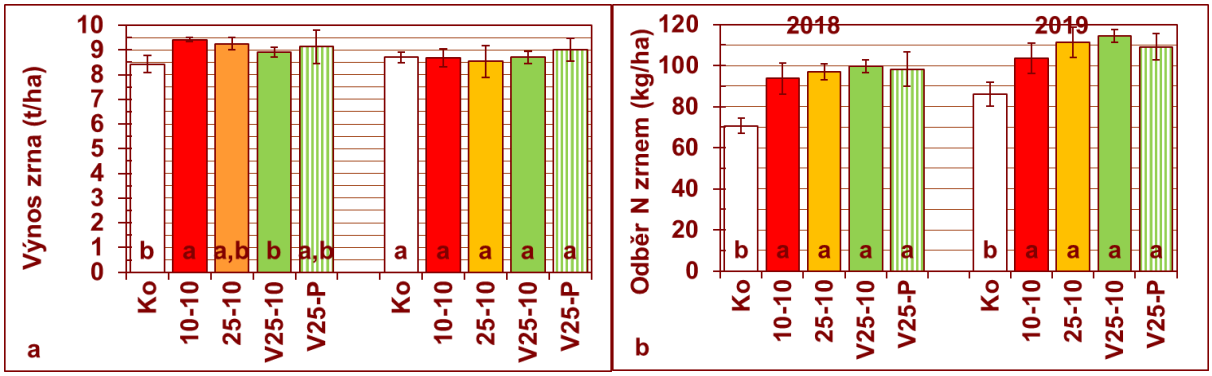
Tab. 3: Koncentrace živin v půdě (mg/kg) po sklizni kukuřice 2018 zjištěná v místě aplikace („0“) a 10 cm („+10“) od středu aplikace digestátu

	Varianta	Ko	10-10		V25-10		V25-P	
	Hloubka /pozice		0	+10	0	+10	0	+10
NO_3-N	0 - 0,05 m	19,85	43,95	15,77	42,36	17,15	43,65	10,14
	0,05 - 0,10 m	8,230	19,57	21,13	61,27	26,78	31,52	14,60
	0,10 - 0,20 m	3,739	14,79	10,98	14,03	14,90	10,72	6,770
	0,20 - 0,30 m	4,038	2,006	5,181	2,472	4,253	2,090	4,492
Fosfor	0 - 0,05 m	8,549	11,41	7,854	10,50	8,074	12,66	7,659
	0,05 - 0,10 m	5,284	11,69	5,092	7,228	4,590	5,128	4,110
	0,10 - 0,20 m	2,231	1,929	1,321	1,427	2,035	4,629	1,781
	0,20 - 0,30 m	1,122	1,255	1,554	1,447	1,402	1,799	1,698
Draslík	0 - 0,05 m	291,2	495,4	308,2	449,1	344,4	504,2	302,1
	0,05 - 0,10 m	192,1	302,4	172,7	288,3	180,2	213,3	179,8
	0,10 - 0,20 m	151,4	174,4	150,4	148,6	179,6	205,6	147,3
	0,20 - 0,30 m	131,0	149,3	134,7	135,5	133,5	131,9	147,0

Graf 3: Nárůst hmoty kukuřice a odběr dusíku rostlinami ve fázi 10. listu



Graf 4: Výnos zrna kukuřice a odběr dusíku zrnem



Závěr

Největší ztráty amoniaku byly zjištěny v průběhu dvanácti hodin po povrchové aplikaci digestátu. Při podpovrchové byly zanedbatelné. Z tohoto hlediska je nutné, aby došlo k alespoň mělkému zapravení bezprostředně po aplikaci. Přejezd těžké techniky po provlhčené půdě není vhodný, vede k jejímu utužení půdy a zhoršení struktury. Vhodnější se jeví podpovrchová aplikace digestátu, která významně omezila znečištění ovzduší únikem amoniaku. Vhodnější byla i z hlediska dostupnosti živin pro rostliny, které byly uloženy blíže kořenové zóny rostlin.

Živiny s malou pohyblivostí v půdě (zejména draslík) byly přesto v místě aplikace koncetrovány v horních vrstvách půdy (0-5, 5-10 cm). Vliv umístění hnojiva se projevil v suchém roce 2018. Nejvyšší výnos byl dosažen po podpovrchové aplikaci digestátu do vzdálenosti 10 cm od řádku dva týdny před setím kukuřice. V roce 2019 při dostatku srážek a vyšší zásobě dusíku v půdě nebyly zjištěny významné rozdíly mezi hnojenými variantami, ani průkazné zvýšení výnosu zrna ve srovnání s nehnojenou kontrolou.

Dedikace

Publikované výsledky byly získány za finanční podpory TAČR v rámci projektu TH02010706.

Literatura

Abubaker, J., Risberg, K., Pell, M. 2012. *Applied Energy, 99: 126-134*

Badalíková, B., Novotná, J. 2018. *Agromanuál 13 (1): 38-39*

Dimitru, M. 2014. *Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development. 14 (1): 115-120*

Jaša, S., Badalíková, B., Červinka, J. 2019. *Acta Universitatis Agricultuare et Silviculturae Mendelianae Brunensis. 67 (1): 75-83*

Wang, L. L., Li, W. Z., Wang, Z. J., Wang, Z. W., Sui, C., Li, Y. 2016. *Int J Agric & Biol Eng, 9(5): 101 ─110*

Tlustoš a kol. 2014. Stanovení fyzikálních a chemických vlastností pevných a kapalných složek digestátu bioplynových stanic. *Cert. metodika*, ISBN 978-80-213-2513-5, 25 pp.

Kontaktní adresa:

Ing. Helena Kusá, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6
kusa@vurv.cz

VLIV VÝSEVKU, ŠÍŘKY ŘÁDKŮ A INOKULACE NA ZAPOJENÍ POROSTU JESTŘABINY VÝCHODNÍ (*GALEGA ORIENTALIS* LAM.) NA ORNÉ PŮDĚ V SUCHÝCH PODMÍNKÁCH

The influence of seeding rates, row width and inoculation on stand development of *Galega orientalis* on arable land in dry condition

Lang, J.

Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko

Abstrakt

V roce 2017 byl založen pokus s jestřabinou východní (*Galega orientalis*) v pokusnických variantách úzkých (12,5 cm) a širokých (25 cm) řádků a s rozdílnými výsevky (15 a 20 kg.ha^{-1}). Následující dva roky bylo hodnoceno zapojení porostu ve vegetaci před každou sklizní, v každém roce proběhly sklizně tři. Bylo zjištěno, že rozteč řádků, ani výše výsevku nemají vliv na pokryvnost porostu.

Klíčová slova: jestřabina východní, pokryvnost, plevele

Abstract

The experiment with fodder galega (*Galega orientalis*) was established in 2017. Two variants of row width - 12,5 cm and 25 cm and two different sowing rates (15 a 20 kg.ha^{-1}) were used. Stand development and cover were evaluated before each cut in the following two years. In each year three cuts were performed. It was found that the is no significant influence of seeding rates, row width and inoculation on the stand development and cover.

Key words: fodder galega, cover, weeds

Úvod

Rod jestřabina (*Galega*) patří do čeledi bobovitých (*Fabaceae*) a zahrnuje zhruba šest druhů. V Evropě je domácí, a také více známá jestřabina lékařská (*Galega officinalis*), používaná v léčitelství. Jestřabina východní (*Galega orientalis*) pravděpodobně pochází z Kavkazu, kde se dodnes nachází její divoké formy. Od jestřabiny lékařské se mimo jiné liší hlavě několikanásobně nižším obsahem účinných látek, zejména alkaloidů (galegin, hydroxygalegin, vasicin), které působící neurotoxicky, hypotenzivně a dyspnoicky. Jako pícnina se používá především v Estonsku, kde výměra jestřabiny v roce 2000 dosahovala téměř 6 tisíc hektarů (Raig a kol, 2001). V České republice se jestřabina východní jako pícnina používá ojediněle. V evropské databázi odrůd jsou registrovány tři odrůdy, z toho jedna pochází z ČR s názvem „LENA“. Jestřabina má podobné využití jako vojtěška setá nebo jetel luční, tedy patří mezi bílkovinná krmiva. Estonský výzkumný ústav udává výnos 5,8 – 11,3 t.ha^{-1} suché hmoty s obsahem hrubého proteinu v závislosti na odrůdě 17,6 - 22,4 % (Raig a kol, 2001). Také udává, že je jestřabina velmi plastická v nárocích na agroekologické podmínky prostředí. V Estonsku ji zkoušeli pěstovat ve čtyřletých obdobích v každém roce čtyři sklizně. Ve čtvrtém roce ztrácela na výnosech (Raig a kol, 2001). Jestřabina východní žije v symbiotickém kořenovém vztahu s hlízkovými bakteriemi *Neorhizobium galegae*. V ČR se zabýval kolektiv autorů (Usťak a kol, 2012) využitím jestřabiny východní pro výrobu bioplynu (odrůda „GALE“). V západních Čechách se vyskytuje na trvalém travním porostu na lokalitě Otročín jestřabina východní poměrně v hojném zastoupení téměř 20 let.

Materiál a metody

V katastru obce Troubsko byl v roce 2017 založen maloparcelový pokus na orné půdě, pokusné varianty uvádí tab. č. 1. První rok byl zásevový a bylo provedeno ruční pletí po vzejití a jedna odplevelovací seč. Další dva roky byly sklizňové, v každém roce byly provedeny tři sklizně, u variant č. 4 a 7 sklizně dvě. Termíny sklizní byly následující: rok 2018: 1. sklizeň 9. 5., 2. sklizeň 10. 7., 3. sklizeň 9. 9. Rok 2019: 1. sklizeň 15. 5., 2. sklizeň 27. 6., 3. sklizeň 11. 9. Každoroční hnojení bylo následující: na jaře P (P_2O_5) 43,7 kg.ha^{-1}, K (K_2O) 258 kg.ha^{-1}. N (NO_3^-) celková dávka 100 kg. ha^{-1} byla rozdělena v závislosti na počtu sklizní. Před každou sklizní byla odečtena pokryvnost druhů metodou redukované projektivní dominance, kdy bylo posuzováno zastoupení komponent, plevelů a plocha bez porostu. Posouzení pokryvností rostlin se provádí vizuálně pohledem na porost shora, kolmo nebo mírně až středně šikmo a odhadované hodnoty pokryvnosti jsou korigovány na 100 %. Plocha jedné parcely činí 10 m^2. Statistické hodnocení projektivní dominance bylo provedeno metodou analýzy variance (ANOVA P>0.05) s následným hodnocením Tukeyovým testem. Lokalita Troubsko patří do řepařské výrobní oblasti, s nadmořskou výškou 270 m, průměrnou roční teplotou 8,6 °C, ve vegetaci (duben – září) 14,8 °C. Roční suma srážek činí 547 mm, ve vegetaci 346 mm. Poslední dekáda se vyznačuje značnými teplotními a srážkovými výkyvy, kdy řada vegetačních měsíců je hodnocena jako mimořádně suché a teplé. V letech trvání pokusu se počasí ve vegetaci dá charakterizovat v roce 2018 jako silně teplé a suché, v roce 2019 jako teplotně normální a suché s výraznými výkyvy (Kožnarová, Klabzuba, 2002).

Tab. 1. Pokusnické varianty

varianta	plodina	inokulace	vzdálenost řádků od sebe [cm]	výsevek [kg.ha^{-1}]	počet sklizní ve vegetaci
1	jestřabina východní LENA	bez inokulace	12,5	20	3
2	jestřabina východní LENA	inokulace	12,5	20	3
3	jestřabina východní LENA	inokulace	12,5	15	3
4	jestřabina východní LENA	inokulace	12,5	20	2
5	jestřabina východní LENA	inokulace	25	15	3
6	jestřabina východní LENA	inokulace	25	20	3
7	jestřabina východní LENA	inokulace	25	20	2

Výsledky a diskuze

Společným rysem jestřabiny ve všech pokusných variantách je pomalejší vzcházení, vývoj a zapojování porostu. V roce zásevu se porost špatně zapojoval vlivem vysokých teplot a sníženého množství srážek. V prvním sklizňovém roce vykazují téměř všechny varianty nižší pokryvnost (s výjimkou var. č. 7) před první sklizní, než před sklizní druhou. To dokládá graf č. 1. Tato pokryvnost se pohybuje v rozmezí 52 - 67 % (tab. č. 2) a rozdíly jsou statisticky neprůkazné. Nižší pokryvnosti jsou způsobené kombinací negativních faktorů a) špatně zapojeného porostu v zásevovém roce a b) suchých zimních i jarních měsíců s vysokými teplotami v roce následném. Vlivem pomalejšího vzcházení jestřabiny dostávají prostor převážně jednoleté plevele, v pokusných parcelách se vyskytovaly zejména heřmánkovec nevonný (*Tripleurospermum inodorum*), pcháč rolní (*Cirsium arvense)*, violka trojbarevná (*Viola tricolor*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris)*, mléč rolní (*Sonchus arvensis*) a zemědým lékařský (*Fumaria officinalis*). U variant, u kterých proběhla třetí sklizeň, došlo k výraznému a statisticky průkaznému poklesu pokryvnosti. To je způsobeno přirozeně

sníženým nárůstem hmoty v závěru vegetace, který vykazují i jiné víceleté pícniny z této čeledi (Knotová, Pelikán, 2016). Opět došlo k výraznému nárůstu plevelů v podobě laskavce ocasatého (*Amaranthus caudatus)* a béru zeleného (*Setaria viridis*). V prvním sklizňovém roce nebyl prokázán vliv rozteče řádků, ani vliv výsevku na pokryvnost porostu jestřabiny. Ve druhém sklizňovém roce se rozdíl pokryvnosti mezi variantami před první sklizní prohloubil, pohybuje se v rozmezí 45 - 82,5 %. Za nízkou pokryvností stojí varianta č. 1, u které poklesla pokryvnost oproti předcházejícímu roku a i v tomto roce má nejnižší procento zastoupení jestřabiny.

Tab. č. 2: Statistické hodnocení pokryvností jednotlivých variant v letech 2018 a 2019

rok	var.č.	sklizeň	jestřabina	prázdné místo	plevel	rok	var.č.	sklizeň	jestřabina	prázdné místo	plevel
2018	1	1	67,5 $^{g-ch}$	12,5 ^{a,b}	20,0 ^{a,b}	2019	1	1	45,0 $^{b-g}$	0,0 ^{a}	55,0 $^{c-h}$
		2	81,2 ^{ch}	6,3 ^{a,b}	12,5 ^{a}			2	35,0 $^{a-f}$	0,0 ^{a}	65,0 ^{g,h}
		3	22,5 ^{a,b}	18,8 ^{b}	58,8 $^{c-h}$			3	25,0 $^{a-c}$	13,8 ^{a,b}	61,3 $^{f-h}$
	2	1	65,0 $^{g-ch}$	15,0 ^{a,b}	20,0 ^{a,b}		2	1	73,8 ^{h,ch}	0,0 ^{a}	26,3 $^{a-e}$
		2	81,3 ^{ch}	2,5 ^{a,b}	16,3 ^{a}			2	75,5 $^{g-ch}$	0,0 ^{a}	27,5 $^{a-f}$
		3	30,0 $^{a-e}$	17,5 ^{a,b}	52,5 $^{b-h}$			3	65,0 $^{g-ch}$	8,8 ^{a,b}	26,3 $^{a-e}$
	3	1	66,3 $^{g-ch}$	12,5 ^{a,b}	21,3 $^{a-c}$		3	1	82,5 ^{ch}	2,5 ^{a,b}	15,0 ^{a}
		2	80,0 ^{h,ch}	3,8 $^{a-b}$	16,3 ^{a}			2	72,5 $^{g-ch}$	2,5 ^{a,b}	25,0 $^{a-d}$
		3	25,0 $^{a-c}$	15,0 ^{a,b}	60,0 $^{e-h}$			3	57,5 $^{c-ch}$	10,0 ^{a,b}	32,5 $^{a-g}$
	4	1	66,3 $^{g-ch}$	17,5 ^{a,b}	16,3 ^{a}		4	1	73,8 ^{h,ch}	0,0 ^{a}	26,3 $^{a-e}$
		2	75,0 ^{h,ch}	8,8 ^{a,b}	16,3 ^{a}			2	70,0 $^{g-ch}$	0,0 ^{a}	30,0 $^{a-f}$
	5	1	52,5 $^{c-h}$	20,0 ^{b}	27,5 $^{a-f}$		5	1	71,3 $^{g-ch}$	0,0 ^{a}	28,8 $^{a-f}$
		2	56,3 $^{c-ch}$	10,0 ^{a,b}	33,8 $^{a-g}$			2	55,0 $^{d-ch}$	0,0 ^{a}	45,0 $^{a-h}$
		3	12,5 ^{a}	15,0 ^{a,b}	72,5 ^{h}			3	45,0 $^{b-g}$	13,8 ^{a,b}	41,3 $^{a-h}$
	6	1	66,3 $^{g-ch}$	16,3 ^{a,b}	17,5 ^{a}		6	1	65,0 $^{g-ch}$	2,5 ^{a,b}	32,5 $^{a-g}$
		2	61,3 $^{f-ch}$	15,0 ^{a,b}	23,8 $^{a-c}$			2	55,0 $^{d-ch}$	2,5 ^{a,b}	42,5 $^{a-h}$
		3	25,0 $^{a-c}$	15,0 ^{a,b}	60,0 $^{e-h}$			3	60,0 $^{f-ch}$	11,3 ^{a,b}	28,8 $^{a-f}$
	7	1	67,5 $^{g-ch}$	16,3 ^{a,b}	16,3 ^{a}		7	1	72,5 $^{g-ch}$	2,5 ^{a,b}	25,0 $^{a-d}$
		2	67,5 $^{g-ch}$	12,5 ^{a,b}	20,0 ^{a,b}			2	52,5 $^{c-h}$	2,5 ^{a,b}	45,0 $^{a-h}$

Písmena v horním indexu zařazují varianty v jednotlivých dnech do skupin podle výsledků ANOVY na hladině významnosti P>0.05.

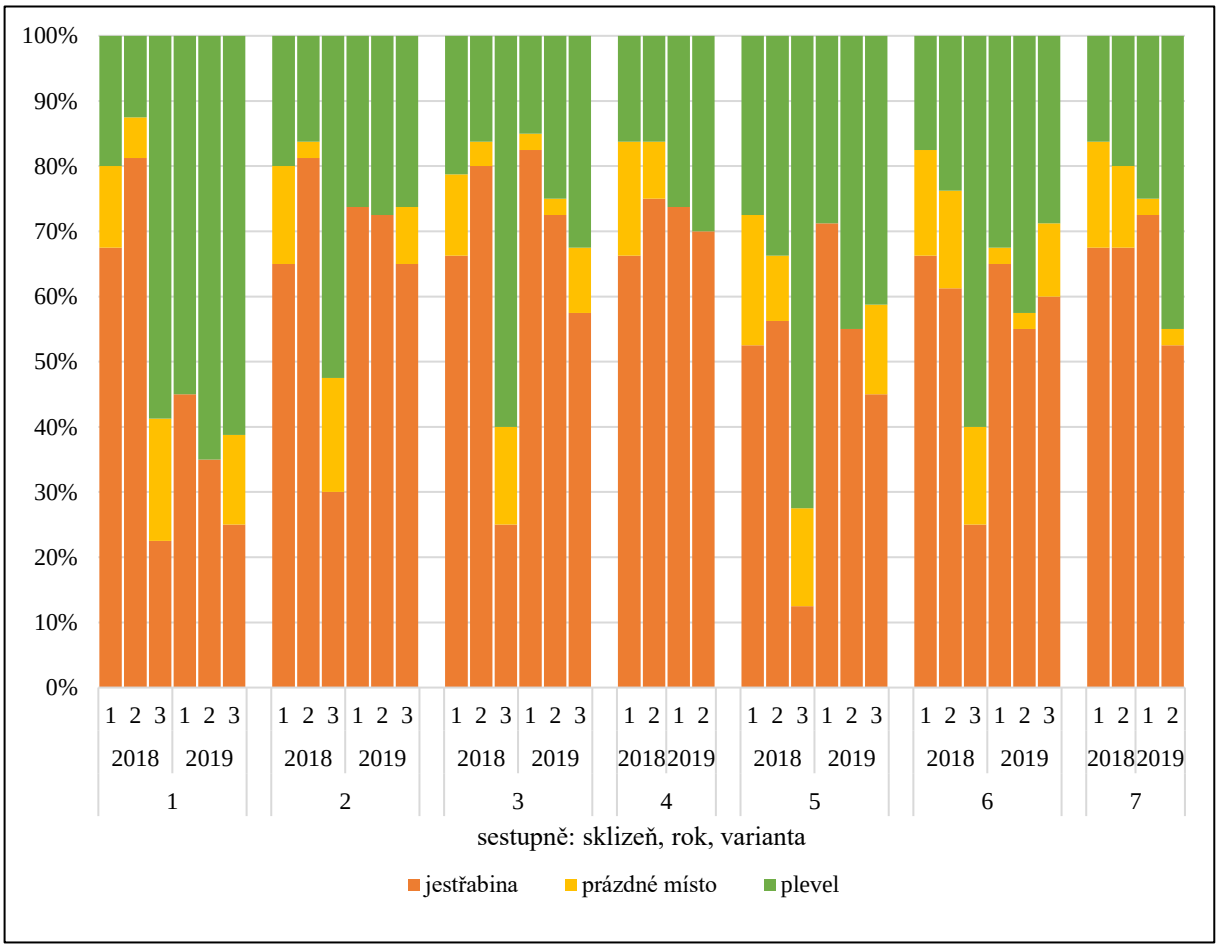
To je způsobeno absencí hlízkových bakterií. I přesto, že je do porostu dodáváno dusíkaté hnojivo, tak inokulované varianty dosáhly vyššího zapojení porostu, i když u některých variant (var. 5, 6, 7) statisticky neprůkazného. Pozitivní vliv na produkci biomasy v závislosti na inokulovaném osivu prokázali např. Kristek a kol. (2005) na rostlinách hrachu. Ke třetí sklizni bylo zastoupeno u varianty č. 1 pouze 25 % jestřabiny, což je opět nejméně ze všech variant. Vliv rozteče řádků na pokryvnost jestřabiny nebyl prokázán, a ani rozdílný výsevek nemá průkazný vliv na pokryvnost. Rozhodující je tedy správné načasování založení porostu s ohledem na půdní vlhkost. I když jestřabina snáší poměrně dobře sucho a suché půdy (Raig a

kol, 2001), v raných vývojových fázích je na přísun vody citlivá. Stejně tak je potřeba udržovat porost po založení bezplevelný. Dá se očekávat, že rozteč řádků a výsevek budou mít vliv na výnos, což je předmětem dalšího výzkumu.

Závěr

Jestřabinu východní patří zatím mezi méně využívané druhy pícnin, nicméně je možné ji využít jako bílkovinné krmivo pro skot. Je to jedna z možností, jak získat kvalitní objemné krmivo v podmínkách sucha. Jestřabina je v počátečních fázích vývoje pomalá a proto je důležité klást velký důraz na bezplevelnost pozemku, na němž bude porost zakládán, aby plevel nebránil růstu pomalu vyvíjejícím se rostlinám jestřabiny. I vzhledem k její plastičnosti na agroekologické podmínky je potřeba, aby měla v počátečních fázích růstu dostatek vlhkosti. Jestřabina se v polním hospodaření téměř nevyskytuje a nejsou v půdě přítomny ani symbiotické bakterie. Je tedy naprostou nutností inokulovat osivo před výsevem. Bez inokulace se porost špatně vyvíjí a zapojuje. Z hlediska zapojení a vitality porostu je možné jestřabinu pěstovat na orné půdě jako úzkořádkovou, i jako širokořádkovou plodinu. Vyšší výsevek (20 kg.ha^{-1}) osiva nezvýší v podmínkách sucha zapojení porostu, větší vliv na rozvoj porostu má dostatek srážek. Dá se očekávat, že rozteč řádků a výsevek budou mít vliv na výnos a kvalitu píce. Výhodou jestřabiny je její plasticita v agroekologických nárocích a dlouhověkost. Z toho důvodu se domníváme, že bude vhodná jako součást trvalého travního porostu, možnosti založení porostu jsou předmětem dalšího zkoumání.

Graf 1: Pokryvnost jestřabiny, plevelů a prázdná místa v pokusnických variantách



Literatura

Knotová D., Pelikán J.: Zhodnocení výnosů zelené hmoty a sena u štírovníku růžkatého. *Úroda* 12-2016, vědecká příloha, s. 161-164. ISSN 0139-6013.

Kožnarová, V., Klabzuba, J.: *Doporučení WMO pro popis meteorologických, resp. Klimatologických podmínek definovaného období.* Rostlinná výroba 2002: roč. 48, č. 4, s. 190 – 192.

Kristek, S., Kristek, A., Pavlović H.: The influence of mycorrhizal fungi (Glomus sp.)
on field pea plant survival and growth in drought caused stress conditions. Plant Soil Environment, 51, 2005 (9). s. 385–389. ISSN 1214-1178.

Usťak, S., Váňa, V.: *Možnosti pěstování a využití jestřabiny východní Galega orientalis Lamb. v podmínkách České republiky*. Metodika pro praxi 2012, Praha, VÚRV, v.v.i. 2012, ISBN 978-80-7427-100-7.

Raig, H., Nommsalu, H., Meripold H., Metlitskaja, J.: *Fodder Galega*. Estonian research Institute of Agriculture, saku, 2001. Number of pages 141, ISBN 9985-9200-9-0. Printed by AS Rebellis.

Poděkování

Výsledek byl získán za částečné institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZE-RO1719.

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Lang, Ph.D.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko
Zahradní 1
66441 Troubsko
e-mail: lang@vupt.cz

VLIV PŘÍDAVKU BIOUHLU NA ZLEPŠENÍ KVALITY HNOJE A PRŮBĚH FERMENTAČNÍHO PROCESU

The effect of biochar amendment on improvement of manure quality and the course of the fermentation process

Látal O. [1], Brtnický M. [2], Dokulilová T. [2], Holátko J. [2], Kintl A. [3]

[1]*Agrovýzkum Rapotín s.r.o., Česká republika*
[2]*Mendelova Univerzita v Brně, Česká republika*
[3] *Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko, Česká republika*

Abstrakt
Biouhel lze využít v zemědělství jako prospěšné aditivum ve výrobě hnoje. Přídavek biouhlu k chlévské mrvě ovlivňuje průběh a výsledek fermentačního procesu. Výsledkem je hnojivo s lepšími vlastnostmi ve srovnání s hnojem biouhlem neošetřeným. Biouhel připravený ze zemědělského odpadu byl průběžně aplikován do hluboké podestýlky nebo smíchán s chlévskou mrvou pro nádobové experimentální zrání hnoje. Biouhlem ošetřené varianty vykazovaly vyšší obsah živin, nižší hodnoty (o 18,2 %) amoniaku, množství kopií genu amoA (amoniakmonooxygenasy) i nižší maximální teplotu (poloprovoz) ve srovnání s kontrolní neošetřenou variantou. Experimentálně otestovaný postup může být využit při vývoji technologií k výrobě hnoje s vyšším obsahem živin (ve srovnání s hnojem biouhlem neošetřeným), jehož aplikací bude možno zlepšit vlastnosti půdy a růst hnojených plodin.
Klíčová slova: chlévská mrva, živiny, amoniak, gen amoA (amoniakmonooxygenasa)

Abstract
Biochar can be used in agriculture as a beneficial additive in manure production. Amendment of biochar to manure affects a course and result of a fermentation process. Outcome is a fertilizer with improved properties compared to manure untreated with biochar. Biochar prepared from agricultural waste was continuously applied to deep litter or mixed with manure and used for container experimental manure production. Biochar-treated variants displayed higher nutrient content, lower (18.2% less) ammonia values, lower copies of the amoA gene (ammonia monooxygenase), and lower temperatures (pilot experiment) compared to untreated control. The experimentally tested procedure can be used in development of technologies for production of manure with higher nutrient content (compared to manure untreated with biochar), which application may improve soil parameters and growth of fertilized crops.
Key words: Manure, Nutrients, Ammonium, amoA gene (Ammonium Monooxygenase)

Úvod

Biouhel je heterogenní materiál vyráběný pyrolýzou biomasy vybrané suroviny za kontrolovaných podmínek. Díky jeho jedinečným vlastnostem, jako je chemické složení, velké specifický povrch, mikroporozita a sorpční kapacita je biouhel významným doplňkem pro kompostování a digesci různých druhů odpadu, včetně zemědělských (např. různých druhů hnoje) (Dias et al. 2010). Četné studie fermentace hnoje obohaceného o biouhel prokázaly snížení emisí některých skleníkových plynů (Rogovska et al. 2011; Maurer et al. 2017), hlavně amoniaku (Janczak et al. 2017), zabránění ztrátě živin (Hagemann et al. 2018), modifikaci procesu zrání hnoje z hlediska termodynamiky a tvorby tepla (Czekala et al. 2016), ovlivnění obsahu a funkční diverzity mikroorganismů v hnoji (He et al. 2018) a na mikroorganismech závislých biochemických procesů látkové přeměny a mineralizace (Jindo et al. 2012). Důležitým faktorem v aplikaci biouhlu je způsob a množství přídavku biouhlu k odpadnímu

bioorganickému materiálu, ovlivňující interval a míru interakce biouhlu s kofermentovanou biomasou (Duan et al. 2019). Sorpční schopnosti biouhlu a potenciál snižovat emise NH_3 a N_2O z hnoje jsou rovněž dány jeho různými chemicko-fyzikálními vlastnostmi (Zhang et al. 2019). K maximální sorpci amoniaku dochází u biouhlu připraveného pyrolýzou za nízké teploty (400 °C) při téměř neutrálním pH (7,0–7,5). Následné nižší emise NH_3 jsou vysvětlovány větším začleněním amonných iontů (NH_4^+) do organických sloučenin během mikrobiální utilizace labilního, rozpustného organického uhlíku (DOC). Je známo, že biouhel připravený za nízké teploty má mnohem vyšší poměr využitelného mineralizovatelného uhlíku ke stabilnímu intaktnímu uhlíku (Wei et al. 2019) a také vyšší obsah kyselin s nízkou molekulovou hmotností (LMW).

Výroba biouhlu ze zbytkové biomasy polních plodin (Kizito et al. 2015) je jedním ze způsobů, jak využít vedlejší produkty polního hospodářství k přípravě materiálu s přidanou hodnotou při současném snížení objemu zemědělského odpadu. Biouhel se vedle zmíněného přidávání do hnoje využívá především jako půdní aditivum (Lehmann et al. 2011), pro jeho efekt (obdobný jako v hnoji) na látkovou výměnu. V půdě váže živiny a tím snižuje ztráty při vyluhování (Zheng et al. 2013), zejména omezuje vstup dusičnanů do podzemních vod; též zvyšuje v půdě retenční kapacitu vody, čímž zmírňuje účinky povodní či sucha (Kammann et al. 2011; Karhu et al. 2011). Biouhel dále zvyšuje mikrobiologickou aktivitu půdy a sekvestraci uhlíku, důležitou pro tvorbu humusu (Gul et al. 2015). Současně je sníženo uvolňování CO_2 z půdy na g stávajícího obsahu C (jev Terra-Preta). V kombinaci s organickým hnojivem biouhel zvyšuje úrodnost půdy a zlepšuje růst rostlin (Graber et al. 2010), což následně zvyšuje zachycování uhlíku do ekosystému.

Společná aplikace chlévské mrvy a biouhlu v procesu výroby hnoje a následná fertilizace půdy výsledným směsným produktem má předpoklady multifaktorového pozitivního účinku na kvalitu půdy, růst a výživu pěstovaných plodin. V rámci našeho výzkumu byly sledovány vybrané parametry hnoje s komerčně dostupným typem biouhlu vyrobeného ze zemědělského odpadu kofermentací: (1) ve stájovém prostředí na hluboké podestýlce (provozní experiment) a (2) s biouhlem smíchané chlévské mrvy v nádobovém experimentu. Hodnoty parametrů biouhlem ošetřených variant byly porovnány s kontrolními variantami hnoje biouhlem neošetřenými s cílem prokázat zlepšení kvality hnoje v testovaných podmínkách.

Materiál a Metody

Pro poloprovozní stájový experiment i nádobový experiment byl použit stejný typ biouhlu vyrobeného z rostlinných zbytků firmou Sonnenerde GmbH (Riedlingsdorf, Rakousko). V poloprovozním experimentu byl biouhel přidáván do hluboké podestýlky po dobu 8 týdnů při přistýlání 2× týdně ve stáji s chovem jalovic. Celkové množství aplikovaného biouhlu bylo 41,6 $kg.t^{-1}$ vyrobeného hnoje a bylo rozděleno rovnoměrně do 16 aplikačních dávek. Monitorovány byly 2 kotce (pro 30 jalovic), z nichž jeden sloužil jako kontrola bez aplikací. Výroba hnoje byla v souladu s certifikovanou metodikou (Látal et al. 2017). Měření koncentrace NH_3 ve stájovém prostředí a odběr vzorků ke stanovení fyzikálních a chemických parametrů hnoje bylo rovněž provedeno dle metodiky (Látal et al. 2017).

Pro nádobové experimenty byla použita chlévská mrva z chovu skotu bez tržní produkce mléka, která byla smíchána s biouhlem v rané fázi fermentačního procesu. Sledovány byly 4 pokusné varianty s různým množstvím biouhlu (BU): [1] žádný BU, [2] 40 $g.kg^{-1}$ mrvy, [3] 100 $g.kg^{-1}$ mrvy, [4] 200 $g.kg^{-1}$ mrvy. Bylo použito 20 kg mrvy v 5 opakováních pro každou variantu, směsi byly těsně uzavřeny v 50-l nádobách s víkem a ponechány ve stáji po dobu 8 týdnů. Na počátku a v průběhu experimentu (12., 26., 40. a 56. den) byly stanoveny pH a sušina, obsah živin (N, P, K) a biologické parametry hnoje (množství bakterií, aktinobakterií, hub a methanogenních mikroorganismů). Odběr vzorků a stanovení pH, sušiny a chemických parametrů bylo provedeno podle metodiky (Látal et al. 2017).

Mikroorganismy byly kvantifikovány pomocí real-time qPCR. DNA byla extrahována z 0,2 g lyofilizovaného hnoje pomocí sady E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (Omega Bio-tek, USA). Každý vzorek byl obohacen o DNA plasmidového vektoru odvozeného z pUC18, který sloužil jako vnitřní standard pro hodnocení výtěžnosti a kontaminace inhibitory PCR. Izolovaná DNA byla kvantifikována pomocí Picodrop. Pro stanovení množství bakterií byla kvantifikována parciální 16S rDNA a pro stanovení hub byla kvantifikována fungální 18S rDNA. Použita byla platforma SYBR-Green na přístroji CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, USA). Primery 1108F (5‘ ATGGYTGTCGTCAGCTCGTG 3‘) a 1132R (5‘ GGGTTGCGCTCGTTGC 3‘) byly použity pro bakterie (Amann et al. 1995), pro houby byly použity primery FF390 (5‘ ATACGATAACGAACGAGACCT 3‘) a FR1 (5’ AICCATTCAATCGGTAIT 3‘) (Vainio et Hantula 2000), pro aktinobakterie primery 517F (5' CCAGCAGCCGCGGTAAT 3') a Act704R (5' TCTGCGCATTTCACCGCTAC 3') (Xiao et al. 2011) a pro methanogenní mikroorganismy primery MMicF (5' GTGATAAGGGAACCYCGAG 3') a MMicR (5' GCTACGRACGCTTTAAGCC 3') (Vigneron et al. 2013). Bakterie oxidující amoniak (AOB) byly kvantifikovány amplifikací markerového genu *amoA* (amonium monooxygenasa) pomocí primerů AMOA1F (5' GGGGTTTCTACTGGTGGT 3') a AMOA1R (5' CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC 3') (Rotthauwe et al. 1997). DNA derivátů pUC18 (interní standard) byla kvantifikována s primery SQP (5' GTTTTCCCAGTCACGAC 3‘) a SQPR2 (5‘ CTCGTATGTTGTGTGGAA 3‘).
Statistická analýza: Porovnání souborů dat bylo provedeno jednosměrnou analýzou rozptylu (ANOVA) a srovnávacími metodami. Byl použit Duncanův test s více rozsahy a $P < 0,05$ byl považován za statisticky významný. Všechna data byla analyzována Statistica ver. 13.4.0.14 softwarový balíček.

Výsledky a diskuze

Průběh fermentace a výsledky chemických analýz v poloprovozním experimentu: aplikace biouhlu do podestýlky vedla k výraznému snížení maximální teploty dosažené v průběhu fermentačního procesu (38 °C) výroby hnoje ve stájovém prostředí ve srovnání s kontrolní variantou výroby hnoje bez přídavku biouhlu (T_{MAX} 46 °C). Různé procesy fermentace vedly k rozdílnému chemickému složení hnoje bez biouhlu (FYM) a s biouhlem (FYM+BC), hodnoty chemických parametrů jsou uvedené v Tabulce 1. Ve vzorcích pokusné varianty FYM+BC byly stanoveny vyšší koncentrace amoniakálního a organického (Kjeldahlova) dusíku v sušině a nižší obsah volného amoniaku ve srovnání s kontrolní variantou FYM. Výsledky ukazují na vyšší vazbu organického a amoniakálního vázaného dusíku i na snížení produkce plynného amoniaku (NH_3) ve variantě FYM+BC, pravděpodobně v důsledku sorpční aktivity přidaného biouhlu. Rozdíl v sušině: varianta FYM+BC vykazovala vyšší obsah sušiny, vyšší obsah draslíku a fosforu v sušině a vyšší pH než FYM. Rozdílný podíl sušiny lze vysvětlit efektem biouhlu na strukturu hnoje: biouhel obecně vykazuje výraznou retenční kapacitu pro vodu a působí proti utužování a kompaktnosti materiálů, se kterými je smíchán. Ačkoli někteří autoři popisují zvýšení obsahu vody v hnoji vlivem retenční vodní kapacity biouhlu (Prost et al. 2013), v popisovaném experimentu byl pozorován opačný výsledek z fermentace hnoje FYM+BC. Ten může být způsoben větší výslednou porozitou hnoje FYM+BC vedoucí k mírně zvýšené ztrátě vody. Následkem této ztráty vody mohou být vyšší hodnoty obsahu draslíku a fosforu v sušině varianty FYM+BC, které korelují se vzrůstem hodnot sušiny (Prost et al. 2013).

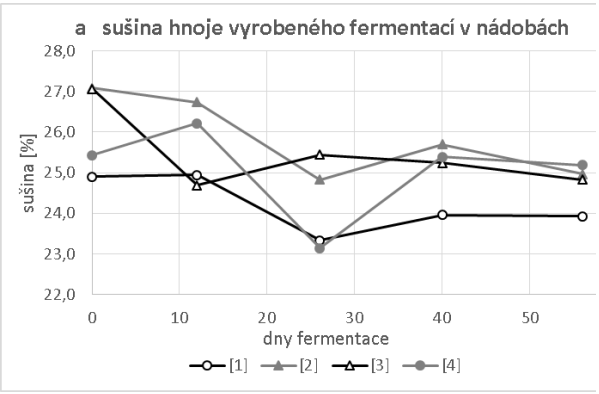
Tab. 1: Parametry hnoje vyrobeného fermentací na hluboké podestýlce s/bez přídavku biouhlu – průměrné hodnoty

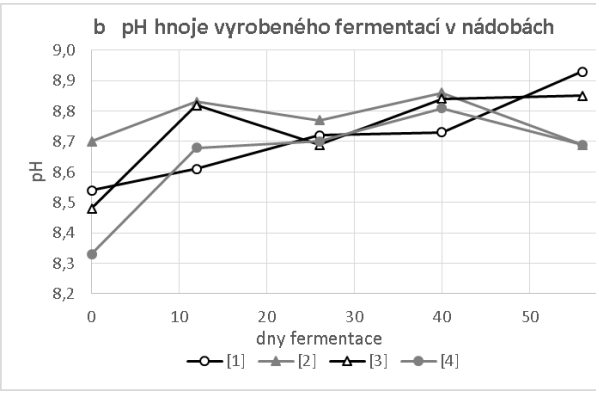
Varianta	Sušina	NH_4^+	N*	P*	K	NH_3*	pH	T_{MAX}
	%	kg.t^{-1} sušiny				‰	-	°C
FYM + BC	24,200	1,780	23,550	4,180	20,240	0,018	8,900	38
FYM	23,600	1,350	22,560	3,540	18,290	0,022	8,600	46
FYM + BC vs. FYM		+ 34,0 %	+ 7,5 %	+ 21,0 %	+ 13,5 %	- 18,2 %		

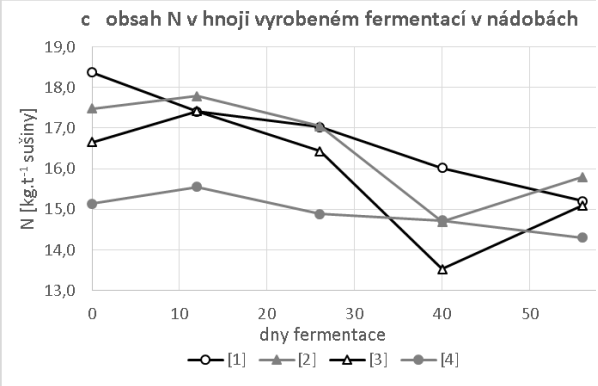
*Pozn.: * P < 0,05*

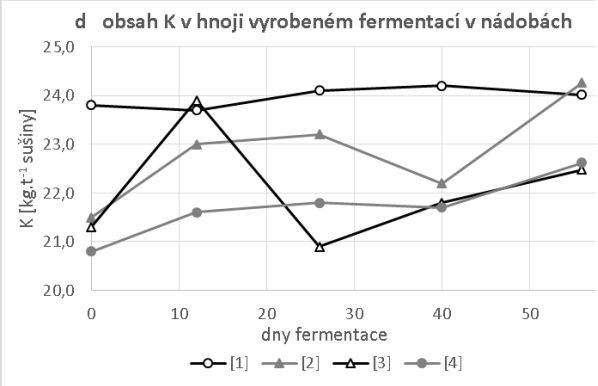
Výsledky chemických analýz v nádobovém experimentu: v průběhu fermentace hnoje byly ve vzorcích hnoje s přídavkem biouhlu 40 g.kg^{-1} mrvy a 100 g.kg^{-1} (varianty [2] a [3]) stanoveny zvýšené hodnoty sušiny ve srovnání se vzorky hnoje biouhlem neošetřeným (varianta [1]). Statisticky významný byl rozdíl v obsahu fosforu v sušině, který byl opět vyšší u biouhlem ošetřených vzorků variant [2] a [3] ve srovnání s kontrolní variantou [1]. Také v případě nádobového experimentu mohou být výsledky uvedené v Grafu 1a-1e vysvětleny vlivem biouhlu na obsah vody: obsah fosforu koreluje se vzrůstem hodnot sušiny u variant [2] a [3], lze ho dát do souvislosti se zakoncentrováním hnoje s přídavkem biouhlu. Naproti tomu hodnoty obsahu organického dusíku v sušině byly ve vzorcích hnoje s přídavkem biouhlu (varianty [2], [3] a [4]) statisticky nižší ve srovnání s neošetřenou kontrolní variantou hnoje [1] a klesající v průběhu fermentace. Rozdíly v hodnotách emisí amoniaku a v dalších sledovaných parametrech – pH a obsahu draslíku v sušině - u všech pokusných variant nebyly statisticky významné.

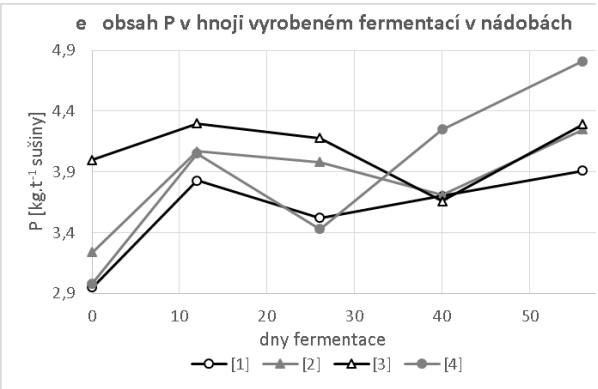
Graf 1: Parametry hnoje vyrobeného fermentací v nádobách s/bez přídavku biouhlu – průměrné hodnoty v průběhu experimentu: a – sušina [%]; b – pH; c – N [kg.t^{-1} sušiny]; d – K [kg.t^{-1} sušiny]; e – P [kg.t^{-1} sušiny]









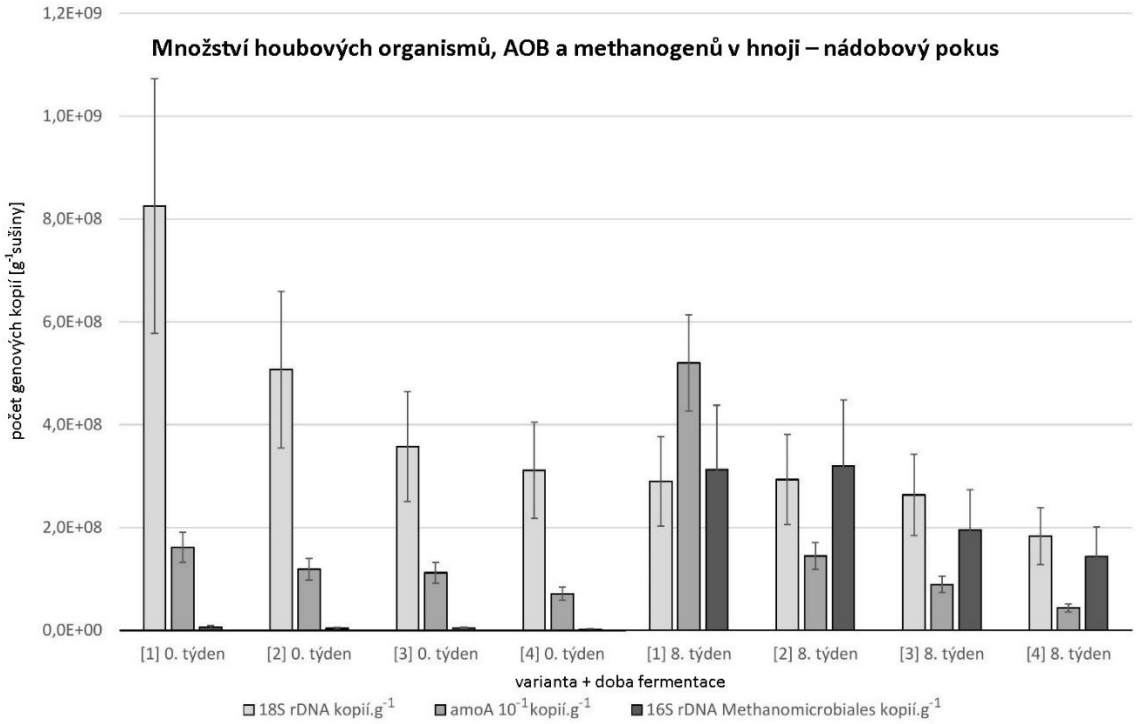


Dle výsledků porovnání obsahu různých forem dusíku ve vzorcích hnoje obsahujícího biouhel a v kontrolních vzorcích bez biouhlu v poloprovozním a nádobovém experimentu lze usuzovat, že organický a amoniakální dusík je v průběhu fermentace hnoje obohaceného o biouhel mineralizován ve větší míře než v kontrolním hnoji bez biouhlu, což popisuje i předchozí studie (Lopez-Cano et al. 2016).

Výsledky biologických analýz v nádobovém experimentu: odlišný průběh fermentačního procesu hnoje s přídavkem a bez přídavku biouhlu, doložený rozdíly v sušině a chemickém složení produkovaných hnojů, podporují také výsledky biologických analýz. Stanovením množství a zastoupení taxonomických a funkčních skupin mikroorganismů bylo zjištěno, že obsah hub, AOB a methanogenů byl statisticky významně nižší ve vzorcích s přídavkem biouhlu ([2], [3] a [4]) než v kontrolní variantě [1] bez něj (viz Graf 2). Navíc hodnoty ukazují na obsah mikroorganismů (hub a AOB) klesající s rostoucí dávkou biouhlu a snižující se v čase fermentace (varianty [3] a [4]). Z těchto hodnot opět usuzujeme na klesající podíl AOB a hub v hnoji v čase, pravděpodobně v důsledku klesajícího obsahu amoniaku a iontů NH_4^+ a také DOC (nebylo měřeno). Předpokládané snížené hodnoty obsahu amoniaku mohou být způsobeny jak afinitou amoniaku k povrchu biouhlu, tak již zmiňovaným zabudováním amonných iontů (NH_4^+) do organických sloučenin syntetizovaných mikroorganismy utilizujícími DOC (Hillel 2008).

Oproti klesající bilanci AOB je obsah methanogenů ve finálních vzorcích u všech pokusných variant na konci fermentace vyšší než na počátku a mezi variantami klesá s rostoucím podílem biouhlu. V průběhu fermentace docházelo pravděpodobně k produkci methanu, jeho tvorba však byla potlačena přítomností biouhlu v hnoji. Rozdíl v obsahu bakterií ve všech pokusných variantách nebyl statisticky významný a ani se výrazně neměnil v průběhu fermentačního procesu.

Graf 2: Množství houbových organismů, AOB a methanogenů v hnoji – nádobový pokus



Pozn.: Průměr ± směrodatná odchylka

Závěr

Záměrem experimentu s fermentací chlévské mrvy s přídavkem biouhlu bylo ovlivnit výrobu hnoje ve prospěch vyššího obsahu živin využitelných rostlinami a půdními organismy a snížení negativních jevů (emise amoniaku a methanu). Testovány byly dva postupy výroby: poloprovozní fermentace ve stájovém prostředí na hluboké podestýlce a nádobová fermentace. Při fermentaci na hluboké podestýlce byla maximální dosažená teplota u varianty FYM+BC výrazně nižší než u kontroly FYM bez biouhlu. U obou postupů výroby došlo ke snížení obsahu amoniaku v plynné formě a u variant s přídavky biouhlu ke zvýšení obsahu amoniaku v redukované rozpustné formě i obsahu organického (Kjeldahlova) dusíku. Obsah dalších živin byl u ošetřených a neošetřených variant srovnatelný. Z hodnoty biologických parametrů hnoje ve shodě s výsledky chemických analýz naznačili, že v hnoji s přídavkem biouhlu pravděpodobně dochází ke zvýšené mineralizaci organických zdrojů dusíku (stanovení pomocí Kjeldahlovy metody). Kvantifikace methanogenních mikroorganismů ukázala možný vliv biouhlu na snížení emisí methanu (koncentrace nebyla měřena). Výsledky této studie budou využity k vývoji postupů na zlepšení kvality hnoje a průběhu fermentačního procesu pro získání hnojiv účinnějších při pěstování plodin a zemědělské produkci.

Dedikace

Tato práce byla podpořena těmito projekty Technologické agentury České republiky: TH02030169 "Vliv aplikace biologicky transformované organické hmoty a biouhlu na stabilitu produkčních vlastností půd a snížení environmentálních rizik." a TH03030319 „Podpora funkční diverzity půdních organismů aplikací klasických a modifikovaných stabilních organických hmot při zachování produkčních vlastností půd.“

Použitá literatura

Amann, R. I., W. Ludwig and K. H. Schleifer (1995). "Phylogenetic identification and in-situ detection of individual microbial-cells without cultivation." Microbiological Reviews **59**(1): 143-169.

Czekala, W., K. Malinska, R. Caceres, D. Janczak, J. Dach and A. Lewicki (2016). "Co-composting of poultry manure mixtures amended with biochar - The effect of biochar on temperature and C-CO2 emission." Bioresource Technology **200**: 921-927.

Dias, B. O., C. A. Silva, F. S. Higashikawa, A. Roig and M. A. Sanchez-Monedero (2010). "Use of biochar as bulking agent for the composting of poultry manure: Effect on organic matter degradation and humification." Bioresource Technology **101**(4): 1239-1246.

Duan, Y. M., S. K. Awasthi, T. Liu, S. Verma, Q. Wang, H. Y. Chen, X. N. Ren, Z. Q. Zhang and M. K. Awasthi (2019). "Positive impact of biochar alone and combined with bacterial consortium amendment on improvement of bacterial community during cow manure composting." Bioresource Technology **280**: 79-87.

Graber, E. R., Y. M. Harel, M. Kolton, E. Cytryn, A. Silber, D. R. David, L. Tsechansky, M. Borenshtein and Y. Elad (2010). "Biochar impact on development and productivity of pepper and tomato grown in fertigated soilless media." Plant and Soil **337**(1-2): 481-496.

Gul, S., J. K. Whalen, B. W. Thomas, V. Sachdeva and H. Y. Deng (2015). "Physico-chemical properties and microbial responses in biochar-amended soils: Mechanisms and future directions." Agriculture Ecosystems & Environment **206**: 46-59.

Hagemann, N., E. Subdiaga, S. Orsetti, J. M. de la Rosa, H. Knicker, H. P. Schmidt, A. Kappler and S. Behrens (2018). "Effect of biochar amendment on compost organic matter composition following aerobic composting of manure." Science of the Total Environment **613**: 20-29.

He, X. Q., H. J. Yin, X. X. Sun, L. J. Han and G. Q. Huang (2018). "Effect of different particle-size biochar on methane emissions during pig manure/wheat straw aerobic composting: Insights into pore characterization and microbial mechanisms." Bioresource Technology **268**: 633-637.

Hillel, D. (2008). 12. - SOIL BIODIVERSITY. Soil in the Environment. San Diego, Academic Press**:** 163-174.

Janczak, D., K. Malinska, W. Czekala, R. Caceres, A. Lewicki and J. Dach (2017). "Biochar to reduce ammonia emissions in gaseous and liquid phase during composting of poultry manure with wheat straw." Waste Management **66**: 36-45.

Jindo, K., K. Suto, K. Matsumoto, C. Garcia, T. Sonoki and M. A. Sanchez-Monedero (2012). "Chemical and biochemical characterisation of biochar-blended composts prepared from poultry manure." Bioresource Technology **110**: 396-404.

Kammann, C. I., S. Linsel, J. W. Gossling and H. W. Koyro (2011). "Influence of biochar on drought tolerance of Chenopodium quinoa Willd and on soil-plant relations." Plant and Soil **345**(1-2): 195-210.

Karhu, K., T. Mattila, I. Bergstrom and K. Regina (2011). "Biochar addition to agricultural soil increased CH4 uptake and water holding capacity - Results from a short-term pilot field study." Agriculture Ecosystems & Environment **140**(1-2): 309-313.

Kizito, S., S. B. Wu, W. K. Kirui, M. Lei, Q. M. Lu, H. Bah and R. J. Dong (2015). "Evaluation of slow pyrolyzed wood and rice husks biochar for adsorption of ammonium nitrogen from piggery manure anaerobic digestate slurry." Science of the Total Environment **505**: 102-112.

Látal, O., J. Pozdíšek, P. Kopeček and M. Mrázková (2017). Nová technologická opatření jako efektivní nástroj pro zlepšení podmínek stájového prostředí a kvality statkových hnojiv: metodická příručka, Agrovýzkum Rapotín.

Lehmann, J., M. C. Rillig, J. Thies, C. A. Masiello, W. C. Hockaday and D. Crowley (2011). "Biochar effects on soil biota - A review." Soil Biology & Biochemistry **43**(9): 1812-1836.

Lopez-Cano, I., A. Roig, M. L. Cayuela, J. A. Alburquerque and M. A. Sanchez-Monedero (2016). "Biochar improves N cycling during composting of olive mill wastes and sheep manure." Waste Management **49**: 553-559.

Maurer, D. L., J. A. Koziel, K. Kalus, D. S. Andersen and S. Opalinski (2017). "Pilot-Scale Testing of Non-Activated Biochar for Swine Manure Treatment and Mitigation of Ammonia, Hydrogen Sulfide, Odorous Volatile Organic Compounds (VOCs), and Greenhouse Gas Emissions." Sustainability **9**(6): 17.

Prost, K., N. Borchard, J. Siemens, T. Kautz, J. M. Sequaris, A. Moller and W. Amelung (2013). "Biochar Affected by Composting with Farmyard Manure." Journal of Environmental Quality **42**(1): 164-172.

Rogovska, N., D. Laird, R. Cruse, P. Fleming, T. Parkin and D. Meek (2011). "Impact of Biochar on Manure Carbon Stabilization and Greenhouse Gas Emissions." Soil Science Society of America Journal **75**(3): 871-879.

Rotthauwe, J. H., K. P. Witzel and W. Liesack (1997). "The ammonia monooxygenase structural gene amoA as a functional marker: Molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations." Applied and Environmental Microbiology **63**(12): 4704-4712.

Vainio, E. J. and J. Hantula (2000). "Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA." Mycological Research **104**: 927-936.

Vigneron, A., P. Cruaud, P. Pignet, J. C. Caprais, M. A. Cambon-Bonavita, A. Godfroy and L. Toffin (2013). "Archaeal and anaerobic methane oxidizer communities in the Sonora Margin cold seeps, Guaymas Basin (Gulf of California)." Isme Journal **7**(8): 1595-1608.

Wei, S. Y., M. B. Zhu, X. J. Fan, J. Z. Song, P. A. Peng, K. M. Li, W. L. Jia and H. Y. Song (2019). "Influence of pyrolysis temperature and feedstock on carbon fractions of biochar produced from pyrolysis of rice straw, pine wood, pig manure and sewage sludge." Chemosphere **218**: 624-631.

Xiao, Y., G. M. Zeng, Z. H. Yang, Y. H. Ma, C. Huang, Z. Y. Xu, J. Huang and C. Z. Fan (2011). "Changes in the actinomycetal communities during continuous thermophilic composting as revealed by denaturing gradient gel electrophoresis and quantitative PCR." Bioresource Technology **102**(2): 1383-1388.

Zhang, P. Z., Y. F. Li, Y. Y. Cao and L. J. Han (2019). "Characteristics of tetracycline adsorption by cow manure biochar prepared at different pyrolysis temperatures." Bioresource Technology **285**: 8.

Zheng, H., Z. Y. Wang, X. Deng, S. Herbert and B. S. Xing (2013). "Impacts of adding biochar on nitrogen retention and bioavailability in agricultural soil." Geoderma **206**: 32-39.

Kontaktní adresa:

Ing. Oldřich Látal, PhD.
Agrovýzkum Rapotín s.r.o.
Výzkumníků 267, 788 00 Vikýřovice
e-mail: oldrich.latal@vuchs.cz

MOŽNOSTI UPLATNĚNÍ INTERNETU VĚCÍ (IOT) V PRECIZNÍM ZEMĚDĚLSTVÍ V ČR

Possibilities of using Internet of Things (IoT) in precision agriculture in the Czech Republic

Menšík L. ml.[1], Vik R.[2], Pretl S.[2], Bělohoubek J.[2], Syrový T.[3], Syrová L.[3], Kubáč L.[4], Menšík L. st.[5]

[1]*Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha - Ruzyně,*
[2]*Západočeská univerzita v Plzni,*
[3]*Univerzita Pardubice,*
[4]*Centrum organické chemie s.r.o., Rybitví*
[5]*AGROSPOL a.d., Knínice*

Abstrakt
Digitalizace, moderní technologie (internet věcí, IoT), rozvoj senzorové techniky a zpracování dat se v posledních letech začíná prosazovat i v zemědělském sektoru (rostlinná, živočišná výroba) v České republice. Cílem příspěvku je vysvětlit obecné principy IoT v moderní zemědělské výrobě (precizním zemědělství resp. Zemědělství 4.0) a na vlastním příkladu vývoje senzorové techniky pro měření teploty a vlhkosti vzduchu a půdy prakticky popsat jeho možné budoucí uplatnění. Řešený projekt je zaměřen na realizaci systému bezdrátových senzorových jednotek s tištěnými senzorovými elementy pro monitoring půdní a atmosférické vlhkosti a teploty. Předběžné výsledky laboratorních měření ukazují, že tištěné senzorové elementy na bázi uhlíku jsou pro tyto účely v moderní zemědělské praxi využitelné a otevírají potenciál pro realizaci senzorových systémů pomocí udržitelných výrobních technologií a materiálů.
Klíčová slova: Zemědělství 4.0, IoT, internet věcí, digitalizace, senzorová technika, tištěné senzory

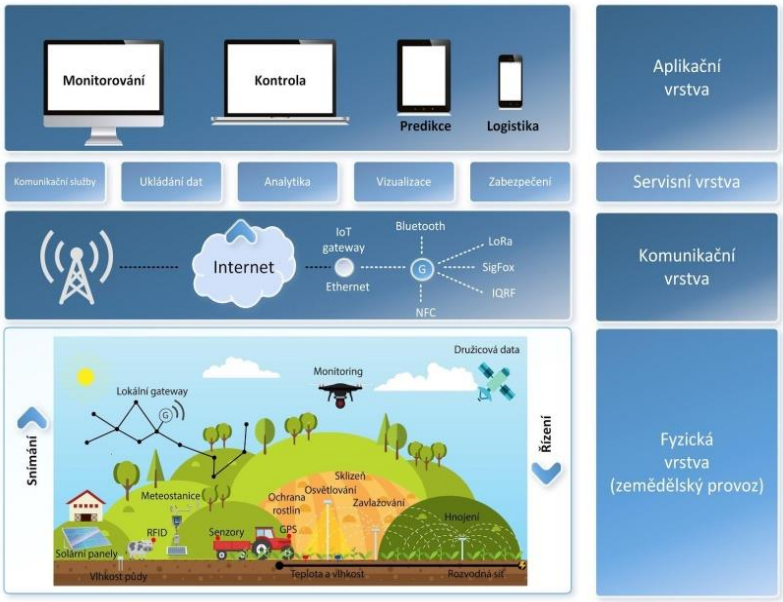
Abstract
In recent years, digitization, modern technology (Internet of Things, IoT), development of sensor technology and data processing have begun to gain ground in the agricultural sector (crop and livestock production) in the Czech Republic. The aim of the paper is to explain the general principles of IoT in modern agricultural production (precision agriculture or Agriculture 4.0) and to describe the possible future application of IoT sensors for measuring soil and atmospheric humidity and temperature. The project is focused on the realization of a system of wireless sensor units with printed sensor elements for monitoring of these parameters. Preliminary results of laboratory measurements indicates that printed carbon-based sensor elements are usable in modern agricultural practice for this purpose and open up the potential for sensor system realization through sustainable production technologies and materials.
Key words: Agriculture 4.0, IoT, Internet of Things, digitization, sensor technology, printed sensors

Úvod

Digitalizace a moderní technologie prostupují všemi částmi našeho života. Razantní rozvoj senzorové techniky a zpracování dat v souvislosti s rozvojem internetu jsou v dnešní době hnací silou globálního vývoje inteligentních výrobků. Tento trend se v posledních letech začíná rychle prosazovat i v zemědělském sektoru České republiky (Kušová et al. 2017). K pokroku v digitalizaci a její implementaci dochází jak v živočišné (Loučka et al. 2019, Menšík et al. 2019), tak v rostlinné produkci (Fikejs et al. 2017; Kroulík et al. 2018; Lukas et al. 2019).

Správa a zpracování dat slouží k řízení a automatizaci výrobních procesů a jsou podkladem pro rozhodování zemědělců. Využívání dat vede ke zvyšování efektivity a produktivity v zemědělství, k podpoře lepších životních podmínek zvířat i větší šetrnosti k životnímu prostředí. Technické vymoženosti přitom nejsou otázkou daleké budoucnosti, řadu technologických novinek je možné zavést do výroby již dnes (Novák, Hrtúsová 2018).
Internet věcí, neboli zkráceně IoT, je jedním z nejdynamičtěji se rozvíjejících odvětví v oblasti informačních a komunikačních technologií. IoT přináší do různých oblastí včetně zemědělství možnost sběru dat nebo řízení procesů v reálném čase díky připojení fyzických zařízení (věcí) ke komunikační síti (internetu). IoT technologie mohou pomoci vyhodnotit stav půdy, rostlin nebo pohyb zvířat i atmosférické podmínky. Mohou se také použít k vyhodnocení a kontrole proměnných, jako je teplota, vlhkost vzduchu a půdy apod. (Talavera et al. 2017) viz *obr. 1*.

Obr. 1: Obecné schéma uplatnění principů IoT v oblasti precizního zemědělství (převzato s úpravami z Talavera et al. 2017)



Vysvětlení: Obrázek ilustruje obecné schéma uplatnění principů IoT v oblasti precizního zemědělství. Jsou zde patrné čtyři hlavní vrstvy: fyzická, komunikační, servisní a aplikační. Fyzickou vrstvu lze ještě rozdělit na část snímací a na část řídicí. Do snímací části fyzické vrstvy lze zařadit: RFID lokalizaci, monitoring vlhkosti půdy, relativní vlhkosti a teploty mikroklimatu rostlin, přesný monitoring klimatu pomocí lokálních meteostanic, monitoring půdních živin, analýzu volně přístupných družicových dat a také monitoring půdy prostřednictvím bezpilotních platforem (UAV) osazených specifickými pasivními (VIS, NIR, SWIR, MWIR, LWIR) a aktivními senzory (LIDAR). Řídící vrstva na základě sběru dat ze snímací části je schopna efektivně ovlivňovat mechanismy agro sektoru v souladu s principy precizního zemědělství: hnojení, osvětlování, zavlažování, ochrana rostlin, aj. Komunikační vrstva slouží pro sběr dat ze senzorových jednotek a odeslání řídicích pokynů ze směru druhého. Pro sběr dat z jednotlivých prvků na dané lokalitě slouží tzv. lokální gateway. Z tohoto bodu lze data odeslat rovnou do sítě internet. Na servisní vrstvě probíhá přenos zabezpečených komunikačních paketů, dochází k ukládání těchto dat, jejich analýze a také využití dat pro naplnění predikčních algoritmů využívajících strojové učení. V neposlední řadě tato vrstva zajišťuje také vizualizaci analyzovaných dat. Poslední vrstva schématu, aplikační vrstva, má na starosti uživatelské zobrazení dat, zpětné řízení a predikci stavů.

IoT může být v nadcházejících letech klíčovým nástrojem konkurenceschopnosti v celé vertikále zemědělského sektoru od zemědělců přes dodavatele, distributory, spotřebitele až po zástupce státní správy. IoT nabízí pozitivní externality v podobě začlenění do environmentálních aplikací - např. vytváření rozsáhlých mapových souborů v reálném čase o kvalitě ovzduší a vody, hladině hluku, teplotě a vlhkosti půdy apod. Dále jej lze využít ke shromažďování a ukládání záznamů o životním prostředí, kontrole shody environmentálních proměnných s lokálními limity a regulacemi, ke spouštění výstrah nebo zasílání doporučení občanům a úřadům. (Talavera et al. 2017).

Výhodou dnešních technologií je možnost nasazení levných senzorů ve velkém měřítku. Řada senzorů je již dostupná na trhu, ale jejich vývoj nadále intenzivně pokračuje (CleverFarm 2019; Libelium 2019; Sigfox 2019). Vedle senzorů realizovaných konvenčními technologiemi výroby elektronických zařízení představuje jeden z perspektivních směrů vývoje také příprava senzorů pomocí tisku (Artigas et al. 2003; Kim et al. 2013; Atkinson, Sophocleous 2014; Abdelbasir et al. 2018) či dalších aditivních technologií (3D tisku, mikrodispenzingu). Senzorové elementy lze pomocí tiskových technologií realizovat na nosných podkladech nejrůznějšího tvarového provedení (2D i 3D) i materiálového složení zahrnujících např. pevné keramické substráty, ohebné plastové fólie nebo kompozitní prvky s tvarem usnadňujícím instalaci do půdy. Použít lze rovněž vhodně upravené klasické/přírodní materiály jako např. dřevěné kolíky, papírové substráty (Kim et al. 2013, 2014), silnostěnné papírové profily či modifikované biopolymerní materiály. Další významnou výhodou tiskových technologií mohou být vyšší produkční rychlosti a nižší výrobní náklady. Tyto aspekty zvyšují potenciál pro širší uplatnění těchto senzorů, zvýšení hustoty pokrytí a tím i prostorového zpřesnění dat půdní vlhkosti, teplotních profilů a dalších parametrů.
Široké nasazení senzorů a dalších elektronických prostředků pro sběr dat ovšem rovněž vyžaduje promyšlený a zodpovědný přístup k celému životnímu cyklu těchto systémů. Zejména v aplikacích pro zemědělské účely je nezbytné minimalizovat možné environmentální dopady spojené např. s instalací senzorů přímo do půdy. Jejich konstrukce a materiálová skladba by v prvé řadě měla minimalizovat možné riziko kontaminace prostředí jakýmikoliv nežádoucími látkami. Zároveň by také návrh, výroba, používání a následné nakládání po skončení životnosti měly respektovat zásady oběhového hospodářství. Konstrukce senzorových jednotek by tak měla umožňovat opakovanou využitelnost komponent a v případě poškození jejich snadné nahrazení. U vyřazených částí je pak žádoucí jejich další zužitkování v recyklačním procesu, případně alespoň ekologicky šetrná likvidace.

Cílem příspěvku je popsat obecný princip internetu věcí (IoT) v moderním zemědělství a na vlastním vývoji IoT senzorů prakticky demonstrovat jeho možné uplatnění v precizním zemědělství v ČR. V rámci řešení projektu MZE NAZV QK 1810010 „SmartField“ (2018–2022) by měl vzniknout systém bezdrátových senzorových jednotek s tištěnými senzorovými elementy pro monitoring půdní a atmosférické vlhkosti a teploty v technicky minimalistickém provedení, umožňujícím dosáhnout nízkých výrobních nákladů.

Materiál a Metody

Sítě vhodné pro sběr dat v Internetu věcí

Pro sběr dat ze strojů nebo v budovách, kde je dostupný zdroj elektrické energie, lze s výhodou použít existující konvenční komunikační sítě jako jsou Ethernet, Wi-Fi či GSM. Při sběru dat z čidel rozmístěných na malé ploše desítek nebo stovek metrů čtverečních se používají bezdrátové sítě typu WLAN (Wireless Local Area Network) nebo LoWLAN (Low Power WLAN), jako je například Zigbee nebo Bluetooth. Pro sběr dat z čidel rozmístěných v rozsáhlém území (stovky metrů čtverečních a více) se ale více hodí jiné typy bezdrátových sítí, označovaných jako LPWAN (Low-Power Wide-Area Network). Ty umožňují sběr dat na rozsáhlém území s velmi nízkou spotřebou energie, takže zařízení mohou být v provozu i několik let bez výměny baterie (Mekki et al. 2019). Přehled nejznámějších IoT sítí a jejich kategorizace dle způsobu použití je na obrázku 2.

Sítě LPWAN

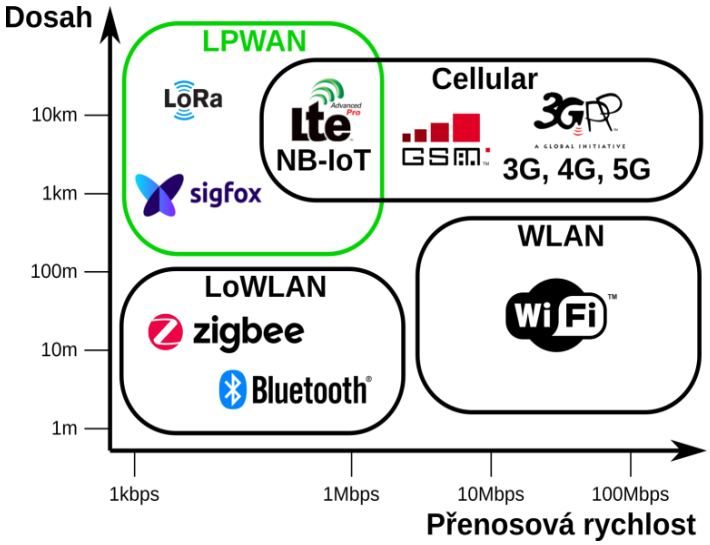
Nejprogresivnějšími sítěmi typu LPWAN s celoplošným pokrytím území České republiky jsou sítě LoRaWAN, Sigfox a NB-IoT. Všechny tři jsou optimalizovány pro připojení bateriových

zařízení, sítě LoRaWAN a NB-IoT díky širší paletě nastavení dovolují i častější přenos většího množství dat na úkor životnosti baterie.

Při výběru vhodné LPWAN sítě pro určitou aplikaci je třeba vzít v úvahu nejdůležitější aspekty LPWAN sítí (Mekki et al. 2019), zejména pak:

- množství dat, které je potřeba zaslat směrem do zařízení a ze zařízení,
- omezení počtu zpráv (za den),
- zabezpečení přenosu,
- ceny koncových zařízení,
- cenu za budování infrastruktury nebo za využití existující infrastruktury,
- dosah signálu od pozemní stanice.

Obr. 2: Přehled nejznámnějších síti využívaných v oblasti IoT pro sběr dat

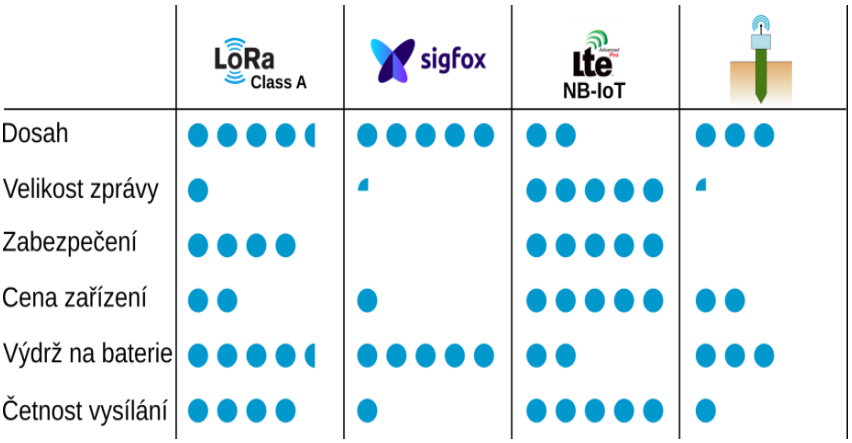


Pozn.: LoWLAN sítě, jako Zigbee nebo Bluetooth LE, se hodí pro bateriové senzory a sběr dat na malé ploše, WLAN sítě (WiFi) se hodí pro připojení zařízení, která potřebují přenášet velké množství dat a zároveň mají možnost připojení k trvalému zdroji napájení. Celulární sítě (jako GSM nebo LTE - 3G, 4G) se zpravidla používají tam, kde je potřeba přenášet větší množství dat na rozsáhlejším území. Zařízení připojená k celulární síti mají zpravidla značnou spotřebu energie (nabíjecí baterie nebo trvalé napájení ze sítě). LPWAN sítě, jako SigFox nebo LoRaWAN, se pak používají pro sběr malého množství dat z velkých území se zachováním velmi nízké spotřeby energie (trvalý bateriový provoz). Hodí se tak k připojení bateriově napájených jednotek. V České Republice dnes existuje také celoplošná LPWAN celulární síť NB-IoT.

LoRaWAN je otevřený standard zaštítěný sdružením LoRa-Alliance. V České republice poskytuje celoplošné pokrytí společnost České Radiokomunikace, zároveň funguje také několik lokálních poskytovatelů (LoRaServer 2019; CRA 2019; Starnet 2019). Zařízení mohou fungovat v několika třídách, jejichž volba ovlivňuje způsob a četnost komunikace a tím samozřejmě i spotřebu energie. Počet zpráv může přesahovat 1000 zpráv za den. Velikost zprávy je omezena na 243 bajtů a přenos je zabezpečen šifrováním. Dosah signálu od pozemní stanice (gateway) pro připojení zařízení jsou jednotky až desítky kilometrů v závislosti na charakteru oblasti. Otevřenost standardu umožňuje ale také budování vlastní infrastruktury. Ceny základnových stanic se pohybují v řádech několika desítek tisíc korun v závislosti na provedení (Loratech 2019; Kerlink 2019), serverovou část pak lze sestavit z open-source komponent dostupných zdarma (LoRaServer 2019). Ceny koncových zařízení začínají pod hranicí 1000 Kč. Platby za připojené zařízení se liší dle operátora - někteří operátoři účtují počet přijatých/odeslaných zpráv, jiní pouze počet připojených zařízení. Cena za připojení jednoho

zařízení se zpravidla pohybuje v řádu stokorun za rok. V případě vlastní infrastruktury se platba za připojené zařízení neuplatňuje.
Síť **Sigfox** je v České Republice provozována lokálním operátorem, společností SimpleCell. Velikost zprávy v síti Sigfox je ve směru ze zařízení omezena na 12 bajtů při maximálním počtu 140 zpráv/den (přenos až 6 hodnot teploty nebo půdní vlhkosti v jedné zprávě), ve směru do zařízení pak 8 bajtů a 4 zprávy/den. Přenos dat v ČR není zabezpečený. Oproti síti loRaWAN je dosah od pozemní stanice je mírně větší a ceny koncových zařízení jsou nižší. Platby za zařízení připojená do sítě jsou formou předplatného - za zařízení a rok.
Standard **NB-IoT** je spravován asociací 3GPP a funguje v licencovaných frekvenčních pásmech pro mobilní telefony GSM a LTE. V České republice poskytuje službu NB-IoT společnost Vodafone. Počet zpráv z/do zařízení je omezen pouze přenosovou rychlostí - může se pohybovat v tisících zpráv za den. Velikost zprávy je omezena na 1600 bajtů. Přenos je zabezpečen stejným způsobem jako ostatní LTE komunikace. Dosah od pozemní stanice jsou řádově jednotky kilometrů v závislosti na charakteru oblasti. Ceny koncových zařízení jsou z uvedených technologií nejvyšší - přesahují většinou 1000 Kč. Platby za zařízení připojená do sítě jsou formou platby za SIM kartu.

Obr. 3: Relativní srovnání hlavních vlastností uvažovaných LPWAN sítí a požadavky IoT senzorového systému vyvíjeného v projektu Smartfield



Na obrázku 3 je znázorněno porovnání vlastností LPWAN sítí a požadavky na sběr dat v IoT senzorovém systému vyvíjeném v projektu Smartfield. Vzhledem k těmto požadavkům a možnosti realizace vlastní infrastruktury byla pro potřeby projektu Smartfield vybrána síť LoRaWAN.

Cíle projektu Smartfield a metodika jeho řešení

V souladu se záměrem projektu realizovat IoT senzorový systém s tištěnými senzory byl od počátku jako základní způsob měření půdní vlhkosti uvažován kapacitní princip. Jeho velkou výhodou je možnost realizace senzorů v planární podobě, s měřicími elektrodami v jedné vrstvě. To je vhodné jak pro prototypovou realizaci konvenční technologií výroby desek plošných spojů (DPS), tak i pro realizaci technologiemi tzv. tištěné elektroniky. Tak lze efektivně vytvářet senzorové elementy pro kapacitní měření vlhkosti zeminy a termosenzitivní elementy pro měření teploty, a to dokonce nejen na planárních nosičích, ale i na povrchu 3D objektů. Tím se otevírají velmi atraktivní možnosti realizace senzorových jednotek přímo na mechanicky robustních tělesech kruhového i pravoúhlého tvaru, které jsou svým tvarem vhodné pro přímou instalaci do půdy.

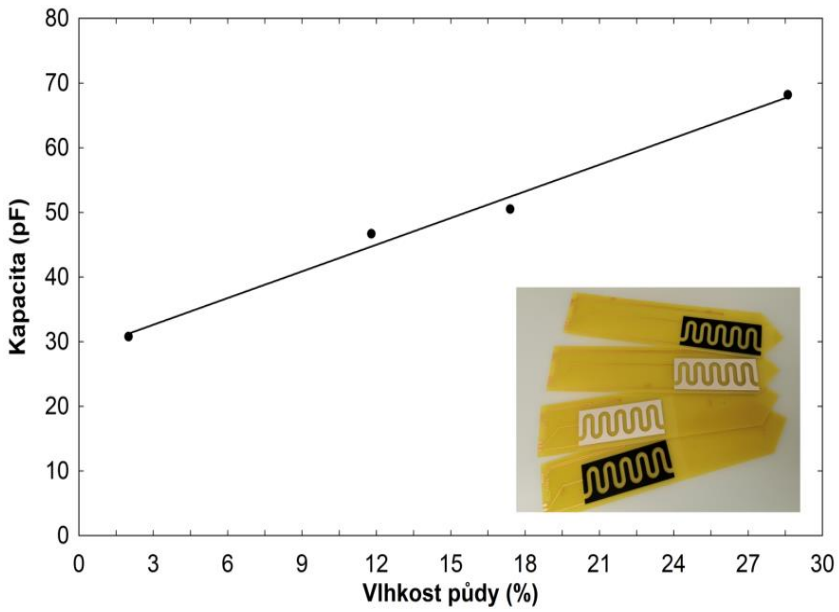
Výhodou aplikace tiskových depozičních technik u senzorových elementů je také nezanedbatelný ekologický přínos. Základem současných senzorových elementů realizovaných na deskách plošných spojů bývá epoxidový nebo polyesterový kompozit, opatřený na jedné nebo obou stranách měděnou fólií, která je překryta polymerní ochrannou vrstvou, tzv. nepájivou maskou. Takováto materiálová skladba při instalaci v půdě dobře odolává vnějším vlivům, ale její recyklace na konci života zařízení představuje, podobně jako u ostatních elektronických zařízení, značný problém (Abdelbasir et al. 2018). V současné době je opětovné využití těchto materiálů pro svou ekonomickou i energetickou náročnost minimální (Shevchenko et al. 2019).
Uvažované tištěné řešení senzorových elementů umožňuje pracovat s celou řadou environmentálně příznivých materiálů, ať už se jedná o elektricky vodivé funkční vrstvy na bázi uhlíku (přírodního grafitu) nebo o konstrukční materiály pro samotné nosiče senzorů. Uhlíkové vrstvy dále obsahují polymerní pojivo, které může být biodegradabilní nebo snadno spalitelné. Jako samotné tiskové substráty (nosiče senzoru) lze použít celou řadu přírodních materiálů, např. dřevěné kolíky či speciálně upravené papírové silnovrstvé profily. Rovněž lze použít biodegradabilní polymery, jako je polylaktid, polyhydroxyalkanoáty, vybrané deriváty celulózy aj.
V souladu se zásadami oběhového hospodářství je konstrukce senzorových jednotek koncipována modulárně s opakovaně využitelnou elektronickou částí a snadno vyměnitelnou a recyklovatelnou senzorovou částí. V případě degradace nebo poškození relativně levné sondy ji lze následně vyměnit a zachovat původní elektronický vyhodnocování modul.

Výsledky a diskuze

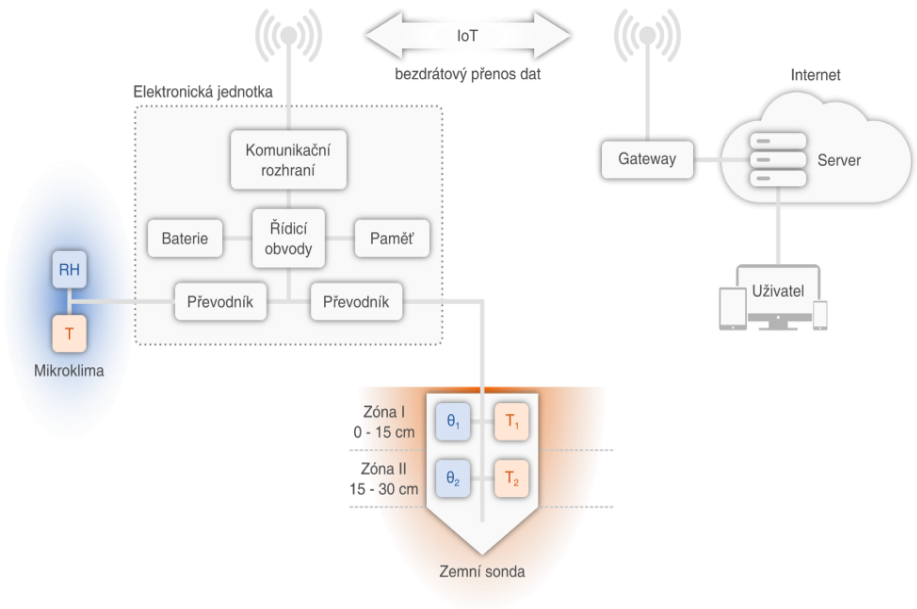
V rámci vývoje zemních sond pro měření půdní vlhkosti byly navrženy tištěné kapacitní senzorové elementy na bázi elektricky vodivého uhlíkového materiálu. Tisková formulace byla metodou mikrodispenzingu nanesena na kompozitní desky, tvořící zároveň samotné tělo zemní sondy Pro zvýšení mechanické a environmentální odolnosti senzorických vrstev obsahovaly tiskové formulace vyšší množství pojivového polymeru. Sondy byly následně na povrchu opatřeny ochrannou vrstvou z polyuretanového laku.

Analýza elektrické odezvy kapacitních senzorů na různé půdní vlhkosti byla provedena v laboratorně připravených vzorcích půdy - půdní typ kambizem modální (lokalita Rájec-Němčice, Drahanská vrchovina, lesní půda, horizont Bv, hloubka odběru 0–20 cm) z reálných půdních odběrů (definované základní fyzikální vlastnosti: OHR /ρd/: 1170 kg.m^{-3}; pórovitost: 54,7 %). Půda byla důkladně proseta sítem s otvory o průměru 2 mm (jemnozem). Zemina byla nejprve vysušena při teplotě 105 °C po dobu 24 h pro odstranění zbytkové vlhkosti. Po vysušení bylo k zemině přidáno předem určené množství vody a po důkladném promísení byly připraveny vzorky pro různé objemové vlhkosti, jejichž přesné hodnoty byly určeny gravimetricky. Z naměřených hodnot je patrné, že realizovaný tištěný senzorový element vykazuje lineární závislost mezi kapacitou a objemovou vlhkostí půdy (obr. 4). To dává dobrý předpoklad pro další výzkum v této oblasti, který bude zaměřen zejména na získávání relevantních dat pro další půdní typy (černozem, hnědozem, kambizem, fluvizem apod.) v rámci ČR.

Obr. 4: Závislost kapacity senzorového elementu na objemové vlhkosti půdy a vzorky tištěných senzorů pro měření objemové půdní vlhkosti s kapacitními senzorovými elementy, umožňující měření ve dvou různých hloubkách



Obr. 5: Blokové schéma IoT senzorového systému realizovaného v rámci řešení projektu Smartfield



Senzorové elementy poté budou připojeny k modulárním autonomním senzorovým jednotkám bezdrátově připojeným do IoT sítě. Elektronická jednotka obsahuje nezbytné napájecí, vyhodnocovací a komunikační obvody v hermeticky uzavřeném pouzdře odolném vnějším povětrnostním vlivům. Externě bude k jednotce připojen senzorový modul pro měření teploty a relativní vlhkosti mikroklimatu. Zemní sonda, koncipovaná jako planární deska, bude rozdělena na dvě hloubkové zóny (0–15 cm; 15–30 cm) a v každé z nich bude nezávisle měřena

teplota a vlhkost půdy. Tato konstrukce je výhodná pro snadno vzájemnou montáž elektronické jednotky a zemní sondy i jejich případnou výměnu. V průběhu projektu bude souběžně s probíhajícím výzkumem plně tištěných senzorových elementů postupně aktualizována konstrukce zemních sond při zachování stejné koncepce elektronických jednotek. Tento přístup umožní efektivní a rychlé prototypování nových verzí senzorů v celém systému. Pro bezdrátovou komunikaci bude využita síť LoRaWAN, která dovoluje snadné zprovoznění vlastní komunikační infrastruktury. Pro praktické ověřovací testy a optimalizaci senzorových jednotek bude instalována vlastní gateway pokrývající svým dosahem vybrané zemědělské lokality, na nichž hospodaří člen projektového konsorcia AGROSPOL, agrární družstvo. V rámci projektu se uvažuje realizace testovací senzorové sítě pro monitoring teploty a vlhkosti mikroklimatu a půdy čítající několik desítek senzorových jednotek rozmístěných na celkové ploše cca 1500 ha.

Závěr

Internet věci (IoT) v současné době přináší do moderní zemědělské výroby možnost sběru dat, řízení a vyhodnocování procesů v reálném čase. Pro sběr dat lze použít existující konvenční komunikační sítě (Ethernet, Wi-Fi či GSM), dále bezdrátové sítě typu WLAN nebo LoWLAN, jako je například Zigbee nebo Bluetooth. Pro sběr dat z čidel rozmístěných v rozsáhlých územích jsou již v ČR dostupné speciální bezdrátové sítě typu LPWAN (LoRA, Sigfox, NB-IoT).

V rámci řešení projektu MZE NAZV QK 1810010 „SmartField“ (2018–2022) postupně vzniká nový systém bezdrátových senzorových jednotek s tištěnými senzorovými elementy pro monitoring půdní a atmosférické vlhkosti a teploty. Výsledky měření prokazují, že realizované tištěné senzorové elementy vykazují vhodnou závislost mezi elektrickou kapacitou a objemovou vlhkostí půdy. Senzorové elementy budou připojeny k modulárním autonomním senzorovým jednotkám bezdrátově připojeným do IoT sítě. Pro bezdrátovou komunikaci bude využita síť LoRaWAN, která dovoluje snadné zprovoznění vlastní komunikační infrastruktury. V další fázi výzkumu (2020–2021) budou získána a ověřena relevantní data z nově vyvinutých senzorů pro různé půdní typy (černozem, hnědozem, kambizem apod.) v rozdílných klimatických podmínkách (in situ). Následně v letech 2021–2022 bude celý systém (IoT senzorová síť pro monitoring teploty a vlhkosti mikroklimatu a půdy) testován na modelovém území zemědělské společnosti AGROSPOL, a.d. (cca 20–25 senzorových jednotek rozmístěných na ploše cca 1500 ha).

V rámci budoucího výzkumu v oblasti precizního zemědělství v ČR je potřeba klást důraz zejména na aplikace: úložiště pro sběr dat a jejich uchování, propojení oddělených datových souborů s aplikacemi již existujícími v prostoru internetu, nástroje pro kontrolu a kalibraci zdrojových dat v prostoru úložišť, modelové aplikace pro řídící a kontrolní mechanismy v rámci Zemědělství 4.0. Dále musí být vytvořeny metodologické pokyny pro uplatnění technologie SmartFarming (SF) v zemědělské výrobě včetně koncepce vzdělávání v odborném středním a vysokém školství pro nastupující generaci řídících a vedoucích pracovníků v agrosektoru resp. státní správy.

Dedikace

Příspěvek vznikl za podpory řešení MZE NAZV QK 1810010 „SmartField” a MZe RO0418 VZ 07.

Použitá literatura

Abdelbasir, S.M., El-Sheltawy, C.T., Abdo, D.M. 2018. Green Processes for Electronic Waste Recycling: A Review. Journal of Sustainable Metallurgy, 4(2):295–311.

Artigas, J., Jimenez, C., Lemos, S.G., Nogueira, A.R.A., Torre-Neto, A., Alonso, J. 2003. Development of a screen-printed thick-film nitrate sensor based on a graphite-epoxy composite for agricultural applications, Sensors and Actuators B: Chemical, 88(3): 337–344.

Atkinson, J.K., Sophocleous, M. 2014. A novel thick-film screen printed electrical conductivity sensor for measurement of liquid and soil conductivity. SENSORS, 2014 IEEE, Valencia, pp. 86–89.

Cleverfarm 2019. https://www.cleverfarm.cz/katalog-senzoru

CRA 2019. https://www.cra.cz/objevte-svet-iot

Fikejs, M., Jambor, V., Menšík, L., Dvořák, L., 2017. HarvestLab's use on John Deere forage harvesters in practice. Náš Chov 11, 22–23. (in Czech)

Kerlink 2019. https://www.kerlink.com/product/wirnet-station/

Kim S. et al. 2013. Inkjet-printed sensors on paper substrate for agricultural applications. European Microwave Conference, Nuremberg, pp. 866–869.

Kim, S., Le, T.,Tentzeris, M.M., Harrabi, A., Collado, A., Georgiadis, A. 2014. An RFID-enabled inkjet-printed soil moisture sensor on paper for “smart” agricultural applications. SENSORS, 2014 IEEE, Valencia, pp. 1507–1510.

Kroulík, M., Hůla, J., Brant, V. 2018. Field trajectories proposals as a tool for increasing work efficiency and sustainable
land management. Agronomy Research, 16(4): 1752–1761.

Kušová, D., Těšitel, J., Boukalová, Z. 2017. Willingness to adopt technologies of precision agriculture: A case study of the Czech Republic. WIT Transactions on Ecology and the Environment, 220: 109–117.

Libelum 2019. http://www.libelium.com/development/waspmote/documentation/agriculture-board-technical-guide-v12/

LoRaServer 2019. https://loraserver.io/

Loratech 2019. http://eshop.loratech.cz

Loučka, R., Homolka, P., Jančík, F., Koukolová, V., Kubelková, P., Tyrolová, Y., Výborná, A., Jambor, V., Vosynková, B., Nerušil, P., Menšík, L., Nedělník, J., Lang, J., Šindelková, I., Kintl, A., 2019. Precision farming to better results in nutrition, in: Loučka, R. (Ed.), Elements of Precision Agriculture in Livestock Farming. Institute of Animal Science Praha-Uhříněves, Praha, 21 p.

Lukas, V., Nudert, L., Duffková, R., Fučík, P., Mezera, J. 2019. Mapa výnosového potenciálu pro Zemědělské družstvo Kojčice. URL: http://user.mendelu.cz/xlukas0/publikace/Lukas_Nmap_2018.pdf

Mekki, K., Bajic, E., Chaxel, F., Meyer, F. 2019. A comparative study of LPWAN technologies for large-scale IoT deployment, ICT Express, 5(1):1–7.

Menšík, L., Nerušil, P., Míka, V., Loučka, R., Jambor, V. 2019. History and Current use of Near-Infrared Spectroscopy (NIRS) for the Analysis of Forage and Preserved Feed at Grasland Research Station Jevíčko in the Czech Republic. In. Jambor, V., Malá, S. 18th International Symposium Forage Conservation, Mendel Univerity in Brno, August 13-16, 2019, Brno, Czech Republic, pp. 190-197. ISBN 978-80-7509-670-8.

Novák, R., Hrtúsová, T. 2018. Precizní zemědělství v praxi. Česká spořitelna, Ekonomické a strategické analýzy EU Office / Knowledge Centre. 10 s.

Shevchenko, T., Laitala, K., Danko, Y. 2019. Understanding Consumer E-Waste Recycling Behavior: Introducing a New Economic Incentive to Increase the Collection Rates. Sustainability: Science, Practice and Policy, 11(9): 2656.

Sigfox 2019. https://partners.sigfox.com/search/products?or[categories][0]=device&q=soil
Starnet 2019. https://www.starnet.cz/iot/
Talavera, J.M., Tobón, L.E., Gómez, J.A., Culman, M.A., Aranda, J.M., Parra, D.T., Garreta, L.E. 2017. Review of IoT applications in agro-industrial and environmental fields. Computers and Electronics in Agriculture, 283–297.

Příloha: Ostatní odkazy k preciznímu zemědělství

https://www.cleverfarm.cz/katalog-senzoru
http://www.agris.cz/zemedelstvi/zemedelcum-usnadni-zivot-internet-ohlida-i-oplodneni-krav-na-pastvine?id_a=205467
https://www.agdata.cz/gps-a-senzory/
https://www.farmium.cz/ https://www.svetchytre.cz/a/pykMx/pomoc-farmarum-kdyz-nepodrzi-pocasi-pomuze-chytra-technika
https://www.solidustech.cz/odvetvi/zemedelstvi/
https://www.solidustech.cz/wp-content/uploads/2019/05/datasheet_solidustech_EN3_ver2_WEB.pdf
https://smartelements.io/products/
https://pycno.co/
https://sites.google.com/radekosicka.cz/chytravinice/home
https://www.cnews.cz/ve-vine-je-pravda-na-vinici-je-iot-jak-internet-veci-pomaha-vinarum-k-lepsi-urode/
https://www.mybeepad.com/cz/about
https://www.svetchytre.cz/a/SvChP/chytre-ulove-vahy-udelaji-stastnejsi-vcelare-i-jejich-vcely
https://partners.sigfox.com/search/products?or[categories][0]=device&q=soil
http://www.libelium.com/development/waspmote/documentation/agriculture-board-technical-guide-v12/

Kontaktní adresa:

Ladislav Menšík, Ing., Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Odbor systémů hospodaření na půdě
Obhospodařování a využívání trvalých travních porostů
Výzkumná stanice Jevíčko
K. H. Borovského 461
569 43 Jevíčko
e-mail: ladislav.mensik@vurv.cz

VYHODNOCENÍ VARIABILNÍHO PŘIHNOJOVÁNÍ POROSTŮ PŠENICE OZIMÉ SYSTÉMEM ISARIA

Evaluation of variable fertilizing of winter wheat by Isaria system

Mezera J.[1], Lukas V.[1], Elbl J.[1], Kintl A.[2], Smutný V.[1]

[1]*Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně*
[2]*Výzkumný ústav pícninářský, Zahradní 1, Troubsko*

Abstrakt

Cílem práce je vyhodnocení variability pozemků a přínosu variabilní aplikace dusíkatých hnojiv. Data byla získána na pozemcích střediska Zdounky (Kroměříž) společnosti SALIX MORAVA a.s. v letech 2016 a 2017. Záznamy ze dvou pozemků byly zpracovány a analyzovány pomocí nástrojů GIS. Variabilita pozemků byla hodnocena na základě výnosových map ze sklízecích mlátiček a dat ze senzorového systému Isaria. Aplikace dusíkatých hnojiv byla provedena pomocí online senzorového systému Fritzmeier Isaria pro produkční a kvalitativní dávku dusíku v pšenici ozimé. Výsledky analýzy výnosových map ukazují, že rozpětí výnosu je od 5,55 do 11,53 t.ha^{-1} v roce 2016 a od 4,86 do 14,30 t.ha^{-1} v roce 2017. V práci bylo zjištěno, že oblasti s průměrným výnosem odpovídá 70–83 % ploch pozemků, zbylé plochy (17–30 %) jsou buď podprůměrné nebo nadprůměrné.

Klíčová slova: precizní zemědělství, mapování výnosů, mapování porostů, variabilní aplikace hnojiv

Abstract

The aim of this study was to analyze the spatial variability of two fields and the benefit of variable rate application of nitrogen fertilizers. Experimental work was carried out at two fields on farm enterprise SALIX MORAVA a.s. located in Zdounky in 2016 and 2017. Data were processed and analyzed using GIS tools. Spatial variability was evaluated on the basis of yield maps from combine harvesters and data from the Isaria sensor system. The application of nitrogen fertilizers was carried out using the online sensor system Fritzmeier Isaria for second (N2) and third (N3) topdressing nitrogen application in winter wheat. The results of the yield map analysis show that the yield range is from 5.55 to 11.53 t.ha^{-1} in 2016 and from 4.86 to 14.30 t.ha^{-1} in 2017. The work found that areas with an average yield correspond to 70–83 % of the land area, the remaining areas (17–30 %) are either below average or above average.

Key words: precision agriculture, yield mapping, proximal crop sensing, variable rate application

Úvod

Hnojení dusíkem je nezbytnou součástí pěstování rostlin, ale zároveň velice nebezpečnou oblastí pro životní prostředí. Řešení se nabízí ve variabilní aplikaci dusíkatých hnojiv, která zohledňuje specifické půdní podmínky prostředí a výživný stav rostlin s následnou vyšší účinností využití dusíku rostlinami a nižším rizikem úniku dusíku do životního prostředí (Shanahan et al., 2008). Dávky dusíkatých hnojiv jsou založeny na snímání stavu porostů pomocí dálkového průzkumu Země. Může se jednat o satelitní, letecký nebo bezpilotní průzkum, případně snímání senzory on-the-go. Senzory pro snímání plodin jsou namontovány na stroje a využívají informace o odrazivosti viditelného a NIR záření, vypovídající o stavu plodin, např. LAI, množství nadzemní biomasy, obsahu chlorofylu a další.

Variabilní aplikace hnojiv může být definována jako rozložení aplikovaného hnojiva na pozemku na základě podmínek prostředí a výživného stavu rostlin (Diacono et al., 2013). Cílem variabilní aplikace hnojiv je optimalizovat vstupy živin do půdy tak, aby aplikované množství bylo z největší části využitelné rostlinami podle tzv. management zone představujících oblasti s homogenními vlastnostmi prostředí a půdních podmínek.
K hospodaření v systému precizního zemědělství je nezbytným předpokladem variabilita pozemku. K získání informací o variabilitě pozemku se často využívají mimo jiné data ze sklízecích mlátiček – výnosové mapy, jelikož výnos je integrátor proměnlivosti krajiny a klimatu (Kleinjan et al., 2007). Při hodnocení rozpětí výnosu popsali Blackomore et al. (2003), že cílem je identifikovat na pozemku oblasti s průměrným výnosem, s vysokým výnosem (nad průměrem) a oblasti s nízkým výnosem (pod průměrem).
Cílem této studie byla analýza variability pozemků a hodnocení variabilní aplikace dusíkatých hnojiv na pozemcích s pšenicí ozimou pomocí online senzorového systému Fritzmeier Isaria v letech 2016 a 2017.

Materiál a metody

Vstupní data byla získána mapováním dvou pozemků střediska Zdounky společnosti SALIX MORAVA a.s. v letech 2016 a 2017. Na pozemcích s celkovou výměrou 114 ha byla pěstována pšenice ozimá. Zdounky se nacházejí nedaleko Kroměříže v řepařské výrobní oblasti. Klimatický region pozemků je mírně teplý až teplý a mírně vlhký (T3, MT2). Dlouhodobá průměrná teplota za období 1961–1990 je 8,1 °C a průměrný úhrn srážek 550–700 mm. Pozemky se nacházejí v nadmořské výšce 205–320 m.n.m. Půdním typem jsou černozemě, hnědozemě, kambizemě a fluvizemě. Půda je středně těžká, hloubka je středně hluboká až hluboká, bez skeletu až slabě skeletovitá. Obsah humusu je středně vysoký, 2-3 %, pH 6,6-7,2. Pozemky jsou rovinaté, mírně až středně svažité.

Variabilní aplikace hnojiv pomocí systému Fritzmeier Isaria

Aplikace dusíkatých hnojiv k pšenici ozimé byla provedena ve třech aplikacích (N1, N2, N3). Variabilní aplikace byla provedena pomocí online senzorového systému Fritzmeier Isaria a aplikačních map pro produkční (N2) a kvalitativní (N3) přihnojení v agregaci s traktorem John Deere 6195R s neseným rozmetadlem Amazone ZA-TS 4200 a systémem Isaria. Výživný stav rostlin je hodnocen na základě spektrálních měření porostu pomocí aktivních LED diod ve čtyřech pásmech vlnových délek (660-880 nm). Jsou vypočítány dva vegetační indexy – Isaria Biomass Index (IBI) odrážející množství biomasy a Isaria Reflectance Measurement Index (IRMI) vyjadřující obsah chlorofylu v listech. Rozmetadlo bylo řízeno CCI terminálem s automatickým hlídáním záběru, připojeným k terminálu Isaria. Princip hnojení pro produkční a kvalitativní hnojení byl odlišný. Při produkčním hnojení byly nejvyšší dávky aplikovány na části pole s nejnižším obsahem dusíku a naopak. Při kvalitativním hnojení byly nejvyšší dávky aplikovány na nejlepší části pole a naopak. Záznamy vegetačních indexů byly zpracovány v programu ArcGIS 10.3 (ESRI. Redlands. USA). Soubory byly interpolovány pomocí nástrojů prostorových interpolací metodou Empirical Bayesian Kriging (EBK) do celoplošných rastrových map.

Obrázek 5 Aplikace dusíkatých hnojiv pomocí systému Fritzemier Isaria

Mapování výnosů

Výnosová data pšenice ozimé byla zaznamenána během sklizně v letech 2016 a 2017 pomocí sklízecích mlátiček Claas Lexion 670. Sklízecí mlátičky byly vybaveny DGPS, senzory vlhkosti a průtoku zrna. Mlátička zaznamenává bodová data společně s polohou, šířkou záběru, vlhkostí zrna, výnosem a dalšími parametry. Data byla zpracována v ArcGIS, kde byla provedena filtrace, odstranění odlehlých hodnot a prostorová interpolace metodou ordinary kriging. Dalším krokem byla normalizace výnosu pro získání relativních hodnot, kde 100 % reprezentuje průměrný výnos každého pozemku, dále byla data klasifikována do 6 tříd a provedena zonální statistika pro získání základních statistických informací. Na závěr byla na základě výnosových map vypočítána mapa odběru dusíku.

Výsledky a diskuze

Mapování prostorové heterogenity

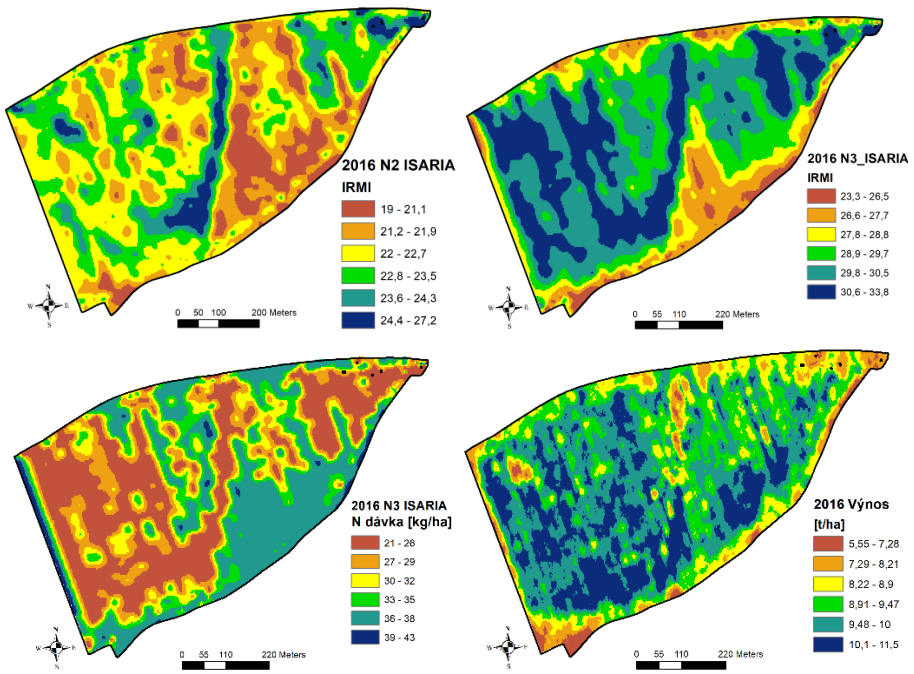
Výsledky ze senzorového systému Isaria (vegetační indexy IRMI, IBI, aplikovaná dávka N) pro produkční a kvalitativní přihnojení pšenice ozimé v letech 2016 a 2017 byla analyzována pomocí nástrojů GIS. Mapy ukazují prostorovou variabilitu sledovaných parametrů porostu a výnosu zrna. Základní statistické údaje jsou ukázány v Tabulce 1 a 2. Rozpětí dávek dusíku je v roce 2016 od 19 kg N.ha^{-1} do 43 kg N.ha^{-1} (N2) a od 47 kg N.ha^{-1} do 114 kg N.ha^{-1} (N3) s variačním koeficientem od 16,03 % do 24,51 %. V roce 2017 je rozpětí 96 kg N.ha^{-1} (N2) a 46 kg N.ha^{-1} (N3) s variačním koeficientem od 11,20 % do 88,92 %. Průměrný výnos zrna je 9,44 t.ha^{-1} v roce 2016 (rozpětí 5,55 – 11,53 t.ha^{-1}) a 10,34 t.ha^{-1} v roce 2017 (4,86 – 14,30 t.ha^{-1}); variační koeficient je pro oba roky pod hranicí 10 % (8,26 % v 2016; 9,97 % v 2017).

Tab. 1: Základní statistiky dat ozimé pšenice za rok 2016

	2016					
Plocha 43,91 ha	Min	Max	Rozpětí	Průměr	Sm. odch.	VK [%]
N2 [kg.ha^{-1}]	19,32	42,90	23,58	30,25	4,85	24,51
N3 [kg.ha^{-1}]	47,13	113,87	66,74	90,37	22,15	16,03
Výnos zrna [t.ha^{-1}]	5,55	11,53	5,98	9,44	0,78	8,26
IRMI N2	19,01	27,15	8,15	22,40	1,05	4,69
IBI N2	1,92	4,28	2,36	3,30	0,26	7,84
IRMI N3	23,33	33,28	9,95	29,56	1,36	4,60
IBI N3	3,02	5,02	2,00	4,46	0,28	6,17
Odběr N [kg.ha^{-1}]	127,70	265,16	137,46	217,02	17,93	8,26

Legenda: Sm. odch. – směrodatná odchylka; VK – variační koeficient

Obr.6: Mapy pozemku v roce 2016

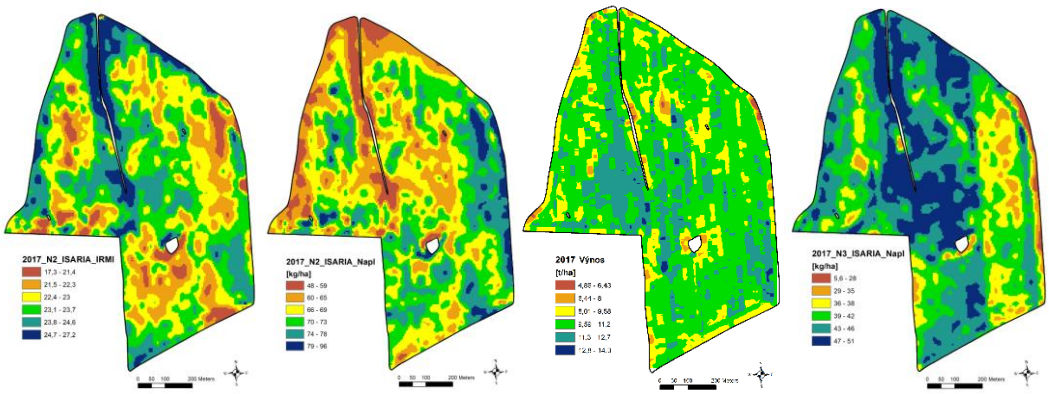


Tab. 2: Základní statistiky dat ozimé pšenice za rok 2017

	2017					
Plocha 69,77 ha	Min	Max	Rozpětí	Průměr	Sm. odch.	VK [%]
N2 [kg.ha^{-1}]	0,00	96,05	96,05	38,41	34,16	88,92
N3 [kg.ha^{-1}]	5,58	51,13	45,55	42,55	4,77	11,20
Výnos zrna [t.ha^{-1}]	4,86	14,30	9,44	10,34	1,03	9,97
IRMI N2	17,34	27,17	9,83	23,12	1,05	4,54
IBI N2	1,75	4,25	2,50	3,11	0,37	11,90
IRMI N3	16,66	28,82	12,16	26,67	0,74	2,79
IBI N3	2,00	4,65	2,65	4,24	0,16	3,79
Odběr N [kg.ha^{-1}]	111,73	328,81	217,08	237,86	23,70	9,97

Legenda: Sm. odch. – směrodatná odchylka; VK – variační koeficient

Obr. 7: Mapy pozemku v roce 2017



Klasifikace výsledků mapování

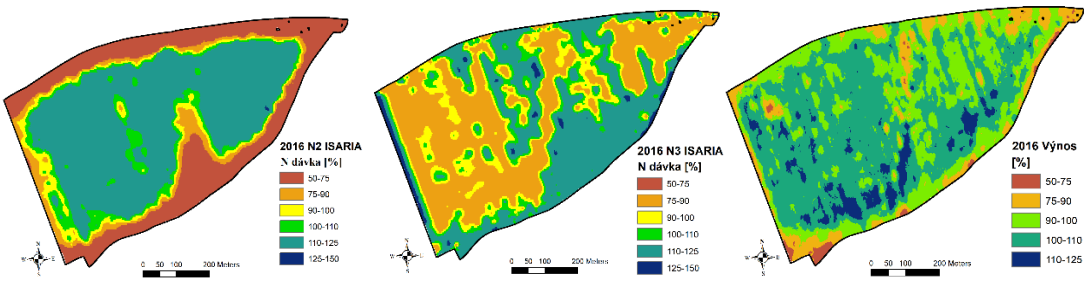
Pozorované parametry byly normalizovány pro získání relativních hodnot jako poměr každé hodnoty pixelu k průměrné hodnotě za celý pozemek (100 %) a klasifikovány do 6 tříd pro rok 2016 (Tabulka 3, Obrázek 4) a 7 pro rok 2017 (Tabulka 4, Obrázek 5).

Tab. 3: Zastoupení tříd v roce 2016

2016	**Reprezentace pozemku [%]**						
Třída [%]	N2 IBI	N2 IRMI	N2 apl N	N3 IBI	N3 IRMI	N3 apl N	Výnos
0-75	0,01		25,46	0,01		0,01	1,25
75-90	10,76	0,83	7,09	9,86	2,96	39,29	9,80
90-100	38,82	50,18	5,94	30,00	38,13	15,26	30,68
100-110	40,27	46,50	8,42	59,26	58,85	11,53	52,00
110-125	10,06	2,49	53,06	0,87	0,05	31,94	6,27
125-150	0,08		0,03			1,98	

Legenda: N2, N3 – produkční, kvalitativní hnojení

Obr. 8: Mapy zastoupení tříd v roce 2016

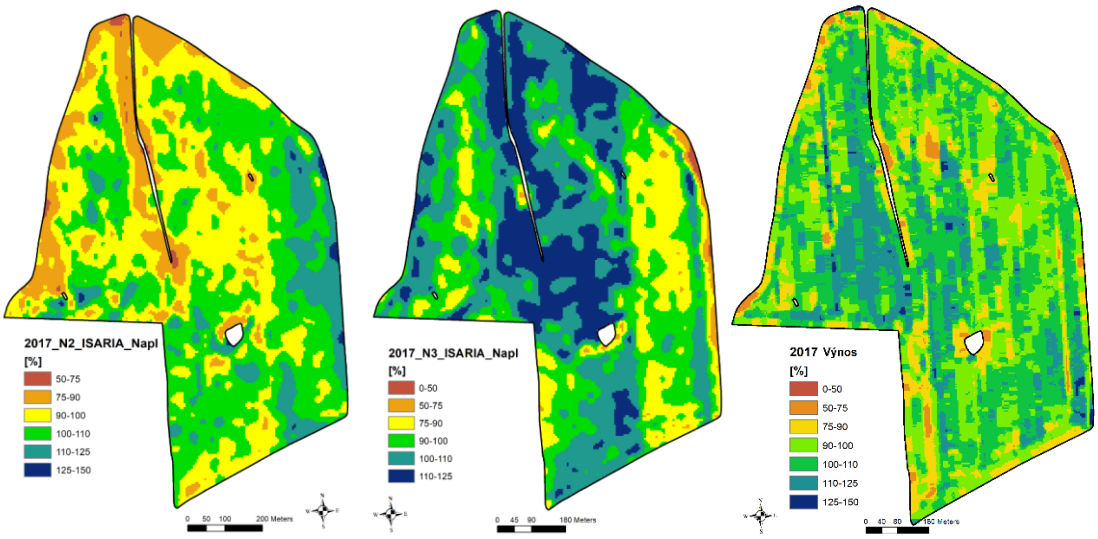


Tab. 4: Zastoupení tříd v roce 2017

2017	**Reprezentace pozemku [%]**						
Třída [%]	N2 IBI	N2 IRMI	N2 apl N	N3 IBI	N3 IRMI	N3 apl N	Výnos
0-50				0,00		0,23	0,01
50-75	1,87	0,00	0,43	0,12	0,08	1,48	1,96
75-90	18,24	1,65	12,95	1,82	0,30	16,50	12,85
90-100	31,02	49,20	34,68	42,68	50,03	27,79	32,88
100-110	28,58	47,07	39,88	55,37	49,59	34,00	37,25
110-125	18,37	2,07	11,55			20,01	14,51
125-150	1,92		0,51				0,52

Legenda: N2, N3 – produkční, kvalitativní hnojení

Obr. 9: Mapy zastoupení tříd v roce 2017



Střední kategorie, které jsou blízké průměrným hodnotám pozemku jsou reprezentovány ve dvou třídách, a to v rozpětí 90–100 % a 100–110 %. Jak je patrné v Tabulce 3, v roce 2016 tyto průměrné třídy reprezentovaly 82,86 % plochy pozemku, nicméně systém Isaria aplikoval průměrnou dávku dusíku na 14,36 % plochy (N2), respektive 26,79 % (N3). Na zbylé ploše pozemku byly aplikovány podprůměrné a nadprůměrné dávky dusíku. Toto bylo pravděpodobně způsobeno režimem mapového překryvu systému Isaria s podkladovou mapou výnosového potenciálu, vypočítaného na základě družicových snímků. Výsledky z roku 2017 ukazují vyšší shodu průměrných ploch mezi aplikací dusíku systémem Isaria (74,56 % N2, 61,79 % N3) a výnosovými mapami (70,13 %). Tato data potvrdila, že variabilní aplikace dusíku má potenciál podpořit růst plodin, protože N se aplikuje na místa, kde může být rostlinami lépe využit a kde je potenciál aplikovaný dusík zabudovat do těla rostlin (Charf et al., 2005; Raun et al., 2001).

Při variabilní aplikaci dusíkatých hnojiv nedochází k přehnojení slabších míst a nedostatečnému hnojení silnějších míst na pozemku. Podle Brentrup et al. (2010) rostliny hnojené variabilně jsou schopny efektivněji využívat aplikovaný N, což vede ke snížení rizika uniku a vyplavování dusíku do spodních vod a životního prostředí. Thriwakala et al. (1997) poznamenali, že na úrodných a středně úrodných půdách by měla být variabilní aplikace nastavena na vyšší dávky. Jak ukazuje Galambošová et al. (2015), variabilní aplikace dusíkatých hnojiv systémem Isaria společně s mapami výnosového potenciálu přinesla významný přínos ve formě zvýšení výnosu 1,25 $t.ha^{-1}$. Nárust byl způsoben vyššími dávkami hnojiva v průměru o 49 kg N na hektar, který byl rostlinami využit. Nedávné hodnocení on-the-go systémů publikované se studii Hrůzy (2008) ukázalo ekonomický přínos hnojení na méně produkčních oblastech.

Závěr

Tato práce prezentuje výsledky polního experimentu zaměřeného na variabilní aplikaci dusíkatých hnojiv pomocí on-the-go senzorového systému Fritzmeier Isaria na středisku Zdounky společnosti SALIX MORAVA a.s. Vyhodnocení technologie variabilní aplikace bylo

provedeno v přirozených podmínkách na vybraných pozemcích s pšenicí ozimou pomocí mapování porostu, aplikace dusíkatých hnojiv a mapování výnosů během sklizně.
Výsledky této práce ukazují vysokou variabilitu výnosů, které se pohybovaly od 5,55 $t.ha^{-1}$ do 11,53 $t.ha^{-1}$ v roce 2016 a od 4,86 $t.ha^{-1}$ do 14,30 $t.ha^{-1}$ v roce 2017. Toto bylo pozorováno i v případě mapování porostů ve formě vegetačních indexů IRMI a IBI.
Prostorová analýza dávek dusíku prokázala pozitivní efekt technologií variabilní aplikace. Uniformní aplikace dusíkatých hnojiv na průměrný výnos by vedla k nedostatečnému hnojení přibližně na 6 % plochy v roce 2016, více jak 15 % v roce 2017 a k přehnojení na 11 % v 2016 a téměř 15 % plochy v 2017.
Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že systém precizního zemědělství je schopen poskytnout dostatečné množství informací o variabilitě pozemků s potenciálem optimalizace produkčních vstupů v rostlinné výrobě. Ekonomický efekt je však dlouhodobý a závislý na schopnostech pracovníků v zemědělské praxi jednotlivých prvků precizního zemědělství využívat.

Dedikace

Tato studie byla podpořena Interní grantovou agenturou Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně jako výzkumný projekt AF-IGA2019-IP017 „Vyhodnocení efektivity variabilní aplikace dusíkatých hnojiv v precizním zemědělství“. Data byla získána ve spolupráci se SALIX MORAVA a.s. (součást Spearhead Czech Ltd).

Použitá literatura

Blackmore, S., The interpretation of trends from multiple yield maps, Computers and Electronics in Agriculture, NL, vol. 26, pp 37-51, 2000.

Brentrup F., Pallière C., Nitrogen use efficiency as an agroenvironmental indicator, Proceedings of the OECD Workshop on Agrienvironmental Indicators, Switzerland, 2010.

Diacono M., Rubino P., Montemurro F., Precision nitrogen management of wheat, A review, Agronomy for Sustainable Development, DEU, vol. 33, pp 219-241, 2013.

Galambošová J., Ingeli M., Rataj V., Overenie technologie variabilnej aplikácie dusíka s využitím informácie o poraste a produkčnej zóne pozemku v poloprevádzkových podmienkach, Agrochémia, SR, vol 19/issue 2, pp 18-22, 2015.

Hrůza, M., Technicko-ekonomické hodnocení variabilního a uniformního hnojení v podmínkách precizního zemědělství, Doktorská disertační práce, Brno, 2008.

Charf P.C., Kitchen N. R., Sudduth K. A., Davis J. G., Hubbard V. C., Lory J. A., Field-scale variability in optimal nitrogen fertilizer rate for corn, Agronomy Journal, USA, vol. 97/issue 2, pp 452-461, 2005.

Kleinjan, J., Clay D. E., Carlson C. G., Clay S. A, Developing Productivity zones from multiple years of yield monitor data, GIS applications in agriculture, CRC Press, USA, pp. 65–80, 2007.

Raun W.R., Solieb J. B., Johnsona G. V., Stoneb M. L., Mullena R. W., Freemana K. W., Thomasona W. E., Lukin E. V., Improving nitrogen use efficiency in cereal grain production with optical sensing and variable rate application, Agronomy Journal, USA, vol. 94/issue 4, pp 815-820, 2001.

Shanahan J.F., Kitchen N. R., Raun W. R., Schepers J. S., Responsive in-season nitrogen management for cereals, Computers and Electronics in Agriculture, NL, vol. 61, pp 51-62, 2008.

Thriwakala S., Weersink, A., Kachanoski, G., Management unit size and efficiency gains from nitrogen fertilizer application, Agricultural Systems, UK, vol. 56/issue 4, pp 513-531, 1997.

Kontaktní adresa:

Ing. et Ing. Jiří Mezera,
Mendelova univerzita v Brně,
Agronomická fakulta, Ústav agrosystémů a bioklimatologie,
Zemědělská 1,
613 00 Brno,
telefon: +420 545 133 086,
e-mail: jiri.mezera@mendelu.cz

VÝNOS PŠENICE PŘI HNOJENÍ STATKOVÝMI A MINERÁLNÍMI HNOJIVY V PODMÍNKÁCH SUCHA V DLOUHODOBÉM POLNÍM POKUSU

Winter wheat yields under fertilization with mineral and organic fertilizers in conditions of drought in a long-term field experiment

Mühlbachová G., Káš M.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha – Ruzyně

Abstrakt

Vliv srážek a teplot na výnos pšenice ozimé a obsah minerálního dusíku (Nmin) v půdě byl hodnocen v letech 2017-2019 v dlouhodobém polním pokusu s hnojením statkovými a minerálními hnojivy. Pokus byl založen v roce 1984 v Ivanovicích na Hané. Dlouhodobý průměr výnosů odpovídal intenzitě hnojení, kdy nejlepší výnosy byly získány při 120 kg N ha^{-1} a 160 kg N ha^{-1}. V letech 2017-2018 byl ale výnos pšenice, a to zejména u nejvíce hnojených variant, negativně ovlivněn nižšími srážkami, které v ročním průměru dosáhly cca 350 a 395 mm. V roce 2019 po extrémních srážkách pšenice ozimá ve více hnojených variantách polehla, což částečně ovlivnilo výnos. Sucho zapříčinilo nízký odběr dusíku rostlinami, což vedlo k vysokému obsahu Nmin v půdě u více hnojených variant. Důsledkem bylo po extrémních srážkách mimo jiné i polehnutí pšenice, a tím snížené výnosy, v roce 2019.
Klíčová slova: počasí; pšenice ozimá; hnůj; sláma; dlouhodobé polní pokusy

Abstract

The influence of precipitation and temperatures on the yield of winter wheat and the content of mineral nitrogen (Nmin) in the soil was evaluated in 2017-2019 in a long-term field trial with manure and mineral fertilizers. The experiment was established in 1984 in Ivanovice na Hané. Long-term average yields corresponded to fertilization intensity, with the best yields being obtained at 120 kg N ha^{-1} and 160 kg N ha^{-1}. In 2017-2018, the wheat yield, mainly in the highest applied fertilization rates, was negatively affected by lower rainfall, which reached an annual average 350 and 395 mm. In 2019, the winter wheat after extreme rainfall in more fertilized variants lodged, which also led to reduced yields. The drought caused low N-uptake leading to high Nmin content in a soil in high fertilized treatments. Consequently, after high rainfall the lodging of wheat caused also lower yields in 2019.
Keywords: weather; winter wheat; farmyard manure; straw; long-term field trials

Úvod

Výsledky dlouhodobých polních pokusů shromažďovaných v průběhu celých desetiletí mohou pomoci pochopit možné dopady měnícího se klimatu na výnosy a kvalitu zemědělských plodin (Urruty et al. 2017) i proto, že v nich lze vysledovat vliv dlouhodobého hnojení půd různými druhy hnojiv a přispívají k pochopení jejich efektivity pro rostlinnou produkci (Rasmussen et al., 1998). Pšenice ozimá představuje hlavní plodinu pěstovanou v České republice a pěstuje se v lokalitách lišících se půdně-klimatickými podmínkami. Klimatické změny jsou již viditelné globálně a jako nezávislý faktor mohou významně ovlivnit výnosy plodin (Sun et al. 2018). Výnos ozimé pšenice je ovlivňován nejen extrémními klimatickými jevy, jako je dlouhodobé sucho nebo extrémní srážky, ale související problémy se mohou s budoucí změnou klimatu stupňovat (Urruty et al. 2017). Sucho je v posledních letech v České republice významným faktorem podstatně snižujícím výnosy hlavních obilovin a většiny ostatních plodin. V nejvíce

náchylných oblastech (a pravděpodobně ve většině zemí střední Evropy) je sucho jednou z klíčových příčin meziroční variability výnosů (Hlavinka et al. 2009).
Cílem této práce bylo ukázat vliv hnojení minerálními a statkovými hnojivy na výnos zrna ozimé pšenice v podmínkách změny klimatu.

Materiály a metody

Dlouhodobý polní pokus IOSDV (Internationale Organische Stickstoffdauerdüngsversuch) s hnojením minerálními a statkovými hnojivy a jejich kombinacemi byl založen v roce 1984. Jedním ze stanovišť v ČR je stanice v Ivanovicích na Hané [nadmořská výška 225 m, degradovaná černozem, hlinitá půda, průměrné srážky a teplota - 558 mm; 9,3 ° C, pH ($CaCl_2$) 6,3, dostupný obsah živin podle Mehlich 3: 117 mg P kg^{-1}, 452 mg K kg^{-1} 245 mg Mg kg^{-1}, 3564 mg Ca kg^{-1}]. Rotace plodin je následující: cukrová řepa - ozimá pšenice - ozimý ječmen. V pokusu jsou použity tři základní způsoby hnojení: i) bez statkových hnojiv; ii) 30 t ha^{-1} chlévského hnoje jednou za 3 roky pod cukrovou řepu; iii) sláma (5 t/ha) + 50 kg N ha^{-1} na rozklad slámy a pěstování meziplodiny po ječmeni. S výjimkou nehnojené kontroly je na všech variantách pokusu hnojeno jednotnou dávkou 35 kg P ha^{-1} a 83 kg K ha^{-1}. Dávky dusíku jsou u všech způsobů hnojení podle varianty 0 - 40 - 80 - 120 - 160 kg N ha^{-1}. Hnojení N bylo rozděleno na 20 + 20 kg N ha^{-1} u nejnižší dávky 40 kg N ha^{-1}. Vyšší dávky N byly rozděleny po 40 kg N ha^{-1} v základní dávce před setím, regenerační po zimě, produkční při sloupkování (120 kg N ha^{-1} a více), případně kvalitativní (pouze u 160 kg N ha^{-1}) dávce. V závislosti na dávkách hnojení byly zjištěny průměrné výnosy zrna pšenice za období let 1984 – 2016. V letech 2007-2019 byla pěstována odrůda Cubus, byl zjištěn průměrný výnos zrna této odrůdy v letech 2007-2016 a výnosy zrna z let 2017 – 2019, které byly postiženy suchem, případně i extrémními srážkami. Za dané období byly zjištěny také teploty vzduchu a srážkové úhrny. Od roku 2011 jsou pravidelně v jarním a podzimním období sledovány také obsahy Nmin (NO_3-N, NH_4-N) v půdě na nehnojených (0 N) kontrolách a u dávky 120 kg N ha^{-1} (120 N).

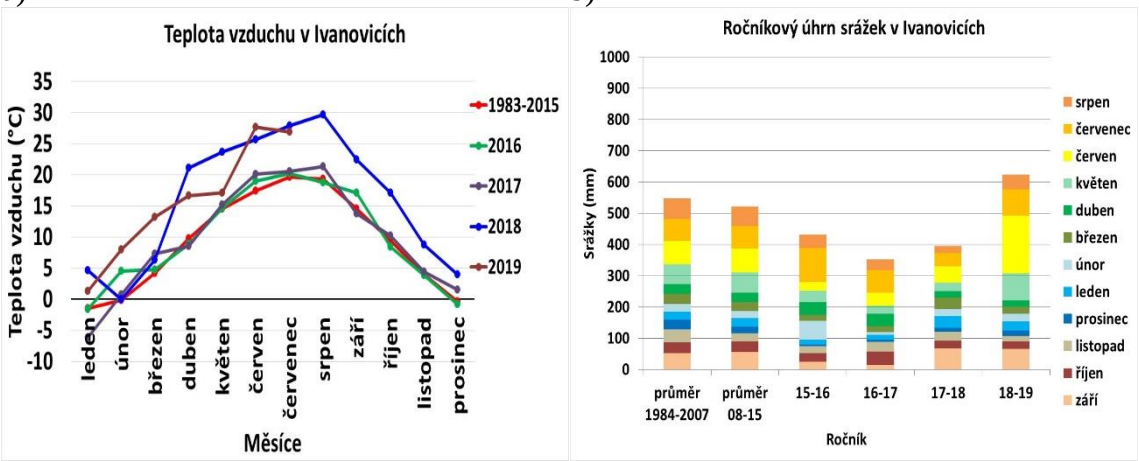
Výsledky a diskuze

Průměr teplot a srážek je zobrazen v Grafu 1a,b. Všechny sledované roky se vyznačovaly teplotami vzduchu vyššími, než je hodnota dlouhodobého průměru, v roce 2018 byla dosažena maximální průměrná teplota – 15,6°C. Od roku 2015 se snižuje celkový úhrn srážek při současné změně jejich distribuce, kdy v zimním a jarním období jsou srážky nízké, ale může nárazově dojít i k extrémním srážkám. Například v červnu 2019 spadlo celkem 189 mm, z toho v jednom dnu 112 mm (Graf 1b). Tyto faktory následně ovlivnily výnos pšenice ozimé. Výnos zrna pšenice ozimé se v dlouhodobém průměru zvyšoval se zvyšující se dávkou hnojení dusíkem. Hnojení hnojem a slámou se na výnosu pšenice ozimé projevilo na minerálně nehnojených, případně nižších dávkách hnojení N. U vyšších dávek N (120 a 160 kg N ha^{-1}) se již výnos dále nezvyšoval. Po hnojení slámou byly výnosy pšenice mírně nižší než po hnoji. Dlouhodobý trend výnosů částečně potvrzuje zjištění na některých dalších polních pokusech IOSDV (Körschens et al. 2012, Spiegel et al. 2010, Kismányoky and Tóth (2012), kdy kombinované hnojení zvýšilo výnosy pšenice ozimé v průměru o 6 %. Na druhou stranu ale Hijbeek et al. (2017) na základě výsledků více než 20 dlouhodobých polních pokusů konstatoval, že hnojení statkovými hnojivy nemusí ke zvýšení výnosů nutně vést. Vysoce výkonná odrůda Cubus používaná od roku 2007 pak průměrný výnos pšenice ozimé, zejména při vyšších úrovních hnojení dusíkem, dále zvýšila. Tento trend ale platil pouze do roku 2016. V dalších letech již bylo pozorováno u nejvíce hnojených variant snížení výnosů. Nejnižší výnos byl pak zaznamenán v roce 2017, kdy výnos pšenice dosáhl v nejvíce hnojených variantách (120 a 160 kg N ha^{-1}) s dlouhodobou aplikací slámy a zejména hnoje největší propad ve výnosech, kdy byly dosaženy pouze cca 2 t ha^{-1}. Propad ve výnosech nicméně pokračoval i v letech 2018 a 2019. Výnos pšenice ozimé byl v letech 2017-2019 významně ovlivněn jak

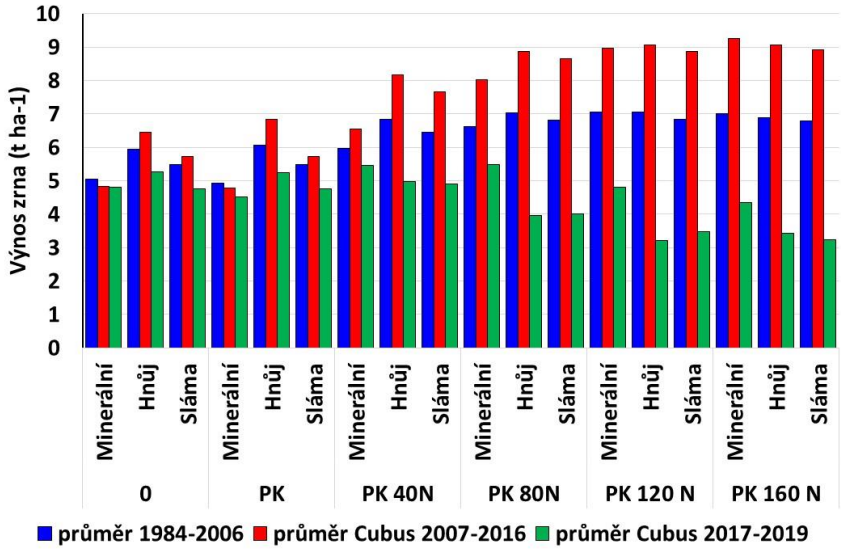
suchem (Graf 1b) a odběrem vody předplodinou (cukrovka), tak částečně i přívalovými srážkami (rok 2019).
Nižší výnosy dosažené v letech 2017 a 2018 vedly k nedostatečnému odběru minerálního N z půdy, což způsobilo, že následně zůstávalo v jarním období v půdě více nevyužitého dusíku v porovnání s předchozími, srážkově průměrnými lety (Graf 3 a, b). Tento stav vedl k většímu zahuštění porostu v jarním období. Následně pak nepřišly dostatečné srážky a docházelo tak k redukci porostu a snižování počtu klasů. Tato skutečnost v konečném důsledku způsobila velmi nízké výnosy. Například v roce 2017 došlo ve variantách se 160 kg N ha^{-1} k redukci počtu klasů o 30 % při hnojení slámou a pouze minerálními hnojivy, při hnojení hnojem pak dokonce o 39 %. Po dvou výnosově slabých letech přišly v červnu 2019 extrémní srážky, na což porosty ve více hnojených variantách a s přebytkem dusíku v půdě (Graf 3b) reagovaly polehnutím, což dále snížilo výnos v hnojených variantách také v roce 2019 (Graf 2).

Graf 1 a, b: Teplota vzduchu a srážkové úhrny Ivanovicích na Hané

a) b)

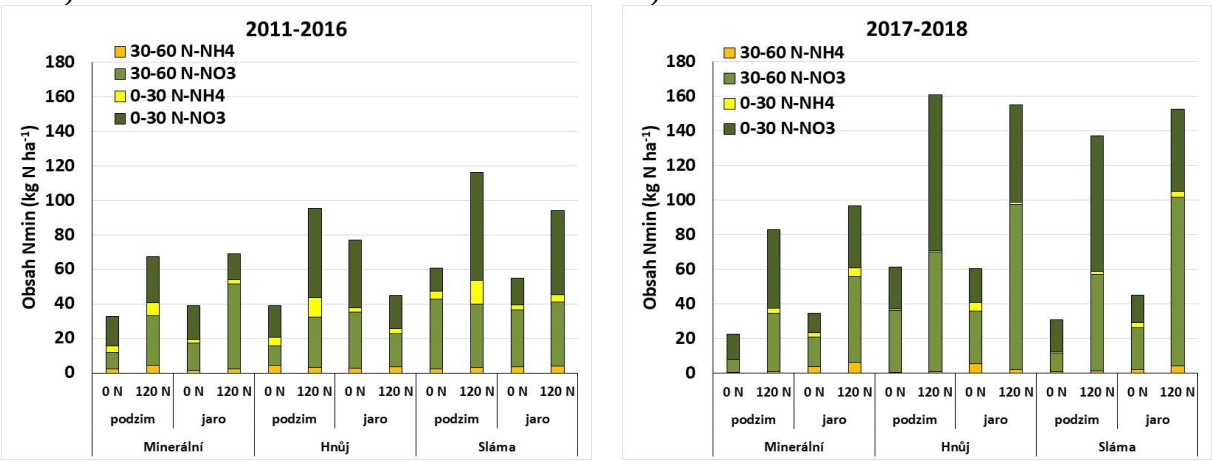


Graf 2: Výnos zrna pšenice ozimé (odrůda Cubus)



Graf 3a, b: Obsah Nmin v půdách u dlouhodobého pokusu IOSDV v Ivanovicích na Hané

a) b)



Závěry

Výnos zrna pšenice ozimé v Ivanovicích na Hané reagoval pozitivně na hnojení ve srážkově průměrných letech. Od roku 2017 se díky suchým zimám obrátil trend a se stoupajícími dávkami hnojiv klesal výnos zrna pšenice - tento stav se opakuje již tři následující roky po sobě. V roce 2017 byly při dávkách 160 kg N ha^{-1} dosaženy výnosy dokonce pouze na úrovni 2 t ha^{-1}. Z důvodu nízké vlhkosti půdy se významně snížila účinnost dusíkatých hnojiv. Tyto skutečnosti měly nepříznivý vliv na dynamiku utváření výnosových prvků a jejich následnou redukci, a to i z důvodu nedostatku vláhy v určitých fázích vegetačního období. Kromě toho byly rostliny podstatně náchylnější k polehnutí, ke kterému po extrémních srážkách došlo v roce 2019. V suchých oblastech je proto třeba zvažovat dávky hnojení i s ohledem na aktuální počasí. Podzimní hnojení je v podmínkách sucha a zejména v oblastech zranitelných na nitráty diskutabilní také z hlediska Nitrátové směrnice. V suchých oblastech je také třeba dbát na vhodnou předplodinu k ozimým plodinám, protože například cukrovka odčerpává značné množství vody z půdy, která pak nemusí být k dispozici v jarním období. Navíc pozdější termín setí pšenice ozimé může negativně ovlivnit její růst v podzimním období.

Poděkování: Tento příspěvek vznikl za podpory MZe ČR rozhodnutím č. RO0418.

Literatura

Hlavinka P., Trnka M., Dobrovský M., Žalud Z., Možný M. (2009): Agricultural and Forest Meteorology, 149: 431-442

Kismányoky T., Tóth Z. (2012): Archives of Agronomy and Soil Science, 59: 1121-1131

Körschens M., Albert E., Armbruster M., Barkusky D., Baumecker M., Behle-Schalk L., Bischoff R., Čergan Z., Ellmer F., Herbst F., Hoffmann S,, Hofmann, B. Kismanyoky T., Kubat J., Kunzova E., Lopez-Fando C., Merbach I., Merbach W., Pardor M.T., Rogasik J., Rühlmann J., Spiegel H., Schulz E., Tajnsek A., Toth Z., Wegener H., Zorn W. (2012): Archives of Agronomy and Soil Science, 59: 1017-1040,

Rasmussen P. E., Douglas C. L. jr., Collins H. P., Albrecht S. L. (1998): Soil Biology and Biochemistry, 30: 1829-1837

Sun S., Yang X., Lin X., Sassenrath G.F., Li K. (2018): Agricultural Systems, 162: 10-18

Urruty N., Guyomard H., Tailliez-Lefebvre D., Christian Huyghe C. (2017): Field Crops Research, 213, 29-37

Kontaktní adresa: Ing. Gabriela Mühlbachová, Ph.D., Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507/73, PSČ: 161 06 Praha 6 – Ruzyně, e-mail: muhlbachova@vurv.cz

VLIV AGROTECHNIKY NA VÝNOSOVÉ CHARAKTERISTIKY BAZALKY POSVÁTNÉ PŘI PĚSTOVÁNÍ V ČR

The influence of agrotechnics on yield of holy basil cultivated in Czech Republic

Smékalová K., Kaffková K., Pavela R.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

Abstrakt

Ocimum tenuiflorum je mezi aromatickými a kořeninovými rostlinami v ČR novinkou, kterou lze využít v jak v potravinářském průmyslu, tak při výrobě kosmetiky. Experimentálně bylo ověřeno, že bazalku posvátnou lze v našich podmínkách sklízet až 5x a nejvyšší souhrnný výnos čerstvé natě (0,85 – 1,62 kg.m^{-2}) byl zaznamenán při pěstování v nejhustším sponu (10 x 15 cm). Přihnojování mělo na výnos statisticky průkazný vliv pouze u 4. a 5. sklizně.

Klíčová slova: *Ocimum tenuiflorum*, spon, hnojení, výnos čerstvé natě

Abstract

Ocimum tenuiflorum is a new aromatic and spicy plant in the Czech Republic that can be used in food industry and cosmetics industry. Five possible harvests were experimentally proved and the maximal summary yield of fresh herbage (0.85 – 1.62 kg.m^{-2}) was assessed with the densest spacing (10 x 15 cm). The effect of fertilization was statistically significant only in case of 4th and 5th harvest.

Key words: *Ocimum tenuiflorum*, spacing, fertilization, fresh herbage yield

Úvod

Spotřeba tzv. „zeleného koření“, které je na trh dodáváno v malých kontejnerech, nebo jako čerstvá řezaná nať několika druhů aromatických a kořeninových rostlin, stále stoupá (Kozderová, 2018). Použití „zeleného koření“ úzce souvisí s aktuálním děním v gastronomii, konkrétně navazuje na trend používání čerstvých surovin, směrování k lokální výrobě a spotřebě a zájmu o exotická jídla nebo přísady. V asijské kuchyni (thajské, indické apod.) je často používána bazalka posvátná (*Ocimum tenuiflorum*, syn. *O. sanctum*), která vyniká v ostrých kořeněných jídlech z hovězího, vepřového nebo kuřecího masa (Deibler a Delwiche, 2013). Jako léčivá rostlina se používá v Ájurvédě, ve které je považována za adaptogen. Extrakty se používají na širokou škálu zdravotních potíží, od bolestí hlavy, přes nachlazení, až po problémy s trávením (Pattanayak a kol., 2010). Hlavní účinnou látkou bazalky posvátné je silice, kterou lze využít v potravinářském průmyslu, ale také na produkci kosmetiky a parfémů (Chaturvedi, 2017). Na zájem o tuto novinku ze strany pěstitelů v ČR zareagovaly i semenářské firmy a prodejci v zahradnických centrech, které ji zařadily do svého portfolia (www.semo.cz, www.jikl.cz). Agrotechnika pěstování bazalky posvátné je však podrobně popsána pouze pro podmínky zemí, ve kterých je běžně pěstována, např. Indie (Kurian a Sankar, 2007), ačkoli atraktivní doplňkovou plodinou by se mohla stát i pro pěstitele aromatických a kořeninových rostlin v ČR. Cílem příspěvku je přinést nové informace o pěstebním postupu a výnosových charakteristikách bazalky posvátné v podmínkách ČR.

Materiál a metody

Rostlinný materiál: Osivo bazalky posvátné bylo zakoupeno u firmy Asklepios-seeds (Německo). Semena byla vyseta do skleníku 5. 4. 2019, semenáče přepichovány 16. – 23. 4. 2019 a výsadba na venkovní stanoviště proběhla v termínu 4. – 6. 6. 2019. Rostliny byly

vysazeny do netkané textilie a opatřeny svrchní závlahou. Výsadba byla provedena ve variantách A – hnojeno a B – kontrola (nehnojeno) s dostatečnou izolační vzdáleností obou variant. V každé variante byly rostliny sázeny do tří sponů: 1 – hustý (10 x 15 cm), 2 – střední (15 x 25 cm) a 3 – řídký (20 x 35 cm). Každá kombinace variant hnojení a výsadbového sponu byla vysazena ve třech nezávislých opakováních.

Obr. 1: Bazalka posvátná před sklizní

Terminování hnojení a sklizně: Všechny sklizně byly prováděny ručně, zahradnickými nůžkami ve stadiu před kvetením (založená květenství) (Obr. 1). První sklizeň byla u všech pokusných parcel provedena v termínu 26. – 27. 6. 2019, a to před započetím hnojení. Teprve bezprostředně po této sklizni začaly být parcely varianty A přihnojovány hnojivem Kristalon Gold (1 odměrka / 10 litrů na každou parcelku), a to 2x po každé sklizni. První hnojení bylo prováděno těsně po sklizni, druhé (v závislosti na počasí) o cca 7 později. Sklizně (celkem 5 sklizní) byly prováděny přesně ve 14-denních intervalech, tedy 26. 6., 11. 7., 25. 7., 8. 8. a 22. 8. u hnojené varianty A. Kontrolní, nehnojená varianta byla sklízena vždy následující den. Při každé sklizni byl hodnocen výnos čerstvé hmoty z každé parcelky.
Statistická analýza: Získané výsledky byly statisticky vyhodnoceny pomocí dvoufaktorové analýzy variance (ANOVA).

Výsledky a diskuze

Výnos čerstvé hmoty bazalky posvátné pěstované v různých variantách hnojení a výsadbových sponech v polních podmínkách v Olomouci dokumentuje Tab. 1. Při všech pěti sklizních byl u výnosu čerstvé bazalkové nati prokázán statisticky vysoce průkazný ($\lambda = 0{,}01$) vliv různých

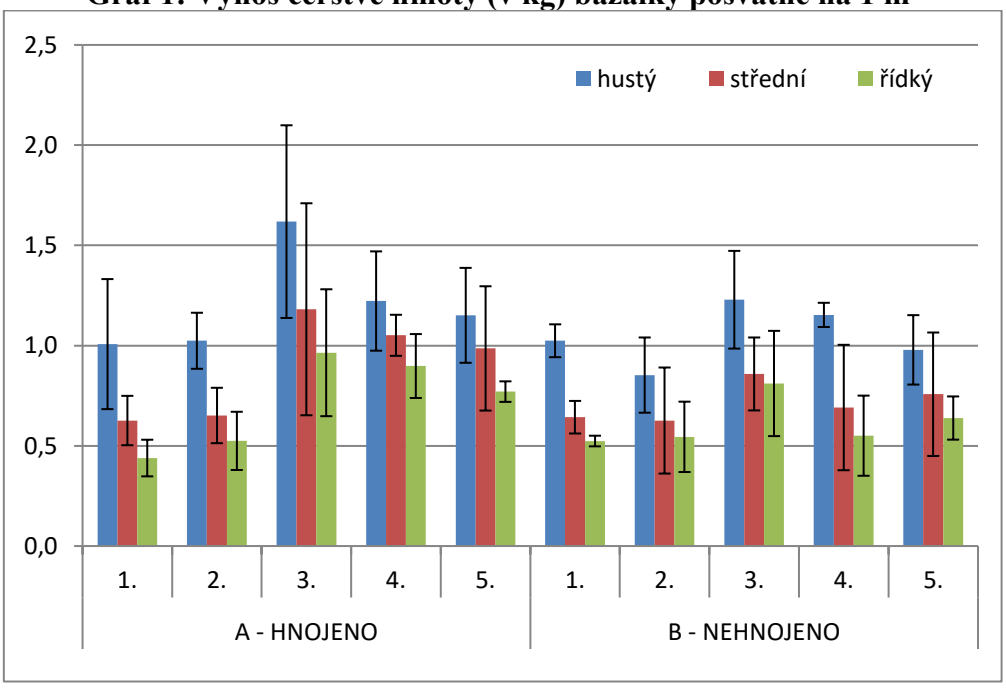
výsadbových sponů, vliv hnojení byl statisticky vysoce průkazný (λ = 0,01) pouze u 4. a 5. sklizně.

Tab. 1: Výnos čerstvé hmoty (v kg) bazalky posvátné na jednotlivých pokusných parcelkách

	HNOJENO					NEHNOJENO				
spon / sklizeň (kg)	1.	2.	3.	4.	5.	1.	2.	3.	4.	5.
hustý 1	1,15	1,61	2,04	1,71	1,61	1,70	1,19	2,46	2,19	1,73
hustý 2	2,04	1,81	3,77	2,33	2,16	1,99	1,55	2,47	1,97	1,47
hustý 3	2,25	2,11	2,93	2,57	2,45	1,85	1,87	1,71	2,07	2,09
střední 1	1,95	3,00	2,33	4,19	4,75	2,15	1,45	3,72	1,30	3,29
střední 2	2,91	1,95	6,35	3,67	2,47	2,62	2,38	3,80	3,22	1,62
střední 3	2,47	2,68	5,14	4,45	4,32	2,76	3,51	2,53	3,57	3,95
řídký 1	2,75	4,59	4,02	6,07	4,78	3,37	3,87	6,37	2,25	5,01
řídký 2	2,53	2,70	7,52	4,93	5,28	3,71	2,38	6,53	4,91	3,56
řídký 3	3,68	3,26	7,85	7,06	5,43	3,45	4,70	3,41	3,90	4,27

Při přepočtu výnosu čerstvé bazalkové natě na jednotku plochy (1 m^2) bylo zjištěno, že nejvýnosnější je hustý pěstební spon se vzdáleností rostlin při výsadbě 10 x 15 cm (Graf 1). Nejvyššího výnosu (v průměru 0,85 – 1,62 $kg.m^{-2}$) čerstvé bazalkové natě u něj bylo dosaženo v obou variantách hnojení při všech sklizních. Tento výnos představuje při přepočtu na velkoplošné výměry výnos 8,5 – 16,2 $t.ha^{-1}$. Při pěstování v řídkém sponu (20 x 35 cm) bylo dosaženo průměrného výnosu 4,4 – 9,6 $t.ha^{-1}$, což odpovídá dříve publikovaným údajům.

Graf 1: Výnos čerstvé hmoty (v kg) bazalky posvátné na 1 m^2



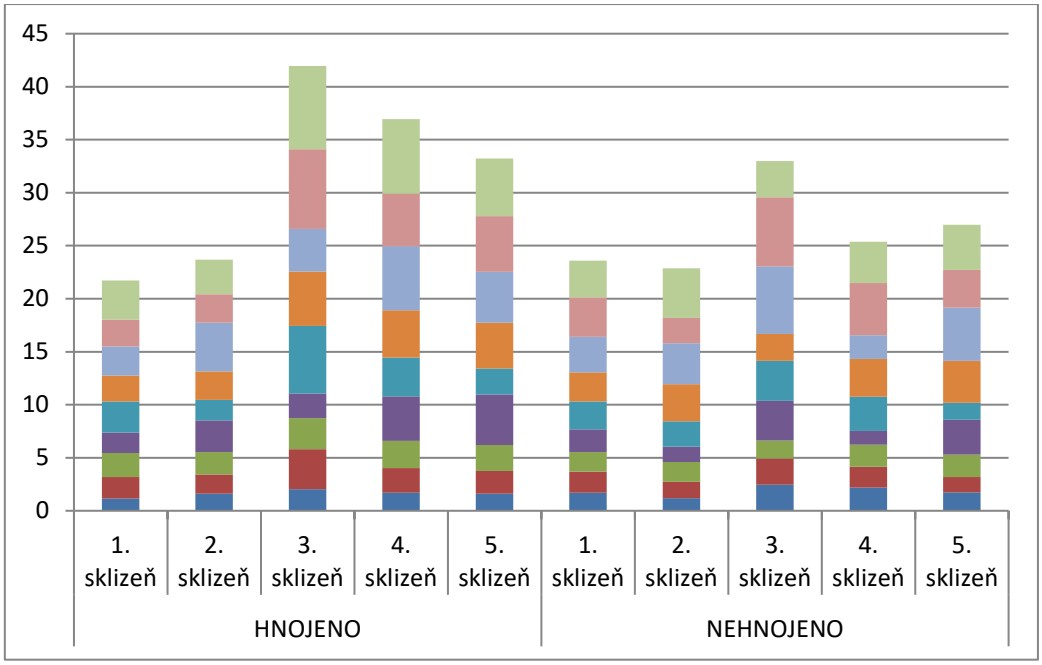
Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku mezi opakováními.

Smitha a kol. (2014) uvádí, že v Indii lze bazalku pravou sklízet ve stádiu plného květu 2 – 3 x za vegetační sezónu a při doporučeném sponu 40 x 40, 40 x 50 nebo 50 x 30 cm, lze získat kolem 5 t čerstvé hmoty / ha. Pooja a kol. (2018) ale v jiné části Indie dosáhli při pěstebních

sponech 45 x 30, 45 x 45 a 45 x 60 cm výnosu 9,73 – 15,72 t.ha^{-1} již při jednorázové sklizni. Tito i další (Gill a Randhawa, 2000; Kalita a kol., 2018) autoři se však shodují v poznatku, že čím hustější spon výsadby, resp. čím vyšší počet rostlin na jednotku plochy je u bazalky posvátné zvolen, tím vyšší výnos čerstvé natě lze dosáhnout.
Při hodnocení podílu jednotlivých sklizní na celkovém výnosu bazalkové nati bylo zjištěno, že nejvyšší výnos byl u hnojené i nehnojené varianty pokusu dosažen při třetí sklizni (Graf 2).

Závěr
Při pěstování bazalky posvátné bylo v podmínkách ČR při pěti sklizních dosaženo souhrnného výnosu čerstvé natě až 1,62 kg.m^{-2}. Tento výnos je srovnatelný s některými výsledky v Indii, tradiční oblasti pěstování. Přihnojování mělo na výnos čerstvé natě statisticky průkazný vliv pouze u posledních dvou sklizní, nejvyšší výnos byl zjištěn u 3. sklizně.

Graf 2: Podíl dílčích sklizní jednotlivých opakování na celkovém výnosu



Sloupce zobrazují souhrnný výnos (kg čerstvé natě) ze všech parcel s různými pěstebními spony v rámci obou variant hnojení.

Dedikace
Tato studie byla podpořena projektem č. QK1910103 a institucionální podpory MZE-RO0418.

Použitá literatura
Deibler, K.D., Delwiche, J., ed., 2013. *Handbook of flavor characterization: Sensory analysis, chemistry, and physiology*. New York: CRC Press, ISBN 9780824756703
Gill, B.S., Randhawa, G.S., 2000. Effect of different row and plant spacing on yield and quality of French tulsi oil. *Journal of Research Punjab Agriculture University*, 36, *191-191*
Chaturvedi, P., 2017. *Microbe supported enhanced production of Rosmarinic acid of medicinal plants in vitro*. Germany: GRIN Verlag, ISBN 9783668426948.
JIKL. Bazalka posvátná, Tulsí. *Zahradnictví JIKL* [online]. Martínkov: JIKL, 2019 [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: http://www.jikl.cz/lecivky-asie/1296-2-bazalka-posvatna-tulsi.html

Kalita, B. P.,Gogoi, P.K, Sarma, A., Barua, I. C., Neog, B., 2018. Effect of integrated nutrient management and different plant spacing on Tulsi. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. **7**, 1352-1361

Kozderová, V., ed., 2018. *Situační a výhledová zpráva léčivé, aromatické a kořeninové rostliny*. Praha: Ministerstvo zemědělství, ISBN 978-80-7434-472-5

Kurian, A., Sankar, M.A., 2007. *Medicinal Plants: Horticulture Science Series 2*. New Delhi: New India Publishing, ISBN 9788189422424

Pattanayak, P., Behera, P., Das, D., Panda, S. K., 2010. Ocimum sanctum Linn. a reservoir plant for therapeutic applications: An overview. *Pharmacognosy Reviews*. 7, 95-105

Pooja, M.R., Hiremath, J.S., Nadukeri, S., Mahantesh, P.H., Nischita, M., Lokesh, C.H., 2018. Influence of inorganic fertilizer and spacing on yield and quality of sacred basil (*Ocimum sanctum* Linn.). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. SP3, 5-8

SEMO. Bazalka svatá Thulsi. *Semo* [online]. Smržice: Semo, 2019 [cit. 2019-04-09]. Dostupné z: ttps://www.semo.cz/eshop/bazalka-svata-thulsi-5892/

Smitha, G.R., Varghese, T. S., Manivel, P., (ed.), 2014. *Cultivation of Ocimum: Extension bulletin*. Boriavi: ICAR – Directorate of medicinal and aromatic plants research. Dostupné z: https://dmapr.icar.gov.in/Publications/Bulletine/ocimum%2016-1-15.pdf

Kontaktní adresa:
Ing. Kateřina Smékalová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i
Šlechtitelů 29, 783 71 Olomouc - Holice, Česká republika
e-mail smekalova@genobanka.cz

VLIV ZÁVLAHY NA KOŘENOVÝ SYSTÉM VYBRANÝCH PLODIN

The effect of irrigation on root system of selected crops

Svoboda P.[1], Raimanová I.[1], Duffková R.[2], Fučík P.[2], Haberle J.[1]

[1]*Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i, Praha*
[2] *Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i., Praha – Zbraslav*

Abstrakt
Efektivní využití závlahové vody závisí na správném určení potřeby rostlin na vodu a znalostech obsahu dostupné vláhy v kořenové zóně. Tabulkové hodnoty účinné hloubky zavlažení (ČSN 75 0434) by měly odpovídat hloubce kořenů, ale růst kořenů, hloubku i hustotu, ovlivňuje řada faktorů. Je pak otázkou, zda se tyto tabulkové konstantní hodnoty neodchylují významně od hloubky kořenů plodin v provozních podmínkách. V příspěvku jsou prezentovány výsledky pokusů, kde byl sledován vliv závlahy na distribuci kořenů v půdním profilu. Závlaha zvyšovala hustotu kořenů pšenice, brambor a celeru v orniční vrstvě a většinou mírně snižovala hustotu v hlubším podorničí. Současně jsou prezentovány údaje o hustotě kořenů v různé vzdálenosti od rostlin.
Klíčová slova: hustota kořenů; distribuce; efektivní hloubka; půda

Abstract
The effective use of irrigation water depends on the correct determination of the water demand of the plants and knowledge of the actual available water content within root zone. Tabulated values of effective irrigation depth (ČSN 75 0434) should correspond to root depth, but root growth, depth and density, is influenced by a number of factors. The question then is whether these tabular values, constants, do not deviate significantly from the root depths under farm conditions. The contribution presents the results of experiments, where the influence of irrigation on the distribution of roots in the soil profile was studied. The irrigation increased the density of roots of wheat, potatoes and celery in topsoil layer and mostly only slightly reduced the density in the deeper subsoil. Further, the differences of root density in different distance from rows of plants are presented.
Keywords: root density; distribution; effective depth; soil

Úvod

Pokračující klimatická změna, vyšší teploty a evapotranspirace spolu s nižšími nebo nevyrovnanými srážkami přináší zemědělcům v posledních letech miliardové škody a zřejmě povede zemědělské podniky, s přispěním státní podpory, k rozšiřování závlah. V současnosti je většina závlahové vody u polních plodin (především u raných brambor, výjimečně cukrovky aj.) a zelenin aplikována rozstřikem, kapková závlaha se uplatňuje především u speciálních kultur (sady, vinice, chmelnice), (např. Fučík 2019). Agroklimatické modely a prognózy se shodují na dalším prohlubování deficitu vody z důvodu zvýšených teplot a vysoké evapotranspirace a tím i k rostoucí potřebě řešit deficit vody doplňkovou závlahou (Spitz a Hemerka 2014). Srážky sice v průměru více let zatím neklesají, ale jsou nevyrovnané; voda ve zvýšené míře odtéká z krajiny, mj. i v důsledku zhoršování kvality půdy, a tím se snižuje zásoba vláhy dostupná plodinám.

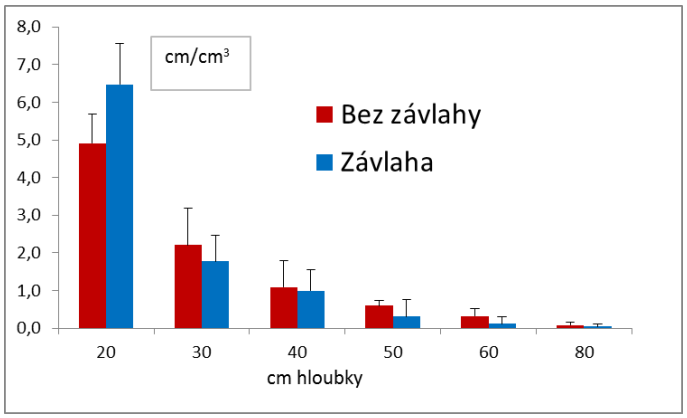
Racionální využití závlahové vody závisí na správném určení aktuální a odhadu budoucí potřeby rostlin na vodu, vyžaduje znalost půdních vlastností a dostupné zásoby vody v kořenové zóně. Pokud je dávka nadměrná, může dojít ke ztrátám vody průsakem mimo dosah kořenů dané plodiny.

Růst kořenů ovlivňuje řada faktorů, a je otázkou, zda se hloubka kořenů v provozních podmínkách neodchyluje významně od tabulkových hodnot účinné (efektivní, maximální) hloubky zavlažení (ČSN 75 0434, 2017, Spitz et al. 2011), které by měly odpovídat účinné, maximální hloubce kořenů dané plodiny v kritickém období. Kromě očekávaného vlivu půdních podmínek stanoviště, agrotechniky nebo rozdílů mezi odrůdami se objevuje obava, že

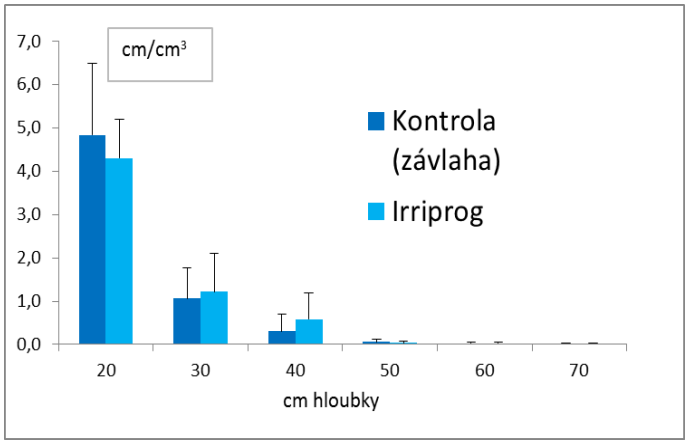
nadměrná závlaha (vysoká vlhkost půdy) nebo úroveň hnojení (hlavně N) by mohly snižovat hloubku nebo hustotu kořenů. Optimální až luxusní podmínky obecně snižují investici rostlin do kořenového systému, ale údajů o vlivu závlahy na hloubku kořenů je málo. Sledování kořenů do maximální hloubky prokořenění je náročné, proto existuje v literatuře málo relevantních údajů.
Cílem příspěvku bylo prezentovat výsledky několika pokusů, kde byl sledován vliv závlahy na hloubku a distribuci (hustotu) kořenů.

Materiál a metody
Byl sledován vliv závlahy u 1) ozimé pšenice, 2) celeru a 3) brambor na hloubku a hustotu kořenů.
Kořeny pšenice byly odebírány po kvetení, v období nalévání zrna, kdy dosahují největší hloubky. U celeru byla hloubka a hustota kořenů určena před sklizní, u brambor před likvidací natě (BBCH 88-91). Vzorky půdy byly odebírány po vrstvách 10 cm až do hloubky bez výskytu kořenů, kořeny byly vyplaveny vodou, dočištěny, byla určena jejich celková délka podle Tennanta (1975) a vypočtena hustota kořenů (cm/cm^3).
U ozimé pšenice byl v Ruzyni u Prahy sledován růst kořenů zavlažovaných a suchem stresovaných rostlin; nedostatek vody byl navozen v době tvorby zrna s pomocí mobilního krytu (např. Raimanová et al. 2016, Haberle et al. 2019). Zavlažovaná pšenice dostala ve srážkách a v závlaze o 150-300 mm více než stresovaný porost. U brambor na provozním pozemku v Benátkách n. Jizerou byl v roce 2017 sledován růst kořenů na zavlažovaném (pásová závlaha rozstřikem) a na kontrolním nezavlažovaném porostu, v roce 2018 na stejném pozemku byl růst kořenů sledován u dvou variant (závlaha standardní a řízená dle výpočtu). Závlaha zvýšila přívod vody v roce 2017 o 250 mm oproti nezavlažované kontrole, řízená závlaha v roce 2018 snížila objem dodané vody u brambor oproti kontrole (standardní závlaha) o 45 mm. V roce 2019 byla na sousedním pozemku u brambor s kapkovou závlahou sledována varianta, u které byla závlaha ukončena od začátku butonizace; redukce množství vody oproti zavlažovanému porostu činila 155 mm vody. U celeru byla v roce 2018 v Tuřicích (Mladá Boleslav) sledována varianta s konvenční závlahou a varianta se závlahou řízenou podle výpočtu v programu IRRIPROG (Spitz a kol. 2011), se sníženou dávkou vody o 35 mm.

Výsledky a diskuse
Výsledky sledování hloubky a distribuce kořenů uvedených plodin ukázaly rozdíly mezi variantami, ale neprokázaly, s výjimkou kapkové závlahy brambor v roce 2019, zásadní rozdíly v hloubce kořenů a celkové hustotě kořenů. Závlaha brambor, v porovnání s nezavlažovanou kontrolou v roce 2017 a 2019 zvýšila výnos o desítky procent, podobně jako v jiných sledováních (např. Litschmann et al. 2018), vliv malého snížení dodatkové závlahy brambor v roce 2018 a celeru nebyl významný.

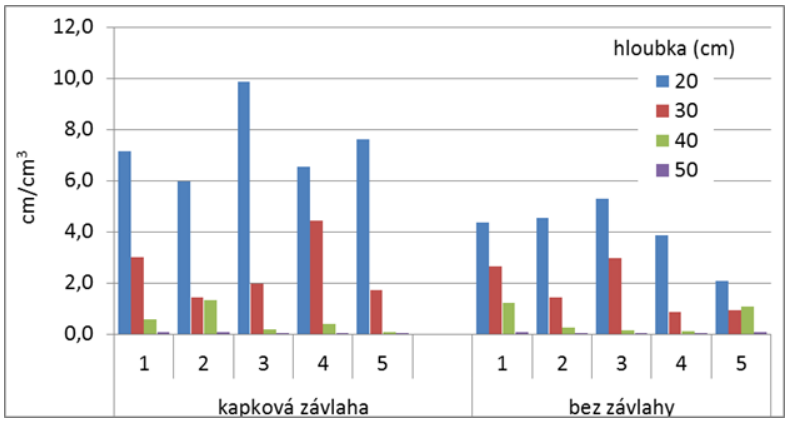


Obr. 1: Hustota kořenů brambor bez závlahy a se závlahou pásovým rozstřikem (Benátky n. Jizerou 2017).

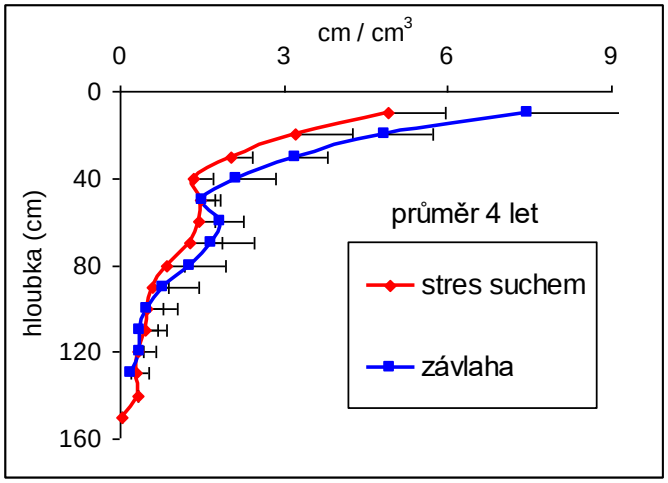


Obr. 2: Hustota kořenů brambor se standardní závlahou pásovým rozstřikem a závlahou řízenou výpočtem - irriprog (Benátky n. Jizerou 2018).

Závlaha zvyšovala hustotu kořenů v povrchových vrstvách půdy a mírně redukovala v podorničních vrstvách u pšenice (v průměru let) a u brambor v roce 2017 (obr. 4 a 1).
V těchto pokusech byl deficit vody daleko vyšší než u celeru a brambor v r. 2018, kde cílem bylo ověření racionálního dávkování doplňkové závlahy (obr. 5 a 2), a rozdíly v celkovém množství dodané vody byly malé. Přesto se projevily změny distribuce kořenů. Překvapivě výrazné snížení hustoty kořenů v ornici mělo vynechání (kapkové) závlahy v době růstu hlíz brambor v roce 2019 (obr. 3), ale tyto údaje je nutné ověřit v dalších pokusech s kapkovou závlahou.

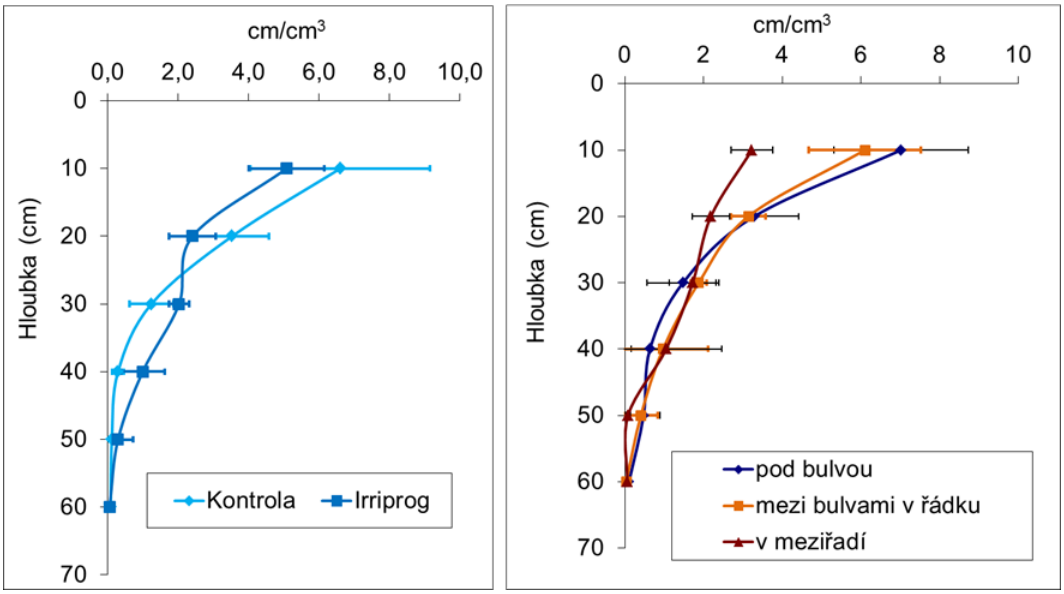


Obr. a foto 3: Hustota kořenů brambor při kapkové závlaze a na kontrole bez závlahy v různých vzdálenostech od rostliny a zavlažovací hadice (Benátky n. Jizerou 2019). Varianta bez závlahy – přívod vody uzavřen ve fázi butonizace.



Obr. 4: Hustota a distribuce kořenů pšenice při kapkové závlaze a v podmínkách stresu suchem.

Je třeba připomenout schopnost kořenů zvýšit do určité míry intenzitu příjmu vody a živin na jednotku délky kořene ve vrstvách s dostatkem zdrojů, což je důležité v případě sucha. Z uvedeného vyplývá, že případný dopad pozorovaných drobných rozdílů v hloubce a hustotě kořenů na příjem vody je obtížné odhadnout; rozhodující bude souběžné zvýšení intenzity odběru vody na jednotku délky kořene v hlubších vrstvách při vyčerpání vody z ornice (Haberle et al. 2019).



Obr. 5: Hustota kořenů celeru na kontrolní zavlažované variantě pásovým rozstřikem a na závlaze řízené výpočtem – irriprog. Vpravo hustota a distribuce kořenů celeru v různých vzdálenostech od rostliny.

Hustota kořenů v půdním profilu se u širokořádkových plodin liší podle vzdálenosti od rostliny a řádku. To dokumentují údaje sledování distribuce hustoty kořenů brambor v blízkosti kapkovací hadice, rostlin a v brázdě mezi hrůbky (obr. 3), nebo u sledování růstu kořenů celeru (obr. 5).

Závěr

Tabulkové údaje maximální hloubky zavlažení, odvozené z hloubky kořenů, budou vždy jen průměrem, kolem kterého se budou ve více či méně širokém rozmezí pohybovat, v závislosti na řadě podmínek prostředí a agrotechnice, údaje zjištěné v praxi. Efektivní využití závlahové vody vyžaduje do budoucna ověření hloubky kořenů, zvláště v případech, kdy lze například kvůli špatnému stavu půdy (utužení, vrstvy štěrku nebo jílu) očekávat významné zhoršení růstu kořenů do hloubky.

Dedikace

Příspěvek byl podpořen projekty MZe ČR QK1720285 a RO0418.

Použitá literatura

ČSN 75 0434. Meliorace - Potřeba vody pro doplňkovou závlahu. 2017.

Fučík P. 2019: Závlaha. In: https://www.ctpz.cz/vyzkum/zavlahy-859 (ověřeno 17.10.2019)

Haberle, J., Svoboda P., Kurešová G., Henzlová B. 2019. Vliv závlahy a sucha na výnos a efektivnost využití vody odrůd pšenice. In: Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů, Brno (v tisku).

Litschmann T., Hausvater E., Doležal P. 2018: Praktické zkušenosti s kapkovou závlahou brambor v letech 2016 a 2017 v podmínkách jižní Moravy. In: Rožnovský J., Litschmann T. (eds): Hospodaření s vodou v krajině, Třeboň 21. – 22. 6. 2018, ISBN 978-80-87361-83-2.

Raimanová I., Svoboda P., Kurešová G., Haberle J. 2016: The effect of different post-anthesis water supply on the carbon isotope discrimination of winter wheat grain. Plant, Soil & Environment 62(7), 329-334.

Spitz P., Zavadil J., Duffková R., Korsuň S., Nechvátal M., Hemerka I. 2011: Metodika řízení závlahového režimu plodin výpočetním programem IRRIPROG. Certifikovaná metodika. VÚMOP, v.v.i.

Spitz P., Hemerka I 2014: The development of the irrigation requirement in the dry regions of the Czech Republic with reference to possible climatic change. Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun. 2006, 54, 171-180, https://doi.org/10.11118/actaun200654020171

Svoboda P., Haberle J., Kurešová G. 2018: Hloubka kořenů polních plodin a zelenin a stanovení závlahové hloubky. In: „Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2018“ Zvolen, září 2018.

Tennant, D. 1975: A test of a modified line intersect method of estimating root lenght, Journal of Ecology, 63, 995–1001.

Kontaktní adresa:

Pavel Svoboda,
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i,
Drnovská 507, 161 06 Praha 6
e-mail: svoboda@vurv.cz

TECHNOLOGIE PĚSTOVÁNÍ JAKONU V PODMÍNKÁCH ČR

Technology growing of yacon in the Czech Republic

Svobodová A., Kasal P.

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod

Abstrakt

Jakon (*Smallanthus sonchifolius*) je rostlina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*) pocházející z Jižní Ameriky. Do České republiky byly hlízy jakonu poprvé dovezeny v 90. letech minulého století. V letech 2018 a 2019 byly testovány odrůdy jakonu Fiorella a Graciella s ohledem na optimální technologii pěstování. Základem technologie byla optimalizace závlahy a hnojení. S ohledem na závlahovou dávku byly výnosy navýšeny o 182 % u zavlažované varianty oproti variantě bez závlahy. V rámci dusíkatého hnojení došlo k navýšení výnosů v průměru o 61 %.

Klíčová slova: jakon, výnosy hlíz, technologie pěstování

Abstract

Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) is plant of the *Asteraceae* is a plant of the Asteraceae family native to South America. Yakon tubers were first imported into the Czech Republic in the 1990s. In the years 2018 and 2019 the varieties of yak Fiorella and Graciella were tested with respect to the optimal cultivation technology. The basis of the technology was the optimization of irrigation and fertilization. Irrigation bet betting can be increased by 182% for irrigated variations of expected variation without irrigation. Within nitrogen fertilization, it can be used to increase yields by 61%.

Key words: yacon, tuber yields, growing technology

Úvod

Jakon (*Smallanthus sonchifolius*) je rostlina z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*) pocházející z Jižní Ameriky. Tam byla na území zahrnující dříve zaniklou říši Inků pěstována odedávna pro své sladké, křupavé a osvěžující hlízy. Lachman et al. (2005) uvádějí, že jakon je velmi bohatý na fenolické sloučeniny se silnými antioxidačními účinky. Výživová hodnota je nízká a tvoří ji sacharidy, hlavně fruktany. Fruktany jsou nízkokalorické cukry, které nezvyšují hladinu cukru v krvi a jsou tedy vhodné pro diabetické pacienty. Kromě obnovy střevní mikroflóry podporují absorpci vápníku, snižují hladinu cholesterolu, posilují imunitní systém a snižují výskyt karcinogenních lézí ve střevě (Tjukavin et al., 2006). Významný je rovněž obsah vitaminů, minerálních látek a polyfenolů (Frček et al.,2003, Lebeda et al., 2003). Jakon se může konzumovat jak čerstvý, tak tepelně upravený. Z listů lze připravit čaj, který pomáhá snižovat hladinu cukru v krvi (Honsová, 2008). Listy jakonu hromadí v sušině až 25 % bílkovin a lze je použít také jako krmivo (Fernandéz et al., 2006). Jakon má dva druhy hlíz. První z nich jsou oddenkové (kaudexy), sloužící k dalšímu množení. Další jsou kořenové, jež jsou vhodné ke konzumu. Kořenové hlízy vyrůstají po pěti až dvaceti ve svazku a mají nepravidelně vřetenovitý až kulovitý tvar. V podmínkách České republiky se jakon pěstuje podobně jako brambory. Hlízy se vysazují v poslední dubnové dekádě nebo počátkem května do připravených hrůbků. K tvorbě vysokého výnosu kvality je zapotřebí rovnoměrný přísun srážek po celou vegetaci a dostatečné množství slunečního svitu (Honsová, 2012). Sklizeň probíhá v podzimních měsících, ideálně po zmrznutí natě.

Materiál a metody

Polní pokusy probíhaly v letech 2018 a 2019 ve výzkumné stanici Valečov Výzkumného ústavu bramborářského Havlíčkův Brod, s.r.o. Cílem pokusů bylo ověření technologie pěstování jakonu v podmínkách bramborářské výrobní oblasti (BVO) v podmínkách typické kambizemně slabě oglejené, středně těžké. Nadmořská výška lokality (Tabulka 1) je 460 m n. m., průměrná roční teplota 7,0 °C a roční suma srážek 652 mm. V pokusech byly zařazeny dvě konzumní odrůdy jakonu. První odrůdou byla odrůda Fiorella. Je to odrůda s bílou dužinou a fialovou slupkou. Rostlina je mohutnějšího vzrůstu dorůstající v optimálních podmínkách až 1,5 m. Hlízy dosahují hmotnosti v průměru 500 g. Druhou odrůdou je Graciella. Odrůda je více náchylná k uskladnění oddenkových hlíz (kaudexů) během zimního období. Hlízy mají smetanově bílou slupku a bílou dužinu. Výnosově je odrůda Graciella stejně výkonná jako odrůda Fiorella a hlízy dosahují obdobné hmotnosti. Rostlina je mohutného habitu a dorůstá do výšky až 1,2 m. Výsadba probíhala z kaudexů, které byly uskladněny v zimním období v chladících boxech (teplota 8°C). Kaudexy byly vysázeny v březnu do semenáčků s rašelinou a ponechány ve skleníku do výsadby. Samotná výsadba probíhala v první dekádě května do připravených hrůbků. V prvním roce sledování (2018) byly založeny dvě varianty (Tabulka 2). První varianta byla se závlahou v podobě kapkovací hadice zapravené těsně pod povrchem hrůbku. Druhá varianta byla bez závlahy. Celkem bylo závlahou dodáno 101 mm v 16 závlahových dávkách. Vysázena byla odrůda Fiorella. Sklizeň probíhala v polovině listopadu. V roce 2019 byly stejným způsobem vysázeny obě odrůdy jakonu (Fiorella, Graciella). V tomto roce byla vynechána technologie bez závlahy. Závlahou bylo celkem dodáno 171 mm za pomoci kapkové závlahy (Tabulka 3) shodně u obou variant. Závlaha byla řízena za pomoci závlahového zařízení a dávka vody byla stanovena za pomoci snímače objemové půdní vlhkosti VIRRIB (půdní vlhkost byla 20 %). V rámci jedné varianty bylo přidáno dusíkaté minerální hnojivo v dávce 120 N kg/ha v Močovině (46%). Sklizeň proběhla ručně. Hlízy z jednotlivých pokusných parcel byly zváženy a byl stanoven výnos hlíz (t/ha).

Tab.1: Charakteristika pokusného pozemku

Nadmořská výška	460 m. n. m
Svažitost	rovina
Půdní druh	hlinitá

Tab. 2: Plánek pokusných parcel

Rok:	**2018**		**2019**	
Odrůda:	Fiorella	Fiorella	Fiorella, Graciella	Fiorella, Graciella
Varianta:	bez N hnojiva bez závlahy	bez N hnojiva závlaha	bez N hnojiva závlaha	N hnojení závlaha

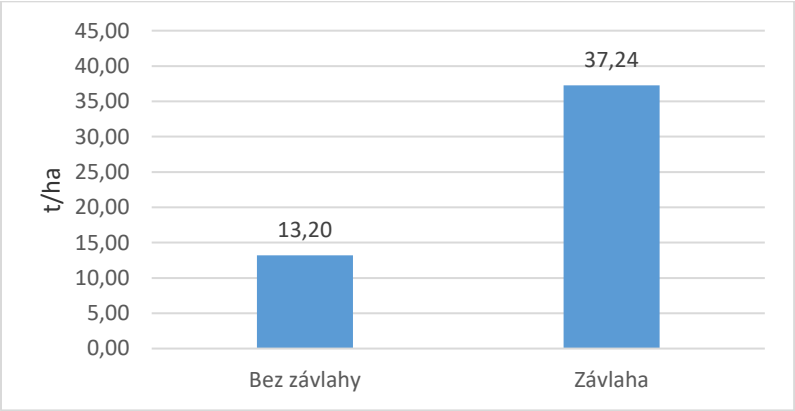
Tab. 3: Suma srážek a závlahy

Rok	**Srážky (mm)**	**Závlaha (mm)**
2018	307	101 (16 závlahových dávek)
2019	417	171 (20 závlahových dávek)

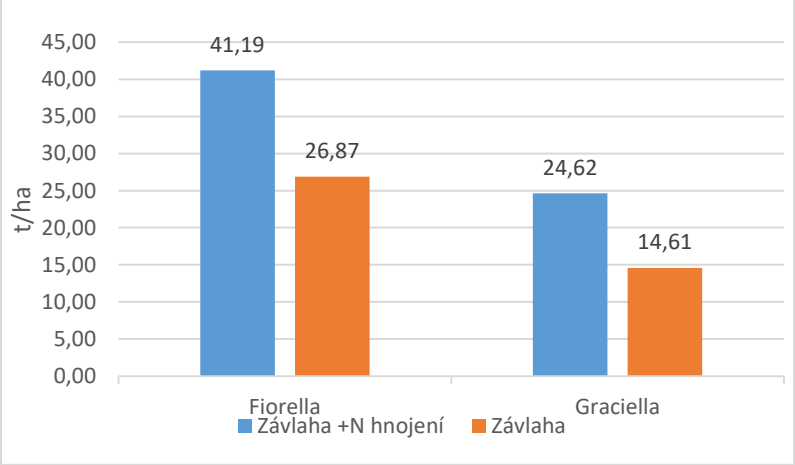
Výsledky a diskuze

Podle získaných výsledků ze dvou let sledování lze odvodit, že při pěstování jakonu v podmínkách BVO lze dosáhnout optimálních výnosů. Důležité je zachování příznivých podmínek pěstování. Jedním z nejdůležitějších faktorů k dosažení dobrých výnosů je závlaha. V prvním roce testování byly zařazeny dvě varianty (závlaha a bez závlahy) u odrůdy Fiorella. U varianty se závlahou byl výnos 37,24 t/ha a u varianty bez závlahy byl zjištěn výnos 13,20 t/ha. Lze konstatovat, že byl jištěn pozitivní vliv závlahy a to o 24 t/ha což činí navýšení výnosu hlíz o 182 % (Graf 1). Toto zjištění potvrzuje i Fernandéz et al. (2006), který uvádí, že k dosažení vysokého výnosu jakonu jsou důležité zejména srážky a to po celou vegetaci. Dalším neméně důležitým faktorem sledování byla výživa a to zejména výživa dusíkem. Dusík byl zapraven do půdy těsně před výsadbou jakonu v dávce 120 kg N/ha v dusíkatém minerálním hnojivu Močovina (46%). Při sklizni byla zjištěna pozitivní úroveň výnosu hlíz (t/ha) na variantách hnojených oproti nehnojených. U odrůdy Fiorella bylo dosaženo výnosu hlíz 41,19 t/ha na hnojené variantě oproti 26,87 t/ha na nehnojené variantě. Celkově tedy byl výnos hlíz navýšen o 14,32 t/ha což je navýšení o 53%. U odrůdy Graciella bylo dosaženo výnosu hlíz 24,62 t/ha na hnojené variantě oproti 14,61 t/ha na nehnojené variantě. Celkově byl výnos hlíz navýšen na hnojené variantě o 10,01 t/ha což je navýšení o 69 % (Graf 2).

Graf 1: Vliv závlahy na výnos jakonu v roce 2018 u odrůdy Fiorella



Graf 2: Vliv dusíkatého minerální hnojiva na výnos hlíz jakonu v roce 2019



Závěr

Z výsledků dosažených ze dvou let pěstování jakonu v BVO lze odvodit, že k získání optimálních výnosů hlíz jakonu je zapotřebí dostatečné množství vody a výživy. Vodní režim byl řízen kapkovacím zařízením a testování probíhalo v roce 2018 u odrůdy Fiorella. Závlahou byl výnos hlíz navýšen o 182 %. Výživa byla dodána za pomoci dusíkatého minerálního hnojiva před výsadbou v květnu roku 2019. Vysázeny byly dvě odrůdy jakonu (Fiorella, Graciella). Zde byly výnosy hlíz u hnojené varianty v průměru o 61 % vyšší v rámci sledovaných odrůd oproti nehnojené variantě.

Poděkování

Pokus vznikl na základě institucionální podpory v rámci „Dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumné organizace (DKRVO) 2018 - 2022“ schválené usnesením vlády ČR ze dne 8. února 2017 č. 107. Název aktivity je „Pěstování a užití dalších hlíznatých plodin v podmínkách ČR“ s číslem MZE-RO1618.

Literatura

Honsová, H. (2008): Chutný i zdravý jakon, Zemědělský týdeník, 11, č. 45, s. 11

Honsová, H. (2012): Nenáročný jakon pro rozmanité využití, Úroda, 60, č. 1, s. 56-57

Fernández E. C., Viemannová I., Lachman J., Millela L. (2006): Yacon [Smallanthus sonchifolius (Poeppig & Endlicher) *H.* Robinson*]*: a new crop in Central Europe. Plant soil environ. 52 (12), 564-570.

Frček J., Šimánek V., Ulrichová J. (2003): Yacon (Smallanthus sonchifolius) and maca (Lepidium meyenii) - functional food in Czech market (Jakon (Smallanthus sonchifolius) a maka (Lepidium meyenii) - funkční potraviny na českém trhu) In: II rossijskaja naučno-praktičeskaja konferencija "Aktualnyje problemy innovacij s netradicionnymi prirodnymi resursami i sozdanija funkcionalnych produktov" (2-3 ijunja 2003 goda). Ed.: V.N. Zelenkov. Moskva, RAEN 2003, s. 169-170 (7033/B 1170)

Lachman J., Havrland B., Hejtmánková A. (2005): Content of polyphenolic antioxidants and phenolic acids in selected parts of yacon (Smallanthus sonchifolius (Poepp. et Endl.) H. Robinson) (Obsah polyfenolických antioxiantů a fenolických kyselin ve vybraných částech jakonu (Smallanthus sonchifolius (Poepp. et Endl.) H. Robinson), Scientia Agriculturae Bohemica, 36, 2005, č. 2, s. 49-54

Lebeda A., DoležalováI., Dziechciarková M., Doležal K., Frček J. (2003): Morphological variability and isozyme polymorphisms in maca and yacon (Morfologická variabilita a polymorfismus isoenzymů maky a jakonu), Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 39, č. 1, s. 1-8

Tjukavin G.B., Madjidi E., Pivovarov V.F. (2000): Growth and development yacon at early stages organogenesis in Russia and Iran (Růst a vývoj plodiny jakon v raném období organogeneze v Rusku a Íránu) In Selekcija i semenovodstvo ovoščnych kul´tur v XXI veke. Tom II. Meždunarodnaja naučno-praktičeskaja konferencija 2000. Moskva, VNIISSOK 2000, s. 428-435 (6970/B 1151/II)

Kontaktní adresa:

Ing. Andrea Svobodová, Ph.D.
Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod
Dobrovského 2366
580 01 Havlíčkův Brod
e-mail: svobodova@vubhb.cz

KOMEPETIČNÍ VZTAH MEZI STONKOVÝMI KRYTONOSCI A BÍLOU HNILOBOU ŘEPKY

The competition relationship between stem weevils of winter oilseed rape and white mould of rape

Šafář J.[1], Seidenglanz M.[1], Plachká E.[2]

[1] *Agritec Plant Research s.r.o., Šumperk*
[2]*OSEVA PRO s.r.o., OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., odštěpný závod Výzkumný ústav olejnin Opava*

Abstrakt
Tato studie byla provedena v letech 2017 a 2018 v porostech řepky olejky na různých místech severní Moravy (celkově bylo hodnoceno 21 lokalit), kde byly využity pro hodnocení rostliny napadené bílou hnilobou řepky. Byla zjištěna významná negativní korelace mezi procentem napadení stonků krytonosci a celkovým počtem, resp. hmotností sklerocií ve stoncích řepky ozimé. To znamená, že se zvyšující se úrovní napadení krytonosci (u rostlin současně vykazujících symptomy napadení bílou hnilobou) se počet, ale i celková hmotnost sklerocií snižovala. Tyto výsledky naznačují určité konkurenční vztahy mezi těmito dvěma škodlivými organismy v řepkových porostech.
Klíčová slova: Ceutorhynchus spp., Sclerotinia sclerotiorum, řepka olejka

Abstract
This study was conducted in commercial winter oilseed rape fields (21 different localities included) placed in north-eastern part of the Czech Republic (northern Moravia) in 2017 and 2018. Some significant relationships between the development of sclerocia of *Sclerotinia sclerotiorum* infested stems and the levels of damage induced by cabbage stem resp. rape weevils (*Ceutorhynchus pallidactylus*, resp. *C. napi*) were recorded. There was significant negative correlation between the level of damage induced by *Ceutorhynchus* larvae (percentage damage of stem tissues per plant) and the total number resp. weight of sclerotia in stems. It means that with increasing level of damage of tissues SCLESC in stems induced by *Ceutorhynchus* larvae, the number and total weight of sclerotia was decreasing in rape plants (only rape plants infested by *Sclerotinia* spp. were included in the assessment).
Key words: Ceutorhynchus spp., Sclerotinia sclerotiorum, oilseed rape

Úvod

Česká republika je významným producentem řepky ozimé (*Brassica napus* L.) ve střední Evropě. V roce 2017 a 2018 byla v ČR produkce řepky ozimé v České republice asi 1 100 tis. tun a přibližně s 16% zastoupením v osevním postupu (Volf et al. 2017). Původce bílé hniloby řepky - *Sclerotinia sclerotiorum* a stonkoví krytonosci (*Ceutorhynchus* spp.) jsou nejvýznamnějšími škůdci stonků řepky (Kazda et al. 2007). Severní Morava je oblastí České republiky, kde se v posledních letech vyskytuje převážně krytonosec čtyřzubý (*Ceutorhynchus pallidactylus* (Marsham, 1802)), ovšem v některých letech je nezanedbatelné poškození stonků řepek způsobeno i krytonoscem řepkovým (*Ceutorhynchus napi* Gyllenhal, 1837) na totožných lokalitách, tudíž se populace těchto organismů překrývají (Seidenglanz et al. 2017). Letová aktivita obou sledovaných brouků se rovněž překrývá a v některých letech trvá i několik měsíců jarního období vegetačního roku, což vede k vysokému napadení porostů řepek ve sledované oblasti, kde i chemická ochrana rostlin proti zmíněným hmyzím organismům, z důvodu cílení na vhodné období postřiku, selhává (Seidenglanz et al. 2017). Výskyt bílé hniloby byl na

některých lokalitách nižší, celkově lze považovat rozptyl napadení bílou hnilobou za reprezentativní pro danou oblast (Plachká et al. 2009, 2017).

Materiál a Metody

Výzkum byl prováděn hodnocením a sběrem vzorků sclerócií na celkem 21 lokalitách (12.-14.7.2017 a 2.-6.7.2018) ve vývojové fázích porostu mezi BBCH 79-81. Na každé lokalitě bylo náhodně uřezáno 50 rostlin napadených bílou hnilobou, které byly sesbírány pochůzkou porostem řepky úhlopříčně na daný tvar pole. U jednotlivých rostlin bylo hodnoceno procento napadení bílou hnilobou řepky z napadených stonků chorobou, průměrný počet slerócií v jednotlivých napadených stoncích a průměrnou hmotností sklerócií na lokalitu. Další hodnocení se opíralo o procento poškození stonků žírem larev krytonosců v místě výskytu bílé hniloby v pletivech stonku (obrázek 4, 5). Korelační analýzy a jejich grafické znázornění byly vypočteny v programu Statistica 12.

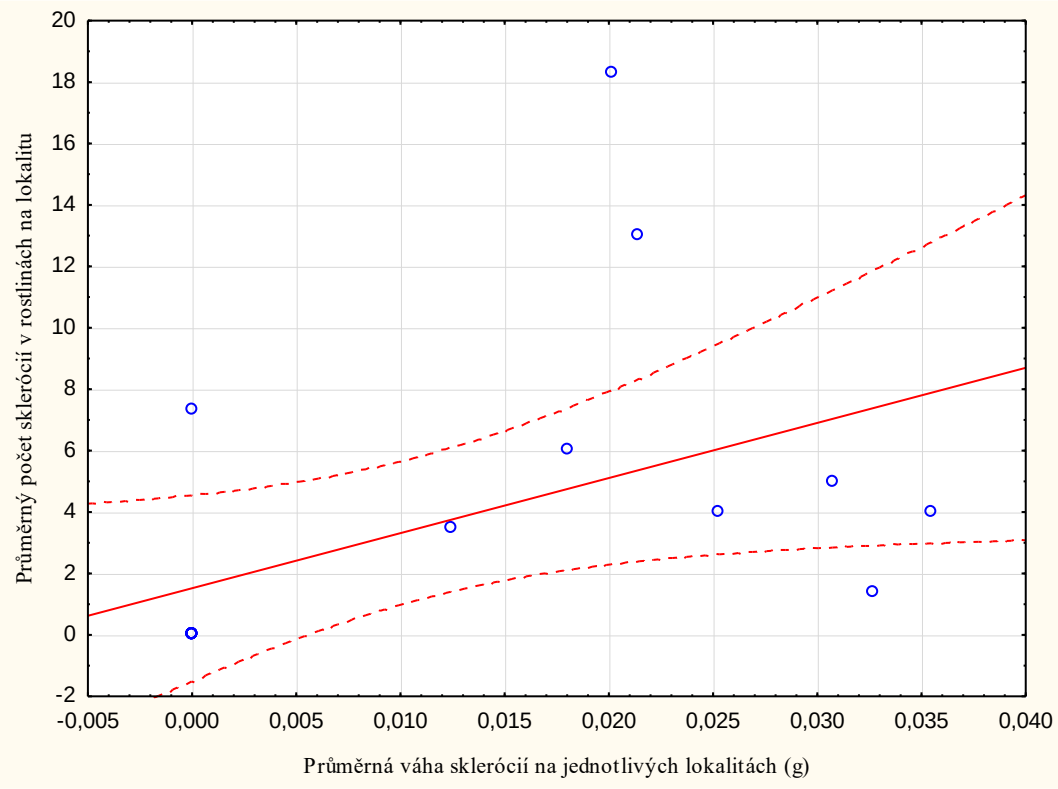
Výsledky a diskuze

Z analýz provedených v programu Statistica 12 byly vypočteny statisticky významné hodnoty korelační analýzy mezi průměrnou hmotností a počtů sklerocií na jednotlivých lokalitách ($P < 0,05$;
$r = 0,47$), mezi průměrným poškozením rostlin bílou hnilobou řepky a průměrným počtem sklerócií na jednotlivých lokalitách ($P < 0,05$; $r = 0,49$), mezi průměrným počtem sklerócií v rostlinách a průměrnou délkou poškození žírem larev stonkových krytonosců (v procentech) v místech napadených bílou hnilobou ($P < 0,05$; $r = - 0,74$). Korelační analýza nedosáhla významných výsledků mezi průměrným poškození stonků bílou hnilobou a průměrnou hmotností sklerócií na jednotlivých lokalitách. Autoři této práce předpokládali, že mezi žírem larev stonkových krytonosců a fruktifikačními orgány bílé hniloby řepky může existovat konkurenční vztah o pletiva rostlin. Tyto hypotézy byly potvrzeny zejména u vztahů mezi konkurencí žíru larev stonkových krytonosců v místech napadení pletiv bílou hnilobou řepky (Obr. 4, 5). Dále bylo prokázáno, že průměrné napadení ochořelých rostlin koreluje se zvyšujícím se počtem sklerócií a zvyšující se počet sklerócií koreluje se zvyšující se váhou sklerócií v rostlinách.

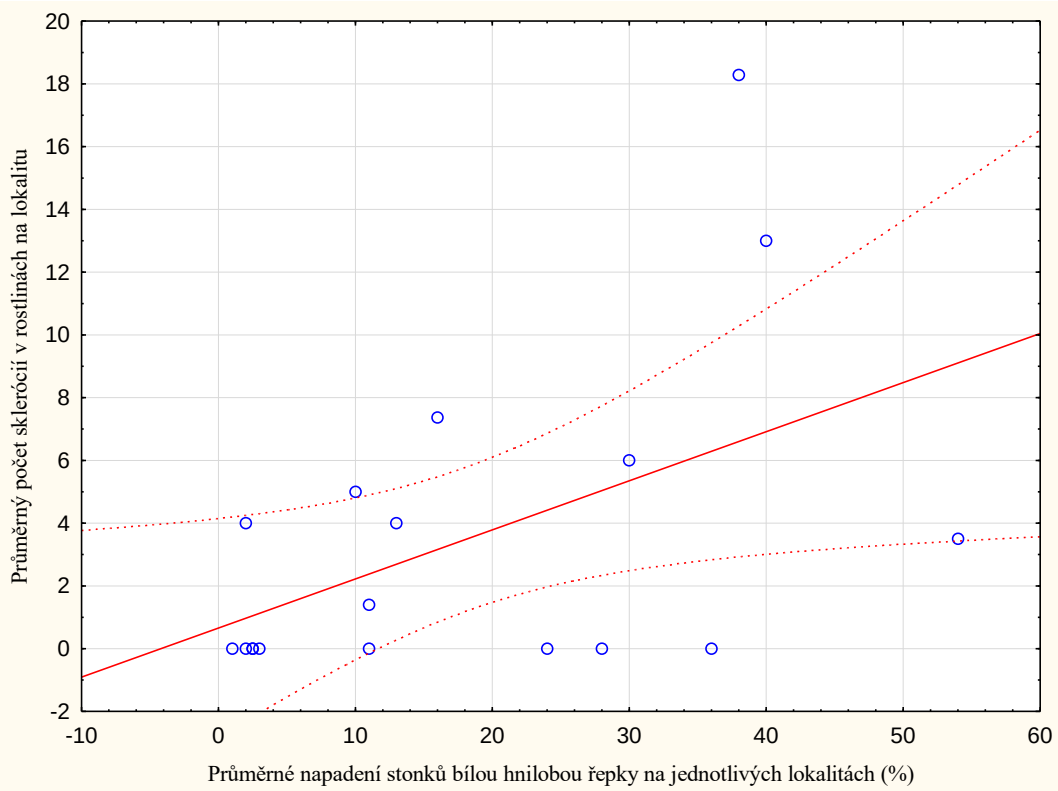
Obr. 1: Průměrná hmotnost a počet sklerócií, napadení porostu bílou hnilobou řepky a procento poškození pletiv napadených Sclerotinia spp. žírem larev stonkových krytonosců

Lokalita	Průměrná váha sclerócií v rostlinách na jednotlivých lokalitách (g)	Průměrný počet sclerócií v rostlinách na jednotlivých lokalitách	Průměrné napadení stonků bílou hnilobou z rostlin napadených chorobou na lokalitách (%)	Průměrný podíl poškození larvami krytonosců v místech napadení bílé hniloby řepky (%)
2017				
Rapotín	0	0	4	94
Nové Domky	0	0	4	100
Vikýřovice-Jirsák	0	0	2	100
Bludov	0,031	5,0	10	36
Hrabišín	0,035	4,0	2	10
Libina	0	0	36	98
Obědné	0,033	1,4	12	72
Uničov	0	0	1	98
Úsov	0	0	1	28
Mohelnice	0,025	4,0	14	80
Libivá	0,000	7,4	16	96
Zvole	0,021	13,0	40	8
Krásné	0,018	6,0	30	94
Libina	0	0	12	92
Anenský dvůr	0	0	28	96
2018				
Vlachov	0,020	18,3	38	10
Zábřeh n. Moravě	0	0	1	94
Šumperk (letiště)	0	0	24	96
Kujavy	0,012	3,5	54	100
Vikýřovice-Jirsák	0	0	2	98
Nový Malín	0	0	2	98

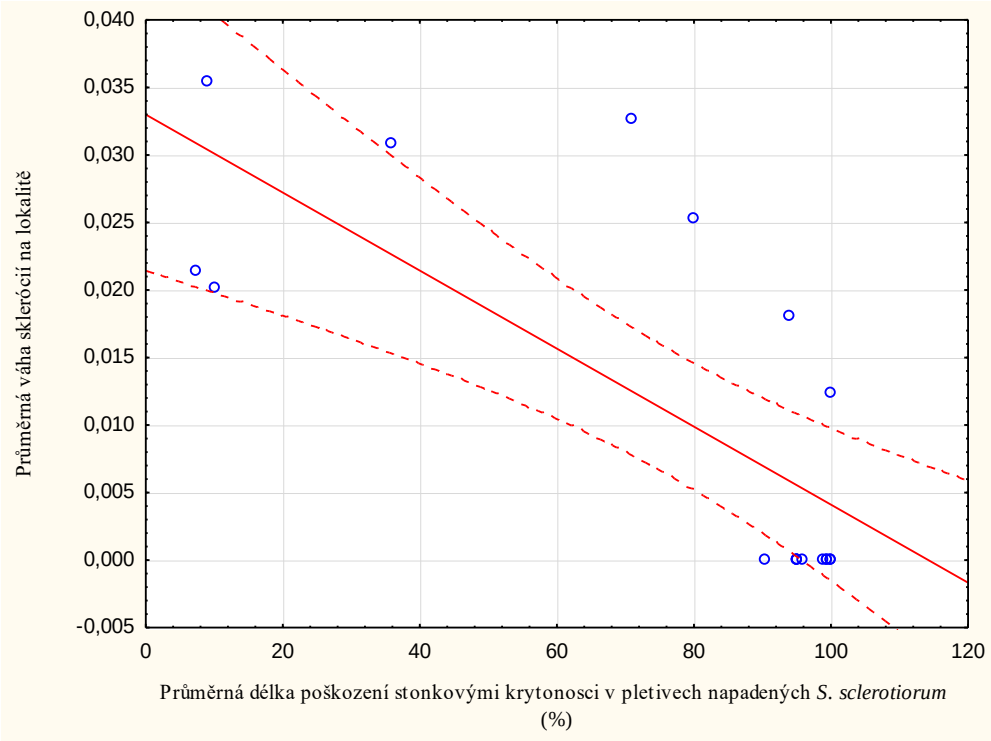
Obr. 2: Grafické znázornění korelační analýzy mezi průměrnou váhou sclerócií a průměrným počtem sklerócií na jednotlivých lokalitách. P < 0,05 ; r = 0,47



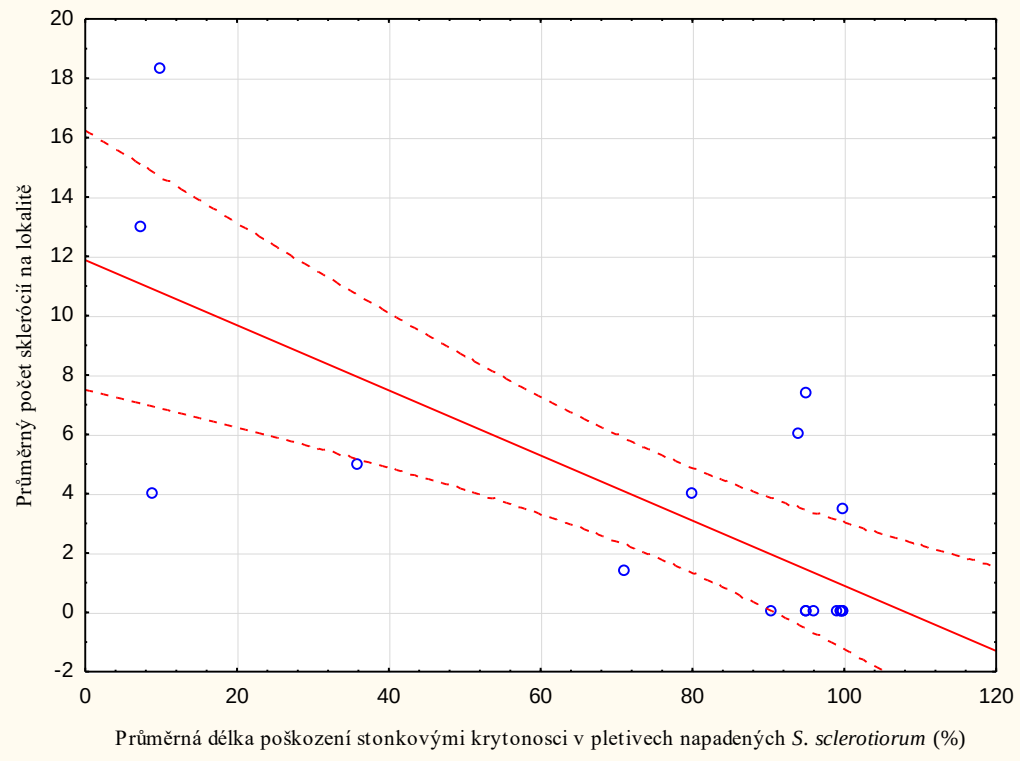
Obr. 3: Grafické znázornění korelační analýzy mezi průměrem napadení bílou hnilobou z ochrořelých rostlin a průměrným počtem sklerócií na lokalitu P <0,05; r = 0,49



Obr. 4: Grafické znázornění korelační analýzy mezi průměrnou délkou žíru larev krytonosců v místě napadení bílou hnilobou v procentech a průměrnou váhou sklerócií na lokalitě P <0,05; r = - 0,74



Obr. 5: Grafické znázornění korelační analýzy mezi žírem larev krytonosců v místě napadení bílou hnilobou a průměrným počtem sklerócií na jednotlivých lokalitách P <0,05; r = - 0,74



Závěr

Na sledovaných lokalitách severní Moravy byly ze sesbíraných dat vypočítány korelační analýzy, které prokázaly signifikantní statistické výsledky (Obr. 1, 2 a 3). Celkově lze říci, že na sledovaných lokalitách se zvyšujícím se procentem žíru larev stonkových krytonosců v místech napadení bílou hnilobou řepky došlo k nižší tvorbě sklerócií i jejich průměrné hmotnosti. Dále se zvyšujícím se průměrným napadení porostů *S. sclerotiorum* korelovalo s vyšším průměrným počtem sklerócií v rostlinách na jednotlivých lokalitách a zvyšující se průměrný počet sklerócií na lokalitách byl doprovázen vyšší průměrnou hmotností sclerócií v rostlinách.

Dedikace

Tato práce byla podpořena zdroji MZe NAZV: QK1820081, QJ1610217 a institucionální podporou RO1818 a RO1018.

Použitá literatura

Kazda J., Baranyk P., Nerad D., Herda G. 2007. Winter oilseed rape protection against pests and diseases in the Czech Republic. W: Abstract 12 International Rapeseed Congress. Science Press USA Inc., WUHAN, China, s. 319.

Plachká E., Šafář J., Poslušná J. 2017. Zdravotní stav řepky olejky ozimé na Opavsku a Šumpersku v sezóně 2016-2017. Sborník referátů z 34. vyhodnocovacího semináře, Hluk, 22-23.11.2017. SPZO s.r.o. Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin. Praha 2017, s. 129-147.

Plachká E., Poslušná J. 2009: *S. sclerotiorum* and Leptosphaeria spp. in winter oilseed rape – signalization of their occurrence. W: Šafránková I., Šefrová H. (eds): XVIII Czech and Slovak Conference of Plant Protecion. Book of abstracts (In Czech). MZLU Brno, 2.-4.09.20019, s. 107.

Seidenglanz M., Šafář J., Hrudová E., Kolařík P., Rotrekl J., Havel J., Táncik J., Sojneková M. 2017: Jak rezistence blýskáčků komplikuje ochranu řepky proti stonkovým krytonoscům. Sborník referátů z 34. vyhodnocovacího semináře, Hluk, 22-23.11.2017. SPZO s.r.o. Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin. Prha 2017, s. 118-128.

Volf M., Zeman J., 2017: Výsledky pěstování řepky v České republice v roce 2016/2017. Sborník referátů z 34. vyhodnocovacího semináře, Hluk, 22-23.11.2017. SPZO s.r.o. Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin. Prha 2017, s. 3-40.

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Šafář, Ph.D.
Agritec Plant Research, s.r.o.
787 01 Šumperk
Zemědělská 16
+420 776 748 289, safar@agritec.cz

POROVNÁNÍ KVALITATIVNÍCH PARAMETRŮ VOJTĚŠKY V SYSTÉMU STANOVENÍ CHEMICKOU ANALÝZOU A ANALÝZOU AGRINIRS

Comparison of qualitative parameters of alfalfa in the system of determination by chemical and AgriNIRs analysis

Šindelková I. [1], Lang J. [1], Loučka R. [2], Jambor V. [3], Nedělník J. [1]

[1]*Zemědělský výzkum spol. s r.o., Troubsko*
[2]*Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha Uhříněves*
[3]*NutriVet s.r.o., Pohořelice*

Abstrakt
Vysoké nároky na kvalitu krmiv v precizním zemědělství je obtížné plnit pouze prostřednictvím klasických analytických metod. Na lokalitách Troubsko a Hrušovany nad Jevišovkou byla v roce 2018 v poloprovozních pokusech hodnocena řezanka vojtěšky seté z hlediska nutričních hodnot. Z těchto lokalit byly ve 4 sečích odebírány vzorky řezanky a v laboratořích stanoveny nutriční hodnoty (sušina, NL, NDF, ADF, popeloviny) pomocí chemických a NIRs analýz. Cílem projektu je zlepšit stávající systémy a technologie výroby kvalitní píce rozšířením prvků precizního zemědělství v oblasti pěstování vojtěšky seté a její využití ve výživě skotu.
Klíčová slova: spektrometrie, NIR, vojtěška, precizní zemědělství

Abstract
High demands for the feed quality in precision agriculture are difficult to meet only through classical analytical methods. In year 2018, samples of chopped alflafa obtained from the sites of Troubsko and Hrušovany nad Jevišovkou were evaluated for nutritional value. During 4 harvests in both localities, the alfalfa chops were sampled and their nutritional values (dry matter, CP, NDF, ADF, ash) were determined in laboratories by chemical and NIRs analyzes. The aim of this project is to improve existing systems and technologies of high-quality forage production by adding variety to precision agriculture in the field of lucerne cultivation and its use in cattle nutrition.
Key words: spectrometry, NIR, lucerne, alfalfa, precision agriculture

Úvod

Precizní hospodaření se také označuje jako „inteligentní“, či „chytré“ (smart farming). Tento druh hospodaření je založen na rozpoznávání heterogenity a reakcí na ni, v cíleném a rychlém zásahu. Vysoké nároky na kvalitu krmiv v precizním zemědělství je obtížné plnit pouze prostřednictvím klasických analytických - laboratorních metod (Třináctý a kol. 2013). Tyto metody jsou přesné a dostatečně reprodukovatelné, ale zároveň jsou velmi náročné na personál pracující ve specializované laboratoři, jsou náročné na dobu stanovení výsledku a na finanční prostředky (Mudřík a kol., 2013). V současné době již existuje řada analytických metod, např. spektroskopie v blízké infračervené spektrální oblasti (NIR), (Ibáñez a kol. 2008), které pro stanovení základních parametrů výživné hodnoty uplatňují jejich fyzikální a fyzikálně chemické vlastnosti (Nerušil a kol., 2018a). Jejich předností je, že pro analýzu stačí pouze malé množství vzorku (Bien a kol., 2017), dále bezpečnost práce a ekologická nezávadnost (není spotřebováván žádný materiál a nevznikají chemické odpady), (Nerušil a kol., 2018). Hlavní složku krmných dávek pro dojnice tvoří objemná krmiva, především siláže a senáže a významně tím ovlivňují zdraví, užitkovost, ale také kvalitu a technologické vlastnosti mléka (Doležal a kol., 2012). V teplých a suchých oblastech hraje významnou roli vedle kukuřice i vojtěška setá.

V rámci zdokonalování detekčních metod se do praxe dostává přístroj AgriNIRs, který může urychlit a zlevnit stanovení kvalitativních parametrů čerstvé řezanky pícnin. Systém měření tohoto přístroje je potřeba zdokonalit, a proto vznikl a je podporován projekt s cílem rozšířit a aktualizovat kalibrační rovnice pro stanovení kvalitativních parametrů u řezanky vojtěšky a kukuřice přístrojem AgriNIRs s využitím výsledků chemických analýz. Je potřeba nastavit přístroje tak, aby správně reagovaly na stav sušiny, obsah vlákniny a dokázaly správně vypočítat výživné hodnoty.

Materiál a metody

Na dvou lokalitách jižní Moravy byla odebírána řezanka vojtěšky seté pro stanovení sušiny a nutričních látek pomocí chemické analýzy a analýzy AgriNirs. V lokalitě Troubsko byla pěstována odrůda Holyna (rok 2018 - 1. užitkový rok) ve 4 sečích v termínech (10.5.2018, 15.6.2018, 3.8.2018, 3.10.2018), na lokalitě Hrušovany nad Jevišovkou byla pěstována odrůda Morava (rok 2018 - 2. užitkový rok) ve 3 sečích v termínech (10.5.2018, 12.6.2018, 26.9.2018).

Vzorky byly analyzovány v laboratoři běžnými metodami podle Association of Officiating Analytical Chemis - AOAC (2005) pro sušinu, popeloviny, NDF (neutrálně detergentní vláknina), ADF (acido detergentní vláknina) a N-látky a souběžně byly analyzovány spektrometrickou metodou pomocí přístroje AgriNIRs. Vzorky vojtěšky z třetí seče byly z provozních důvodů pokusných ploch odebírány pouze na lokalitě Troubsko. Aby bylo možno použít příslušné statistické metody, nebyla třetí seč na lokalitě Hrušovany nad Jevišovkou zařazena do statistického hodnocení. Pro statistické hodnocení byl využit program STATISTICA 13.5.0., vícefaktorová ANOVA a Tukey HSD test pro hladinu významnosti (P 0,05).

Výsledky a diskuze

Ze statistických tabulek 1 a 2 vyplývá, že hodnoty sušiny stanovené klasickou chemickou analýzou (CHEM) vyjma druhé seče na lokalitě Troubsko a čtvrté seče na lokalitě Hrušovany jsou statisticky průkazně vyšší, než hodnoty získané měřením NIRS.

Ve stanovení obsahu N-látek, docházelo u metody NIRs ke statisticky průkaznému nadhodnocení obsahu těchto látek na obou lokalitách. Výjimku tvoří čtvrtá seč na lokalitě Hrušovany.

V parametru NDF nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi metodami NIR a CHEM na sledované lokalitě Hrušovany nad Jevišovkou a to ve všech sečích. Na lokalitě Troubsko byl statisticky průkazný rozdíl pouze v první seči.

V hodnotách parametru ADF, byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi metodami CHEM a NIR s výjimkou čtvrtých sečí a to na obou sledovaných lokalitách. Hodnoty získané měřením NIRS na obou lokalitách značně kolísaly.

V hodnocení obsahu popelovin nebyl pozorován žádný trend, hodnoty jednotlivých analýz opět značně kolísaly. Pouze na lokalitě Hrušovany v první seči nebyl zjištěn v obsahu popelovin průkazný rozdíl.

Použití nových přístrojů tak vyžaduje vytvoření dalších nových kalibračních křivek založených na použití chemických analýz pro zvýšení efektivity vytvořených kalibračních křivek (Park a kol. 1999).

Spektrofotometrické metody u čerstvé hmoty (řezanky) kukuřice jsou již v základních parametrech stanovovaných nutričních hodnot v praxi testovány a částečně využívány (Soldado

a kol. 2013; Nerušil a kol., 2018). Podobným způsobem chceme těmito metodami dosáhnout kvalitních měření ve stanovení nutričních parametrů i u vojtěšky.

Tab. 1: Porovnání výsledků chemických (CHEM) a spektrometrických (NIR) a analýz v 100% sušině u řezanky vojtěšky na lokalitách Troubsko

Metoda	Seč	sušina	NL	NDF	ADF	popel
Chem	1	30,56^{a}	19,82^{a}	63,38^{b}	36,83^{c}	11,27^{c}
NIR	1	26,67^{d}	31,35^{f}	27,09^{a}	25,95^{a}	9,99^{a,b}
Chem	2	45,56^{c}	17,89^{d}	43,15^{a,b}	35,04^{c}	9,53^{b}
NIR	2	44,11^{c}	19,65^{a}	36,16^{a,b}	30,25^{b}	10,47^{a}
Chem	3	35,49^{b}	14,73^{c}	47,67^{a,b}	37,54^{d}	12,19^{d}
NIR	3	31,08^{a}	21,89^{b}	36,09^{a,b}	32,12^{b}	11,43^{c}
Chem	4	33,53^{b}	23,31^{b}	31,92^{a}	24,89^{a}	12,5^{d}
NIR	4	30,14^{a}	28,95^{e}	31,4^{a}	25,03^{a}	10,28^{a}

Rozdílná písmena v indexu čísel značí významný rozdíl (P<0,05)

Tab. 2: Porovnání výsledků chemických (CHEM) a spektrometrických (NIR) a analýz v 100% sušině u řezanky vojtěšky na lokalitách Hrušovany nad Jevišovkou

Metoda	Seč	sušina	NL	NDF	ADF	popel
Chem	1	31,77^{d}	16,41^{c}	41,56^{a}	37,09^{d}	12,66^{a}
NIR	1	27,74^{a}	23,38^{a}	37,55^{a}	30,11^{c}	12,92^{a}
Chem	2	27,01^{a}	19,39^{d}	30,44^{a}	46,36^{f}	13,89^{d}
NIR	2	23,67^{c}	23,88^{a,b}	31,75^{a}	23,93^{b}	12,02^{a}
Chem	3	x	x	x	x	x
NIR	3	x	x	x	x	x
Chem	4	38,88^{b}	23,88^{a,b}	48,67^{a}	25,96^{a}	11,29^{b}
NIR	4	36,83^{b}	24,97^{b}	34,08^{a}	27,19^{a}	8,06^{c}

Rozdílná písmena v indexu čísel značí významný rozdíl (P<0,05)

Závěr

Výsledky z prvního roku řešení nám poskytly informaci o nepřesnostech měření přístrojů AgriNIRs u vojtěškové řezanky. Parametry z CHEM analýz budou využity pro upřesnění kalibračních křivek systému AgriNIRs. Jelikož AgriNIRs vede k operativnějším a efektivnějším stanovování parametrů. V rámci řešení projektu budou dále zjišťovány aktuální hodnoty řezanky vojtěšky na obou lokalitách, pomocí nichž budou zpřesňovány kalibrační rovnice pro systém AgriNIRs. Statisticky obsáhlé kalibrační modely pro predikci nutričních hodnot krmiva představují do budoucna v živočišné výrobě vysoký potenciál v řízení a kontrole kvality objemných krmiv a s tím i užitkovosti hospodářských zvířat. Podobně jako u kukuřice chceme dosáhnout přesných stanovení s použitím přístrojů AgriNIRs u řezanky vojtěšky.

Dedikace
Výsledky byly získány v rámci řešení výzkumného projektu NAZV QK1810137.

Použitá literatura

Bien, R., Hrbáčková, B. (2017): NIR analýza - spolehlivá kontrola jakostních parametrů v krmivářském průmyslu a dalších odvětvích. Krmivářství, 2: 27–28.

Doležeal, P., Dvořáček, J., Loučka, R., Mykiska, F., a kol. (2012). Konzervace krmiv a jich využití ve výživě zvířat. Profi-tisk group, s.r.o., 307 s., ISBN 978-80-87091-33-3.

Ibáñez l., S. M., Aloma D. (2008): Prediction of the chemical composition and fermentation parameters of pasture silage by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). Chilean Journal of Agricultural Research. 2008, 68(4), 352-359. ISSN 07185820.

Nerušil, P., Menšík, L., Jambor, V. (2018): Vývoj kalibračních rovnic k predikci parametrů výživné hodnoty konzervované kukuřičné siláže pomocí techniky NIRS. Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., certifikovaná metodika pro praxi. Praha, 28 s.

Nerušil, P., Menšík, L., Jambor, V. (2018a): Využití NIR spektroskopie k hodnocení kvality píce řezanky kukuřice na výrobu siláže. Úroda LXVI (12), vědecká příloha, 107–112, ISSN 0139-6013.

Marchesini, G., Serva, L., Garbin, E., Mirisola, M., Andrighetto, I. (2018): Near-infrared calibration transfer for undried whole maize plant between laboratory and on-site spectrometers, Ital. Journ. of Anim. Sci., 17 (1): 66–72.

Mudřík, Z., Čižmár, D., Hučko, B., Kodeš, A. (2013): Využití metod NIR při hodnocení krmiv. In Třináctý, J. Hodnocení krmiv pro dojnice. AgroDigest s.r.o., s. 122–126.

Park R. S., Agnew R. E., Gordon F. J., Barnes RJ. (1999). The develop-ment and transfer of undried grass silage calibrationsbetween near infrared reflectance spectroscopy instru-ments. Anim Feed Sci Technol. 78:325–340.

Soldado A, Fearn T, Martínez-Fernández A, dela Roza-Delgado B. (2013). The transfer of NIR calibrations for undried grasssilage from the laboratory to on-site instruments: compari-son of two approaches. Talanta. 105:8–14.

Šantrůček, J. a kol. (2001): Základy pícninářství. Česká zemědělská univerzita, Praha. 146 s. ISBN 80-213-0764-1.

Třináctý et al. (2013): Hodnocení krmiv pro dojnice. AgroDigest s.r.o., Pohořelice, 590 s.

Kontaktní adresa:
Ing. Ivana Šindelková,
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.,
Zahradní 1, 664 41 Troubsko,
e-mail: sindelkova@vupt.cz

VLIV PODMÍNEK PĚSTOVÁNÍ NA HOSPODÁŘSKÉ CHARAKTERISTIKY A KVALITU ZRNA BEZPLUCHÉHO JEČMENE

Influence of cultivation methods on economic characteristics and grain quality of hulless barley

Vaculová K., Sedláčková I.

Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž

Abstrakt

Byl studován vliv rozdílných podmínek pěstování (v ekologickém režimu a v režimu „low input“ s nízkými intenzifikačními vstupy) na výnos, kvalitu i nutričně významné parametry zrna odrůd a nových materiálů bezpluchého ječmene jarního. Nejvýznamnějším zdrojem proměnlivosti se ukázala interakce variant pěstování s ročníkem, následovaná vlivem genotypu a samotným pěstebním ročníkem. Výnos zrna byl diferencovaně snížený v ekologické pěstební variantě (o 16-25 %), naopak průměrný obsah N-látek byl zvýšený, ale se silnou meziročníkovou variabilitou. Obsah BG vykazoval ze všech z hodnocených nutričních ukazatelů nejmenší proměnlivost. Souhrnné hodnocení produktivity a kvality zrna umožnilo vytipovat jako perspektivní novou linii KM 2975 s dobrým výnosem v low input podmínkách a stabilním obsahem beta-glukanů v obou pěstebních variantách.

Klíčová slova: ječmen, bezpluché zrno, ekologické a „low input“ podmínky pěstování, výnos, nutriční kvalita

Abstract

The influence of different cultivation conditions (in the ecological regime and in the “low input” mode) on the yield, quality and nutritionally important parameters of the grain of varieties and new materials of hulless spring barley was studied. The most important source of variability was the interaction of cultivation variants with the year, followed by the influence of the genotype and the cultivation year itself. Grain yield was differentially reduced in the ecological cultivation variant (by 16-25%), while the average content of N-substances was increased, but with a strong year-on-year variability. BG content showed the lowest variability among all evaluated nutritional indicators. The overall evaluation of grain productivity and quality made it possible to identify as a promising new line KM 2975 with good yield in low input conditions and stable beta-glucan content in both growing variants.

Key words: barley, hulless grain, ecological and “low input” conditions of cultivation, yield, nutritional quality

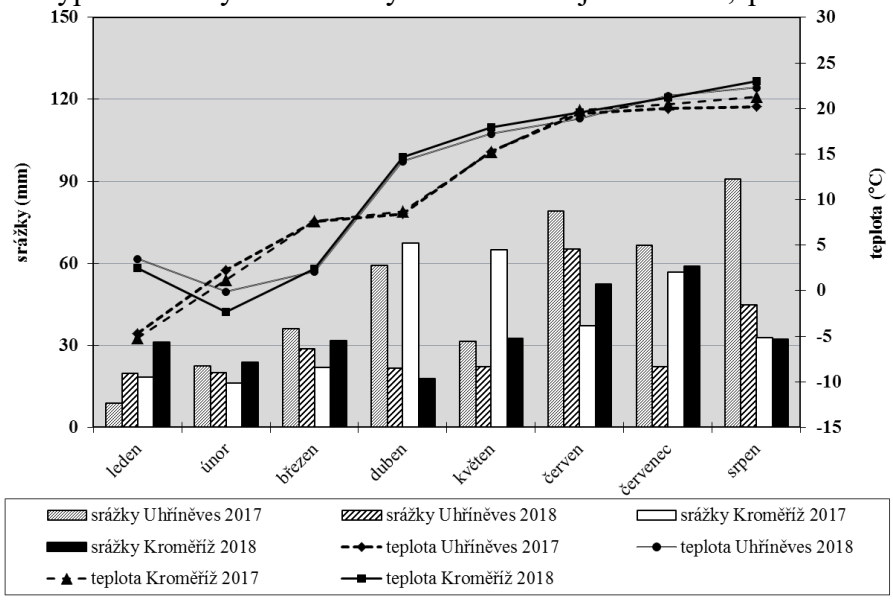
Úvod

Jak uvádí Akční plán ČR pro rozvoj ekologického zemědělství v letech 2016 – 2020 (schválený Usnesením č. 938 Vlády České republiky ze dne 20. 11. 2015) je nezbytné podporovat růst ekologického zemědělství (EZ) v doposud nedostatečně rozvinutých oblastech, ke kterým se mimo jiné řadí využití potenciálu EZ v ochraně přírody, výzkum a inovace v EZ, poradenství, či vzdělávání. Mezi tyto úkoly patří i řešení problematiky šlechtění a zkoušení odrůd polních plodin, vhodných pro pěstování v podmínkách EZ nebo obecně pěstebních systémech hospodaření s nízkými vstupy. Zvyšující se zájem spotřebitelů o produkty z EZ souvisí i se snahou ekologicky zaměřených pěstitelů mít dostatek potřebných informací o výnosových a dalších hospodářsky významných vlastnostech a kvalitě nových odrůd. Od roku 2015, kdy jsou ÚKZÚZ organizovány zkoušky pro Seznam doporučených odrůd pšenice a ječmene v režimu EZ, se rozšířily možnosti získat relevantní informace o vhodnosti vybraných odrůd nejen z

podmínek s různou mírou standardní intenzity pěstování, ale i podmínek ekologického hospodaření. V případě ječmene byly do zkoušek pro EZ zařazeny jen nesladovnické a od roku 2017 vybrané sladovnické odrůdy (ÚKZÚZ, 2018). Nové odrůdy ječmene se specifickou vysokou nutriční hodnotou zrna představují významnou surovinu pro výrobu zdravých cereálních potravin pro výživu lidí. Znalost jejich realizace z pohledu produktivity a nutriční jakosti zrna v jiných než konvenčních pěstebních podmínkách může být proto významným impulsem pro pěstitele, kteří by se problematice výroby právě takových obilovin chtěli věnovat. Ověřování perspektivních odrůd a nových materiálů ječmene i dalších polních plodin a to nejen v podmínkách ekologického zemědělství (EZ), ale i v pěstebních režimech s nízkými intenzifikačními vstupy je způsobem, kdy mohou být kromě plasticity a diverzity hodnoceny i další hospodářsky významné charakteristiky jako biologický potenciál odrůd, jejich reakce na makro- a mikrorajonizací (Křen, Míša 2011), odolnost významným chorobám, škůdcům a další důležité vlastnosti. Záměrem předloženého příspěvku bylo porovnat vliv zvolených podmínek pěstování (v systému EZ a režimu „low input“) na produktivitu a kvalitu zrna vybraných materiálů bezpluchého ječmene jarního.

Materiál a metody

Materiály ječmene jarního s bezpluchým zrnem (odrůda AF Cesar a nové šlechtitelské linie, vytvořené v průběhu řešení výzkumných projektů ve společnosti Agrotest fyto, s.r.o. – celkem 5 – viz tabulky a grafy níže) byly pěstovány v letech 2017-2018 na lokalitách Kroměříž (49° 17‘ severní šířky, 17° 22‘ východní délky, 235 m n. m. Řepařská výrobní oblast, podoblast Ř1. Průměrný dlouhodobý úhrn srážek je 576 mm, průměrná dlouhodobá roční teplota vzduchu je 9,2 °C. Půdní typ je černozem luvická, půdní druh – prachová hlína) a Uhříněves (50° 02´ severní šířky, 14° 37´ východní délky, 295 m n. m. Řepařský výrobní typu, řepařsko – pšeničný subtyp. Průměrný dlouhodobý úhrn srážek je 559 mm, průměrná dlouhodobá roční teplota vzduchu je 8,3 °C. Půdní typ je hnědozem modální (HNm). Aktuální průběh počasí v letech 2017 a 2018 je znázorněn v Grafu 1.



Graf 1: Srovnání průměrné měsíční teploty a úhrnu srážek v lokalitách Uhříněves a Kroměříž (2017, 2018)

Setí bylo provedeno randomizovaně do parcel (3 x 10 m^2) v optimálních termínech pro obě lokality. V Kroměříži byl aplikován systém pěstování s omezenými vstupy („Low input“). Předplodinou byla řepka ozimá. Základní hnojení bylo provedeno v dávce 200 kg NPK/ha na podzim a pole bylo zoráno. Na jaře bylo připraveno bránosmykem. Další přihnojování ani chemická ochrana porostů v průběhu vegetace nebyla prováděna. Plevele byly likvidovány chemicky (Mustang Forte - 0,8 l/ha a Axial Plus - 0,6 l/ha) a mechanicky. V Uhříněvsi byl ječmen pěstován na pozemcích vedených v ekologickém režimu („Eko“). Předplodinami byl v obou letech jetel (inkarnát a luční). Ošetřování během vegetace odpovídalo zásadám ekologického pěstování tj. bez použití

průmyslových hnojiv a pesticidů. Ochrana proti plevelům byla prováděna pouze mechanicky - vláčením prutovými branami - dle konkrétních podmínek zkušební lokality. Sklizeň proběhla v období plné zralosti maloparcelními kombajny. Po sklizni byl hodnocen výnos zrna zvážením a přepočten dle aktuální vlhkosti na standardní hektarový výnos (t/ha). Dále byla posuzována kvalita zrna (podíl na sítě 2 mm v % a hmotnost 1000 zrn – HTZ v g). V zrně byly stanoveny nutričně významné živiny: beta-glukany (BG), dusíkaté látky (NL = N x 6,25), škrob a tuk (vše ve 100% sušině) podle platných metodik ČSN, ISO a norem ICC. Experimentální data byla vyhodnocena s využitím software STATISTICA, verze 12.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

Výsledky a diskuze

Dosažené výsledky hodnocení produktivity, kvality a analýz zrna odrůdy AF Cesar a nových materiálů bezpluchého ječmene jarního z ekologických podmínek pěstování a low input podmínek s nízkými intenzifikačními vstupy v jednotlivých letech 2017 a 2018 (Tab. 1 a Tab. 2) ukazují, že průběhem počasí v experimentálních ročnících byl výrazně ovlivněný zejména výnos zrna, i když celkově se u sledovaných charakteristik a ukazatelů projevovala vyšší míra proměnlivosti mezi hodnotami naměřenými v ekologických pěstebních podmínkách než v low input variantě.

Tab. 1: Průměrné hodnoty a variabilita výnosu a ukazatelů kvality zrna materiálů bezpluchého ječmene jarního v ekologických podmínkách pěstování (2017-2018)

Odrůda, linie	Rok	Výnos zrna		Podíl zrna na sítě[2)]		HTZ		Beta-glukany		N-látky		Škrob		Tuk	
		t/ha	HS[1)]	%	HS	g	HS	%	HS	%	HS	%	HS	%	HS
AF Cesar	2017	5.9±0.1	d	75.1±2.0	cd	46.5±0.2	g	5.8±0.2	b-d	12.1±0.2	a	65.4±0.5	cd	2.8±0.1	b-d
KM 2454-496	2017	5.6±0.1	cd	25.3±0.5	a	36.3±0.3	b	6.4±0.1	d-g	12.0±0.3	a	63.6±0.6	c	3.3±0.05	e-g
KM 2551-296	2017	6.1±0.1	d	83.1±0.6	ef	47.2±0.2	g	5.6±0.1	ab	11.4±0.2	a	67.8±0.2	d	3.1±0.1	d-f
KM 2551-389	2017	5.8±0.2	d	91.9±0.4	gh	49.8±0.2	h	5.9±0.2	b-e	12.1±0.4	a	63.5±0.2	c	3.8±0.1	h
KM 2881-164	2017	4.8±0.1	c	51.2±2.7	b	40.4±0.1	d	5.2±0.1	a	11.8±0.3	a	66.6±0.3	d	3.7±0.05	gh
KM 2975	2017	5.3±0.1	cd	78.0±0.7	de	44.8±0.3	f	5.7±0.1	a-c	12.2±0.4	a	65.1±0.5	cd	3.2±0.1	d-f
AF Cesar	2018	3.4±0.2	ab	89.0±1.3	fg	41.5±0.4	de	6.1±0.1	b-g	18.9±0.3	c	57.2±0.8	ab	2.5±0.1	ab
KM 2454-496	2018	2.8±0.3	a	71.5±1.3	c	34.1±0.4	a	6.7±0.2	g	18.4±0.6	bc	55.7±0.9	a	3.3±0.1	e-g
KM 2551-296	2018	3.2±0.3	ab	96.7±0.2	h	42.5±0.4	e	6.3±0.1	c-g	19.2±0.9	c	56.3±0.6	ab	2.6±0.1	a-c
KM 2551-389	2018	3.8±0.2	b	97.4±0.2	h	44.7±0.4	f	6.5±0.1	e-g	18.4±0.3	bc	54.7±0.7	a	2.3±0.1	a
KM 2881-164	2018	3.2±0.1	ab	87.3±0.2	fg	37.9±0.2	c	6.1±0.1	b-f	16.7±0.1	b	59.1±0.3	b	3.5±0.05	f-h
KM 2975	2018	3.5±0.2	ab	95.9±0.3	h	41.0±0.1	d	6.6±0.1	fg	18.8±0.5	bc	56.4±0.9	ab	3.0±0.05	c-e
průměr - "Eko"		4.4±0.2		78.5±3.5		42.2±0.8		6.1±0.1		15.2±0.6		60.9±0.8		3.1±0.1	

[1)] - průměrné hodnoty ve sloupci, označené různým písmenem, se liší při $P_{0.05:}$ [2)] - viz. Materiál a metody

Průměrný výnos se v Eko podmínkách pohyboval od 2,8±0,3 t/ha (u KM 2454-496 v roce 2018) do 6,1±0,1 t/ha (u linie KM 2551-296 v roce 2017). V low input podmínkách měla obdobně nejnižší výnos v roce 2018 linie KM 2454-496 (3,2±0,8 t/ha), ale nejvyššího výnosu v roce 2018 dosáhla linie KM 2975 (8,0±0,3 t/ha). Diference výnosu zrna v roce 2017 mezi low input a Eko režimem činila téměř 1,9 t/ha, tedy 25 %. V roce 2018 s výrazně nižšími průměrnými výnosy (3,3 t/ha v Eko a 3,8 t/ha v low input podmínkách) byl rozdíl mezi oběma podmínkami pouze 0,5 t/ha, což je 13,8 %. Také z výsledků zkoušení odrůd ječmene jarního v režimu ekologického zemědělství (ÚKZÚZ, 2018) byl učiněn závěr, že výnosová úroveň a hustota porostu byly v porovnání s konvenčním zemědělstvím obecně nižší, i když HTZ a podíl předního zrna (nad sítem 2,5 mm) jsou srovnatelné. Co se týče poznatků, které uvádí ÚKZÚZ, v našem souboru by bylo možné udělat obdobný závěr pouze pro hodnoty HTZ z roku 2017,

které v Uhříněvsi dosahovaly průměru 44,2 g a v Kroměříži 45,1 g. Vysoké teploty společně s nízkým úhrnem srážek v období nalévání zrna (Graf 1) zřejmě v roce 2018 v Uhříněvsi přispěly k silnější redukci hmotnosti obilek, takže oproti variantě low input v Kroměříži, byla průměrná HTZ o 4,6 g nižší. Výraznější rozdíly byly u bezpluchého ječmene také zjištěny pro údaje o podílu předního zrna, zejména v roce 2017, kdy v Eko variantě byla průměrná hodnota tohoto ukazatele nižší o 23,3 % vůči low input podmínkám. Z Tab. 1 je zřejmé, že se na této hodnotě podepsalo především nízké třídění dosažené u linie s označením KM 2454-496, která v Uhříněvsi v roce 2017 měla podíl zrna nad sítem 2,0 mm pouze 25,3 %. Uvedená linie měla nejhorší výnosové výsledky i nejdrobnější zrno také v roce 2017 v low input variantě v Kroměříži a neprůkazně i v obou pěstebních podmínkách v roce 2018. Tyto údaje jsou v souladu s poznatky našich i zahraničních autorů, kteří konstatují, že polozakrslé, krátkostébelnaté a drobnozrnné odrůdy jsou pro ekologické pěstování nevhodné (Prugar 2000 a další). Kladný vztah mezi vyšším přepadem na sítě a vysokou HTZ potvrzuje i vypočtená průkazná korelace (r = 0,49**), i když jednoznačně je podpořen pouze výsledky z Eko podmínek v obou letech u linie KM 2551-389, která měla nejvyšší HTZ (49,7 g a 44,8 g) a současně nejlepší podíl na sítě (91,9 % a 97,4 %). Toto ovšem neplatilo v low input podmínkách, kde byla u této linie sice dosažena vysoká HTZ (51,1 g a 51,9 g), ale nejvyšší podíl na sítě měla v roce 2017 linie s označením KM 2975 (současně s nejvyšším průměrným výnosem zrna) a v roce 2018 odrůda AF Cesar. Je tedy pravděpodobné, že tvorba výnosu zrna probíhá i u rozdílných genotypů bezpluchého ječmene prostřednictvím kombinace jiných výnosových prvků.

Tab. 2 : Průměrné hodnoty a variabilita výnosu a ukazatelů kvality zrna materiálů bezpluchého ječmene jarního v podmínkách pěstování s omezenými intenzifikačními vstupy (2017-2018)

Odrůda, linie	Rok	Výnos zrna		Podíl zrna na sítě[2)]		HTZ		Beta-glukany		N-látky		Škrob		Tuk	
		t/ha	HS[1)]	%	HS	g	HS	%	HS	%	HS	%	HS	%	HS
AF Cesar	2017	7.7±0.2	c	92.0±2.1	b	48.4±0.3	cd	5.6±0.1	a	12.5±0.7	a	65.6±0.4	bc	3.3±0.4	a
KM 2454-496	2017	7.1±0.3	c	82.2±1.6	ab	36.6±0.4	a	6.4±0.2	a	12.9±0.6	ab	65.3±1.8	bc	3.5±0.3	a
KM 2551-296	2017	7.9±0.1	c	92.9±0.6	b	47.6±0.4	c	5.6±0.2	a	12.4±0.7	a	66.5±1.3	c	3.4±0.4	a
KM 2551-389	2017	7.6±0.2	c	92.0±1.6	b	51.1±0.2	de	6.3±0.1	a	12.5±0.7	a	64.8±1.5	bc	3.1±0.5	a
KM 2881-164	2017	6.4±0.2	bc	89.8±1.3	b	39.7±0.1	ab	5.3±0.2	a	13.1±0.8	ab	65.6±1.4	bc	3.8±0.1	a
KM 2975	2017	8.0±0.3	c	95.3±1.1	b	47.0±0.4	c	6.4±0.2	a	12.3±0.8	a	66.0±0.8	bc	3.2±0.4	a
AF Cesar	2018	3.7±0.5	a	89.4±1.5	b	46.7±0.3	c	5.1±0.4	a	15.5±0.3	b-d	61.4±0.3	ab	3.2±0.1	a
KM 2454-496	2018	3.2±0.8	a	72.9±7.5	a	36.4±1.8	a	6.2±0.6	a	13.9±0.4	ab	58.8±0.8	a	3.8±0.3	a
KM 2551-296	2018	3.7±0.3	a	85.9±3.1	ab	47.7±0.8	cd	5.8±0.2	a	17.4±0.2	d	58.2±0.4	a	3.4±0.1	a
KM 2551-389	2018	4.4±0.1	a	86.0±1.7	ab	51.9±0.4	e	6.3±0.4	a	15.5±0.4	b-d	57.3±0.6	a	3.4±0.1	a
KM 2881-164	2018	4.7±0.5	ab	81.2±4.5	ab	40.3±0.7	b	5.3±0.4	a	14.2±0.1	a-c	61.4±0.4	ab	3.7±0.2	a
KM 2975	2018	3.4±0.3	a	87.6±3.2	ab	46.1±0.6	c	6.5±0.3	a	16.8±0.3	cd	58.8±0.2	a	3.3±0.2	a
průměr - "Low input"		5.6±0.3		87.3±1.2		45±0.9		5.9±0.1		14.1±0.3		62.5±0.6		3.4±0.1	

[1)] - průměrné hodnoty ve sloupci, označené různým písmenem, se liší při $P_{0.05;}$ [2)] - viz. Materiál a metody

Rovněž nutriční kvalitu ovlivnily jak pěstební podmínky, tak i ročníkové vlivy. U ekologického zemědělství se uvádí, že pro úrodnost půdy a procesy, které v ní probíhají, je osevní postup a zejména vhodně seřazené plodiny mnohem důležitější než v případě konvenčního zemědělství (Svobodová *et al.* 2017). V našem pokusu byla kvalita půdy jednoznačně ovlivně jetelem jako předplodinou. Zatímco při pěstování sladovnického ječmene je vysoká hladina dusíku v půdě negativním faktorem, v případě ječmene pro krmné a také potravinářské účely není vysoký dusík hodnocen tak nepříznivě, pokud ovšem není příčinou zvýšené náchylnosti k poléhání. Jedním z nejvýznamnějších parametrů kvality ječmene, určeného ke zpracování pro zdravou lidskou výživu je obsah beta-glukanů (BG). Nejvyšší průměrný obsah BG byl stanoven u linie

KM 2454-496 (6,7±0,2 % v roce 2018 ve variantě Eko). Jako zajímavý a z hlediska dalšího šlechtění perspektivní materiál se ukazuje linie označená KM 2975, u které byl v roce 2018 stanoven vysoký obsah BG v obou pěstebních podmínkách (6,5±0,3 % v low input a 6,6±0,1 % v Eko variantě). Rozdíly mezi průměrným obsahem BG a oběma variantami pěstování v celém souboru byly poměrně malé. V roce 2017 byla diference pouze 0,1 % ve prospěch low input podmínek a v roce 2018 byl v Eko podmínkách naměřen průměrný obsah BG 6,4 %, tedy o 0,5 % více než v low input variantě. Současně byly tyto výsledky v souladu se změnami obsahu N-látek - v roce 2017 byly nalezeny pouze malé rozdíly (o 0,7 % ve prospěch low input varianty) a naopak v Eko podmínkách v roce 2018 byl zaznamenán výrazný nárůst (na 18,4 %, tedy o 2,8 % více než při pěstování v low input režimu). Kladná korelace mezi vyšším obsahem BG a NL byla ale potvrzená pouze pro data z roku 2018 (r = 0,46**) a ne obecně, jak například uvádějí Noworolnik *et al.* (2014). Shodně se zvýšením obsahu NL bylo zaznamenáno průměrné snížení obsahu škrobu (r = -0,90**), dané především silnější negativní korelací mezi oběma parametry v roce 2018 (r = -0,72**). Rovněž obsah tuku byl v této variantě nejnižší (2,8 %), i když vzájemné rozdíly nebyly pro žádnou hodnotu statisticky významné.

Tab. 3:Analýza variance hospodářských charakteristik a ukazatelů kvality zrna bezpluchých materiálů ječmene jarního (2017-2018)

Zdroj proměnlivosti	d.f.	MS (průměrný čtverec)						
		Výnos zrna	Podíl zrna na sítě[1)]	HTZ	Beta-glukany	N-látky	Škrob	Tuk
Odrůda, linie - A	5	0.93**	1448.4***	294.2***	1.87***	2.31*	15.35***	0.81**
Podmínky - B	1	25.81***	1377.0***	134.9***	0.53	20.48***	42.37	1.87**
Rok - C	1	154.17***	1056.5***	77.0***	1.39**	400.36***	1021.29***	0.71*
A x B	5	0.11	471.1***	5.6***	0.33	0.90	2.20	0.11
A x C	5	1.42***	148.1**	2.2*	0.18	4.43***	6.44**	0.17
B x C	1	7.96***	3799.6***	60.2***	2.07***	55.93***	26.73***	1.42**
Chyba	53	0.27	36	0.9	0.15	0.75	1.87	0.16
Celkem	71	214.31	18477.3	1827.5	23.69	554.74	1309.26	17.68

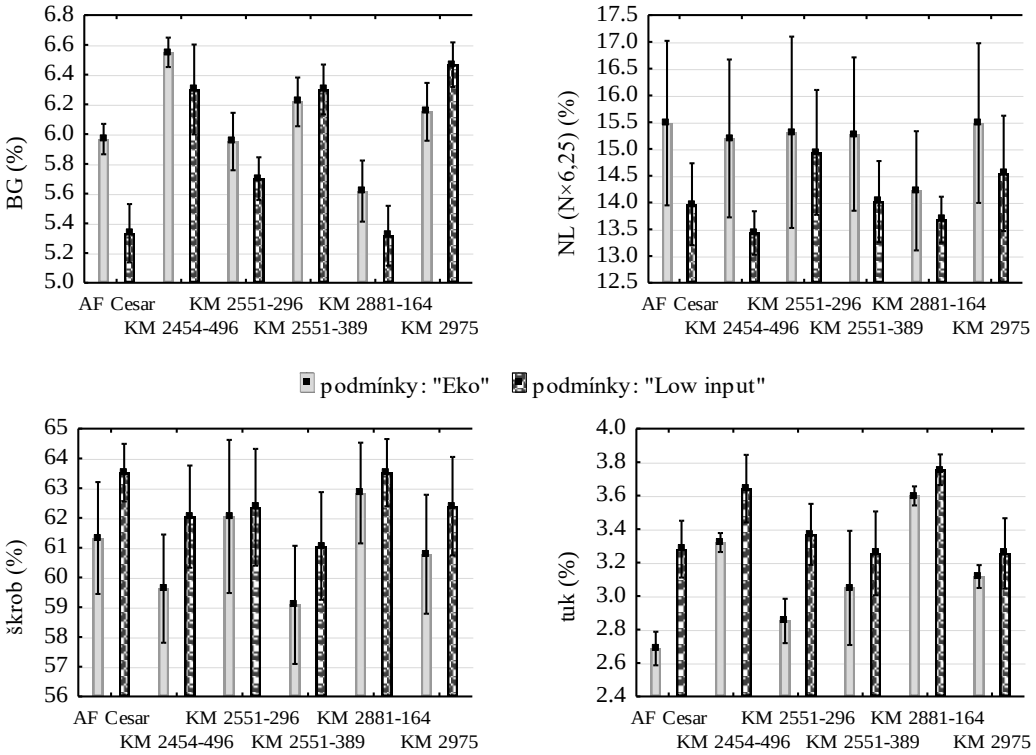
*P≤0.5; **P≤0.01; ***P≤0.001; [1)] - viz. Materiál a metody

Analýza variance celého souboru prokázala, že hlavními faktory proměnlivosti jak pro úroveň produktivity, tak i kvalitu zrna (podíl zrna na sítě a HTZ) a rovněž ukazatele nutričně významných parametrů (BG, NL, škrob i tuk) byly v pořadí významnosti interakce podmínek pěstování s ročníkem, genotyp studovaných materiálů a pěstební ročník. Podmínky pěstování ovlivnily zejména výnos, ukazatele kvality zrna, obsah NL a tuku. Interakce studovaných materiálů ječmene s metodou pěstování se projevila statisticky významně pouze na proměnlivosti podílu zrna na sítě a HTZ, zatímco interakce materiálu s ročníkem byla významným zdrojem proměnlivosti pro všechny hospodářské charakteristiky a rovněž obsah NL a škrobu (Tab. 3). Také Míša, Krofta a Lipavský (2009) zjistili při ověřování modelových technologií pěstování ječmene s různou intenzitou vstupů, že i když byly v konečném hodnocení rozdíly mezi jednotlivými technologiemi průkazné, byly detekovány významné interakce s ročníkem, lokalitou i zkoušenými odrůdami.

Poněkud jiný obraz poskytovalo porovnání průměrných hodnot sledovaných charakteristik a ukazatelů jednotlivých materiálů ječmene z pohledu jejich zařazení podle pěstebních variant (Graf 2). Nejmenší variabilitu vykazovaly průměrné hodnoty obsahu BG. Zatímco v obsahu BG v Eko variantě dominovala linie KM 2454-496, v podmínkách low input to byla již zmíněná linie KM 2975, která se statisticky významně lišila od odrůdy AF Cesar, linií KM 2881-164 a KM 2551-296. Obsah NL byl v průměru významně vyšší v ekologických pěstebních

podmínkách, zřejmě také z důvodu zvolené předplodiny (jetel), i když v důsledku vysoké variability (zejména vlivem ročníkových odchylek) byly vzájemné diference mezi materiály ječmene významné pouze pro marginální data. Rovněž obsah škrobu silně kolísal, což snižovalo vypovídající schopnost a významnost vzájemných diferencí. Zjištěné výsledky tedy nejsou plně v souladu s informací (Petr *et al.,* 1999; Míša, Sedláčková, Lipavský, 2009), že rozdíly v obsahu škrobu v zrně sice u obilnin z hlediska výživy nebo intenzity pěstování existují, avšak nebývají příliš významné.

Graf 2 Průměry a variabilita (směrodatná odchylka) ukazatelů nutriční kvality zrna v rozdílných pěstebních podmínkách



Závěr

Dosavadní výsledky pěstování odrůd bezpluchého ječmene v podmínkách ekologického zemědělství nebyly jednoznačně korunovány úspěchem, což svědčí o tom, že je zapotřebí získat více podkladů a informací o nově vyšlechtěných odrůdách a perspektivních materiálech s vysokou nutriční kvalitou pro využití ve zdravé a preventivní výživě lidí. Jak ukazují aktuální dosažené výsledky, je kromě podmínek pěstování důležité volit materiály, které dokáží vhodně reagovat na kolísání pěstebních podmínek jednotlivých ročníků a jsou schopny dosahovat stabilní úrovně požadovaných nutričně významných parametrů při odpovídající výnosové úrovni. Potvrzuje se, že oproti low input podmínkám, kde je možné počítat s určitými „zásobami“ živin z minulého období, je pěstování v ekologickém režimu spojeno s nutností vhodné volby těch faktorů, které mohou příznivě, ale i negativě ovlivnit pěstitelské výsledky. Vhodné je rovněž průběžně ověřovat vlastnosti a schopnost nových materiálů ječmene pro pěstování na ekologicky vedených pozemcích rozdílné kvality a tak očekávaný další průběh jejich uplatnění, pokud budou vybrány k zařazení do zkoušek pro ekologické pěstební podmínky.

Dedikace
Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1118 a Technologické agentury ČR, projekt CK TA ČR, č. TE2000177.

Použitá literatura

Akční plán ČR pro rozvoj ekologického zemědělství v letech 2016-2020. 2016. 48 s. Ministerstvo zemědělství, Těšnov 17, 110 00 Praha 1, www.eagri.cz, info@mze.cz, Praha 2016. ISBN 978-80-7434-193-9.

Křen J., Míša P. 2011. Metodika pro tvorbu odrůdové skladby obilnin. Kroměříž, Agrotest fyto, s.r.o. 1 CD, ISBN: 978-80-87555-03-3.

Míša P., Sedláčková I., Lipavský J. 2009. Jarní a ozimý ječmen pro nepotravinářské využití - výsledky ověřování modelových technologií pěstování. Obilnářské listy, 17, 1: 7–11. ISSN: 1212-138X.

Míša P., Krofta S., Lipavský J. 2009. Jarní a ozimý ječmen pro nepotravinářské využití - ekonomické vyhodnocení modelových technologií pěstování. Obilnářské listy, 17, 2: 39-45. ISSN: 1212-138X.

Noworolnik K., Wirkijowska A., Mikos-Szymanska M. 2014. Effect of genotype and nitrogen fertilization on grain yield and quality of spring barley intended for health food use. Bulg. J. Agric. Sci., 20: 576-580.

Petr, J., Novotná, D. a kol. 1999. Obsah škrobu v zrnu vybraných odrůd ozimé pšenice. Rostlinná výroba, 45, 3: 145–148.

Prugar, J., Kvalita rostlinných produktů v ekologickém zemědělství: (studijní zpráva). 1. vyd. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 2000. 79 s. ISBN 80-7271-048-6.

Seznam doporučených odrůd ječmene a pšenice pro ekologické zemědělství 2018. Ječmen jarní. Pšenice jarní. Publikace ÚKZÚZ, Brno 2018, ISBN 978-80-7401-153-5.

Svobodová I., Spáčilová V., Hartman I., Míša P. 2017. Metodika pro pěstování sladovnickéhoječmene v ekologickém zemědělství. Kroměříž, Brno 2017, 49 s. ISBN 978-80-87555-15-6.

Kontaktní adresa:

Ing. Kateřina Vaculová, CSc.
Agrotest fyto, s.r.o.
Havlíčkova 2787/121
767 01 Kroměříž
Tel: +420 604124166, vaculova@vukrom.cz

ZMĚNY FYZIKÁLNÍCH VLASTNOSTÍ ERODOVANÝCH PŮD

Changes of physical properties of eroded soils

Vašinka M., Badalíková B.

Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko

Abstrakt

Hodnocení půdních vlastností probíhalo v letech 2018-2019 na intenzivně zemědělsky obhospodařovaném pozemku v oblasti Jižní Morava České republiky. Pokus byl zařazen na svažitém pozemku původně na černozemních půdách, kde bylo prováděno základní měření fyzikálních vlastností půdy. Místa odběru zahrnovala části svahu eluviální, transportní a akumulační. Výsledky naznačují, že u zerodované části pozemku (transportní) byly zhoršeny fyzikální vlastnosti půdy hlavně z důvodu odnosu jemných částí orničního profilu.

Klíčová slova: vodní eroze, půdní vlastnosti, černozem

Abstract

The evaluation of the soil properties was operated on intensively farmed land in the South Moravia region of the Czech Republic in the years 2018-2019. The experiment was included on sloping land on Chernozem soils, where basic measurements of physical soil properties were performed. The sampling sites included parts of the slope of eluvial, transport and accumulation. The results indicate that the soil physical properties were degraded due to the removal of fine parts of the topsoil profile.

Key words: water erosion, soil properties, chernozem

Úvod

Mezi klíčové faktory hodnocení kvality půdy, určující její fyzikální vlastnosti, patří zrnitost, obsah půdní organické hmoty (POH), kvalita půdní struktury a další (Barthés a Roose 2002). Stabilnější půdní struktura vede kromě omezení eroze k lepšímu využití srážkové vody, což má význam zejména v oblastech s častějším výskytem sucha. V podmínkách ČR se problematikou protierozní ochrany půdy zemědělských půd zabýval např. Javůrek a Šimon (2005), Janeček et al. (2006). Z výsledků jejich prací vyplývá, že důležitým faktorem pro zabránění či zmírnění vodní eroze je nenechávat povrch půdy bez ochranného pokryvu. Pokryv půdy rostlinnými zbytky, nebo mulčem sehrává důležitou roli při protierozní ochraně půdy (Badalíková, Hrubý, 2009). Badalíková a Bartlová (2012) uvádí, že množství smyvu půdy závisí nejen na ochraně povrchu půdy a na způsobu jejího zpracování, ale celkově na jejich fyzikálních, chemických a biologických vlastnostech. Vlastní infiltrační schopnost půdy ovlivňuje mnoho půdních parametrů, mimo půdního typu, struktury, textury půdy a hydro-fyzikálních vlastností půdy (objemová hmotnost, hydraulická nasycená vodivost, momentální půdní vlhkost, pórovitost a další) také chemizmus půdy, množství půdních mikroorganismů a v neposlední řadě způsob hospodaření (Badalíková, 2010). Zpracování půdy mění strukturu půdy a tím velikost i distribuci pórů a tvoří žádoucí prostředí pro pohyb vzduchu a vody (Leij a kol., 2002). Změna půdní struktury po zpracování půdy přináší změnu vodivosti a propustnosti pro vodu, teplo a vzduch.

Předložená studie se zabývá hodnocením vlastností černozemních půd, dlouhodobě poškozovaných vodní erozí. Cílem příspěvku je ověření změn fyzikálních vlastností v erodovaných půdách.

Materiál a metody

Řešení probíhalo v poloprovozním pokusu na lokalitě Bošovice v letech 2018 - 2019. Lokalita tvoří půdní blok s celkovou výměrou 119,84 ha, při průměrné sklonitosti 6,65°. Dle LPIS je u tohoto pozemku uváděno 61,23 ha jako erozně neohrožených, 54,73 ha jako mírně ohrožených a 3,88 ha jako silně ohrožených. Podloží lokality je tvořeno převážně horninami ždánicko-hustopečského souvrství (ždánické pískovce a hustopečské slíny). Nižší polohy oblasti jsou překryty mocnými překryvy spraší a sprašových hlín. Lokalita náleží do klimatické oblasti T2 (teplá, mírně suchá) - nejbližší klimatologická stanice ve Slavkově u Brna (212 m n. m.) uvádí průměrnou roční teplotu vzduchu 8,8°C a průměr ročních srážek 544 mm (za dlouhodobé období 1961–1990).

Půdní typ na eluviální - kontrolní části (neerodovaná - eluviální) je klasifikovaný jako černozem karbonátová, antropická, zrnitostně hlinitá.
Erozní - transportní část byla klasifikována jako regozem karbonátová, eubazická (RGce´), písčitohlinitá až hlinitá z eolického sedimentu spraš.
Akumulační plocha byla klasifikována jako koluvizem karbonátová, oglejená, eubazická, ze středně těžkých substrátů až černozem karbonátová, akumulovaná, hlinitá.

Z fyzikálních vlastností půdy byly sledovány tyto parametry: objemová hmotnost redukovaná, pórovitost, momentální obsah vody a vzduchu, maximální kapilární vodní, minimální vzdušná kapacita a půdní struktura.
Vzorky půdy na fyzikální vlastnosti byly odebírány pomocí válečků dle Kopeckého. Vzorky byly odebírány ze třech hloubek půdy: 0-0,10, 0,10-0,20 a 0,20-0,30 m v pěti opakováních.

Výsledky a diskuze

Některé půdní fyzikální vlastnosti jsou indikátory existence utužených vrstev, které mohou ovlivnit vývoj kořenů rostlin (Mazurana a kol., 2013). Při hodnocení fyzikálních vlastností pomocí Kopeckého válečků byla hodnocena objemová hmotnost redukovaná (OHr) jako hlavní charakteristika odrážející utužení půdy. Objemová hmotnost, je hmotnost objemové jednotky půdy v neporušeném stavu. Její hodnota je závislá na měrné hmotnosti, na podílu pórů v půdě a míře jejich zaplnění vodou. Je to hodnota nestálá, která se mění během roku v závislosti na vlhkostních poměrech v půdě (Jandák, a kol. 2007).
OHr na lokalitě Bošovice na jaře v roce 2018 byla zjištěna nejnižší u var. 1 (eluviální-kontrolní) a nejvyšší u var. 2 (akumulační) (Tab. 1). Celková pórovitost odpovídá OHr, vyšší byla u méně utužené půdy a nižší u více utužené půdy. Maximální kapilární vodní kapacita (MKVK) je ukazatelem schopnosti půdy hospodařit s vodou. Výsledky ukazují na lepší variantu 1 a 3. Minimální vzdušná kapacita (MVK) je protipólem MKVK. Ve výsledcích neklesla pod 10 %, takže provzdušněnost je na přijatelné úrovni.

Tab. 1: Fyzikální vlastnosti půdy – jaro 2018

varianta	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. ($g.cm^{-3}$)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
				vody	vzduchu		
				%obj.		%obj.	
1	0 - 0,1	1,29	51,61	16,96	34,64	35,51	16,10
	0,1 - 0,2	1,37	48,40	19,63	28,77	33,36	15,04
	průměr	**1,33**	**50,01**	**18,30**	**31,71**	**34,43**	**15,57**
2	0 - 0,1	1,40	47,54	16,99	30,55	34,11	13,43
	0,1 - 0,2	1,50	43,44	18,16	25,28	31,56	11,88
	průměr	**1,45**	**45,49**	**17,58**	**27,91**	**32,84**	**12,65**
3	0 - 0,1	1,40	47,29	16,07	31,22	35,08	12,21
	0,1 - 0,2	1,42	46,71	8,38	38,33	35,78	10,93
	průměr	**1,41**	**47,00**	**12,23**	**34,78**	**35,43**	**11,57**

Tab. 2 prezentuje výsledky z podzimu 2018. Zde byla zjištěna nejvyšší utuženost půdy OHr u var. 3 (akumulační) a nejnižší u var. 1. Celkově byly hodnoty OHr vyšší na konci vegetace

oproti začátku vegetace roku 2018 v důsledku nižších dešťových srážek. Ostatní hodnoty korelovaly s OHr. Provzdušněnost byla nejhorší u varianty 3, ale neklesla pod kritických 10 %. Vzduch v půdě tvoří plynnou fázi půdy, významnou pro biologické i chemické pochody probíhající v půdě a je jednou z nezbytných podmínek života rostlin. Vzdušné poměry v půdě závisí na její schopnosti přijímat, obsahovat a zadržovat vzduch, s pohyblivostí vzduchu v půdě a s výměnou vzduchu mezi půdou a atmosférou (Jandák, a kol. 2007).

Tab. 2: Fyzikální vlastnosti půdy – podzim 2018

varianta	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. ($g.cm^{-3}$)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
				vody	vzduchu		
				%obj.		%obj.	
1	0 - 0,1	1,51	43,32	16,13	27,19	30,78	12,54
	0,1 - 0,2	1,41	46,93	12,74	34,19	30,83	16,10
	průměr	**1,46**	**45,12**	**14,44**	**30,69**	**30,81**	**14,32**
2	0 - 0,1	1,48	44,48	15,09	29,39	29,87	14,61
	0,1 - 0,2	1,48	44,55	19,43	25,12	32,11	12,44
	průměr	**1,48**	**44,51**	**17,26**	**27,25**	**30,99**	**13,52**
3	0 - 0,1	1,43	46,38	16,80	29,58	33,48	12,90
	0,1 - 0,2	1,67	37,29	12,55	24,74	27,39	9,90
	průměr	**1,55**	**41,84**	**14,68**	**27,16**	**30,44**	**11,40**

Výsledky ve druhém roce sledování 2019 jsou vyhodnoceny v tab. 3 a 4. Hodnoty OHr na začátku vegetace (tab. 3) byly nejvyšší u var. 2 (erozní část) a nejnižší u var. 1 (eluviální část). Přesto byly hodnoty mnohem nižší než v roce 2018. Bylo to dáno tím, že v jarním období docházelo k častějším dešťovým srážkám a tím k vyššímu obsahu vody v půdě. MKVK byla mnohem vyšší než v roce 2018 u všech variant. U prostřední – erodované části byly hodnoty MKVK nad limitní ukazatel, takže bylo dosaženo maximálního nasycení půdních kapilárních pórů. Tomu odpovídaly hodnoty provzdušněnosti MVK.

Tab. 3: Fyzikální vlastnosti půdy – jaro 2019

varianta	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. ($g.cm^{-3}$)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
				vody	vzduchu		
				%obj.		%obj.	
1	0 - 0,1	1,04	61,04	13,43	47,61	37,94	23,10
	0,1 - 0,2	1,10	58,73	19,20	39,52	36,45	22,28
	průměr	**1,07**	**59,89**	**16,32**	**43,57**	**37,20**	**22,69**
2	0 - 0,1	1,30	51,02	15,15	35,87	44,11	6,91
	0,1 - 0,2	1,23	53,71	16,80	36,91	40,84	12,87
	průměr	**1,27**	**52,37**	**15,98**	**36,39**	**42,48**	**9,89**
3	0 - 0,1	1,17	56,04	15,81	40,23	44,63	11,41
	0,1 - 0,2	1,26	52,76	19,05	33,71	38,67	14,08
	průměr	**1,21**	**54,40**	**17,43**	**36,97**	**41,65**	**12,75**

Podzimní hodnoty OHr byly o málo vyšší ve srovnání s jarním obdobím (tab. 4). V tomto období byly zjištěny hodnoty OHr opět nejvyšší u var. 2. Tomu odpovídaly hodnoty nejnižší provzdušněnosti a MKVK.

Hůla a kol. (1997) uvádějí, že v průběhu kypření dochází ke zvyšování podílu nekapilárních pórů a tím pádem se zvětšuje pórovitost. V našem případě dochází vlivem eroze k obnažení nakypřené ornice a tím vyšší utuženosti hlubší vrstvy půdy. Způsob kultivace půdy také ovlivňuje vodní režim, tj. infiltraci vody na povrchu půdy, jakož i její příjem a uchování v půdním profilu, což dále ovlivňuje fyzikální parametry půdy (Leij a kol. 2002).

Tab. 4: Fyzikální vlastnosti půdy – podzim 2019

varianta	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. ($g.cm^{-3}$)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
				vody	vzduchu		
				% obj.		% obj.	
1	0 - 0,1	1,07	59,79	15,24	44,55	38,87	20,92
	0,1 - 0,2	1,25	53,07	23,78	29,29	40,83	12,25
	průměr	**1,16**	**56,43**	**19,51**	**36,92**	**39,85**	**16,58**
2	0 - 0,1	1,23	53,67	23,69	29,98	42,23	11,44
	0,1 - 0,2	1,35	49,20	27,65	21,55	41,10	8,10
	průměr	**1,29**	**51,43**	**25,67**	**25,77**	**41,67**	**9,77**
3	0 - 0,1	1,16	56,47	20,16	36,31	42,25	14,21
	0,1 - 0,2	1,34	49,51	29,41	20,10	39,94	9,57
	průměr	**1,25**	**52,99**	**24,79**	**28,20**	**41,10**	**11,89**

Závěr

Výsledky měření fyzikálních vlastností půdy prokázaly dopady degradačních procesů (vodní eroze) zejména na objemové hmotnosti. Jemnozrnný materiál je unášen do spodních partií svahů, kde následně dochází k utužování půdního profilu.

Erozní - transportní části svahů vykazují vyšší objemovou hmotnost vlivem odnosu jemných částic a organické hmoty vodní erozí. Také akumulační partie vykazují většinou vyšší objemové hmotnosti, nižší objem vody, nižší provzdušněnost.

Dedikace

Výsledky vznikly na základě projektu MZe ČR, NAZV – ZEMĚ, pod č. QK 1810233, názvem „Kvantifikace dopadu hospodaření na erozi, kvalitu půd a výnosy pěstovaných plodin s návrhem pěstebních technologií šetrných k životnímu prostředí“.

Použitá literatura

Badalíková B. (2010): Influence of Soil Tillage on Soil Compaction. In: Dedousis A., Bartzanas T. (eds) *Soil Engineering. Soil Biology*, vol 20. Springer, Berlin, Heidelberg

Badalíková B., Bartlová J. (2012): Influence of incorporated organic matter on soil and infiltration. *Soil,* 293-298.

Badalíková B., Hrubý J. (2009): Hodnocení výběru meziplodin z hlediska požadavků na ochranu půdy. *Acta fytotechnica et zootechnica,* 49–52.

Barthés B., Roose E., 2002: Aggregate stability as an indicator of soil susceptibility to runoff and erosion; validation at several levels. Catena, 47, 133 – 149.

Hůla, J., Abrham, Z., Bauer, F. (1997): Zpracování půdy. 1 vyd. Praha: Brázda. 140 s. ISBN 80-209-0265-1

Jandák, J., Pokorný E., Prax , A., (2007):Půdoznalství. 2., přeprac. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. ISBN 978-80-7375-061-9.

Janeček M., Kubátová E., Tippl M. (2006): Revise Determination of the Rainfall-runoff Erosivity Factor R for Application of USLE in the Czech Republic. *Soil & Water Research,* 2: 65-71.

Javůrek M., Šimon J. (2005): Možnosti využití mulče. *Farmář,* 6: 31-33.

Leij, F.L. et. al. (2002) Modeling the dynamics of the soil pore-size distribution *Soil and Tillage Research,* Volume 64, Issues 1–2, Pages 61-78 ISSN: 0167-1987

Mazurana M., Fink J. R., da Silveira V. H., Levien R., Zulpo L., Brezolin D. (2013): Soil physical properties and maize root growth in an ultisol under controlled machine traffic. Revista Brasileira de Ciencia do Solo, 37 (5): 1185-1195.

Kontaktní adresa:

Mgr. Martin Vašinka, Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Zahradní 1, 664 41 Troubsko,
e-mail: vasinka@vupt.cz

VYHODNOTENIE MNOŽSTVA NESPÁLITEĽNÝCH ČASTÍ BIOPALÍV Z VINOHRADNÍCKEJ A VINÁRSKEJ PRODUKCIE

Evaluation of the quantity of non-combustible parts of biofuels from vineyard and wine production

Vaštík L.[1], Mašán V.[1], Burg P.[1], Sikora J.[2]

[1]*Department of Horticultural Machinery, Faculty of Horticulture, Mendel University in Brno, Czech Republic*

[2]*Institute of Agricultural Engineering and Computer Science, Faculty of Production and Power Engineering, University of Agriculture in Krakow, Poland*

Abstrakt

Vinohradnícke a vinárske podniky každoročne produkujú veľké množstvo odpadových materiálov, ako je viničie alebo hroznové výlisky, ktoré možno využiť pri výrobe biopalív. Dôležitým produktom pri spaľovaní sa stáva popol, ktorý predstavuje nespáliteľný podiel biopalív. Cieľom tejto práce je zhodnotenie vyprodukovaného množstva popola z odpadu podnikov. Výsledky poukazujú na vysoký podiel popola z filtračných dosiek (37,06%), menší podiel obsahujú pelety z viničia (9,25%), strapiny (8,83%), výlisky (7,11%), matolina (6,47), semená viniča (3,39%), viničie (3,33%), pokrutiny, (3,18%) a najmenej drevo z kmeňa viniča (2,63%). Výsledky sledovaní poukazujú na to, že väčšina odpadov z vinohradníckej a vinárskej produkcie je využiteľná v procese energetického spaľovania okrem filtračných dosiek, pretože produkujú príliš veľké množstvo nespáliteľného podielu.

Kľúčové slová: odpadový materiál, spaľovanie, popol

Abstract

Wine and wine businesses produce large amounts of waste each year, such wood canes or grape pomace, which are possible to use in production of biofuel. An important product in the incineration is the ash, which representes non-combustible share of biofuel. The aim of this work is to evaluate the amount of ash produced from the waste of enterprises. The results show a high proportion of ash from the filter cellulose sheets (37.06%), smaller share contains the cane pellets (9.25%), grape stalks (8.83%), grape pomace (7.11%), grape seeds (3,39%), wood cane (3.33%), grape bagasse pellets as a by-product from the pressing of grape oil (3.18%) and the least ash contains wood trunk (2.63%). The result of the test shows that most of the wastes from vineyard and wine production, besides filter cellulose sheets, because they produce too much quantity of non-combustible share.

Key words: waste material, combustion, ash

Úvod

Vinič je jednou z najpestovanejších plodín na svete (FAO, 2017). S jeho pestovaním a spracovaním súvisí veľká produkcia nevyužitých odpadných materiálov a iných druhotných výrobkov, ako je drevný odpad po zimnom reze a kmene po likvidácii starých vinohradov, ale aj odpady z výroby vína.

Výskum v odpadovom hospodárstve vedie k novým bezodpadovým technológiám a k technológiám, v ktorých sa odpadný materiál používa ako biopalivo (Boulton et al., 2010). Značná časť odpadného materiálu pochádza z dreva po zimnom reze viníc, kde sa priemerná produkcia drevnej hmoty pohybuje od 1 540 do 6 762 kg·ha^{-1} (Burg et al., 2017), a tiež zo spracovania hrozna počas výroby vína (Burg et al., 2017). Množstvo produkcie drevnej hmoty z vinohradov hodnotil Michálek et al. (2013), podľa ktorého množstvo závisí od sponu pri

výsadbe a pohybuje sa od 1600 do 2 500 kg·ha^{-1}. Ďalší autori (Rosúa a Pasadas, 2012; Boschiero et al., 2016) uvádzajú priemernú produkciu drevnej hmoty na hodnote 1 000 kg·ha^{-1}. Počas lisovania 1 000 kg hrozna sa vyprodukuje odpad 40 až 60 kg strapín, 230 až 300 kg výliskov, pričom časť semien je približne od 50 do 100 kg a výlisky z hrozna sú medzi 150 do 250 kg (Baydar et al., 2007; Hugh, 2002; Muhlack et al., 2018; Rubio et al., 2009; Schieber et al., 2001). Počas výroby vína sa vyprodukuje aj ďalší odpadný materiál, ako napríklad použité filtračné dosky. Tento odpadný materiál predstavuje významné množstvo suroviny, ktoré by bolo možné následne využiť. Najjednoduchší a najrýchlejší spôsob využitia odpadného materiálu v širokom meradle je energetické spaľovanie. Táto technológia je v podnikoch bežne zavedená a je finančne dostupná aj pre menšie vinárstva. Použitie biopalív vyprodukovaných podnikmi má aj pozitívny vplyv na zníženie spotreby fosílnych palív a negatívneho vplyvu na životné prostredie. Nevýhodou je produkcia relatívne veľkého množstva popola pri spaľovaní. Tá je spôsobená vyššou vlhkosťou suroviny, vyšším nespáliteľným podielom, či nemožnosťou optimalizovať spaľovacie zariadenie, keďže produkcia surovín je nízka a nerovnomerná. Z tohto dôvodu sa na výrobu biopaliva musia často kombinovať rôzne suroviny.
Popol je možné ďalej využiť ako súčasť kompostovej zakladky, alebo priamo ako hnojivo vo viniciach (Lazdina, 2017). Potenciálnym problémom môže byť jeho zloženie, obsah ťažkých kovov, či rezíduí z postrekov, alebo rôznorodosť vlastností závislých na vstupnej surovine biopaliva a môže tak vyvolávať ďalšie environmentálne problémy (Kulokas, 2019).
Cieľom práce bolo zhodnotenie biopalív z odpadných produktov vinohradníckej a vinárskej produkcie s ohľadom na produkciu nespáliteľného podielu, nakoľko vstupné suroviny nemajú vždy ideálne vlastnosti vhodné k produkcii biopalív.

Materiály a metódy

Hodnotené suroviny

Boli hodnotené materiály bežne produkované vo vinici ako viničie a drevo z kmeňa, ďalej materiály produkované pri spracovaní strapcov hrozna a výrobe vína, ako hroznové výlisky, matolina, semená viniča, strapiny, filtračné dosky (typ S 10) a pokrutiny, ako sekundárny produkt pri lisovaní oleja. Ako štandard boli použité komerčne predávané pelety z dreva viničia. Odpadová hmota bola vyprodukovaná a zozbieraná na Južnej Morave v Českej republike v roku 2018. Vzorky viničia a staré kmene boli odobraté z vinohradnického podniku vo Veľkých Žernosech, rok výsadby 1971, odroda Rulandské biele. Strapiny, výlisky z hrozna v pôvodnom stave, matolina a samotné semená pochádzali z odrody Sauvignon. Pelety z hroznových pokrutín sa vyrábali pri lisovaní hroznového oleja na skrutkovom lise a pochádzali tiež z odrody Sauvignon. Filtračné dosky sa použili na filtráciu odrody Sauvignon 2018, v objeme 2500 litrov vína.

Laboratórne metódy

Stanovenie obsahu vlhkosti a popola sa uskutočnilo podľa štandardných laboratórnych postupov ISO 18134-3 (celkový obsah uhlíka, vodíka a dusíka), ISO 16948, ISO 16994 (celkový obsah síry) a ISO 18122 (celkový obsah síry), ISO 18122 (celkový obsah popola). Všetky postupy boli vyhodnotené v akreditovanom laboratóriu TÜV NORD Czech, s.r.o.

Štatistika

Rozbor vzoriek a stanovenie výsledných hodnôt sa vykonával trojmo a výsledné údaje sú uvedené ako priemer ± smerodajná odchýlka. Výsledky boli zhodnotené pomocou analýzy rozptylu a porovnané s použitím Tukeyovho testu s hladinou významnosti (a = 0,05). Štatistické analýzy boli vykonané pomocou softvérového programu "Statistica 12.0" (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

Výsledky a diskusia

Základným predpokladom použitia tuhých biopalív je zníženie ich vlhkosti na technologicky prijateľnú hodnotu z hľadiska skladovania a možnosti ich premeny na biopalivo. Z tohto dôvodu sú najproblematickejšie materiály (tab. 1) ako filtračné dosky s vlhkosťou 67,61% a hroznové výlisky 63,47%. Vlhkosť vzoriek kolísala v relatívne širokom rozmedzí hodnôt od 8,43% do 67,61%. Viničie a drevo z kmeňa mali nízku vlhkosť, ktorej dôvodom bola aj skutočnosť, že sa zbierali v zime, keď rastliny netranspirovali. Najvyššia strata vlhkosti pri sušení bola dosiahnutá pri filtračných doskách a hroznových výliskoch, čo je logické vzhľadom na spracovateľskú metódu, kedy sa sušením odstránila zo vzoriek veškerá prebytočná vlhkosť a odpadný materiál bol tak vhodný na výrobu biopalív. V praxi to však môže predstavovať zvýšené náklady na sušenie. Na druhej strane, zmena vlhkosti bola najnižšia v prípade peliet z hroznových pokrutín, ktoré vďaka technológií produkcie pri lisovaní oleja, svojej kompaktnosti a obsahu zbytkového množstva oleja nemajú predpoklad na to, aby pútali väčšiu vzdušnú vlhkosť. Vzorky obsahu popola kolísali v relatívne úzkom rozmedzí hodnôt od 2,63 do 9,25%, s výnimkou filtračných dosiek, kde bola dosiahnutá hodnota 37,06% (tab. 1), čo je približne dvojnásobne viac, ako čierne uhlie (9,7–20,2%). Je to spôsobené materiálom, z ktorého sú filtračné dosky vyrobené (celulóza všeobecne pri spaľovaní produkuje značné množstvo popola) (Yguatyara de Luna, 2019), ale tiež zachytávaním sedimentov pri filtrácii vína, ktoré sú nespáliteľné (hlavne bentonit). Manzone et al. (2016) uvádza, že priemerný obsah popola z viničia bol počas 15 rokov 3,85% a priemerná vlhkosť 50%. Burg, Souček (2008) uvádzajú priemernú vlhkosť 40,70%. Fernández-Puratich et al. (2015) uvádzajú priemernú vlhkosť 53,5% a priemerný obsahu popola 4,4%.

Tab. 1: Priemerné hodnoty vlhkosti, obsahu prvkov a popola v rôznych organických odpadoch

Vzorok	Prirodzená vlhkosť (%)	Vlhkosť po vysušení (%)	Popol (%)	Zloženie prvkov (%)				
				H	C	N	O	S
Viničie	36,29±0,72^{d}	17,86±0,10^{h}	3,33±0,08^{a}	5,10	50,40	0,85	40,22	0,02
Drevo z kmeňa	21,53±1,59^{c}	7,62±0,34^{a}	2,63±0,06^{b}	5,75	50,89	0,53	39,36	0,06
Výlisky	59,53±2,86^{e}	11,76±0,33^{e}	7,11±0,04^{d}	6,07	54,01	2,84	29,73	0,15
Matolina	63,47±1,15^{f}	13,37±0,23^{g}	6,47±0,10^{c}	6,16	55,72	2,46	30,07	0,13
Semená	13,89±0,22^{b}	7,45±0,04^{a}	3,39±0,19^{a}	6,49	56,48	1,95	32,06	0,11
Pokrutiny	8,43±0,06^{a}	8,49±0,02^{d}	3,18±0,05^{a}	5,78	53,42	2,12	34,89	0,13
Strapiny	18,09±0,40^{c}	12,50±0,15^{f}	8,83±0,15^{e}	5,30	50,23	2,04	32,78	0,09
Filtračné dosky	67,61±1,91^{g}	3,54±0,09^{b}	37.06±0.24^{g}	4,14	29,08	0,49	28,96	0,01
Pelety z viničia	6,24±0,10^{a}	6,23±0,09^{c}	9.25±0.05^{f}	5,72	45,23	1,31	37,96	0,09

Štatistické analýzy (tab. 1) ukazujú, že najnižšie množstvo popola po spálení obsahujú vzorky dreva z kmeňa, pokrutiny, viničie a semená viniča. Množstvo popola sa pohybovalo v rozmedzí 2,63% pri dreve z kmeňa, Nasser et al. (2014) uvádza množstvo popola v rozmedzí 2,87 až 4,12%, pričom rozdielnosť je spôsobená odrodou a vlastnosťami stanoviska, kde je vinič pestovaný. Množstvo popola pri pokrutinách bolo na hodnote 3,18%. Ďalší autori uvádzajú podobné hodnoty, Prozil (2014) uvádza množstvo popola na hodnote 2,90% a Kallio (2019) na

hodnote 3,6%. Viničie obsahovalo 3,33% popola, pričom Jiménez et al. (2006) uvádza o niečo vyššie množstvo popola, konkrétne 4%. Pri semenách bolo namerané množstvo popola 3,39%, autor Ovcharova et al. (2016) uvádza množstvo popola v rozmedzí 2,1 – 2,8%. Dvoj až trojnásobne viac popola obsahujú vzorky z matoliny, presnejšie 6,47%. Amendola et al. (2010) uvádza takmer rovnaké množstvo, a to 6,39%. Guo et al. (2017) uvádza hodnotu popola pri teplote spaľovania 550 °C 5,6% a pri o polovicu nižšej teplote spaľovania 7,68%. Lo Curto, Tripodo (2001) uvádzajú množstvo popola na hodnote 6,39%. Popol z výliskov bol na hodnote 7,11%, pričom Sousa (2014) uvádza množstvo popola 4,65%, Vaccarino (1987) uvádza 6,4% a Miranda et al. (2011) 7,47%. Následne strapiny obsahujú 8,83% popola, Prozil et al. (2012) uvádza priemerný obsah popola zo strapín 7%. Pelety z viničia obsahujú 9,25% popola, čo je približne na rovnakej úrovni, ako dosiahli Toscano et al. (2013). Jednoznačne najväčšie množstvo popola 37,06% obsahovali filtračné dosky. S vysokým množstvom popola súvisí aj nízka výhrevnosť tohto materiálu (Yguatyara de Luna, 2019). Hlavným potenciálnym problémom hroznových výliskov a filtračných dosiek používaných pri výrobe pevných biopalív môže byť vysoká vlhkosť. Na druhej strane Benetto a kol. (2015) uvádza, že vlhkosť napomáha k lepšej konzistencií peliet a tiež zabraňuje rozpadu materiálu v procese lisovania. Miranda et al. (2012) uvádza, že so zvyšujúcim sa obsahom vlhkosti v peletách sa znižuje podiel popola. Na druhej strane pelety s vyšším obsahom vlhkosti vykazujú vyššie hodnoty uhlíka (Bala-man, Selim, 2015).

Záver

Táto práca zhrňuje výsledky pokusu, ktorý sa zaoberal vyprodukovaným množstvom nespáliteľných častí spaľovaním surovín na výrobu biopalív vznikajúcich z odpadných materiálov vo vinohradníckych a vinárskych podnikoch. Nielen zvyšky po zimnom reze viniča, ale aj iné odpadové materiály majú energetický potenciál a môžu byť významnou surovinou biopalivami. Z výsledkov testu je zrejmé, že sa jedná vo väčšine o suroviny, ktoré produkujú minimálne množstvo popola, ktorého hodnoty sú porovnateľné až nižšie oproti produkcií popola čierneho uhlia (9,7–20,2%). Výsledky ukazujú, že najnižšie hodnoty produkcie popola sa týkajú vzoriek viničia, dreva z kmeňa, semien z viniča a pokrutín, pričom ich hodnota sa pohybovala v rozmedzí 2,63–3,39%. Porovnateľnú hodnotu produkcie popola s čiernym uhlím vykazujú vzorky matolin, výliskov, strapín a peliet z viničia, ktorých množstvo popola sa pohybovalo v rozmedzí 7,11–9,25%. Najväčšie množstvo popola obsahovala vzorka filtračných dosiek, ktoré obsahovali približne dvojnásobok popola oproti čiernemu uhliu, a to presne 37,06%. Pre využitie vo väčšom meradle je potrebné nájsť optimálne technologické a technické riešenia spracovania surovín a výroby biopalív s cieľom nízkej produkcie nespáliteľných častí. Z hľadiska sušenia sú filtračné dosky s vlhkosťou 67,61% a hroznové výlisky 59,53% najproblematickejšie materiály, ktoré v praxi môžu predstavovať zvýšené náklady na sušenie. Obsah makro a mikro prvkov poukazuje na možnosť využitia popola ako hnojiva, alebo ako súčasť kompostovej základky vďaka ich vyšším koncentráciám. Takýmto spôsobom je možné čiastočne vrátiť živiny s organickou hmotou späť do pôdy.

Dedikácia

Táto práca bola podporená projektom CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002334 s názvem Výzkumná infrastruktura pro mladé vědce.

Použitá literatúra

Amendola, D. et al. 2010. Grape marc phenolics: Extraction kinetics, quality and stability of extracts. Journal of Food Engineering, 97(3): 384–392.

Baydar, N.G. et al. 2007. Characterization of grape seed and pomace oil extracts. Grasas y aceites, 58(1): 29–33.

Benetto, E. et al. 2015. Life cycle assessment of heat production from grape marc pellets. Journal of Cleaner Production, 87(1): 149–158.

Boschiero, M. et al. 2016. Life cycle assessment of bioenergy production from orchards woody residues in Northern Italy. Journal of Cleaner Production, 112(4): 2569–2580.

Boulton, R.B. et al. 2010. Principles and practices of winemaking. New York: Springer+Business Media.

Burg, P. et al. 2016. Calorific evaluation and energy potential of grape pomace. International Agrophysics, 30(2): 261–265.

Burg, P. et al. 2017. Review of energy potential of the wood biomass of orchards and vineyards in the Czech Republic. Research in Agricultural Engineering, 63(Special Issue): 1–7.

Burg, P. et al. 2017. Possibilities of using grape marc for making fuel pellets. In: Jelgava, Latvia. In 16th International Scientific Conference "Engineering for Rural Development", 1333–1338.

Burg, P., Souček, J. 2008. The classifi cation of wood chips parameters by crushing of waste cane from diff erent varieties of grapevine. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 56(2): 51–56.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2017. FAOSTAT Data: Crops., 2017. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>

Fernández-Puratich, H. et al. 2015. Analysis of energetic performance of vine biomass residues as an alternative fuel for Chilean wine industry. Renewable Energy, 83(1): 1260–1267.

Guo, P. et al. 2017. Gasification Reactivity and Physicochemical Properties of the Chars from Raw and Torrefied Wood, Grape Marc, and Macroalgae. Energy & Fuels, 31(3): 2246–2259.

Hugh, J. (2002). Der große Johnson: die Enzyklopädie der Weine, Weinbaugebiete und Weinerzeuger der Welt. 15. Aufl. München: Hallwag. (in German).

Chelladorai, P. et al. 2018. Synergistic effect of hydrogen induction with biofuel obtained from winery waste (grapeseed oil) for CI engine application. International Journal of Hydrogen Energy, 43(27): 12473–12490.

ISO 18134-3: 2015 Solid biofuels. Determination of moisture content. Oven dry method. Part 3: Moisture in the analytical sample for general analysis.

ISO 18122:2015 Solid biofuels. Determination of ash content.

ISO 16948:2015 Solid biofuels. Determination of total content of carbon, hydrogen and nitrogen.

Kallio, M. 2019. “Best practice examples” for the combustion of alternative and mixed biomass pellets. MixBioPells. 29 s.

Lo Curto, R.B., Tripodo, M.M. 2011. Yeast production from virgin grape marc. Bioresource Technology, 78(1): 5–9.

Manzone, M. et al. 2016. Biomass availability and quality produced by vineyard management during a period of 15 years. Renewable Energy, 99(1): 465–471.

Michálek, M. et al. 2013. The assessment of the suitability and effectiveness of the technologies for vineyard wood waste utilization for energetic purposes. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, 61(1): 157–162.

Miranda, M.T. et al. 2011. Characterization of grape pomace and pyreneak oak pellets. Fuel Processing Technology, 92(2): 278–283.

Miranda, T. et al. 2012. Study of the emissions and kinetic parameters during combustion of grape pomace: Dilution as an effective way to reduce pollution. Fuel Processing Technology, 103(1): 160–165.

Muhlack, R.A. et al. 2018. Sustainable wineries through waste valorisation: A review of grape marc utilisation for value-added products. Waste Management, 72(1): 99–118.

Nasser, A.R. et al. 2014. Vine prunings for energy. BioResources, 9(1): 482–496.

Ovcharova, T. et al. 2016. hemical composition of seeds of four Bulgarian grape varieties. Ciência Técnica Vitivinícola, 31(1): 31–40.

Prozil, S.O. et al. 2014. Evaluation of grape stalks as a feedstock for pellets production. Conference: 13th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp, At Seville.

Rosúa, J.M., Pasadas, M. 2012. Biomass potential in Andalusia, from grapevines, olives, fruit trees and poplar, for providing heating in homes. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 16(6): 4190–4195.

Rubio, M. et al. 2009. A review on the utilization of grape seed oil as an alternative to conventional edible vegetable oils. La rivista italiana delle sostanze grasse, 84(2): 121–129.

Schieber, A. et al. 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds- recent developments. Trends in food science and technology, 12(11): 401–415.

Sousa, C.E. 2014. Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (Vitis vinifera L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. Food Science and Technology, 34(1): 135–142.

Toscano, G. et al. 2013. Analysis of the characteristics of the residues of the wine production chain finalized to their industrial and energy recovery. Biomass and Bioenergy 55(1): 260–267.

Vaccarino, C. et al. 1987. Effect of SO_2 NaOH and Na_2CO_3 pretreatmentson the degradability and cellulase digestiblity of grape marc. Biological Wastes, 20(2): 79–88.

Yguatyara de Luna, M. et al. 2019. A thermogravimetric analysis of biomass wastes from the northeast region of Brazil as fuels for energy recovery. Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization and Environmental Effects, 41(1): 1557–1572.

Zhang, N. et al. 2017. Sustainable options for the utilization of solid residues from wine production. Waste Management, 60(1): 173–183.

Kontaktná adresa:

Ing. Vladimír Mašán, Ph.D.
Ústav zahradnické techniky, Zahradnická fakulta
Mendelova univerzita v Brně
Valtická 337
691 44 Lednice, Česká Republika
telefón: +420 519 367 370
e-mail: vladimir.masan@mendelu.cz

ANTIOXIDAČNÍ POTENCIÁL MOUK PŘIPRAVENÝCH Z VÝLISKŮ VYBRAVÉ SKUPINY OLEJNIN

Antioxidant potential of meals prepared from cakes of chosen oilseed species

Bártová V., Bárta J., Jarošová M., Kopecký J.

Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Abstrakt

Výliskové mouky čtyř druhů olejnin (len setý, konopí seté, tykev olejná, ostropestřec mariánský) byly analyzovány z hlediska obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity. Hodnoceny byly rozemleté výlisky a mouky rozdělené prosévánim do velikostních frakcí nad a pod 250 µm. Nejnižší úroveň obsahu polyfenolů i hodnoty antioxidační aktivity byla stanovena ve výliscích tykve olejné, kde také nebyl zjištěn průkazný rozdíl v uvedených charakteristikách v rámci přípravy mouk. U ostatních hodnocených druhů měla velikostní frakce mouky nad 250 µm nejvyšší hodnotu obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity. Nejvyšší obsah polyfenolových látek a antioxidační aktivita byla stanovena u všech třech variant přípravy mouky z výlisků ostropestřce mariánského. Velmi vysoké hodnoty obsahu polyfenolů a antioxidační aktivity byly u tohoto druhu zaznamenány zejména u frakce nad 250 µm - obsah polyfenolových látek byl na úrovni 42,18 mg ekvivalent gallové kyseliny/g sušiny a hodnota antioxidační aktivity (ABTS analýza) byla 111 mg ekvivalent askorbové kyseliny/ g sušiny.
Klíčová slova: antioxidační aktivita, polyfenolové látky, len setý, konopí seté, tykev olejná, ostropestřec mariánský

Abstract

Meal samples prepared from cakes of four oilseed species (flax, hemp, oil pumpkin, milk thistle) were analysed for polyphenol contents and antioxidant activities. We evaluated pulverized cakes and meals prepared by sieving into two size fraction – below and under 250 µm. The lowest values of polyphenolic matters and antioxidant activity was evaluated for cakes of oil pumpkin. No significant variability was found for different methods of meals preparation in polyphenolic matters content and antioxidant activity. The meal size fraction under 250 µm contained the highest value of polyphenolic matters and showed the highest antioxidant activity in the case of other evaluated species. The highest content of polyphenolic matters and the highest antioxidant activity were evaluated for milk thistle in the case of all three variants of meal preparation. Very high values were showed for this species in the case of meal variant under 250 µm – content of polyphenolic matters was 42.18 mg GAE/g dry matter and antioxidant activity (ABTS) was 111 mg AAE/ g dry matter.
Key words: antioxidant aktivity, polyfenolic compounds, flax, hemp, oil pumpkin, milk thistle

Úvod

Volné radikály mají v živém organismu řadu fyziologických funkcí (např. účast na protizánětlivých reakcích v procesu fagocytózy), ale zároveň se tyto reaktivní látky podílejí na poškození struktur lipidů, bílkovin či nukleových kyselin. Nejčastějším typem radikálů jsou kyslíkové radikály (ROS – reactive oxygen species) a dusíkové radikály (RNS – reactive nitrogen species). Působením na biologicky aktivní látky tyto radikály pozměňují jejich strukturu a tím modifikují jejich funkce. Kaskáda reakcí, na jejich počátku stojí radikály, pak vede ke změně struktur buněk, poškození tkání a funkcí organismu na různé fyziologické a metabolické úrovni (Paulová et al., 2004; Wilson et al., 2017). Přítomnost látek s antioxidační

aktivitou omezuje působení exogenních a endogenních radikálů. Do centra pozornosti se v poslední době dostávají zejména antioxidanty, které se v potravě přirozeně vyskytují. K takovýmto látkám se řadí zejména vitamin E (směs α, β, γ, δ tokoferolů), vitamin C (L-askorbová kyselina), karotenoidy (např. β- a α- karoten, lykopen, lutein, zeaxanthin), flavanoidy a isoflavanoidy, fenolové kyseliny, taniny, lignany, peptidy, aminokyseliny (Shahidi, 1997; Paulová et al., 2004; Wilson et al., 2017).
Výlisky zůstávající po izolaci olejů lisováním a představují z tohoto hlediska zajímavý zdroj biologicky aktivních látek, a to včetně přirozených antioxidantů (Matthäus, 2002). Dostupná jsou data týkající se antioxidační aktivity zbytků po lisování olejů majoritních olejnin, jakými jsou řepka olejka či slunečnice roční. (Thyam et al., 2004; Nagatsu et al., 2004; Kreps et al., 2014). Výlisky minoritních plodin patří k méně prostudovaným, zároveň přítomnost látek s antioxidačním potenciálem je významná i z hlediska stability mouk připravovaných z těchto výlisků (týká se především lnu a konopí). V případě lnu lze za klíčové látky s antioxidační aktivitou považovat především polyfenolové sloučenin (v rozsahu 790-103 mg/100g) zahrnující chlorogenovou, ferulovou, kumarovou, galovou, kávovou kyselinu a další. Mezi lněné fenoly s antioxidační aktivitou se řadí i lignany, flavonoidy, fenylpropanoidní glykosidy a taniny (Kasote, 2013; Bekhit et al., 2018). Antioxidační aktivita je připisována i lněným bílkovinám a jejich hydrolyzátům (Silava et al., 2013), obdobně jako v případě hydrolýzy konopných bílkovin (Girgih et al., 2013). Z ostatních antioxidantů byly ve výliscích konopí setého popsány polyfenolové látky, a to zejména kávová kyselina, kvercetin a luteolin, z nichž nejvyšší koncentrace a antioxidační aktivita byla zjištěna u kvercetinu (Teh et al., 2014). K dalším látkám přítomným v semeni konopí s antioxidační aktivitou patří α-, γ-, and δ-tokoferoly, a flavanoidy (zejména isoflavony, flavonoly, flavony) (Teh et al., 2014).
Příspěvek se zabývá hodnocením obsahu polyfenolových látek a hodnotou antioxidační aktivity u výlisků získaných během lisování lnu setého, konopí setého, tykve olejné a ostropestřce mariánského.

Materiál a Metody

Analyzovány byly výlisky následujících druhů olejnin: len setý (*Linum usitatissimum*), konopí seté (*Cannabis sativa*), tykev olejná (*Cucurbita pepo* var. *oleifera*) a ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*). Vakuově zabalené výlisky byly získány od firmy AGRO-EL spol. s r.o.. Výlisky byly následně namlety pomocí nožového mlýnu Grindomix GM 200 (Retsch, Německo) při výkonu 10 000 ot/min. po dobu 1 minuty. Část takto získaných mouk byla ponechána jako výlisková mouka a část byla mechanicky rozdělena prosévání na sítech s velikostí ok 250 µm, čímž byly získány frakce o velikost nad a pod 250 µm. Extrakce výlisků pro stanovení celkového obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity byla realizována pomocí 80% etanolu po dobu 24 hodin při pokojové teplotě. Antioxidační aktivita byla stanovena pomocí dvou metod, z nichž jedna využívá radikál ABTS, druhá pak radikál DPPH. **ABTS analýza:** 54,8 mg ABTS a 1 g MnO_2 bylo rozpuštěno ve 20 ml dH_2O; získaný roztok byl přefiltrován a pomocí 5 mM Na-fosfátového pufru (pH 7,4) byla absorbance roztoku upravena na hodnotu 0,800. Absorbance vzorků byla hodnocena při vlnové délce 734 nm. **DPPH analýza:** 25 mg DPPH bylo rozpuštěno ve 100 ml metanolu a byl vytvořen zásobní roztok. Pracovní roztok DPPH byl vytvořen odebráním 10 ml zásobního roztoku a doplněním metanolem do 100 ml. Absorbance vzorků byla měřena při 515 nm. U obou typů stanovení antioxidační aktivity byla standardem kyselina askorbová a hodnota antioxidační kapacity je vyjádřena jako mg ekvivalent kyseliny askorbové (AAE)/ g sušiny vzorku. **Obsah celkových polyfenolů** byl stanoven spektrofotometricky s využitím Folin-Ciocalteauova činidla. Jako standard byla použita gallová kyselina a výsledky byly vyjádřeny jako mg ekvivalentů gallové kyseliny (GAE) na 1 g sušiny mouky. Metodika stanovení antioxidační aktivity a obsahu celkových polyfenolů byla převzata z práce Lachman a kol. (2006). **Zpracování dat** – všechny

způsoby přípravy mouk a analýz byly provedeny ve třech opakování. Získaná data byla zpracována statistickým programem STATISTICA 12. Dvoufaktorová analýza rozptylu (ANOVA, Tukey HSD test, $p \leq 0,05$) byla použita ke stanovení průkaznosti hodnocených variant pokusu. K hodnocení vzájemného vztahu hodnocených ukazatelů byla použita regresní analýza.

Výsledky a diskuze

Tabulky 1-3 shrnují druhovou variabilitu obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity v rámci odlišných velikostních frakcí mouk připravených z výlisků vznikajících během lisování olejů. Rozemleté výlisky bez další úpravy prosévánim obsahovaly 1,53 (tykev) až 31,4 (ostropestřec) mg GAE/ g sušiny polyfenolů. Ekvivalentně byl zjištěn i rozsah ABTS antioxidační aktivity v rozsahu od 4,72 (len) do 94,18 (ostropestřec) mg AAE/ g sušiny. Data ukazují na významnou druhovou variabilitu obsahu polyfenolových látek i antioxidační aktivity, což dokládají i dříve publikovaná data (Teh et al., 2014; Bekhit et al., 2018). Výlisky získané při lisování semen ostropestře mariánského vykázaly nejvyšší hodnotu obsahu polyfenolových látek a s tím související hodnotu antioxidační aktivity v rámci hodnocené varianty přípravy mouk. Tuto vysokou biologickou aktivitu ostropestřce lze připisovat zejména obsahu flavonoidních látek, jejichž obsah může představat až 40 µg/g sušiny (Serçe et al., 2016). Statisticky průkazné rozdíly v obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivitě byly zjištěny i v rámci odlišné úpravy mouk, jak dokládají data uvedená v tabulkách 2 a 3. Prosévánim byly odděleny dvě velikostní frakce mouk – frakce nad 250 µm a pod 250 µm. U velikostní frakce mouky lnu a konopí nad 250 µm dochází k statisticky průkaznému navýšení obsahu polyfenolových látek a tedy i antioxidační aktivity. Velmi výrazné toto navýšení bylo zejména u mouky získané při lisování semen ostropestřce mariánského. U této velikostní frakce došlo k výraznému navýšení obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity také u mouky připravené ze semen lnu setého a konopí setého, i když tyto rozdíly nebyly tak výrazné, jako v případě mouk připravených ze semen ostropestřce. Mouky připravené z tykve olejné vykázaly vlivem velikostní frakcionace mírné navýšení antioxidační aktivity (4,72 vs. 5,66 a 6,74 mg AAE/ g sušiny u výliskové mouky vs.velikostní frakce nad a pod 250 µm). Zjištěné rozdíly však nebyly statistické průkazné a lze konstatovat, že úprava mouky dýně olejné neovlivňuje hodnotu antioxidační aktivity a tato mouka je z hlediska obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity nejslabší. Při srovnání velikostní frakce mouky pod a nad 250 µm je z pohledu obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity vhodnější velikostní frakce nad 250 µm, a to v případě mouk připravených ze semen lnu setého, konopí setého a ostropestřce mariánského. Výrazně vyšší antioxidační aktivita byla zaznamenána při hodnocení tohoto ukazatele s radikálem ABTS. Obecně metoda využívající tento radikál je citlivější a dle dostupných dat vykazuje silnou pozitivní korelaci s absorbancí kyslíkového radikálu, obsahem polyfenolových látek a flavanoidů (Floegel et al., 2011). Obdobně byla zjištěna korelace mezi obsahem polyfenolových látek a antioxidační aktivitou u sledovaných vzorků výlisků olejnin, a to na úrovni všech typů přípravy mouky – nejsilnější byl tento vztah ($r=0,9989$; $p \leq 0,000$) u velikostní frakce nad 250 µm.

Tab. 1: Druhová variabilita obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity u mouky získané z výlisků studovaných olejnin

Druh	Obsah polyfenolů (mg GAE/ g sušiny)	Antioxidační aktivita (mg AAE/g sušiny)	
		ABTS	DPPH
Len setý	$6,73^{b}$	$14,71^{bc}$	$2,58^{cd}$
Konopí seté	$2,94^{a}$	$8,39^{ab}$	$1,79^{abc}$
Tykev olejná	$1,53^{a}$	$4,72^{a}$	$0,97^{a}$
Ostropestřec mariánský	$31,4^{c}$	$94,18^{d}$	$11,73^{e}$

Pozn.: odlišné indexy indikují statisticky průkazné rozdíly na hladině významnosti $P \leq 0,05$

Tab. 2: Druhová variabilita obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity u frakce mouky nad 250 µm získané z výlisků studovaných olejnin

Druh	Obsah polyfenolů (mg GAE/ g sušiny)	Antioxidační aktivita (mg AAE/g sušiny)	
		ABTS	DPPH
Len setý	8,14[c]	19,01[c]	2,80c
Konopí seté	3,23[b]	10,20[b]	2,12[bc]
Tykev olejná	1,48[a]	5,66[a]	0,95[a]
Ostropestřec mariánský	42,18[d]	111,09[d]	11,74[d]

Pozn.: odlišné indexy indikují statisticky průkazné rozdíly na hladině významnosti P≤0,05

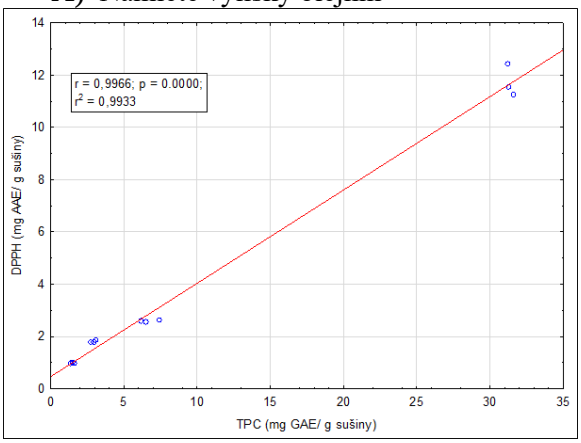
Tab. 3: Druhová variabilita obsahu celkových polyfenolů a antioxidační aktivity u frakce mouky pod 250 µm získané z výlisků studovaných olejnin

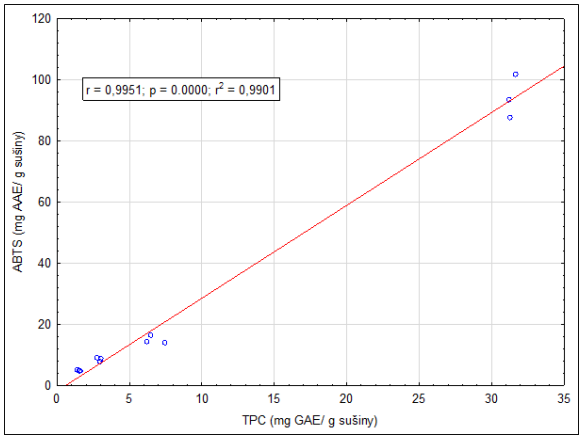
Druh	Obsah polyfenolů (mg GAE/ g sušiny)	Antioxidační aktivita (mg AAE/g sušiny)	
		ABTS	DPPH
Len setý	3,94[b]	8,89[ab]	2,02[bcd]
Konopí seté	2,83[a]	9,09[ab]	1,35[ab]
Tykev olejná	1,60[a]	6,74[a]	0,95[a]
Ostropestřec mariánský	18,24[c]	60,71[c]	9,94[e]

Pozn.: odlišné indexy indikují statisticky průkazné rozdíly na hladině významnosti P≤0,05

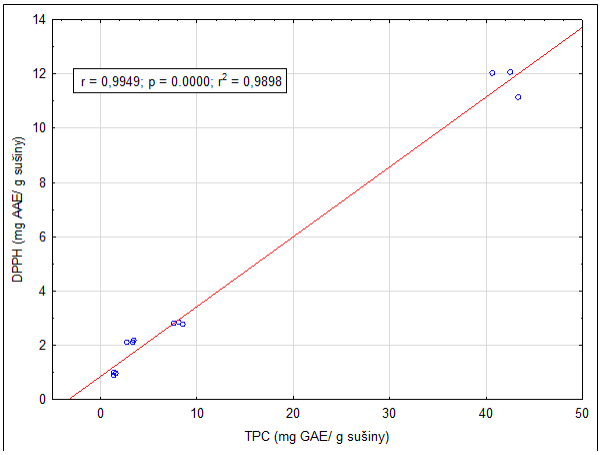
Obrázek 1: Korelační vztahy mezi antioxidační aktivitou a obsahem celkových polyfenolů dle stupně úpravy mouky

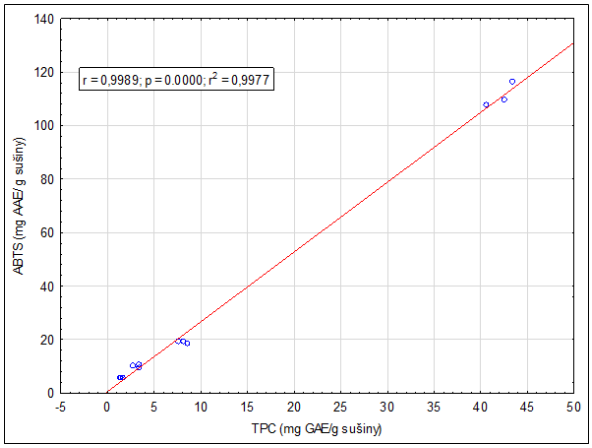
A) Namleté výlisky olejnin



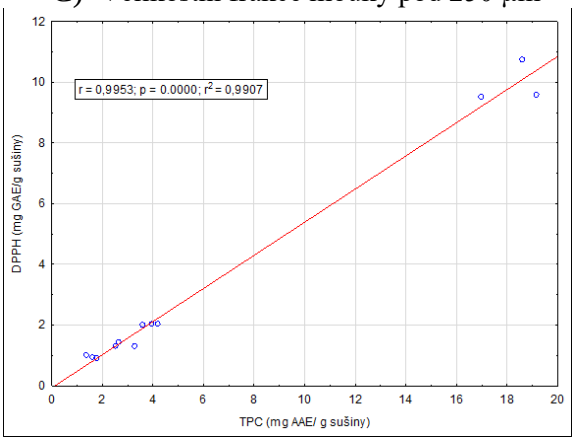


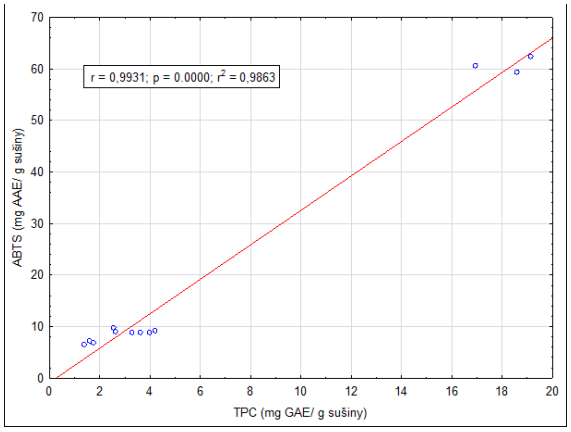
B) Velikostní frakce mouky nad 250 µm





C) Velikostní frakce mouky pod 250 µm





Závěr

V rámci hodnoceného souboru materiálů byla zjištěna výrazná odlišnost obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity v rámci hodnocených druhů i v rámci různých typů velikostních frakcí mouk připravených z výlisků olejnin. Nejnižší obsah polyfenolových látek byl zjištěn u výlisků připravených z tykev lejné, a to od 1,48 (mouka nad 25 µm) do 1,60 (frakce pod 250µm) mg GAE/ g sušiny. U tykve olejné nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity dle jednotlivých variant přípravy mouky. Mouka ostropestřce mariánského dosahovala nejvyšší hodnoty obsahu polyfenolových látek a antioxidační aktivity. Obě sledované hodnoty byly výrazně ovlivněny prosévání mouky. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u frakce nad 250 µm, která obsahovala 42,18 mg GAE/ g sušiny polyfenolových látek a dosáhla antioxidační aktivity 111,09 mg AAE/g sušiny (ABTS analýza). Antioxidační aktivita (ABTS metoda) výlisků lnu se pohybovala od 8,89 (frakce pod 250 µm) do 19,01 (frakce nad 250 µm) mg AAE/ g sušiny. V případě výlisků konopí setého byl rozsah antioxidační aktivity od 8,39 (mleté výlisky) do 10,20 (frakce nad 250 µm). Z uvedených dat vyplývá význam úpravy mouky olejnin na zvýšení jejich antioxidačního potenciálu a stability.

Dedikace

Práce vznikla v rámci řešení projektu NAZV QK 1910302 a GAJU 027/2019/Z.

Použitá literatura

Bekhit A.E-D.A., Shavandi A., Jodjaja T., Birch J., Teh S., Ahmed I.A.M., Al-Juhaimi F., Saeedi P., Bekhit A.A. (2018): Flaxseed: composition, detoxification, utilization, and opportunities. *Biocat Agric Biotechnol* 13: 129-152.

Girgih A.T, Udenigwe C.C., Aluko R.A. (2011): In vitro antioxidant properties of hemp Seed (*Cannabis sativa* L.) protein hydrolysate fractions. *J Am Oil Chem Soc* 88:381–389

Kasote D.M. (2013): Flaxseed phenolics as natural antioxidants. *IFRJ* 20: 27-34.

Kreps F., Vrbiková L., Schmidt S. (2014): Industrial rapeseed and sunflower meal as source of antioxidants. IJERA 4: 45-54.

Matthäus B. (2002): Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. J Agri Food Chem 50: 3444-52.

Nagatsu A., Sugitani T., Mori Y., Okuyama H., Sakakibara J., Mizukami H. (2004): Antioxidants from rape (*Brassica campestris* var. Japonica Hara) oil cake. Nat Prod Res 18:231-9.

Paulová H., Bochořáková H., Táborská E. (2004): Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro, Chem. Listy 98, 174 – 179.

Silva F.G.D., O´Callagahan Y., O´Brien N.M. (2013): Antioxidant capacity of flaxseed products: the effect of in vitro digestion. Plant Foods Hum Nutr 68: 24-30.

Thiyam U., Kuhlmann A., Stöckmann H., Schwarz K. (2004): Prospects of rapeseed oil by-products with antioxidative potential, Comptes Rendus Chimie 7:611-616.

Teh S-S., Bekhit A. E-D., Birch J. (2014): Antioxidative polyphenols from defatted oilseed cakes: effect of solvents. Antioxidants (Basel) 3(1): 67–80.

Serçe A., Toptanci B.Ç., Tanrikut S., E., Altaş S., Kizil G., Kizil S., Kizil M. (2016): Assesment of the antioxidant activity of Sylybum marianum seed extract and its protective effect against DNA oxidation, protein demage and lipid peroxidation, Food Technol Biotechnol 54: 455-461.

Wilson D.W., Nash P., Buttar H.S., Griffiths K., Singh R., De Meester F., Horiuchi R., Takahashi T. (2017): The role of food antioxidants, benefits of functional foods, and influence of feeding habits on the health of the older person: an overview. Antioxidants (Basel) 6(4): 81.

Kontaktní adresa:

doc. Ing. Veronika Bártová, Ph.D.,
Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Na Sádkách 1780,
37005 České Budějovice,
e-mail: vbartova@zf.jcu.cz.

KVALITA ZRNA PŠENICE ŠPALDY OD ČESKÝCH PĚSTITELŮ

Spelt wheat grain quality from Czech producers

Dvořáček V., Kučerová Z.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha – Ruzyně

Abstrakt

Ve spolupráci s firmou ProBio bylo od jejich smluvních ekologických pěstitelů pšenice špaldy vybráno z letošní sklizně 12 vzorků reprezentujících celkem 5 odlišných odrůd – Rubiota (CZ), Titan (CH), Tauro (CH), Samir (CH) a Copper (CH). Byl sledován obsah N-látek, škrobu, mokrého lepku, hodnoty gluten indexu a Zelenyho sedimentace. Dále byla provedena reologická analýza pomocí systému Mixolab I. Výsledky potvrdily u špaldy běžný obsah bílkovin a především vysoce tažný lepek. Nejvyšší obsahy bílkovin byly zjištěny u české odrůdy Rubiota a švýcarské odrůdy Cooper, u níž byla i nejvyšší hodnota Zelenyho sedimentace (43 ml). Současně odrůda Copper prokazovala výrazně vyšší reologickou stabilitu těsta. Vhodná technologická kategorizace odrůd pšenice špaldy by měla být pro zpracovatele zásadním vodítkem pro zamýšlenou formu jejich koncového zpracování.

Klíčová slova: pšenice špalda, technologická jakost, reologie, Mixolab

Abstract

In cooperation with the company ProBio and its contracting spelt wheat producers, 12 samples were selected which represented 5 different spelt wheat cultivars - Rubiota (CZ), Titan (CH), Tauro (CH), Samir (CH) and Copper (CH). The following parameters were evaluated: content of crude protein, starch, wet gluten, values of gluten index and Zeleny sedimentation. The rheological analyses were further carried out using the system Mixolab I. Results confirmed standard crude protein content and highly tensible gluten. The highest protein contents were detected in the Czech cultivar Rubiota and the Swiss cultivar Copper, which also showed the highest Zeleny sedimentation (43 ml). Simultaneously, cultivar Copper confirmed markedly higher rheological stability of dough. A suitable technological categorization of spelt wheat cultivars should be an essential clue for producers for suggested form of their final processing.

Key words: spelt wheat, technological quality, rheology, Mixolab

Úvod

Pšenice špalda obdobně jako pšenice setá patří mezi hexaploidní druhy pšenic a v současnosti je taxonomicky považována za poddruh pšenice seté (*Triticum aestivum* subsp. *spelta* (L.) Thell.), s kterou je rovněž volně křížitelná. Tato vlastnost se již historicky využívala pro zlepšení agrotechnických vlastností špaldy, především k vyšší odolnosti k poléhání, vyšším výnosům a snadnějším uvolňování obilek z pluch (Grausgruber 2017).

Od středověku až do přibližně poloviny 19. století byla špalda dominantním pšeničným druhem v oblastech dnešního Rakouska, Švýcarska a jižního Německa. Poté byla postupně vytlačena i z těchto oblastí výnosnější a lépe zpracovatelnou pšenicí setou. Většina pěstebních ploch je jak u nás, tak v zahraničí v ekologickém režimu hospodaření. Největší plochy jsou v Německu (cca 80-100 tis. ha – pouze odhad), v Rakousku (12,5 tis. ha v roce 2018) a ve Švýcarsku (5,5 tis ha v roce 2018), (Packa et al 2019).

Jak bylo výše zmíněno, jedná se o tzv. pluchatý druh pšenice, kdy lze nahé zrno získat až po sklizni následným loupáním na speciálních loupacích strojích. Odrůdovou kvalitu zrna pšenice špaldy lze v současnosti vnímat ze dvou hledisek. Jednak z pohledu tzv. technologické kvality zrna zahrnující vlastnosti vhodné k pekárenskému využití a dále z pohledu nutričního složení

zrna, kde jsou pozitivně hodnoceny významně vyšší obsahy minerálních látek ve srovnání s pšenicí setou (Bojňanská a Frančáková 2002).
Z technologických vlastností jsou především oceňovány vysoké obsahy bílkovin a mokrého lepku, rovněž i specifická senzorika špaldových produktů vyznačující se příjemnou oříškovou příchutí. Naopak většina odrůd pšenice špaldy ve srovnání s kvalitními pekařskými odrůdami pšenice seté, trpí vysokou tažností či dokonce nesoudržností lepku a nízkou sedimentační hodnotou. Vysoký obsah bílkovin potažmo lepku u řady odrůd pšenice špaldy může vést na jedné straně i k dosahování standardního objemu pečiva, na druhé straně vykazují bochníky tvarovou nestabilitu a hrubší nesouměrnou pórovitost (Filipčev et al 2013). Nicméně tato skutečnost je sledována ve velkovýrobních procesech, naopak v malovýrobě či domácím zpracování nehraje u konzumentů významnou roli.
Řada studií potvrzuje významnou odrůdovou specifičnost z hlediska finální technologické kvality produkce. Je tedy zřejmé, že ne všechny odrůdy jsou zcela vhodné např. pro produkci kynutého pečiva (Sobczyk et al. 2017). Bohužel doposud neexistují žádná oficiální doporučení deklarující minimální technologickou kvalitu či informace o vhodnosti jednotlivých odrůd špaldy pro specifické finální zpracování. Odrůdová nabídka špaldy neustále roste a oceňování výkupních parametrů kvality zrna je pouze v kompetenci výkupních organizací a zpracovatelů. Lze předpokládat, že zpracovatelé v mlýnech i finální zákazníci se mohou potýkat s výraznější variabilitou kvality vstupní suroviny resp. zpracované mouky.
Jaká byla vstupní variabilita kvality zrna špaldy z letošní sklizně a s čím se budou muset zpracovatelé zrna letos potýkat, naznačuje náš monitoring technologické kvality zrna u vzorků vybraných partií pšenice špaldy určené pro zpracování v mlýnu firmy ProBio, s. r. o..

Materiál a metody

Z letošní sklizně bylo od firmy ProBio, s.r.o. získáno 12 nezávislých partií zrna pšenice špaldy určené k mlýnskému zpracování. Soubor zahrnoval celkem 5 odlišných odrůd české (Rubiota) a švýcarské provenience (Titan, Tauro, Samir a Copper). Jako kontrolní odrůda pro návaznou reologickou analýzu byla zvolena elitní odrůda pšenice seté Akteur z kolekce genetických zdrojů Genové banky Praha. U vzorků špaldy byly sledovány následující významné nepřímé pekařské ukazatele: obsah hrubých bílkovin (NL) dle Kjeldahla ČSN EN ISO 5983 – 1, hodnota Zelenyho sedimentace (ZS) dle ČSN ISO 5529, obsah škrobu (ŠK) dle ČSN EN ISO 10520, obsah mokrého lepku (ML) a gluten index (GI) dle ICC No. 155.

Současně byla u testovaných vzorků špaldy provedena reologická analýza s využitím systému Mixolab I (f. Chopen, Francie) dle ICC No. 173. Byly hodnoceny následující reologické parametry: vaznost mouky, maximální nárůst konsistence těsta - bod C1, změknutí proteinu - bod C2, max. viskozita škrobového gelu - C3 (tzv. bod gelovatění), stabilita škrobového gelu - bod C4 a bod C5 – retrogradace.
Základní statistické charakteristiky byly provedeny pomocí softwaru Statistica 9.0 CZ.

Výsledky a diskuze

Dosažené hodnoty sledovaných technologických parametrů u vybraných vzorků odrůd pšenice špaldy včetně jejich celkové variability jsou zaznamenány v tabulce č. 1. Nejvyšší variabilitu ze všech sledovaných parametrů zaznamenala hodnota gluten index (79,4 %). Výraznou variabilitu zaznamenal ovšem i parametr Zelenyho sedimentační index (35 ml) či obsah mokrého lepku (22,9 %). Tyto parametry jsou často ve významné vazbě na odrůdu. Současně se však režim ekologického zemědělství vyznačuje vyšším rizikem výskytu biotických stresů či snadnějšího deficitu půdních živin a ve srovnání s konvenčním hospodařením, které přispívá ke zvyšování variability např. fyzikálních parametrů (HTZ, objemová hmotnost) či ovlivňuje vlastnosti lepku (Rakszegi et al. 2016).

Vzájemné odrůdové srovnání sledovaných parametrů prokázalo řadu statisticky signifikantních rozdílů. Původem česká odrůda pšenice špaldy Rubiota společně se švýcarskou odrůdou Copper potvrdily v průměru nejvyšší obsahy bílkovin. Zatímco vzorky české odrůdy Rubiota vykazovaly rovněž nejvyšší obsah mokrého lepku, a to přes 40 %, tak švýcarská odrůda Copper byla zcela dominantní v hodnotě Zelenyho sedimentace (43 ml). Jako jediná by v tomto parametru splňovala kritéria pro potravinářskou pšenici (min. 30 ml) viz. ČSN 461100–2.
Vedle technologicky problematického parametru, kterým je Zelenyho sedimentační index je u pšenice špaldy především zmiňována vysoká tažnost lepku (Sobczyk et al. 2017). Tuto skutečnost potvrdily i výsledky z naší analýzy, v nichž hodnoty GI byly velmi nízké a kolísaly v rozsahu 3,6 – 24,4. Jako extrémně tažný lepek lze označit lepek odrůd Samir, Tauro i Titan, z nichž první dvě odrůdy vykazovaly rovněž pro špaldu poměrně nízký obsah hrubých bílkovin (11,3 – 12,6 %). Takto extrémně nízké hodnoty GI negativně ovlivňují objemovou výtěžnost i tvarovou stabilitu pekařského výrobku (Gil et al. 2011). Bez významného přidání zlepšujících látek by tak tyto odrůdy nebyly pro klasickou pekařskou velkovýrobu kynutých produktů vhodné.

Tab. 1: Technologické vlastnosti u jednotlivých vzorků pšenice špaldy v roce 2019 z f. ProBio

Pořadí	Vzorek	NL (%)	ŠK (%)	GI	ML (%)	ZS (ml)
1	Rubiota (CZ)	$14{,}3^{b}$	$64{,}6^{cd}$	$10{,}2^{abc}$	$40{,}2^{a}$	25^{b}
2	Rubiota (CZ)	$14{,}0^{bc}$	$64{,}8^{cde}$	$14{,}9^{c}$	$40{,}1^{a}$	25^{b}
3	Samir (CH)	$12{,}0^{a}$	$66{,}8^{ab}$	$3{,}8^{a}$	$22{,}5^{e}$	17^{cd}
4	Samir (CH)	$11{,}3^{a}$	$67{,}6^{b}$	$3{,}6^{a}$	$20{,}9^{d}$	15^{a}
5	Tauro (CH)	$12{,}5^{ac}$	$66{,}8^{ab}$	$4{,}4^{ab}$	$28{,}7^{b}$	17^{ac}
6	Samir (DE)	$12{,}2^{a}$	$67{,}0^{ab}$	$3{,}2^{a}$	$25{,}2^{f}$	19^{d}
7	Tauro (CH)	$12{,}0^{a}$	$66{,}5^{abf}$	$4{,}2^{ab}$	$28{,}6^{b}$	16^{ac}
8	Tauro (CH)	$12{,}6^{ac}$	$66{,}3a^{bef}$	$3{,}6^{a}$	$27{,}5^{b}$	15^{a}
9	Rubiota (CZ)	$15{,}5^{b}$	$63{,}7^{c}$	$8{,}8^{abc}$	$41{,}0^{a}$	26^{b}
10	Rubiota (CZ)	$15{,}4^{b}$	$64{,}3^{cd}$	$11{,}9^{bc}$	$41{,}2^{a}$	26^{b}
11	Titan (CH)	$14{,}5^{b}$	$64{,}9^{cdef}$	$4{,}7^{cdef}$	$35{,}0^{c}$	22^{e}
12	Copper (CH)	$14{,}3^{b}$	$65{,}5^{adef}$	$24{,}4^{d}$	$35{,}5^{c}$	43^{f}
Var. koef. (%)		10,8	1,9	79,4	22,9	35,0

Hodnoty s rozdílnými písmennými indexy jsou statisticky signifikantní pro $p \leq 0{,}05$Vysoká tažnost lepku u většiny vzorků pšenice špaldy se logicky odrazila i v reologickém hodnocení v proteinové části křivky vymezené body C1 a C2 (viz Tab. 2 a Obr. 1).

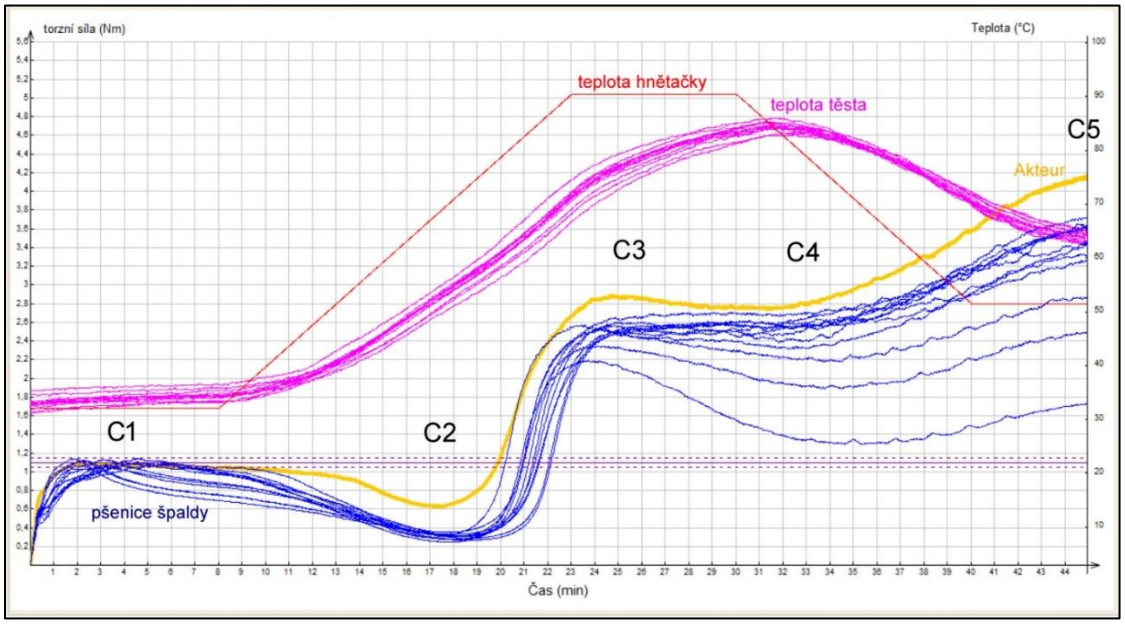
Tab. 2: Reologické ukazatele testovaných vzorků pšenice špaldy

Vzorek	C1 (min)	ST (min)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)	C3-C2 (Nm)	C3-C4 (Nm)	Vaznost (%)
1 - Rubiota (CZ)	4,55	5,45	0,31	2,57	2,52	3,64	2,26	0,05	63,7
2 - Rubiota (CZ)	4,17	6,65	0,27	2,53	2,45	3,64	2,26	0,08	63,9
3 - Samir (CH)	2,15	2,57	0,33	2,60	2,55	3,58	2,27	0,05	60,1
4 - Samir (CH)	1,88	1,92	0,31	2,47	2,17	2,86	2,16	0,30	60,0
5 - Tauro (CH)	3,18	3,30	0,27	1,94	2,56	3,28	1,67	-0,62	60,3
6 - Samir (DE)	2,27	2,40	0,32	2,53	2,46	3,46	2,21	0,07	59,8
7 - Tauro (CH)	3,03	5,53	0,29	2,61	2,57	3,32	2,32	0,04	60,3
8 - Tauro (CH)	3,10	4,03	0,28	2,71	2,66	3,74	2,43	0,05	58,5
9 - Rubiota (CZ)	5,03	7,20	0,31	2,54	2,31	3,43	2,23	0,23	64,1
10 - Rubiota (CZ)	5,32	6,10	0,32	2,57	2,48	3,63	2,25	0,09	63,4
11 - Titan (CH)	4,53	7,58	0,25	2,19	1,30	1,74	1,94	0,89	61,8
12- 12 - Copper (CH)	4,52	8,67	0,35	2,35	1,89	2,50	2,00	0,46	62,1
Var. koef. (%)	32,6	43,8	9,7	8,6	16,6	18,3	9,4	246,1	3,1

To naznačuje především nižší doba stability těsta a hodnota C2 (tzv. bod změknutí proteinu). Pouze odrůda pšenice špaldy Copper vykazovala přijatelnější vývoj a zpracovatelnost těsta charakterizovaný především delší dobou stability těsta (8,7 min). Přesto i v tomto případě hodnota C2 byla nízká, což naznačuje problém s rychlou ztrátou pevnosti lepku při počátečním zahřívání těsta. Markantní je to při vzájemném srovnání s průběhem reologické křivky pekařsky elitní odrůdy pšenice seté Akteur (Obr. 1). Všechny špaldy včetně odrůdy Copper zaostávaly výrazně ve stabilitě těsta a hodnotě C2. Obdobné reologické vlastnosti špaldového proteinu potvrdila i nedávná reologická analýza s využitím Mixolabu II v práci Lacko-Bartošová et al. (2019).

V amylografické části křivky prezentované body C3 – C5, byla zjištěna vůbec nejvyšší variabilita v dynamice rozdílu mezi body C3 a C4 (celých 246,1 %) související s kolísáním amylázové aktivity. Hodnoty C3 (maximální viskozita těsta) byly u všech vzorků v očekávané výši a nenaznačovaly jakýkoli závažný problém s poškozením škrobové matrice. Naopak nízký či dokonce žádný pokles rezistence těsta v bodě C4 (stabilita škrobového gelu) naznačoval s výjimkou odrůdy Copper a odrůdy Samir velmi nízkou amylázovou aktivitu. Vysokou korelaci těchto parametrů (C3 – C4) prokázala již řada studií např. Banu et al. (2011) či Koksel et al. (2009). Nízká aktivita α-amylázy je v suchých letech běžně patrná i u mnoha pekařsky elitních pšenic setých a je zde patrná i u prezentované odrůdy Akteur. Následný nárůst rezistence těsta po zchlazování hnětače (bod C5) potvrdil u řady špald s výjimkou odrůd Copper a Titan podobně jako u elitní odrůdy Akteur vysokou retrogradaci škrobu naznačující náchylnost k rychlejšímu tvrdnutí pečiva.

Obr. 1: Průběh reologických záznamů vzorků pšenice špaldy ve srovnání s pekařsky elitní odrůdou pšenice seté Akteur



Závěr

Monitoring kvality zrna pšenice špaldy potvrdil typické vlastnosti tohoto pšeničného druhu spočívající ve vyšším obsahu bílkovin a především vysoké tažnosti mokrého lepku. Současně byly v rámci testovaného souboru identifikovány v nepřímých technologických i reologických vlastnostech významné individuální rozdíly. Ty pravděpodobně souvisely nejen se specifickými produkčními podmínkami daného vzorku, ale také s odrůdovou příslušností. Je zřejmé, že podobně jako u pšenice seté lze v sortimentu odrůd pšenice špaldy definovat odrůdy s více a méně přijatelnou technologickou jakostí např. pro kynuté produkty. Určitá technologická kategorizace odrůd pšenice špaldy by tak mohla být pro pěstitele i pro zpracovatele vhodným vodítkem při nákupu tohoto pšeničného druhu pro zamýšlenou formu koncového zpracování.

Dedikace

Výsledky byly při řešení projektu MZe ČR č. RO0418. Současně velice děkujeme Ing. Martinu Hutařovi (řediteli f. ProBio) za poskytnutí testovaných vzorků pšenice špaldy.

Použitá literatura

Banu I., Stoenescu G., Ionescu V., Aprodu I. (2011): Estimation of the baking quality of wheat flours based on rheological parameters of the mixolab curve. Czech J. Food Sci., 29(1), 35-44.

Bojňanská T., Frančáková H. (2002): The use of spelt wheat (Triticum spelta L.) for baking applications. Rostl. Výr. 48, 41-147.

Filipčev B., Šimurina O., Bodroža-Solarov M., Obreht D. (2013): Comparison of the bread-making performance of spelt varieties grown under organic conditions in the environment of northern Serbia and their responses to dough strengthening improvers. Hem. Ind. 67 (3) 443–453.

Gil, D. H., Bonfil, D. J., Svoray, T. (2011): Multi scale analysis of the factors influencing wheat quality as determined by Gluten Index. Field Crops Research, 123(1), 1-9.

Grausgruber H (2018): ‘Sorting the wheat from the chaff’ - Comments on the spelt [:wheat] discussion. In: Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleu-te Österreichs (Ed), 68. Jahrestagung 2017, 20-22 November, Raumberg-Gumpenstein, pp 69-74. BOKU-University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Austria. ISBN-13: 978-3-900932-53-4.

Koksel H., Kahraman K., Sanal T., Ozay D.S., Dubat A. (2009): Potential utilization of mixolab for quality evaluation of bread wheat genotypes. Cereal Chemistry, 86(5), 522-526.

Lacko-Bartošová, M., Konvalina, P., Lacko-Bartošová, L. (2019): Baking quality prediction of spelt wheat based on rheological and mixolab parameters. Acta Alimentaria, 48(2), 213-220.

Packa D., Załuski D., Graban Ł., Lajszner W. (2019): An Evaluation of Spelt Crosses for Breeding New Varieties of Spring Spelt. Agronomy 9, 167; doi:10.3390.

Rakszegi, M., Mikó, P., Löschenberger, F., Hiltbrunner, J., Aebi, R., Knapp, S., et al. (2016): Comparison of quality parameters of wheat varieties with different breeding origin under organic and low-input conventional conditions. Journal of Cereal Science, 69, 297-305.

Sobczyk A., Pycia K., Stankowski S., Jaworska G., Kuźniar P. (2017): Evaluation of the rheological properties of dough and quality of bread made with the flour obtained from old cultivars and modern breeding lines of spelt (*Triticum aestivum ssp. spelta*). Journal of Cereal Science 77, 35 – 41.

Kontaktní adresa:

Ing. Václav Dvořáček, Ph.D.
Tým: Kvalita rostlinných produktů
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Drnovská 07 Praha 6 – Ruzyně, 161 06
e-mail: dvoracek@vurv.cz

HODNOCENÍ VYBRANÉHO SORTIMENTU ODRŮD OZIMÝCH PŠENIC SE ZAMĚŘENÍM NA VÝNOS A KVALITU ZRNA

Evaluation of selected assortment of winter wheat varieties focusing on yield and quality of grain

Frydrych J.[1], Polišenská I.[2], Sedláčková I.[2], Volková P.[1]

[1] *Oseva vývoj a výzkum s.r.o., Zubří*
[2]*Agrotest fyto, spol. s r.o., Kroměříž*

Abstrakt
Na pracovišti Osevy vývoj a výzkum s.r.o. Zubří byly založeny a sklizeny maloparcelkové polní pokusy s šesti odrůdami ozimé pšenice různé kvality 'Dagmar' (A), 'Genius' (E), 'Julie' (E), 'Lear' (C/K), 'Matchball' (A) a 'Tobak' (E). Pokusy byly sklizeny ve sklizňových letech: 2016, 2017 a 2018. V Zubří byl stanoven výnos zrna a z hlediska kvalitativních rozborů objemová hmotnost (OH) a hmotnost tisíce zrn (HTZ). V Agrotestu fyto spol. s r.o. byl stanoven obsah deoxynivalenolu. Nejvyšší rozdíl ve výnose zrna mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou byl zaznamenán u odrůdy 'Matchball' a 'Tobak' u průměru tří let. Nejvyšší napadení DON bylo zaznamenáno u odrůdy 'Tobak' ve všech sklizňových letech, nejnižší u odrůdy 'Dagmar' na stanovišti v Zubří v letech 2016, 2017 a 2018. V inokulované variantě byla zaznamenána nižší objemová hmotnost a nižší hmotnost tisíce zrn oproti neinokulované variantě testovaných odrůd.
Klíčová slova: výzkum, pokusy, odrůdy, výnos zrna, kvalita zrna

Abstract
At the department of Oseva Development and Research Ltd. in Zubří were established and harvested small-field trials with six varieties of winter wheat of different quality 'Dagmar' (A), 'Genius' (E), 'Julie' (E), 'Lear' (C/K), 'Matchball' (A) and 'Tobak' (E). The trials were harvested in the harvest years 2016, 2017 and 2018. In Zubri, was determined grain yield and in terms of qualitative analyzes the bulk density (OH) and the weight of one thousand grains (HTZ). The content of deoxynivalenol was determined in the Agrotest fyto Ltd. The highest difference in grain yield between inoculated and uninoculated variations was noted for 'Matchball' and 'Tobak' at an average of three years. The highest DON infestation was recorded in the 'Tobak' variety in all harvest years, the lowest in the 'Dagmar' variety in Zubri in 2016, 2017 and 2018. The inoculated variation showed a lower bulk density and lower weight of a thousand grains compared to the uninoculated variant of the tested varieties.
Keywords: research, trials, varieties, grain yield, grain quality

Úvod

Cílem projektu „Technologie a metody pro zachování kvality, bezpečnosti a nutriční hodnoty rostlinných surovin“ bylo vytvořit nástroje a vypracovat systémy posklizňových úprav a skladování vybraných potravinářských rostlinných produktů pro zachování jejich nutriční, technologické a hygienické kvality. Dále vypracovat vhodné metody a postupy pro kontrolu těchto procesů a získané výsledky uplatnit v praxi. Navrhovaný projekt se zaměřil na vybraný okruh problémů, pro jejichž řešení buď nejsou k dispozici dostatečné teoretické poznatky a/nebo tyto poznatky nejsou k dispozici ve vhodné formě pro uživatele. Patogeny *Fusarium* způsobují u obilovin zejména ztráty na výnose, kontaminaci zrna mykotoxiny a zhoršení technologické kvality zrna. Po napadení *Fusariem* může dojít ke změně vzhledu zrna, ale i složení. Důsledkem napadení zrna je kontaminace mykotoxiny jako metabolity mikroskopických hub. Nejčastěji se u nás vyskytujícím mykotoxinem je DON (deoxynivalenol). V našich podmínkách se může dále vyskytovat z toxinů nivalenol, T-2 a HT-

2 toxin, zearalenon, enniatiny a mnoho dalších. Vlivem napadení obilnin *Fusariem* dochází ke změnám v obsahových látkách zrna, jako jsou bílkoviny a sacharidy (škrob, celulóza a hemicelulóza). Houby tyto zásobní látky využívají jako zdroj vlastní výživy a pro zlepšení jejich využitelnosti produkují enzymy, kterými je modifikují a rozkládají (Polišenská a kol. 2018). Cílem výzkumu bylo zjistit, jak inokulace patogenem *Fusarium culmorum* ovlivní výnos u testovaného sortimentu odrůd ozimé pšenice různé pečivárenské kvality (E, A, B, C/K), technologickou kvalitu a jaká bude úroveň napadení mykotoxinem DON u obou testovaných variant bez inokulace (neošetřeno Tab. 1–5) a s inokulací (ošetřeno Tab. 1–5) testovaných odrůd.

Materiál a metody

Na pracovišti Osevy vývoj a výzkum s.r.o. Zubří byly založeny a sklizeny maloparcelkové polní pokusy (10 m^2, 4 opakování) s šesti odrůdami ozimé pšenice různé kvality 'Dagmar' (A), 'Genius' (E), 'Julie' (E), 'Lear' (C/K), 'Matchball' (A) a 'Tobak' (E). Pokusy byly založeny na podzim v roce 2015, 2016 a 2017. Inokulace byla prováděna postřikem vodní suspenzí spor *Fusarium culmorum*, a to jednou na počátku květu u ozimé pšenice a podruhé za tři až čtyři dny, různě pro jednotlivé odrůdy podle doby jejich květu v letech 2016, 2017 a 2018. Ošetření herbicidy, insekticidy a regulátory růstu bylo provedeno podle zásad integrované ochrany rostlin pro danou lokalitu. Celková dávka dusíku byla v Zubří 94 $kg.ha^{-1}$ (před setím 40 $kg.ha^{-1}$, regenerační 54 $kg.ha^{-1}$). Pokusy na stanovišti v Zubří byly sklizeny maloparcelkovým kombajnem. V Zubří byl stanoven výnos zrna u jednotlivých variant a přepočítán na standardní 14% vlhkost, dále byla stanovena objemová hmotnost a hmotnost tisíce zrn. Zrno pšenice ozimé bylo analyzováno na obsah DONU (ELISA) v laboratoři Agrotestu fyto spol. s r.o. Kroměříž. V pokuse byly srovnány varianty s odrůdami pšenic inokulovanými *Fusariem culmorum* a varianty bez inokulace.

Popis pokusné lokality

Pozemky Osevy vývoj a výzkum s.r.o. leží v nadmořské výšce 345 m. Dlouhodobá průměrná roční teplota je 7,5 °C a dlouhodobý roční úhrn srážek činí 864,5 mm. Dlouhodobá průměrná teplota za vegetační období je 14,3 °C a dlouhodobý úhrn srážek za vegetační období činí 546,8 mm. Pozemky na stanici se nacházejí v klimatickém regionu 7 – mírně teplém.

Výsledky a diskuse

Tab. 1 Výnosy zrna a průměrný výnos zrna v letech 2016–2018 u vybraného sortimentu odrůd (Zubří) – 14% vlhkost ($t.ha^{-1}$)

Odrůda	Výnos 2016 neošetřeno	Výnos 2016 ošetřeno	Výnos 2017 neošetřeno	Výnos 2017 ošetřeno	Výnos 2018 neošetřeno	Výnos 2018 ošetřeno	Průměr 2016-18 neošetřeno	Průměr 2016-18 ošetřeno	Rozdíl ve výnose
Tobak	10,04	9,60	8,75	8,64	7,03	6,13	8,61	8,12	0,49
Dagmar	9,82	10,36	8,18	8,18	5,03	5,04	7,68	7,86	-0,18
Genius	10,65	10,36	7,68	7,86	6,06	5,51	8,13	7,91	0,22
Julie	10,37	10,33	8,00	8,37	4,60	4,10	7,66	7,60	0,06
Lear	10,60	9,93	8,31	8,46	5,98	6,89	8,30	8,43	-0,13
Matchball	10,88	10,53	8,22	7,68	7,72	6,70	8,94	8,30	0,64

Jednotlivé odrůdy reagovaly z hlediska výnosu v jednotlivých letech rozdílně. Nejvyšší rozdíly mezi variantou inokulovanou a bez inokulace byly zaznamenány v letech 2016 a 2018. V roce 2016 byl nižší výnos zrna u všech inokulovaných variant mimo odrůdu 'Dagmar'. U všech

testovaných variant v roce 2016 byl stanoven obsah deoxynivalenolu. V Zubří měl v roce 2016 nejvyšší obsah DON 'Tobak' (2 336 µg.kg^{-1}), pak 'Lear' (1 661 µg.kg^{-1}) a 'Julie' (521 µg.kg^{-1}). Nejnižší kontaminaci měla v roce 2016 odrůda 'Dagmar' a 'Matchball'. V Zubří v roce 2017 v inokulovaných variantách byl 'Tobak' 347 µg.kg^{-1} srovnatelný s odrůdou 'Genius' (346 µg.kg^{-1}) dále následovala odrůda 'Lear' (137 µg.kg^{-1}). V roce 2017 měly nejnižší kontaminaci odrůdy 'Dagmar' a 'Julie'. Mimo odrůdu 'Tobak' a 'Matchball' nebyly v roce 2017 zaznamenány významné rozdíly ve výnose zrna u inokulované a neinokulované varianty. V roce 2018 byly u všech variant testovaných odrůd nižší výnosy inokulované varianty mimo odrůdu 'Dagmar'.
V roce 2018 měl v Zubří nejvyšší hodnotu DONU 'Tobak' 646 µg.kg^{-1} a nejnižší měla odrůda 'Dagmar' 94 µg.kg^{-1}. Nejvyšší rozdíl v průměrném výnosu zrna mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou měla za tři užitkové roky odrůda 'Tobak' 0,49 t.ha^{-1} a odrůda 'Matchball' 0,64 t.ha^{-1}. Nejvyšší napadení DON bylo zaznamenáno u odrůdy 'Tobak' ve všech sklizňových letech, nejnižší u odrůdy 'Dagmar' na stanovišti v Zubří v letech 2016, 2017 a 2018.

Tab. 2 Zhodnocení výnosu zrna podle varianty ošetření (průměr odrůd, průměr let 2016–2018)

Varianta	Výnos (t.ha^{-1})	Statistická průkaznost	
		p < 0,05	p < 0,01
neošetřeno	8,22	a	A
ošetřeno	8,04	b	B

Efekt varianty ošetření měl na výnosy zrna statisticky vysoce průkazný vliv ($p < 0,01$). Výnos zrna ve variantě neošetřené byl v průměru všech odrůd a tří sklizňových let statisticky průkazně větší ($p < 0,01$) než výnos ve variantě ošetřené.

Tab. 3 Zhodnocení výnosu zrna podle odrůdy a varianty ošetření (průměr let 2016–2018)

Odrůda	Varianta	Výnos (t.ha^{-1})	Statistická průkaznost	
			p < 0,05	p < 0,01
Tobak	neošetřeno	8,60	ab	ab
	ošetřeno	8,12	cdef	bcde
Dagmar	neošetřeno	7,67	efg	E
	ošetřeno	7,86	defg	de
Genius	neošetřeno	8,13	cde	bcde
	ošetřeno	7,91	defg	cde
Julie	neošetřeno	7,66	fg	E
	ošetřeno	7,60	g	E
Lear	neošetřeno	8,30	bcd	bcd
	ošetřeno	8,43	bc	abc
Matchball	neošetřeno	8,94	a	A
	ošetřeno	8,30	bcd	bcd

Efekt interakce faktorů odrůda a varianta ošetření měl na výnosy zrna statisticky vysoce průkazný vliv ($p < 0,01$). U odrůdy 'Tobak' byl ve variantě neošetřené statisticky průkazně ($p < 0,05$) větší výnos zrna než ve variantě ošetřené. U odrůdy 'Matchball' byl ve variantě neošetřené statisticky vysoce průkazně ($p < 0,01$) větší výnos zrna než ve variantě ošetřené. U ostatních odrůd nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl ve výnosu zrna mezi variantami ošetření.

Tab. 4 Objemová hmotnost OH u zrna testovaných odrůd (kg.hl^{-1})

Odrůda	OH 2016 neošetřeno	OH 2016 ošetřeno	OH 2017 neošetřeno	OH 2017 ošetřeno	OH 2018 neošetřeno	OH 2018 ošetřeno	Průměr 2016-18 neošetřeno	Průměr 2016-18 ošetřeno	Rozdíl výnos
Tobak	69,25	67,60	73,40	73,36	81,90	81,10	74,85	71,94	2,91
Dagmar	77,50	76,85	76,40	75,96	85,50	84,60	79,80	77,54	2,26
Genius	76,90	75,85	77,20	74,60	83,90	83,6	79,33	76,59	2,74
Julie	77,30	76,15	78,32	77,48	83,50	80,7	79,71	77,78	1,93
Lear	70,45	69,75	75,80	75,25	77,60	80,2	74,62	73,21	1,41
Matchball	70,70	69,35	75,88	76,52	81,80	80,8	76,13	74,00	2,13

Ve všech sklizňových letech se projevilo snížení objemové hmotnosti zrna u testovaných variant. V roce 2016 bylo snížení objemové hmotnosti zaznamenáno u všech odrůd. Nejnižší objemovou hmotnost měla odrůdy 'Tobak' 67,70 kg.hl^{-1} v inokulované variantě. V roce 2017 bylo snížení objemové hmotnosti zaznamenáno rovněž u všech inokulovaných variant mimo odrůdu 'Matchball'. V roce 2018 byla objemová hmotnost nižší u všech variant mimo odrůdu 'Lear'. Nejvyšší rozdíl u průměru tří let u testovaných odrůd vykázala odrůda 'Tobak' mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou 2,91 kg.hl^{-1}.

Tab. 5 Hmotnost tisíce zrn v gramech u testovaných odrůd v roce 2016–2018

Odrůda	HTZ 2016 neošetřeno	HTZ 2016 ošetřeno	HTZ 2017 neošetřeno	HTZ 2017 ošetřeno	HTZ 2018 neošetřeno	HTZ 2018 ošetřeno	Průměr 2016-18 neošetřeno	Průměr 2016-18 ošetřeno	Rozdíl výnos
Tobak	37,1538	37,4703	43,6095	42,596	49,6256	41,8406	43,4628	40,6356	2,8272
Dagmar	45,8151	45,7600	46,9153	45,969	47,5775	48,0041	46,7693	46,5777	0,1916
Genius	43,1653	42,7645	42,9438	39,7329	45,5219	49,1923	43,8770	43,8965	-0,0195
Julie	51,3868	48,6689	46,0185	48,4002	50,4780	49,2272	49,2944	48,7654	0,5290
Lear	39,8201	39,3240	41,3049	41,1343	49,4310	48,6507	43,5186	43,0363	0,4823
Matchball	38,3738	38,3240	39,2475	39,4063	41,6991	41,8406	39,7734	39,8569	-0,0835

Snížení hmotnosti tisíce zrn se projevilo nejvíce v roce 2016 snížením HTZ u všech odrůd mimo odrůdy Tobak. V roce 2018 byl největší rozdíl v HTZ mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou u odrůdy 'Tobak' současně u této odrůdy byl i největší rozdíl u tříletého průměrného rozdílu mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou 2,8272 g.

Závěr

V pokuse byl prokázán vliv aplikace patogena *Fusarium culmorum* na výnos a kvalitu zrna. V souvislosti s nejvyšším napadením byl prokázán i nejvyšší rozdíl ve výnosu zrna u inokulované a neinokulované varianty odrůd ozimých pšenic na stanovišti v Zubří zejména u odrůdy 'Tobak'. Nejvyšší rozdíl ve výnose zrna mezi inokulovanou a neinokulovanou variantou byl zaznamenán u odrůdy 'Matchball' a 'Tobak' u průměru tří let. Nejvyšší napadení DON bylo zaznamenáno u odrůdy 'Tobak' ve všech sklizňových letech, nejnižší u odrůdy 'Dagmar' na stanovišti v Zubří v letech 2016, 2017 a 2018. V inokulované variantě byla zaznamenána nižší objemová hmotnost a nižší hmotnost tisíce zrn oproti neinokulované variantě. Perspektivně nejvýznamnějším způsobem ochrany proti napadením klasů patogeny *Fusarium* je odolná odrůda (Polišenská a kol. 2018). V současnosti není k dispozici žádná plně odolná odrůda, rozdíly v citlivosti existují, což udávají výsledky výzkumu na stanovišti OSEVY vývoj a výzkum s.r.o. v Zubří.

Dedikace

Publikace je realizována na základě podpory projektu NAZV QJ1510204 Technologie a metody pro zachování kvality, bezpečnosti a nutriční hodnoty rostlinných surovin.

Použitá literatura

Meyer, D., Wepert, D., Mielke, H., 1986: Beeinflussung der Qualität von Weizen durch den Befahl mit Fusarium culmorum, Getraide , Mehl und Brot, 40, 35–39.

Polišenská, I., Jirsa, O., Sedláčková, I., 2018: Vliv klasových fuzarií na kvalitu odrůd pšenice. *Úroda*. 2018, r. 66, č. 10, s. 14–18. ISSN 0139-6013.

Polišenská, I., Jirsa, O., Sedláčková, I., 2017: Kvalita potravinářské pšenice sklizně 2017 v České republice. *Mlynářské noviny*, 28, 2017, 3, 6–9. ISSN 1214-6374.

Spanic, V., Marcek, T., Abicic, I., Sarkanj, B., 2018: Effects of fusarium Head Blight on Wheat Grain and Malt Infected by *Fusarium culmorum*. Toxins. 2018: 10(1):17. DOI 10.3390/toxins 10010017.

Kontaktní adresa:
Ing. Jan Frydrych
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.
Hamerská 698, Zubří 756 54
frydrych@oseva.cz

VYUŽITÍ LUSKOVINO-OBILNÝCH SMĚSEK VE FORMĚ SILÁŽÍ KE KRMENÍ DOJNIC A JEJICH VLIV NA KVALITU MLÉKA

Use of legume-cereal mixtures for feeding in the silage form and its influence on milk quality

Huňady I.[1], Hanuš O.[2], Hegedüšová Z.[2], Pozdíšek J.[3], Seidenglanz M.[1]

[1]*Agritec Plant Research s.r.o.*
[2]*Výzkumný ústav mlékárenský s.r.o.*
[3]*Agrovýzkum Rapotín s.r.o.*

Abstrakt
Snaha o vyloučení rizik, která provázejí pěstování jednoletých luskovin v monokultuře, a růst cen bílkovinných jadrných krmiv vedou k růstu zájmu o pěstování a výrobu a zvýšení podílu siláží z luskovino-obilných směsek (LOS) v krmných dávkách dojnic. Byly sledovány účinky krmení dojnic při modifikaci objemné krmné dávky přídavkem siláže LOS. Bazénové vzorky mléka byly odebírány 2,5 roku od 4 stád LOS (70 vzorků) a 6 stád NELOS (116 vzorků). Stáda LOS měla vyšší obsah tuku, bílkoviny, kaseinu a sušiny tukuprosté v mléce. U laktózy a močoviny nebyly zjištěny rozdíly. Počet somatických buněk, volné mastné kyseliny a bod mrznutí mléka se mezi LOS a NELOS lišily. Celkové počty mikroorganismů se nelišily.
Klíčová slova: směsky, dojnice, kvalita mléka

Abstract
The effort to eliminate the risks associated with the growing of annual legumes in monoculture and the rise in prices of protein concentrate feed are the reasons for the increasing interest in growing and production and increasing silages from legume-cereal mixtures (LOS) in rations for dairy cows. The impact of feeding of dairy cows was monitored when modifying the roughage feeding ration by addition of LOS silage. Bulk milk samples were taken 2.5 years from 4 LOS herds (70 samples) and 6 NELOS herds (116). The LOS herds had higher fat, protein, casein and solids non-fat in milk. Lactose and urea did not differ. The somatic cell count, free fatty acids and the milk freezing point varied between LOS and NELOS. Total count of microorganisms did not differ.
Key words: intercropping, dairy cow, milk quality

Úvod

Luskovino-obilní směsky (LOS) mohou ve výživě přežvýkavců nahrazovat drahé zdroje proteinových krmiv, jako jsou sója a řepka. Pro výživu přežvýkavců je důležitý nejen obsah dusíkatých látek, ale také jejich kvalitativní parametry. Z hlediska krmivářských parametrů mají LOS a z nich vyráběná konzervovaná krmiva (siláže) pro výživu přežvýkavců potenciál zvyšování krmné hodnoty základních krmných dávek.

Koncentrace živin a jejich vzájemný poměr se mění podle termínu sklizně ve vztahu k vývojové fázi komponent směsky a jejich zastoupení v porostech. Výživná hodnota může být významně ovlivněna ročníkem, zejména množstvím a rozložením srážek v průběhu vegetačního období. V bilančních pokusech byla zjištěna retence dusíku, jako významného ukazatele pro využití ve výživě zvířat. Bylo zjištěno vyšší procento retence u LOS s ječmenem ve srovnání s LOS s pšenicí, zejména v procentu retence ze stráveného dusíku (Pozdíšek et al., 2018). Kvalita dusíkatých látek v krmivech z LOS má nesporně pozitivní vliv na zdraví, kondici a reprodukci chovaných zvířat, jak bylo opakovaně zjištěno v pokusných provozních podmínkách.

Krmení siláží luskovino-obilních směsek se výrazně rozšiřuje ve výživě skotu celkem i dojnic v České republice. V roce 2015 byl zaznamenán nárůst ploch osevních ploch LOS téměř o třetinu. V současné době mohou být siláže LOS podle kvalifikovaného odhadu zahrnuty až do 48 % případů krmných dávek dojnic. V roce 2010 to bylo maximálně do 25 %.
Průměrný podíl sušiny siláží LOS na celkové sušině těchto krmných dávek dojnic lze odhadovat na 15 ± 5 %. Předcházející suché roky mohly být jedním z důvodů k nárůstu tohoto typu krmení dojnic. Aktuální změny klimatu, zejména přibývající sucho, a růst cen bílkovinných jadrných krmiv jsou tedy hlavními důvody k růstu zájmu o pěstování, výrobu a zvýšení podílu siláží z LOS v krmných dávkách dojnic. Půdní znečištění objemných krmiv však může přispívat k bakteriální kontaminaci syrového mléka (Andersen a Jensen, 1987, cit. Kratochvíl, 1991). Hanuš et al. (2016) uvedli v nedávné studii, že aplikace siláží LOS v krmné dávce dojnic jako krmné alternativy může mírně změnit složení mléka, avšak nevede ke zhoršení kvality produkovaného mléka.
Cílem tohoto pokusného sledování bylo zhodnotit možný vliv zkrmování siláží z LOS (nebo siláží z luskovin a obilnin ve směsi v krmné dávce) na kvalitu mléka.

Materiál a Metody

Podmínky chovu krav a odběr bazénových vzorků mléka (n = 186)

Terénní pokusné sledování proběhlo ve 4 pokusných stájích (70 vzorků mléka) s krmením LOS (hrách a triticale nebo hrách a ječmen jako objemné krmení v konzervované (siláž) formě) a v 6 (116 vzorků) referenčních (kontrolních) stádech NELOS (bez LOS v objemné složce krmení) v období 2015 - 2017. Odebírány byly bazénové vzorky mléka (dojnice plemene Holštýn) pro sledování výsledků kontroly kvality mléka.

Krmné dávky dojnic terénního pokusného sledování

Pro posouzení možného ovlivnění kvality mléka a reprodukce dojnic byla do krmných dávek zařazena siláž LOS (hrách a ječmen, hrách a triticale) ve srovnání s obdobnými krmnými dávkami bez LOS (NELOS).

Analýzy bazénových vzorků mléka

Vzorky byly konzervovány bronopolem (0,03 %) a uloženy v chladničce. Poté byly vzorky transportovány do laboratoře a analyzovány. Byly provedeny analýzy a stanoveny hodnoty pro složky (obsahy) a vlastnosti mléka u bazénových vzorků: tuk (T), hrubé bílkoviny (HB), kasein (KAS), monohydrát laktózy (L), sušina tukuprostá (STP), močovina (MO), počet somatických buněk (PSB), bod mrznutí mléka (BMM), volné mastné kyseliny (VMK), celkový počet mezofilních mikroorganismů (CPM), rezidua inhibičních látek (RIL, případná přítomnost antibiotik, ale také pro možnou interferenci případných fytoaktivních látek).
Analýzy mléka byly provedeny podle relevantních metod s kalibrovanou a kontrolovanou analytickou technikou podle standardních operačních postupů v akreditované mléčné laboratoři Českomoravské společnosti chovatelů a.s. v Buštěhradu. Složky (T, HB, KAS, L, STP, VMK, MO) a vlastnosti (BMM) mléka byly stanoveny nepřímou metodou infračervené spektroskopie MIR-FT (s interferometrem a Fourierovou transformací, v případě BMM s měřením elektrické konduktivity mléka) CombiFoss FT+ (Foss Electric, Hilleröd, Denmark). PSB byl stanoven průtočnou cytometrií na zařízení Somacount 300. CPM byl stanoven rovněž průtočnou cytometrií na IBC FC (PSB a CPM, flow cytometry, Bentley Instruments, Chaska, Minnesota, USA). RIL (+/-) byla stanovena mikrobiologickým (*Geobacillus stearothermophilus*) inhibičním testem (růst při 65 °C) s pH indikátorem Eclipse 50 (ZEU-INMUNOTEC, Španělsko).

Statistické vyhodnocení výsledků

Pro stanovené mléčné ukazatele byly vypočteny střední hodnoty (aritmetický průměr (x), medián (m), variabilita ve formě směrodatné odchylky (sd) a variační koeficient (vx) v %.

Rozdíly mezi průměry dat LOS a NELOS byly testovány klasickým t-testem (MS Excel, Microsoft, Redmond, Washington, USA).

Výsledky a diskuze

Střední hodnoty a rozdíly ve složení a vlastnostech mléka skupin vzorků LOS a NELOS jsou uvedeny v Tab. 1. Z celkového pohledu středních hodnot sledovaných mléčných ukazatelů a jejich variability je zřejmé, že jejich hodnoty se nacházely v běžném oboru relevantních referenčních hodnot (Janů et al., 2007; Sojková et al., 2010). Z hlediska hlavních složek mléka, stáda LOS vykazovala významně vyšší obsah tuku, bílkoviny, kaseinu a STP ($P \leq 0{,}01$ a $P \leq 0{,}001$). Hodnoty parametrů laktóza a močovina se významně nelišily. PSB, VMK a BMM se mezi stády LOS a NELOS významně lišily: u LOS byly nižší, u NELOS vyšší. CPM se nelišily. Ve studii nebyl zaznamenán žádný nález RIL u obou skupin vzorků mléka. To naznačuje, že při krmení siláží LOS v tomto ohledu prakticky nehrozí riziko zhoršení kvality mléka. Vyšší obsah základních složek mléka u LOS může být částečně dán nižší dojivostí stád. Případné zhoršení (VMK) některých mlékařských ukazatelů u LOS není nijak výrazné.

Hanuš et al. (2016) zjistili, že rozdíly mezi LOS a NELOS byly významné ($P \leq 0{,}05$ až $P \leq 0{,}001$) pro všechny mléčné ukazatele vyjma obsahu VMK ($P > 0{,}05$).
Stádo LOS mělo:
- o 0,1 až 0,2 % vyšší obsah T v mléce
- cca o 0,1 až 0,2 % nižší HB a KAS
- mírně nižší L
- o 0,21 % nižší STP
- zcela nepatrně mírně horší BMM
- srovnatelné hodnoty VMK
- nižší koncentraci MO
- cca o třetinu nižší PSB
- mírně nižší CPM

Inhibice v mléce nebyla zachycena.

Tab. 1: Základní statistické parametry mléčných ukazatelů stád dojnic s krmením LOS a NELOS.

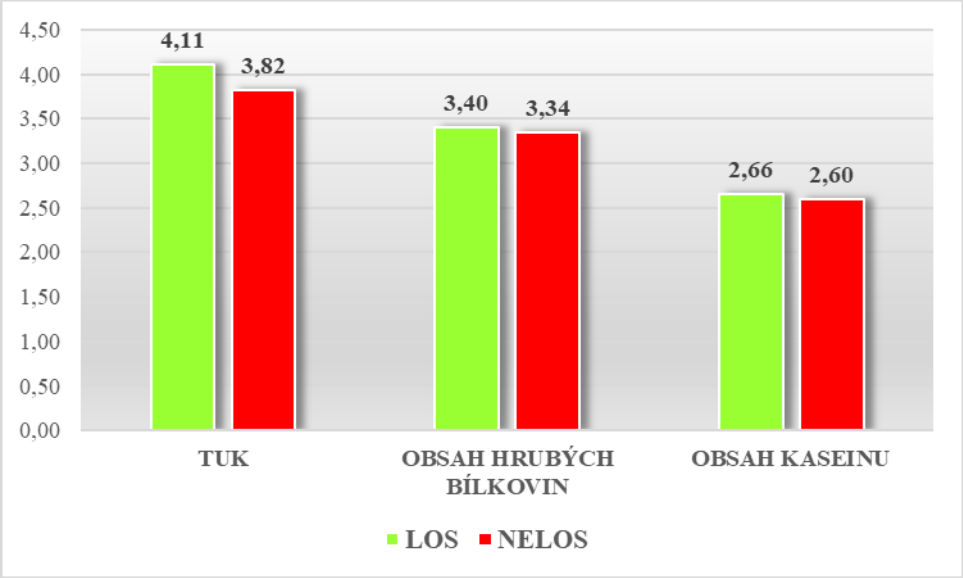
KRMENÍ	UK	T	HB	KAS	L	STP	BMM	VMK	MO	PSB	CPM
	PAR	%	%	%	%	%	°C	mmol.100g^{-1}	mg.100ml^{-1}	10^3.ml^{-1}	10^{3}CFU.ml^{-1}
LOS	n	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
	x	4,11	3,4	2,66	4,97	8,97	-0,5292	0,84	27,98	146	19
	m	4,2	3,41	2,6	4,93	8,89	-0,5285	0,77	27,9	141	16
	sd	0,31	0,09	0,08	0,06	0,12	0,0057	0,42	4,25	46	10
	vx (%)	7,5	2,7	3	1,2	1,3	1,1	49,6	15,2	31,2	56
NELOS	n	116	116	116	116	116	116	116	116	116	116
	x	3,82	3,34	2,6	4,98	8,91	-0,5259	0,63	28,38	218	20
	m	3,84	3,33	2,6	4,98	8,91	-0,5245	0,56	27,9	203	14
	sd	0,19	0,12	0,1	0,07	0,13	0,0048	0,37	6,01	69	20
	vx (%)	4,9	3,5	3,8	1,4	1,5	0,9	58,6	21,2	32	102
Dif.	P	***	***	***	ns	**	***	***	ns	***	ns

UK ukazatel; PAR parametr; LOS objemné krmení s luskovino-obilnou siláží; NELOS objemné krmení bez luskovino-obilné siláže; Dif. rozdíl; n počet vzorků; x aritmetický průměr; m medián; sd směrodatná odchylka; vx variační koeficient; T obsah tuku; HB obsah hrubých bílkovin; KAS obsah kaseinu; L koncentrace monohydrátu laktózy; STP obsah sušiny tukuprosté; BMM bod mrznutí mléka; VMK obsah volných mastných kyselin mléčného tuku; MO koncentrace močoviny; PSB počet somatických buněk; CPM celkový počet mezofilních mikroorganismů; P pravděpodobnost (vlivu) nulové hypotézy; ns (nevýznamný) $P > 0{,}05$; * (významný) $P \leq 0{,}05$; ** $P \leq 0{,}01$; *** $P \leq 0{,}001$.

V souvislosti s posuzováním siláží, včetně LOS, Urbański a Brzóska (1996) uvedli, že dojivost krav mezi 70. a 150. dnem laktace, bílkoviny a tuk v mléce se nelišily podle typu krmené siláže. Kungurov et al. (1981) hodnotili laktaci krav se základní krmnou dávkou, kde koncentráty byly

částečně nahrazeny siláží z hrachu a ovsa. Nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi skupinami v dojivosti, avšak skupina s náhradou měla méně sušiny v mléce. Emile et al. (2008) zaznamenali růst dojivosti při zařazení luskovin v silážích. Laman et al. (2002) uvedli, že použití siláží ze směsí LOS umožnilo zvýšení dojivosti a snížení spotřeby jadrných krmiv.

Obr. 1: Vybrané parametry mléčných ukazatelů stád dojnic s krmením LOS a NELOS (%; průměr)



Závěr

Využití siláží vyrobených z luskovino-obilních směsek v krmných dávkách dojnic je možné považovat za bezrizikový, neutrální a prakticky adekvátní způsob náhrady části objemné (ale i jadrné) složky krmných dávek dojnic se zřetelem ke kvalitě mléka, podle aktuálních potřeb a příslušných agrotechnických podmínek.

Dedikace

Při zpracování rukopisu byly využity prostředky z MZe - RO1018.

Použitá literatura

Emile, J. C., Dias, F. J., Al-Rifai, M., Roy, P., Le Faverdin, P., Hopkins, A., Gustafsson, T., Bertilsson, J., Dalin, G., Nilsdotter-Linde, N., SPÖRNDLY, E. (2008): Triticale and mixtures silages for feeding dairy cows. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden, Biodiversity and animal feed: future challenges for grassland production. Proceedings of the 22nd General Meeting of the European Grassland Federation, Uppsala, Sweden, s. 804-806.

Hanuš, O., Hegedüšová, Z., Hochman, M., Klimešová, M., Huňady, I., Roubal, P., Jedelská, R., Kopecký, J. (2016): Vliv zkrmování luskovino-obilných směsek ve formě siláží na kvalitu mléka a reprodukci krav. *Mlék. listy – zprav.*, 27, 157, 3, s. 3-8.

Janů, L., Hanuš, O., Frelich, J., Macek, A., Zajíčková, I., Genčurová, V., Jedelská, R. (2007): Influences of different milk yields of Holstein cows on milk quality indicators in the Czech Republic. *Acta Vet. Brno*, 76, 4, s. 553-561.

Kratochvíl, L. (1991): Nové poznatky o bakteriální kontaminaci mléka. *Náš Chov*, 2, s. 69-71.

Kungurov, Yu. N., Gartvikh, M. Ya. (1981): Silage from slightly cured pea-and-oat mixture in a diet for lactating cows. Novosibirsk, USSR, Kormlenie i soderzhanie molochnogo skota v Sibiri, s. 104-109.

Laman, N. A., Shashko, K. G., Kapustin, N. K., Zinovenko, A. L. (2002): Nutritive value of silage from mixed cereal-legume crops and its use on rations of lactating cows. Akademiya Agrarnykh Nauk Respubliki Belarus', Minsk, Belarus, Vestsi Natsyyanal'nai Akademii Navuk Belarusi. *Seryya Agrarnykh Navuk*, 3, s. 58-62.

Pozdíšek J., Huňady I., Látal O., Dufek A. (2018): Stanovení parametrů výživné hodnoty a retence dusíku u siláží vyrobených z vybraných typů luskovino-obilních směsek sklizených ve dvou sklizňových termínech. Výzkum v chovu skotu/Cattle Research 03/2018, p. 9 – 14. ISSN 0139-7265

Sojková, K., Hanuš, O., Říha, J., Genčurová, V., Hulová, I., Jedelská, R., Kopecký, J. (2010): Impacts of lactation physiology at higher and average yield on composition, properties and health indicators of milk in Holstein breed. *Sci. Agric. Boh.*, 41, 1, s. 21-28.

Urbański, A., Brzóska, F. (1996): Legume-cereal forage mixtures for silage. 2. Nutritive value of silage for dairy cows. *J. Anim. Feed Sci*., 5, 2, s. 117-126.

Kontaktní adresa:

Ing. Igor Huňady
AGRITEC PLANT RESEARCH s.r.o.
Oddělení luskovin a technických plodin
Zemědělská 2520/16
787 01 Šumperk
Česká republika
hunady@agritec.cz

VARIABILITA OBSAHU AVENANTHRAMIDŮ U VYBRANÝCH ODRŮD OVSA SETÉHO (*AVENA SATIVA* L.) A OVSA NAHÉHO (*AVENA NUDA* L.)

Variability of avenanthramide levels in selected oat cultivars (*Avena sativa* L. and *Avena nuda* L.)

Jágr M., Dvořáček V., Doležalová J.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha – Ruzyně

Abstrakt

Avenanthramidy (AVN) jsou zdravotně prospěšné, pro oves specifické látky. Spektrum osmi nejvýznamnějších AVN bylo analyzováno ve vybraných 10 kultivarech ovsa za pomocí nově vyvinuté metody využívající ultravysokoúčinnou kapalinovou chromatografii ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem s vysokým rozlišením typu kvadrupól-Orbitrap (UHPLC-Q-Orbitrap). Analytická metoda byla validována. Výtěžek stanovení AVN naší metodou kolísal v rozmezí 83% – 106%, přičemž relativní směrodatná odchylka stanovení byla v rozmezí 2% – 9%. Celkový obsah stanovených avenanthramidů ve vzorcích ovsa kolísal v rozmezí 3 – 75 $\mu g.g^{-1}$ sušiny. Nejhojnějším avenanthramidem byl v průměru AVN B následovaný AVN A a AVN C. Pozorovali jsme i relativně vysoký obsah AVN O. Zároveň byla pozorována vysoká odrůdová variabilita obsahu AVN v rozsahu 52 – 84%.

Klíčová slova: *Avena sativa* L., avenanthramid, hmotnostní spektrometrie, kvantifikace

Abstract

Avenanthramides (AVNs) are specific constituents of oats with outstanding health benefits. A wide spectrum of 8 avenanthramides was identified and characterized in seed extracts of 10 oat cultivars using UHPLC plus Q Exactive Hybrid Quadrupole-Orbitrap Mass Spectrometry (HRMS/MS). The analytical method was validated. Recovery of AVN standards varied from 83% to 106%, and relative standard deviations ranged from 2% to 9%. The total content of assessed avenanthramides in oat grains varied in the range 3 – 75 $\mu g.\ g^{-1}$ of dry matter. AVN B was the most abundant AVN followed by AVN A, AVN C, and relatively high content of AVN O. We also observed high AVN content variability among oat cultivars in the range 52 – 84%.

Key words: *Avena sativa* L., avenanthramide, mass spectrometry, quantification

Úvod

Do nedávné doby (cca do roku 2017) zahrnovala široká skupina avenanthramidů (AVN) zhruba 40 různě substituovaných látek (Wise, 2014). V posledních dvou letech byla ale početnost této množiny avenanthramidů přibližně zdvojnásobena díky objevu a popisu různých glykosidů a hexosidů navázaných na mateřské AVN (Wu et al., 2018; de Bruijn et al., 2019). Obecně vzato, struktura avenanthramidů se vždy skládá ze dvou konjugovaných částí spojených amidickou vazbou. Jedna část pochází z kyseliny anthranilové a může jí být buď samotná kyselina anthranilová nebo její hydroxylované či methoxylované deriváty: 4-hydroxyanthranilová kyselina, 5-hydroxyanthranilová kyselina, 4,5-dihydroxyanthranilová kyselina či 5-hydroxy-4-methoxyanthranilová kyselina. Druhou částí bývá zpravidla kyselina skořicová nebo od ní odvozené látky: kyselina kávová, kyselina *p*-kumarová či kyselina ferulová (Wise, 2014; Jastrebova et al., 2006). Dále byly popsány avenanthramidy s dlouhým řetězcem mající ve své struktuře dvě konjugované dvojité vazby. Tyto ethylenové homology běžných AVN, mají ve své struktuře o jednu dvojitou vazbu více a nazývají se avenaluminy (Collins, 1991).

V současné době lze pozorovat zvýšený zájem o analýzu a stanovení AVN ve vzorcích za využití hmotnostních spektrometrů s vysokým rozlišením (Wu et al., 2018; Schär et al., 2018; Walsh et al., 2018; de Bruijn et al., 2019; Xie et al., 2017; Ishihara et al., 2014). Mezi komerčně dostupnými hmotnostními spektrometry s vysokým rozlišením se zde výborně etabloval tandemový hmotnostní spektrometr na bázi kvadrupól-Orbitrap. Tento tandemový hmotnostní spektrometr lze použít nejen pro stanovení obsahu látek a jejich sledování, ale i jako pomůcku pro určení struktury a identifikaci neznámých látek díky kombinaci měření hmotnostních spekter ve vysokém rozlišení a zároveň s vysokou přesností měřených hmot. Toto umožňuje za pomoci pokročilých softwarových nástrojů analýzy naměřených hmotnostně spektrometrických dat a jejich porovnávání s databázemi určit i elementární složení pozorovaných fragmentů látky v naměřeném hmotnostním spektru a tím dohromady složit i celou strukturu zkoumané látky (Lucci et al., 2017; Koistinen et al., 2017).
Cílem této studie bylo vyvinout rychlou (doba analýzy max. cca 15 min), jednoduchou a spolehlivou metodu vhodnou pro analýzu co nejširšího spektra avenanthramidů v extraktech ovesného šrotu. Tato metoda využívá separaci AVN za pomocí ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) spojené s tandemovým hmotnostním spektrometrem Q-Orbitrap jako detektorem vhodným pro identifikaci a kvantifikaci zkoumaných AVN. Vyvinutá metoda byla validována na třech komerčně dostupných standardech AVN a použita ke stanovení profilu a variability obsahu AVN v 10 zkoumaných odrůdách ovsa.

Materiál a metody

Chemikálie a rostlinný materiál

Standardy avenanthramidů: avenanthramid A (AVN A), avenanthramid B (AVN B), avenanthramid C (AVN C) a verapamil hydrochlorid jako vnitřní standard byly od Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Methanol (LC-MS grade, ≥99,9 %) byl nakoupen od Riedel de Haën (Seelze, Německo). Kyselina mravenčí (LC-MS grade, 99%) byla od VWR (Leuven, Belgie). Ultra-čistá voda byla vyrobena v Milli-Q deionizačním systému (Millipore, Bedford, MA, USA). Na obsah avenanthramidů bylo testováno celkem 10 původem velmi variabilních ovesných odrůd, z nichž 9 patří k druhu *Avena sativa* L.: Atego (CZE), Expander (AUT), Freddy (DEU), Husky (DEU), Korok (CZE), Poncho (FRA), Ranch (FRA), Roope (FIN), Valiant (NLD) a jeden k druhu *Avena nuda* L. Shadow (CAN). Po sklizni byl z každé odrůdy vyčleněn reprezentativní vzorek cca 50 g zrna, který byl skladován na tmavém a chladném místě (4°C) před dalším zpracováním.

Příprava standardů a zpracování vzorků

Kalibrační roztoky standardů AVN (AVN A, AVN B a AVN C) byly připraveny v methanolu v koncentračním rozmezí 1 - 10 000 ng.ml^{-1}. Roztoky byly skladovány v mrazáku (−18°C). Jako vnitřní standard byl užit verapamil v koncentraci 100 ng.ml^{-1}. Loupaná ovesná zrna byla rozemleta na šrot mlýnkem IKA A11 basic mill (IKA-werke, Staufen, Německo). Namletý šrot byl umístěn do plastových sáčků a skladován v lednici (4°C). Extrakce avenanthramidů byla provedena podle mírně modifikovaného postupu (Wu et al., 2018). Alikvót namletého šrotu (0,1 g) byl dvakrát extrahován do 1 ml extrakčního rozpouštědla (80% methanol s přídavkem verapamilu jako vnitřního standardu o koncentraci c = 100 ng.ml^{-1}) v mikrokumavkách v ultrazvukové vodní lázni (50°C) po dobu 1 hod. Poté byly vzorky centrifugovány (15 min, 13 500 ot.min^{-1}, 25°C). Odebrané supernatanty byly spojeny a přefiltrovány přes 0,2 − µm nylonové filtry (Thermo Scientific, Rockwood, TN, USA). Extrakty byly uchovány při −18°C před UHPLC-ESI-MS/MS analýzou.

UHPLC-ESI-MS/MS instrumentace a analýza

Chromatografický systém (Dionex UltiMate 3000 UHPLC system, Dionex Softron GmbH, Germany) se skládal z pumpy (HPG-3400RS), autosampleru (WPS-3000RS), odplyňovače

mobilní fáze (SRD-3400) a kolonového termostatu (TCC-3000RS). Detekce byla provedena v tandemovém hmotnostním spektrometru typu kvadrupól-Orbitrap QExactive (Themo Fisher Scientific, San Jose, CA, USA). Analýza byla provedena na koloně Ascentis Express column C18 (2,1 × 100 mm, 2,7 µm) od výrobce Supelco (Bellefonte, PA, USA). UHPLC-MS/MS systém byl vybaven vyhřívaným elektrosprejem (HESI-II). Analýzy byly zpracovány softwarem Xcalibur, verze 4.0. Separace byla provedena gradientovou elucí látek s 0,1% kys. mravenčí ve vodě jako rozpouštědlem A a methanolem s 0,1% kys. mravenčí jako rozpouštědlem B. UHPLC gradient: 0 min: 75% A + 25% B izokraticky, pak lineární gradient během 11,0 min na 25% A + 75% B. Kolona byla poté promyta 100% B po dobu 1 min. a nakonec ekvilibrována zpět na 75% A + 25% B během 2 min. Celková doba analýzy činila 14 min. Kolona byla temperována na 40°C, průtok mobilní fáze činil 0,35 $ml.min^{-1}$. ESI ionizace pracovala v pozitivním módu. PRM (parallel reaction monitoring) experiment byl použit pro kvantitativní analýzu cílových látek. Normalizovaná kolizní energie (NCE) pro MS/MS analýzy byla nastavena na hodnotu 20. Sprejovací napětí činilo 3,5 kV v pozitivním módu. Přístroj byl kalibrován za pomoci referenčních standardních roztoků od Thermo Fisher Scientific. Data byla zpracována softwarem Xcalibur, verze 4.0.

Validace metody, stanovení avenanthramidů a statistická analýza

Metoda analýzy UHPLC-MS/MS byla validována, tj. byly stanoveny parametry citlivosti (LOD-limit detekce, LOQ-limit kvantifikace), dále byla stanovena linearita, přesnost a opakovatelnost stanovení. Kalibrační přímky pro jednotlivé standardy AVN byly provedeny ve třech opakováních. Všechny analýzy pro validační měření byly provedeny šestkrát. Avenanthramidy byly identifikovány díky porovnání retenčních časů a MS/MS spekter s autentickými standardy a daty dostupnými z literatury (Xie et al., 2017; Ishihara et al., 2014; de Bruijn et al., 2019). Kalibrační přímky byly sestrojeny vynesením plochy píku analytu (po zkorigování na vnitřní standard verapamil) přes plochu píku referenčního standardu. Statistická analýza dat byla provedena za pomocí software Statistica 64 (TIBCO software, Palo Alto, CA, USA). Všechny vzorky byly analyzovány třikrát a výsledky byly otestovány na odlehlost za pomocí Grubbsova testu. Jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) a Tukeyův test byly použity k identifikaci významných rozdílů v obsahu AVN mezi jednotlivými kultivary na hladině významnosti $P \leq 0.05$ pomocí softwaru Statistica 7.0 CZ.

Výsledky a diskuze

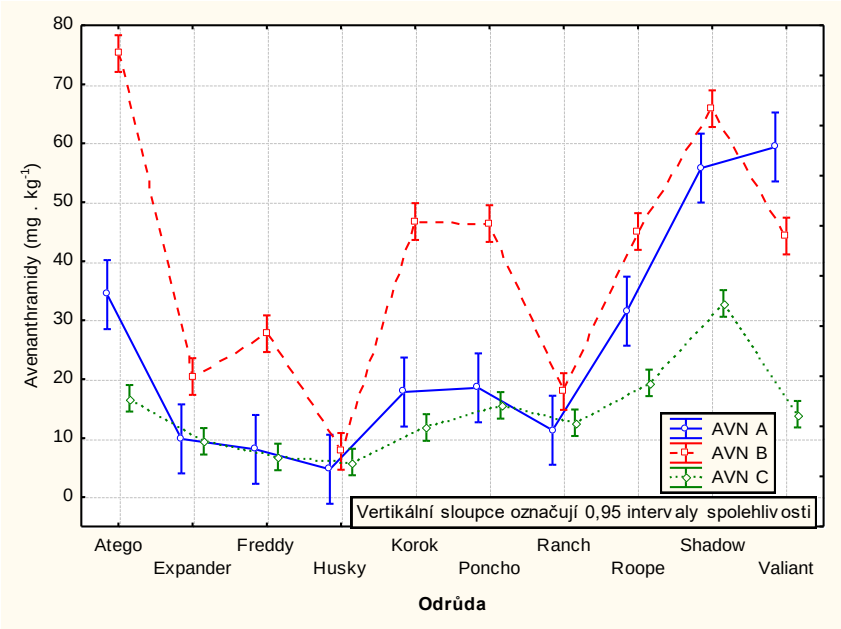
Pomocí systému hmotnostní spektrometrie UHPLC-MS/MS bylo ve vzorcích 10 odrůd ovsa setého a nahého identifikováno celkem 33 avenanthramidů. Nicméně jen 8 z nich bylo kvantitativně významných a proto jsme se přednostně zaměřili na jejich stanovení. Tyto avenanthramidy tvořily celkově v průměru kolem 90% celkového podílu AVN (Tab. 1).

Tabulka 1 Příklad variability 8 kvantitativně nejvýznamnějších avenathramidů (AVN)

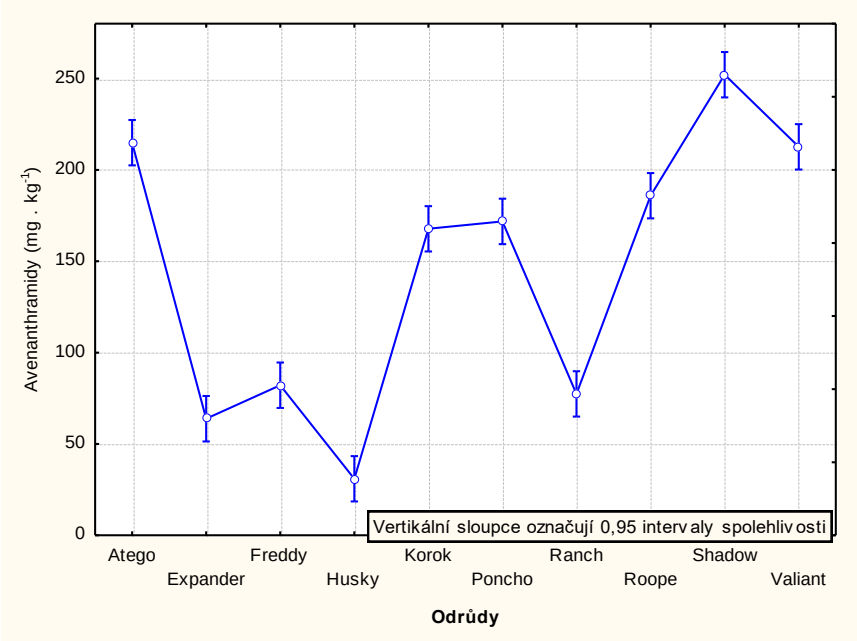
AVN	Průměr ($mg.kg^{-1}$)	Min ($mg.kg^{-1}$)	Max ($mg.kg^{-1}$)	Sm. Odch ($mg.kg^{-1}$)	Variabilita (%)	%-ký podíl
AVN A	**25,14**	4,71	59,37	21,12	84,02	17,23
AVN B	**39,73**	7,75	75,21	20,99	52,84	27,22
AVN C	**14,52**	5,95	32,83	8,26	56,90	9,95
AVN OO-1	**3,06**	0,30	5,35	1,78	58,12	2,09
AVN X	**7,69**	1,14	17,63	5,96	77,45	5,27
AVN Y	**6,48**	1,03	15,57	4,80	74,07	4,44
AVN O-1	**24,24**	4,26	42,65	12,66	52,23	16,61
AVN P-1	**9,06**	1,71	15,53	4,89	53,92	6,21

Avenanthramid s největším zastoupením byl AVN B, který v průměru zaujímal více jak 39% obsahu AVN v zrnech ovsa. Nicméně u všech 8 kvantitativně nejvýznamnějších avenathramidů byla pozorována vysoká odrůdová variabilita v rozsahu 52 – 84%. Je tak zřejmé, že byť jsou AVN sekundární metabolity a jejich obsah je významně ovlivňován externími (negenetickými) faktory (Redaelli et al., 2016), námi nalezené odrůdové rozdíly jsou rovněž statisticky vysoce průkazné (Tab. 1, Obr. 1 a 2).

Obr. 1 Variabilita vybraných tří dominantních avenanthramidů (AVN - A, B a C) u souboru 10 odrůd ovsa



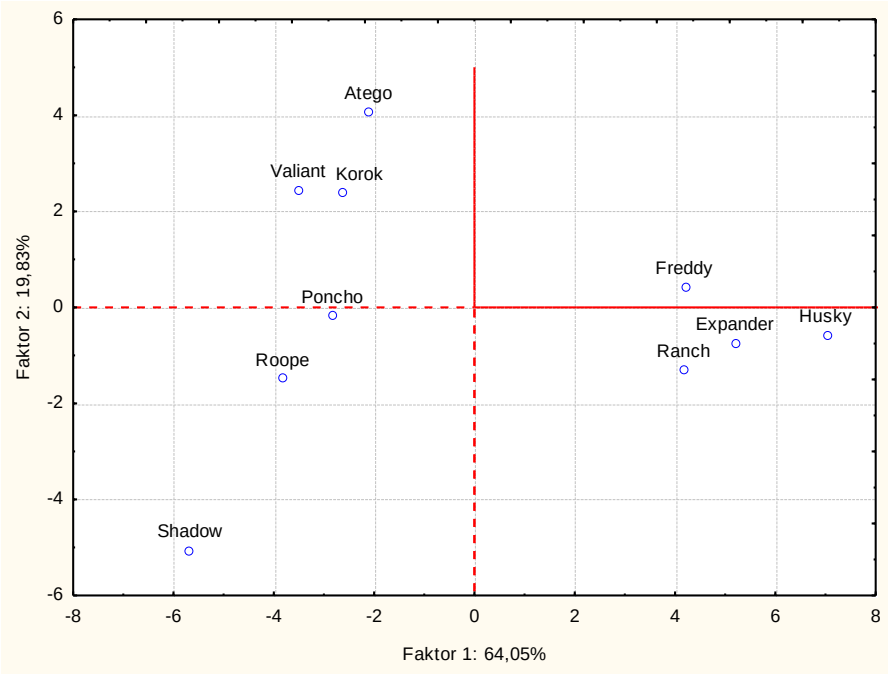
Obr. 2 Variabilita obsahu sumy sledovaných avenanthramidů u souboru 10 odrůd ovsa



Z pohledu nejvyššího zastoupení sumy AVN je velmi zajímavá česká odrůda Atego, kanadská odrůda ovsa nahého Shadow a také nizozemská odrůda Valiant. Celkový obsah AVN u těchto 3 výše uvedených odrůd byl 5 - 6 násobně vyšší ve srovnání např. s odrůdou Husky (Tab. 1,

Obr. 1 a 2). Je tak zřejmé, že tyto odrůdy skýtají významný šlechtitelský potenciál k dosažení vysokého obsahu avenathramidů. Další šlechtění může být zaměřeno zejména na vyšší obsah AVN C, který vykazuje přibližně 1,5-násobně vyšší antioxidační aktivitu než AVN A a AVN B (Yang et al., 2014). Také avenanthramidy obsahující jednu nebo dvě methoxy skupiny ve své struktuře, jako mají např. AVN X, Y nebo P, mohou vykazovat, v porovnání s ostatními AVN, relativně vyšší antioxidační aktivitu (Kulichová et al., 2018).
Finální PCA analýza charakterizující vzájemnou podobnost kultivarů ovsa na podkladě obsahu změřených avenanthramidů je zobrazena na obr. č. 3. V projekční rovině 2 hlavních komponent se vytvořil 1 výraznější shluk 4 odrůd s celkově nejnižšími obsahy AVN. Zbylé odrůdy pak zaujímají spíše oddělené pozice, přičemž především odrůda nahého ovsa Shadow je významně oddělena od obou dalších, na obsah AVN rovněž bohatých odrůd, Atego a Valiant, což souvisí s výrazně odlišným zastoupením jednotlivých AVN u těchto odrůd (Obr. 3).

Obr. 3 Projekce testovaných odrůd ovsa do faktorové roviny dle kompletního složení obsahu jednotlivých avenanthramidů



Závěr

Naše výsledky potvrzují, že v ovsu se vyskytuje celá řada různých typů AVN, přičemž jen asi 8 z nich jsou kvantitativně nejvýznamnější typy. Práce současně potvrdila, že odrůdové diference v obsahu AVN jsou velmi výrazné a statisticky signifikantní. Lze tak předpokládat že případná šlechtitelská strategie založená na vhodném výběru odrůd s vysokým obsahem AVN bude úspěšná.

Dedikace

Tato práce byla podpořena řešením výzkumného záměru MZe ČR QJ1510163 a RO0418. Zvláštní poděkování patří pracovníkům šlechtitelské stanice Selgen a.s. - pracoviště Krukanice za poskytnutí testovaných odrůd ovsa.

Použitá literatura

Collins, F. W., McLachlan, D. C., & Blackwell, B. A. (1991). Oat phenolics: avenalumic acids, a new group of bound phenolic acids from oat groats and hulls. *Cereal Chemistry*, *68* (2), 184-189.

de Bruijn, W. J. C., van Dinteren, S., Gruppen, H., & Vincken, J.-P. (2019). Mass spectrometric characterisation of avenanthramides and enhancing their production by germination of oat (*Avena sativa*). *Food Chemistry*, *277*, 682-690.

Ishihara, A., Kojima, K., Fujita, T., Yamamoto, Y., & Nakajima, H. (2014). New series of avenanthramides in oat seed. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, *78* (12), 1975-1983. http://doi.org/10.1080/09168451.2014.946390.

Jastrebova, J., Skoglund, M., & Nilsson, J. (2006). Selective and sensitive LC-MS determination of avenanthramides in oats. *Chromatographia*, *63* (9-10), 419-423. http://doi.org/10.1365/s10337-006-0769-y.

Koistinen, V. M., & Hanhineva, K. (2017). Mass Spectrometry-based Analysis of Whole-grain Phytochemicals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57* (8), 1688-1709. http://doi.org/10.1080/10408398.2015.1016477.

Kulichová, K., Sokol, J., Maliarová, M. (2018). Štúdium avenantramidov ako významnych biologicky aktívnych látok fenolového charakteru. *Chem. Listy*, *112*, 848-854.

Lucci, P., Sauina, J., & Núñez, O. (2017). Trends in LC-MS and LC-HRMS analysis and characterization of polyphenols in food. *TRAC Trends in Analytical Chemistry*, *88*, 1-24. http://doi.org/10.1016/j.trac.2016.12.006.

Redaelli, R., Dimberg, L., Germeier, Ch. U., Berardo, N., Locatelli, S. & Guerrini, L. (2016). Variability of tocopherols, tocotrienols and avenanthramides contents in European oat germplasm. *Euphytica*, *207*, 273–292. https://doi.org/10.1007/s10681-015-1535-8.

Schär, M., Corona, G., Soycan, G., Dine, C., Kristek, A., Alsharif, S. N. S., Behrends, V., Lovegrove, A., Shewry, P. R., & Spencer, J. P. E. (2018). Excretion of avenanthramides, phenolic acids and their major metabolites following intake of oat bran. *Molecular Nutrition & Food Research*, *62*, 1700499. https://doi.org/10.1002/mnfr.201700499.

Walsh, J., Haddock, J., Blumberg, J. B., McKay, D. L., Wei, X., Dolnikowski, G., & Chen, C.-Y. O. (2018). Identification of methylated metabolites of oat avenanthramides in human plasma using UHPLC QToF-MS. *International Journal of Food Science and Nutrition 69 (3)*, 377-383. https://doi.org/10.1080/09637486.2017.1371116.

Wise, M. L. (2014). Avenanthramides: Chemistry and biosynthesis. In Y. Chu (Ed.), *Oats Nutrition and Technology* (pp. 195-226). John Wiley & Sons. Ltd.

Wu, W., Tang, Y., Yang, J., Idehen, E., & Sang, S. (2018). Avenanthramide aglycones and glucosides in oat bran: Chemical profile, levels in commercial oat products, and cytotoxicity to human colon cancer cells. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, *66*, 8005-8014. https://doi.org/ 10.1021/acs.jafc.8b02767.

Xie, Z., Mui, T., Sintara, M., Ou, B., Johnson, J., Chu, Y., O´shea, M., Kasturi, P., & Chen, Y. (2017). Rapid quantitation of avenanthramides in oat-containing products by high-performance liquid chromatography coupled with triple quadrupole mass spectrometry (HPLC-TQMS). *Food Chemistry*, *224*, 280-288. http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.12.079.

Kontaktní adresa:

RNDr. Michal Jágr, Ph.D.
Kvalita rostlinných produktů, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507/73, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, e-mail: jagr@vurv.cz.

STUDIUM VLASTNOSTÍ A BIOLOGICKÝCH AKTIVIT MOUKY LNU OLEJNÉHO

A study of the properties and biological activities of the flaxseed flour

Jarošová M., Bárta J., Bártová V.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

Abstrakt

Lněná mouka představuje cenný zdroj různých látek nejen z pohledu výživy, ale i funkčních vlastností. Tato práce byla zaměřena právě na studium vlastností a biologických aktivit mouky získané ze lněných výlisků, které byly zároveň zbavené slizotvorných látek. Mouka byla získána ze šesti odrůd olejného lnu (Agram, Libra, Amon, Agriol, Raciol a Flanders). Byla prokázána odrůdová variabilita v obsahu dusíkatých látek, obsahu celkových polyfenolů, antioxidační aktivitě a technologických parametrech (rozpustnost, schopnost vázat vodu a tuk). Nejvyšší antioxidační aktivita a celkový obsah polyfenolů byl zjištěn u odrůdy Agram.

Klíčová slova: len olejný, protein, antioxidační aktivita, polyfenoly

Abstract

The flaxseed flour presents the significant source of diverse compounds, not even from the point of view of a nutrition but also within functional properties. This study was precisely focused on the study of properties and biological activities of the flour obtained from the linseed cake without mucilage fraction. Flaxseed flour was obtained from six cultivars of flax (Agram, Libra, Amon, Agriol, Raciol and Flanders). It was confirmed the variability between cultivars in the content of crude protein, total polyphenols, antioxidant aktivity and technological parameters (the solubility and ability to absorb water and lipids). The highest antioxidant activity and total polyphenols content was observed within the cultivar Agram.

Keywords: flaxseed, protein, antioxidant activity, polyphenols

Úvod

Semeno lnu setého (*Linum usitatissimum* L.) patří mezi funkční potraviny prospěšně ovlivňující zdraví. Vysoká nutriční hodnota je dána zejména významným obsahem α-linolenové kyseliny, bílkovin. Lněné semeno je rovněž nejbohatším zdrojem rostlinných lignanů (Kaushik *et al.,* 2016). Obsahuje 40-45 % mastných kyselin, 20-25 % bílkovin, 20-25 % vlákniny a 1 % lignanů (Rabetafika *et al.,* 2011). Odtučněná lněná mouka pak může obsahovat až 35-40 % bílkovin (Wu *et al.,* 2019). Podstatnou součástí lněného semene jsou právě bílkoviny, které tvoří komplex dvou frakcí. První frakci (globuliny - 80 %) zastupují proteiny rozpustné v solných roztocích s vysokou molekulovou hmotností 144 kDa a druhou frakci (20 %), ve vodě rozpustné, nízkomolekulární proteiny albuminy (Ayad, 2010). Proteiny lněného semene, podobně jako polysacharidy lněného semene, vykazují vysokou emulgační aktivitu a pěnivost. Tyto specifické vlastnosti předurčují možné použití těchto bílkovin, ve formě izolátů, v různých potravinářských produktech. Problémem při izolaci bílkovin, případně dalších látek, ze semen lnu může být skutečnost, že polysacharidy v osemení brání oddělení proteinů z lněného semene v důsledku bobtnání slizotvorných látek ve vodném prostředí. Odstraněním polysacharidů ve vodném prostředí před extrakcí lze však výrazně zvýšit čistotu extrahovaných proteinů (Kaushik, 2015).

Ve výliscích, po lisování za studena, zůstává ještě nutričně významný podíl oleje, proto výlisky rovněž přispívají ke zvýšení příjmu omega-3 mastných kyselin. Vylisovaná semena se melou na různé zrnitosti, komerčně jsou dostupné pod názvem lněná mouka nebo vláknina. Přídavek lněné mouky do řady potravin, i doma připravovaných pokrmů, přináší prospěch nejen z

hlediska výživy, ale i z pohledu některých funkčních vlastností, například schopností vázat vodu a tuk, zahušťovat výrobky, zlepšovat vlastnosti těst apod. (Brát a Šarman, 2019; Ayad, 2010).

Mezi další významné látky obsažené v lněném semeni, jsou fenoly, látky antioxidační povahy, které jsou zastoupeny lignany, fenolovými kyselinami, flavonoidy, fenylpropanoidy a tříslovinami (Kasote, 2013; Imran *et al.,* 2015; Bouaziz *et al.*, 2016). Obsah lignanů v semenech lnu je vyšší než 1330 mg/100g semene, přičemž hlavním zástupcem je secoisolariciresinol diglukosid (SDG), (Liu *et al.*, 2018). Lignany ovlivňují řadu biochemických pochodů v organismu. Vědecké studie se zabývají jejich antivirovou, antioxidační, fytoestrogenní a antikarcinogenní aktivitou (Brát a Šarman, 2019).

Cílem této práce bylo stanovit obsah bílkovin a dusíkatých látek (NL) v odtučněné mouce zbavené rozpustné vlákniny u šesti odrůd olejného lnu. Dále byly porovnány funkční parametry a celkový obsah polyfenolů a byla stanovena antioxidační aktivita pomocí metody využívající radikály ABTS a DPPH.

Materiál a metody

Pro extrakci lněného slizu ve vodném prostředí při 50 °C byly vybrány tři odrůdy žlutosemenné (Amon, Agriol, Raciol) a dvě hnědosemenné (Agram,Libra, Flanders). Odrůdy Agram a Raciol mají střední obsah kyseliny α-linolenové (ALA), odrůdy Libra a Flanders mají vysoký obsah ALA a naopak odrůdy Amon a Agriol mají nízký obsah ALA. Všechny vzorky semen lnu olejného byly dodány ze společnosti AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o. Semena byla nejprve odslizena ve vodní lázni za teploty 50°C, následně vysušena při 50°C a poté následovalo odtučnění pomocí kuchyňského lisu na olej. Výlisky byly rozdrceny do formy mouky na planetovém mlýnu Pulverisette 6 (FRITSCH, Německo).

Obsah bílkovin byl stanoven spektrofotometricky metodou BCA za použití kitu Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, USA). Pro zjištění **obsahu dusíkatých látek** byla využita modifikovaná Dumasova metoda pomocí analyzátoru dusíku Rapid N Cube (Elementar, Německo), přičemž koeficient pro výpočet dusíkatých látek měl standardně používanou hodnotu 6,25. Parametry **rozpustnost ve vodě** a **vaznost vody celkovou moukou** byly stanoveny následujícím způsobem: Do zvážených 2 ml centrifugačních mikrozkumavek bylo naváženo 100 mg mouky a přidán 1 ml deionizované vody a směs byla třepáním propojena. Suspenze byla ponechána 30 minut v klidu a poté centrifugována (4500 rpm, 20 °C, 15 min). Supernatant byl pečlivě slit a vlhký pelet byl zvážen a lyofilizován a znovu zvážen. Rozpustný podíl představoval relativní podíl rozdílu hmotnosti původní navážky a lyofilizovaného vzorku k hmotnosti původní navážky. Objem vázané vody byl spočítán z rozdílu původní navážky a vlhkého peletu. **Vaznost tuku** byla stanovena stejným způsobem, ale místo vody byl použit řepkový olej.

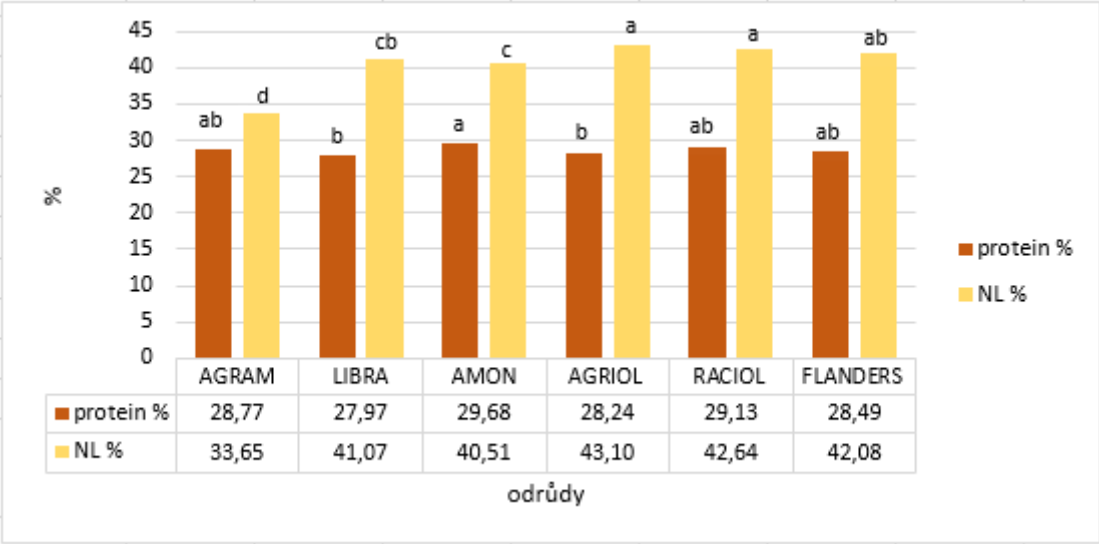
Celkový obsah polyfenolů byl stanoven spektrofotometricky podle Lachmana a kol. (2006) pomocí Folin-Ciocalteauova činidla po předchozí extrakci v 80 % ethanolu. Výsledky byly vyjádřeny jako ekvivalenty gallové kyseliny v mg (EGK – ekvivalent gallové kyseliny) na 1 g sušiny. **Antioxidační aktivita** byla měřena ve vzorcích po extrakci v 80 % ethanolu za použití radikálu DPPH (1,1-difenyl-2-pikrylhydrazylem) a radikálu ABTS (2,2-azinobis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonát). Hodnoty antioxidační aktivity za použití radikálů ABTS a DPPH byly vyjádřeny jako ekvivalenty askorbové kyseliny v mg (EAK – ekvivalent askorbové kyseliny) v přepočtu na 1 g sušiny mouky. Antioxidační aktivita byla hodnocena dle postupu uvedeného v práci Šulc a kol. (2007). Uvedené analýzy byly prováděny vždy ve třech opakování. Získaná data byla statisticky vyhodnocena pomocí programu STATISTICA CZ, verze 12 (StatSoft, Inc.). Pro zjištění a porovnání rozdílů mezi skupinami dat a jejich závislostmi byla použita metoda jednocestné analýzy variance (ANOVA) využívající testu homogenity rozptylů pomocí Fisherova LSD testu.

Výsledky a diskuze

V grafu 1 jsou uvedené výsledky obsahu proteinu a NL u lněné mouky zbavené mastných kyselin a rozpustné vlákniny. Silva a kol. (2017) uvádí ve své práci relativní obsah NL (N*6,25) u odtučněné lněné mouky 33,36 %, který se shoduje s námi zkoumanou odrůdou Agram, jak je uvedeno v grafu 1. Ostatní odrůdy měly vyšší obsah NL v rozmezí 40,5-43,1 % NL. Mezi vybranými odrůdami nebyl výrazný rozdíl v obsahu proteinů, který se pohyboval od 27,97-29,13 %.

Tabulka 1 shrnuje průměrné hodnoty antioxidační aktivity, celkový obsah polyfenolů a funkční parametry u sledovaných odrůd. Zjištěný celkový obsah polyfenolů (TPC) a antioxidační aktivita se u jednotlivých odrůd lišila a byla značně vyšší u odrůdy Agram. Byly potvrzeny průkazné rozdíly mezi odrůdami u parametrů: rozpustný podíl ve vodě, vazba vody moukou a vazba tuku.

Graf 1: Obsah bílkovin a dusíkatých látek v lněné mouce



Pozn.: NL = dusíkaté látky; Neshodná písmena u hodnot ve sloupcích indikují statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti $p < 0,05$

Tab. 1: Antioxidační aktivita, celkový obsah polyfenolů a vybrané funkční vlastnosti lněné mouky

	ABTS	DPPH	TPC	Funkční parametry		
	mg EAK /g sušiny mouky	mg EAK/g sušiny mouky	mg EGK/g sušiny mouky	Rozpustný podíl ve vodě [%]	Vaznost vody moukou [g vody/g sušiny]	Vaznost tuku moukou [g tuku/g sušiny]
AGRAM	3,84 a	11,38 a	6,25 a	22,33 ab	2,49 bc	1,08 a
LIBRA	2,68 b	9,29 bc	4,03 d	24,74 a	2,26 d	0,88 c
AMON	2,63 b	9,05 bc	5,11 b	23,01 ab	2,35 cd	1,06 a
AGRIOL	2,38 b	8,82 c	4,20 cd	23,11 ab	2,56 b	1,09 a
RACIOL	2,53 b	9,68 b	5,28 b	21,67 b	2,90 a	0,96 b
FLANDERS	2,37 b	9,71 b	4,68 bc	22,07 b	2,50 cb	0,84 c

Pozn.: TPC – celkový obsah polyfenolů, EAK – ekvivalent askorbové kyseliny, EGK – ekvivalent gallové kyseliny; Neshodná písmena u hodnot ve sloupcích indikují statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti $p < 0,05$.

Závěr

V rámci této studie byly zjištěny meziodrůdové rozdíly v obsahu dusíkatých látek, celkového obsahu polyfenolů a antioxidačních aktivitách. Nejvyšší antioxidační aktivita a celkový obsah polyfenolů byl zaznamenán u hnědosemenné odrůdy Agram. V rámci zjišťování technologických parametrů byla v případě ukazatele schopnosti vázat vodu nejvíce funkční mouka odrůdy Raciol. Pro zadržení tuku byla nejvhodnější mouka odrůdy Agriol. Lněné výlisky jsou nutričně hodnotnou surovinou, která v současnosti již neslouží pouze jako krmivo pro zvířata, ale lze jimi obohatit i potravinářské výrobky.

Dedikace

Práce vznikla v rámci řešení výzkumných projektů GAJU 033/2018/Z a GAJU 112/2016/Z.

Použitá literatura

Bouaziz, F., M. Kouba, F. Barba, S. Roohinejad a S. Chaabouni., 2016: Antioxidant Properties of Water-Soluble Gum from Flaxseed Hulls. *Antioxidants — Open Access Journal*. 5(3), 1-10.

Brát J., L. Šarman. Potenciál využití lnu v potravinářství. *Sborník přednášek 57. Mezinárodní konference o olejích a tucích*. 2019, 68-71

Silva G. D. E, F., B. Miralles, B. Hernández-Ledesma, L. Amigo, A. H. Iglesias, F. G. R. Reyes a F. M. Netto. Influence of Protein–Phenolic Complex on the Antioxidant Capacity of Flaxseed (Linum usitatissimum L.) Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2017, 65, 800-809.

Imran, M., N. Ahmad, F. M. Anjum, M. K. Khan, Z. Mushtaq, M. Nadeem a S. Hussain., 2015: Potential protective properties of flax lignan secoisolariciresinol diglucoside. *Nutrition Journal*. 2015,14(1).

Kasote, D. M., 2013: Flaxseed phenolics as natural antioxidants. *International Food Research Journal*. (20), 27-34.

Kaushik, P., K. Dowling, R. Adhikari, C. J. Barrow a B. Adhikari., 2017: Effect of extraction temperature on composition, structure and functional properties of flaxseed gum. *Food Chemistry*. 333-340.

Kaushik, P., K. Dowling, R. Adhikari, C. J. Barrow a B. Adhikari., 2016: Effect of extraction temperature on composition, structure and functional properties of flaxseed gum. *Food Chemistry*. 333-340.

Lachman J., Hamouz K., Čepl J., Pivec V., Šulc M., Dvořák P. (2006): Vliv vybraných faktorů na obsah polyfenolů a antioxidační aktivitu hlíz brambor. Chemické Listy 100: 522-527

Liu, J., Y. Y. Shim, T. J. Tse, Y. Wang a M. J.T. Reaney., 2018: Flaxseed gum a versatile natural hydrocolloid for food and non-food applications. *Trends in Food Science & Technology*. 75, 146-157.

Rabetafika, H. N., V. Van Remoortel, S. Danthine, M. Paquot a Ch. Blecker. Flaxseed proteins: food uses and health benefits. *International Journal of Food Science + Technology*. 2011, 46**,** 221-228.

Šulc M., Lachman J., Hamouz K., Orsák M., Dvořák P., Horáčková V., 2007: Výběr a zhodnocení vhodných metod pro stanovení anti-oxidační aktivity fialových a červených odrůd brambor. Chemické Listy 101: 584-591.

Wu, S., X. Wang, W. Qi a Q. Guo. Bioactive protein/peptides of flaxseed: A review. *Trends in Food Science & Technology*. 2019, 92, 184-193.

Kontaktní adresa:

Ing. Markéta Jarošová
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta – katedra Genetiky a speciální produkce rostlinné
Na Sádkách 1780, 370 05 České Budějovice
email: jarosm08@zf.jcu.cz

HODNOCENÍ IMUNOREAKTIVITY VYBRANÝCH ODRŮD OVSA VE VZTAHU K JEJICH POTENCIÁLNÍMU VYUŽITÍ PRO CELIAKY

Assessment of imunoreactivity in selected oats cultivars with respect to their potential usage for celiacs

Kosová K., Vítámvás P., Cit Z., Dvořáček V.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Abstrakt

Oves setý (*Avena sativa* L.) se v poslední době ukazuje jako perspektivní alternativa k obilninám ze skupiny Triticeae (pšenice, ječmen, žito) pro lidi trpící některou z forem nesnášenlivosti lepku, z nichž nejvýznamnější je celiakie. Zásobní proteiny ovesného zrna aveniny obsahují ve srovnání s homologickými proteiny pšenice (gluteniny a gliadiny), ječmene (hordeiny) a žita (sekaliny) méně glutaminu a prolinu a jsou lépe hydrolyzovatelné proteasami trávicího ústrojí, navíc je jejich celkový obsah v zrnu nižší. Ukazuje se však, že existuje vysoká genetická (alelická) variabilita v sekvencích aveninů a hydrolyzovaných peptidů mezi různými genotypy ovsa. Klinické testy ukazují, že většina genotypů ovsa nevykazuje imunologickou reakci, avšak některé genotypy ovsa ano. Bylo popsáno několik aveninových peptidů obsahujících epitopy reagující na protilátky proti glutenovým peptidům (R5 moAb, G12 moAb). Cílem našeho příspěvku bylo hodnocení relativní akumulace imunoreaktivních aveninů ve vybraných kultivarech ovsa pomocí imunoblotu a protilátek A1 a G12. Výsledky denzitometrické analýzy imunoblotů ukázaly významné kvantitativní rozdíly v relativní akumulaci imunoreaktivních aveninů mezi studovanými kultivary. Kultivary ovsa s relativně nejnižším obsahem imunoreaktivních aveninů Poncho a Ranch představují perspektivní materiál z hlediska bezpečnosti pro celiaky.

Klíčová slova: oves; celiakie; lepek; aveniny; genetická variabilita; imunoreaktivita aveninových peptidů

Abstract

Oats (*Avena sativa* L.) becomes considered a promising alternative to Triticeae cereals (wheat, barley, rye) for persons suffering from any kind of gluten intolerance, especially celiac disease. Oat prolamins avenins reveal lower content in grain with respect to Triticeae prolamins; moreover, their molecules contain less glutamine and proline thus yielding shorter peptides during hydrolysis in gut. Clinical tests revealed no immunogenic response to anti-gluten primary antibodies in most oat genotypes tested; however, gluten levels exceeding the limit of 20 ppm were determined in certain oat genotypes. Some avenin-derived peptides revealing epitopes interacting with anti-gluten primary antibodies such as R5 moAb or G12 moAb were already described. The aim of our study was to evaluate relative abundance of immunoreactive avenins in selected oat cultivars using immunoblots and A1 or G12 primary antibodies. Results of densitometric analyses of immunoblots revealed significant quantitative differences in relative abundance of immunoractive avenins with cultivars Poncho and Ranch revealing relatively lowest abundance of immunoreactive avenins and thus representing a potentially perspective material with respect to food safety for celiacs.

Keywords: oats; celiac disease; avenins; genetic variability; avenin-derived peptide immunoreactivity

Úvod

Oves setý (*Avena sativa* L.) představuje možnou alternativu k obilninám ze skupiny Triticeae (pšenice, ječmen, žito) pro osoby trpící některou z forem nesnášenlivosti lepku, z nichž nejvýznamnější je celiakie. Celiakie je geneticky podmíněná forma nesnášenlivosti lepku, tj. souboru obtížně hydrolyzovatelných peptidů bohatých na aminokyseliny glutamin a prolin, vznikajících v trávicím ústrojí při hydrolýze zásobních proteinů prolaminů ze zrn obilovin. Lidé trpící celiakií jsou nositeli alel HLA-DQ2.2/2.5/8 receptorů na membránách dendritických buněk, které rozpoznávají specifické sekvence (epitopy) glutenových peptidů. Z glutenových peptidů je považován za nejreaktivnější peptid o délce 33 aminokyselin (33 mer; p57-89) odvozený z repetitivní oblasti pšeničného α2-gliadinu. V sekvenci α2-gliadinového 33meru bylo identifikováno šest epitopů (PFPQPQLPY, PQPQLPYPQ, YPQPQLPY, PYPQPQLPY, PQPQLPYPQ) rozpoznávaných HLA-DQ2.5 receptorem (Balakireva a Zamyatnin 2016; De Re et al. 2017).

Zrno ovsa obdobně jako zrna obilnin ze skupiny Triticeae obsahuje několik skupin zásobních proteinů: albuminy, globuliny, gluteliny a prolaminy. Ovesné prolaminy zvané aveniny jsou sice homologní k pšeničným gluteninům a gliadinům, ječmenným hordeinům a žitným sekalinům, ale zároveň se od nich v některých ohledech odlišují. Různé genotypy ovsa kódují průměrně cca 10 aveninových genů (Londono et al. 2013), které se dle sekvence dělí do tří skupin (aveniny A, B, C). Všechny tři skupiny aveninů mají ve svých molekulách tři konzervativní oblasti A, B a C, a dvě variabilní oblasti, které právě obsahují úseky bohaté na glutamin (G) a prolin (P); na rozdíl od pšeničných gliadinů jsou však u aveninů tyto oblasti kratší, což se projevuje i na celkově menším podílu G+P na celkovém obsahu aminokyselin u aveninů ve srovnání s jinými prolaminy (Real et al. 2012). Navíc je celkový obsah aveninů v ovesných zrnech ve srovnání s pšeničnými, žitnými a ječmennými prolaminy nižší a dosahuje pouze cca 2% z celkové hmotnosti zrna a cca 15% z celkového obsahu proteinů v zrnu (Real et al. 2012). Z hlediska bezpečnosti potravin pro celiaky je nařízením EU stanoven limit obsahu glutenu 20 ppm v tzv. bezlepkových potravinách bezpečných pro celiaky; oves je dle nařízení EU považován za bezpečnou potravinu vhodnou pro zařazení do tzv. bezlepkové diety (nařízení Evropské komise 41/2009).

Proti glutenovým peptidům z pšenice bylo vytvořeno několik typů primárních protilátek lišících se svojí reaktivitou, resp. detekovanými cílovými peptidy. Protilátka R5 moAb (RIDASCREEN ELISA kit) se váže na epitopy QQPFP, QQQFP, LQPFP, a QLPFP, a rovněž v menší míře na epitopy QLPTF, QQSFP, QQTFP, PQPFP, a QQPYP, a je využívána k detekci glutenových peptidů u pšenice, ječmene a žita (Kahlenberg et al. 2006). Dalším typem anti-glutenové protilátky jsou protilátka G12 moAb, která se váže na epitopy QPQLPY, QPQQPY a QPQLPF přítomné v 33mer glutenovém peptidu v α2-gliadinu, která vykazuje limitovanou reaktivitu s aveniny, protilátka A1, která se váže na epitop QLPYPQP v 33mer glutenovém peptidu v α2-gliadinu, a protilátka moAb 401.21 rovněž nazývaná Skerritt, která se váže na epitopy PQPQPFPQE a PQQPPFPEE (Skerritt et al. 2000).

Cílem naší práce byla detekce a relativní kvantifikace imunoreaktivních aveninů pomocí SDS-PAGE a imunoblotu za použití protilátek A1 a G12 v sortimentu kultivarů ovsa dodaném SŠ Krukanice (Selgen, a.s.). Rychlý screening byl zaměřen na identifikaci kultivarů ovsa obsahující aveniny s nízkou imunoreaktivitou vůči protilátkám A1, resp. G12, které by mohly být potenciálně zajímavé z hlediska bezpečnosti pro celiaky.

Materiál a metodika

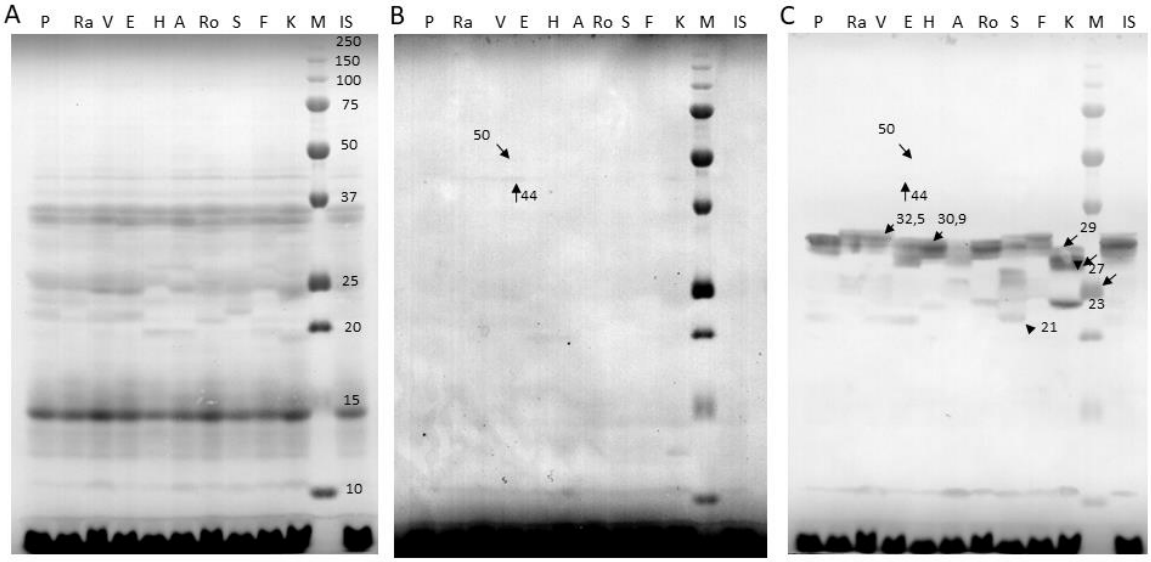
Bylo hodnoceno 10 kultivarů ovsa dodaných SŠ Krukanice (Selgen, a.s.): Atego, Expander, Freddy, Husky, Korok, Poncho, Ranch, Roope, Shadow, Valiant. Frakce zásobních proteinů prolaminů byly extrahovány z rozdrcených zralých zrn pomocí pufru o složení 2% (w/v) SDS, 2-chlorethanol (25 ml/100 ml pufru), pyronin Y (50 mg/100 ml pufru) v množství 250 µl pufru na jedno zralé zrno. Rozdrcená zrna s přidaným extrakčním pufrem byla inkubována po dobu 4 hodin, poté byly vzorky zcentrifugovány (14,000 g, 10 min) a supernatanty přepipetovány do nové mikrozkumavky. Vzorky byly rozpuštěny v tzv. vzorkovém pufru pro jednorozměrnou elektroforézu obarveném bromfenolovou modří (Bio-Rad) v poměru 1:1 (v/v), zahřáty na 95°C (5 min) a následně byly rozděleny pomocí SDS-PAGE (12,5% akrylamid spodní gel, 15 mA na gel) společně s molekulárním markerem Precision Plus Protein Standards All Blue (Bio-Rad). Po doputování čela vzorků obsahujícího bromfenolovou modř na spodní okraj gelu byla elektroforéza zastavena a rozdělené proteiny byly přeneseny pomocí tzv. semi-dry blotu na nitrocelulosovou membránu. Kvalita přenosu proteinů byla detekována obarvením membrány Ponceau S, která byla následně po oskenování odmyta, a membrána byla po blokování tzv. blokačním pufrem (4,5% odtučněné sušené mléko) a odmytí TBS pufrem použita pro inkubaci rozdělených proteinů s primární protilátkou A1 (mouse monoclonal antibody; Biomedal; 1:1000, 1,5% odtučněné sušené mléko, 4 h inkubace) a G12 (mouse monoclonal antibody, Biomedal; 1:1000, 1,5% odtučněné sušené mléko, 4 h inkubace). Po následném promytí TTBS (TBS plus Tween-20) pufrem a inkubaci se sekundární anti-mouse protilátkou (1:3000, 1,5% odtučněné sušené mléko, 2 h inkubace) a kolorimetrické vizualizaci pomocí NBT/BCIP byly membrány oskenovány pomocí denzitometru GS-800 (Bio-Rad) a po odečtu pozadí byla vyhodnocena relativní denzita detekovaných bandů pomocí softwaru QuantityOne verze 4.6.2 (Bio-Rad). Pro denzitometrickou analýzu byly použity čtyři biologická opakování (n=4) a získané hodnoty relativní abundance byly vyhodnoceny pomocí ANOVA, Duncanův test rozpětí na hladině významnosti 0.05 pomocí softwaru STATISTICA, verze 13.3 (TIBCO Software Inc.).

Výsledky

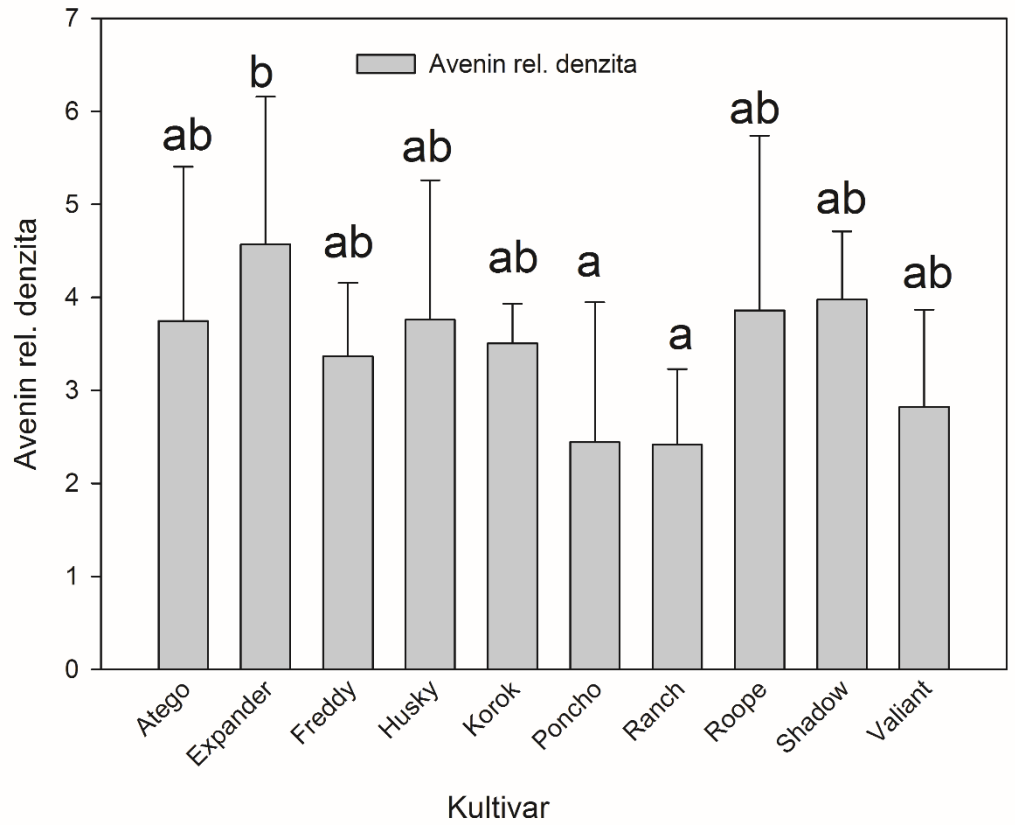
Jednorozměrná denaturační elektroforéza (SDS-PAGE) extrahovaných aveninů následovaná jejich přenosem na nitrocelulosovou membránu (Obr. 1A) a inkubací s protilátkami A1 (Obr. 1B) a G12 (Obr. 1C) vedla k detekci aveninů vykazujících cross-reaktivitu s pšeničným glutenovým peptidem 33mer vzniklým hydrolýzou α-gliadinů. Denzitometrická analýza vedla k relativní kvantifikaci detekovaných bandů a umožnila tak získat údaje o relativním (nikoliv absolutním) obsahu imunoreaktivních aveninů. Pomocí protilátky A1 byly detekovány bandy odpovídající imunoreaktivním aveninům o velikosti 50 a 44 kDa, které však byly velmi slabé (Obr. 1B). Pomocí protilátky G12 byly detekovány bandy odpovídající imunoreaktivním aveninům o velikosti 50, 44, 32,5, 30,9, 29, 27, 23 a 21 kDa, přičemž byly patrné kvalitativní i kvantitativní rozdíly mezi kultivary (Obr. 1C). Jelikož měly proteiny detekované pomocí protilátky A1 velice malou denzitu, tak jsme si pro denzitometrickou analýzu vybrali imunobloty inkubované s protilátkou G12, která vykazuje reaktivitu k širšímu spektru glutenových peptidů a detekované peptidy mají relativně vyšší denzitu (Obr. 1C).

Z vyhodnocení relativní denzity bandů detekovaných protilátkou G12 vyplývá, že odrůdy Poncho a Ranch vykazovaly relativně nejnižší obsah imunoreaktivních aveninů, odrůdy Freddy, Korok, Poncho a Shadow měly střední úroveň, a odrůda Expander měla z vybraných kultivarů relativně nevyšší úroveň akumulace imunoreaktivních aveninů (Obr. 2). Při

interpretaci výsledků je třeba mít na zřeteli, že denzitometrická analýza imunoblotů neposkytuje informace o absolutním obsahu aveninů, tj. nelze jejich detekované množství kvantifikovat v jednotkách ppm, imunoblot pouze umožňuje porovnat relativní míru akumulace imunoreaktivních aveninů u různých odrůd ovsa, a určit tak odrůdy vykazující v rámci daného souboru genotypů zvýšenou anebo sníženou akumulaci aveninů vykazujících crossreaktivitu k dané primární protilátce (v našem případě G12). Pro rozhodnutí, zda jsou dané genotypy vykazující významně nižší akumulaci imunoreaktivních aveninů bezpečné pro celiaky je nutné provést jednak absolutní kvantifikaci obsahu imunoreaktivních aveninů pomocí metody ELISA, jednak klinické testy zaměřené na hodnocení řady molekulárních a histologických markerů imunitní reakce lidského organismu na glutenové peptidy, která je typická pro celiaky.



Obr. 1: Spektrum rozdělených zásobních proteinů ze zrn 10 kultivarů ovsa přenesených na nitrocelulosovou membránu a obarvených pomocí Ponceau S (A), imunoblot s detekovanými imunoreaktivními aveniny pomocí primární protilátky A1 (B) a imunoblot s detekovanými imunoreaktivními aveniny pomocí primární protilátky G12 (C). Zkratky kultivarů: A – Atego; E – Expander; F – Freddy; H – Husky; K – Korok; P – Poncho; Ra – Ranch; Ro – Roope; S – Shadow; V – Valiant; IS – interní standard (ekvimolární směs všech 10 kultivarů); M – molekulární marker. Hodnoty relativních molekulových hmotností markeru i detekovaných imunoreaktivních bandů jsou uvedeny v kDa.



Obr. 2: Denzitometrická analýza sumy imunoreaktivních aveninů detekovaných pomocí primární protilátky G12 u 10 kultivarů ovsa ze SŠ Krukanice; hodnoty představují relativní denzitu imunoreaktivních aveninů ze čtyř biologických opakování (n = 4), chybové úsečky představují SD, odlišná písmena značí signifikantní rozdíl stanovený pomocí analýzy ANOVA, Duncanova testu rozpětí na hladině významnosti 0.05.

Diskuse

Recentní práce zabývající se molekulární analýzou aveninů i klinické studie zaměřené na zařazení ovsa do tzv. bezlepkové stravy vhodné pro celiaky ukazují, že v řadě příkladů lze oves považovat za potravinu bezpečnou pro celiaky. Studie zaměřené na molekulární strukturu a potenciální imunoreaktivitu aveninu za použití protilátek vytvořených proti pšeničným glutenovým peptidům (A1, G12, R5) ukazují významnou genotypovou variabilitu v rámci komerčně pěstovaných kultivarů ovsa, což ukazuje, že je možné vybrat genotypy s minimální imunoreaktivitou splňující požadavek na tzv. bezlepkové potraviny (obsah glutenu nižší než 20 ppm).

Londono et al. (2013) identifikovali dva avenin-specifické epitopy PYPEQQQPF (Av-a9B) a PYPEQQEPF (Av-a9A) přítomné v jedné kopii v první variabilní oblasti aveninových molekul, které jsou schopné se vázat na receptory T-lymfocytů a indukovat jejich proliferaci. Autoři provedli fylogenetickou analýzu aveninových sekvencí z 12 diploidních a tetraploidních planých druhů rodu Avena a hexaploidní komerční odrůdy Avena sativa cv. Gigant. Dle sekvence rozdělili aveniny do čtyř skupin, z nichž dvě skupiny zahrnovaly aveniny obsahující imunoreaktivní epitopy. Aveniny patřící do těchto skupin byly identifikovány u všech druhů Avena, není tedy pravděpodobné (kromě delečních mutací), že by se našly genotypy ovsa, které by tyto aveniny neobsahovaly. Je ovšem třeba brát v úvahu, že je podstatný rozdíl mezi přítomností aveninových genů obsahujících imunoreaktivní sekvence (epitopy) v genomu a

mezi jejich expresí, tj. přítomností proteinů obsahujících dané epitopy v obilkách ovsa. Pro imunitní reakci je klíčová právě přítomnost finálního proteinu v daném biologickém materiálu, nikoliv pouze genu, který daný protein kóduje, avšak není exprimován.

Studie zaměřené na odrůdovou variabilitu v imunoreaktivitě různých genetických materiálů ovsa ukazují významné genotypové rozdíly; například Ballabio et al. (2011) zjistili odlišnou odezvu na RIDASCREEN ELISA kit u 36 kultivarů ovsa. Většina kultivarů měla hodnoty gluten-like proteinů hluboko pod limitem 20 ppm, avšak odrůdy (variety) Expander, HJA76037N, Kynon a BG2 měly koncentrace gluten-like proteinů velmi blízké k limitu 20 ppm, a několik genotypů jako komerční pluchatý kultivar Dakar, experimentální nahý genotyp BG3, nahý kultivar Nave a genotyp BG4 významně překročily limit 20 ppm nutný pro bezlepkové produkty, a genotypy BG3 a Dakar dokonce překročili hodnotu 80 ppm. Obdobně Benoit et al. (2017) testovali pomocí ELISA 19 odrůd ovsa z hlediska jejich reaktivity k protilátce R5 proti α-gliadinovému epitopu LQPFP, a k tzv. Skerritt protilátce, přičemž nalezli pozitivní reakci u odrůd Brazilian Check, Kanota, a Curt indikující přítomnost imunogenních peptidů v hydrolyzátech aveninů izolovaných z těchto odrůd. Při použití protilátky Skerritt byly naměřeny výrazně vyšší koncentrace glutenových peptidů oproti stanovením pomocí R5 protilátky.

Výsledky naší studie zaměřené na detekci imunoreaktivních aveninů pomocí imunoblotu za použití dvou různých primárních protilátek A1 a G12 lišících se spektrem detekovaných glutenových peptidů ukazují významné rozdíly ve spektru a intenzitě detekovaných proteinů (Obr. 1B,C). Následná denzitometrická analýza imunoblotů značených pomocí protilátky G12 ukázala kvantitativní rozdíly v celkové relativní denzitě imunoreaktivních proteinů a vedla nás tak k výběru kultivarů ovsa s relativně nižším obsahem imunoreaktivních proteinů, které mohou být zajímavé z hlediska bezpečnosti pro lidi trpící celiakií (Obr. 2). Jelikož imunobloty umožňují pouze relativní kvantifikaci obsahu imunoreaktivních proteinů, nelze na jejich základě říci, zda je u kultivarů se sníženým obsahem (Poncho, Ranch) obsah imunoreaktivních aveninů nižší než 20 ppm.

Závěrem je ovšem třeba říci, že z hlediska bezpečnosti ovsa pro celiaky není rozhodujícím kritériem obsah imunoreaktivních aveninů pod stanovenou hranicí 20 ppm, jelikož klíčové jsou výsledky klinických testů zaměřených na hodnocení celé řady molekulárních (IgE protilátky proti glutenovým peptidům, autoprotilátky proti tTG2, γIFN, IL-21), histologických (proliferace T buněk, histologické změny klků ve sliznici proximální části tenkého střeva) markerů u lidí s diagnostikovanou celiakií. Hodnocení míry imunoreaktivity aveninů však představuje první krok k možné selekci vhodných genotypů pro tzv. „gluten-free oves“ splňující standardy pro bezpečné potraviny vhodné pro tzv. bezlepkovou dietu.

Poděkování

Práce vznikla za podpory řešení projektu MZe ČR č. QK1810102 a RO0418.

Literatura:

Balakireva A.V., Zamyatnin A.A. Jr. 2016. Properties of gluten intolerance: gluten structure, evolution, pathogenicity and detoxification capabilities. Nutrients 8: 644.

Ballabio C., Uberti F., Manferdelli S., Vacca E., Boggini G., Redaelli R., Catassi C., Lionetti E., Penas E., Restani P. 2011. Molecular characterization of 36 oat varieties and in vitro assessment of their suitability for coeliacs´ diet. J. Cereal Sci. 54: 110-115.

Benoit L., Masiri J., del Blanco I.A., Meshgi M., Samadpour M. 2017. Assessment of avenins from different oat varieties using R5-based sandwich ELISA. Journal of Agricultural and Food Chemistry 65: 1467-1472.

Commission Regulation n. 41/2009 concerning the composition and labelling of foodstuffs suitable for people intolerant to gluten. Official Journal of the European Union dated 21.01.2009, L16/3

De Re V., Magris R., Cannizzaro R. 2017. New insights into the pathogenesis of celiac disease. Frontiers in Medicine 4: 137. doi: 10.3389/fmed.2017.00137

Kahlenberg F., Sanchez D., Lachman I., Tuckova L., Tlaskalova H., Mendez E., Mothes T. 2006. Monoclonal antibody R5 for detection of putatively celiac-toxic gliadin peptides. European Food Research Technology 222: 78-82.

Londono DM, van´t Westende WPC, Goryunova S, Salentijn EMJ, van den Broeck HC, van der Meer IM, Visser RGF, Gilissen LJWJ, Smulders MJM (2013) Avenin diversity analysis of the genus Avena (oat). Relevance for people with celiac disease. J Cereal Sci 58: 170–177.

Real A., Comino I., de Lorenzo L., Merchán F., Gil-Humanes J., Giménez M.J., López-Casado M.A., Torres M.I., Cebolla A., Sousa C., Barro F., Pistón F. 2012. Molecular and immunological characterization of gluten proteins isolated from oat cultivars that differ in toxicity for celiac disease. PLoS One 7(12): e48365.

Skerritt J.H., Hill A.S., Andrews J.L. 2000. Antigenicity of wheat prolamins: detailed epitope analysis using a panel of monoclonal antibodies. Journal of Cereal Science 32: 259-279.

Kontaktní adresa:

RNDr. Klára Kosová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6 - Ruzyně
tel.: +420 233022447; email: kosova@vurv.cz

Úroda 12/2019, vědecká příloha časopisu

KOŘENÍ JAKO PŘÍRODNÍ ZDROJ ANTIOXIDANTŮ

Spices as a natural source of antioxidants

Laknerová I.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Abstrakt

Cílem této práce bylo u 28 vzorků koření používaného v běžné české kulinářské praxi provést screeningová měření antioxidační aktivity. Vedle ovoce a zeleniny je koření bohatým zdrojem antioxidantů. Nejvyšší antioxidační aktivita ve sledovaném souboru koření byla naměřena ve vzorku oregana. Velmi vysoké hodnoty byly nalezeny i ve vzorcích nového koření, majoránky, rozmarýnu, saturejky, bobkového listu, tymiánu a bazalky. Pro své organoleptické a konzervační vlastnosti a obsah biologicky aktivních látek hraje koření v potravinářství velmi důležitou roli.

Klíčová slova: antioxidační aktivita, polyfenoly, DPPH, FRAP

Abstract

The aim of this work was to evaluate screening measurements of antioxidant activity in 28 spice samples used in common Czech culinary practice. Except for fruits and vegetables, spices are a rich source of antioxidants. The highest antioxidant activity in the analyzed samples was measured in the oregano sample. Very high values of this parameter were also found in samples of allspice, marjoram, rosemary, savory, bay leaf, thyme a basil. Spices play a very important role in the food industry because of their organoleptic and preservative properties and the content of biologically active substances.

Key words: antioxidant activity, polyphenols, DPPH, FRAP

Úvod

V potravinářském průmyslu hraje koření důležitou roli. Dotváří nejen aroma a chuť, ale v některých případech svojí barevností ovlivňuje také celkový estetický vzhled výrobku. Správně použité koření dělá jídlo pro konzumenty chutnější, barvitější, přitažlivější a zábavnější.

Kořením se nazývají čerstvé, sušené nebo jinak upravené části rostlin, mezi které patří plody a semena (např. anýz, fenykl, kmín, muškátový ořech, nové koření, pepř, paprika), nať a listy (např. bazalka, majoránka, kopr, tymián, oregano), podzemní části rostlin (např. zázvor, česnek, cibule), poupata a části květů (např. hřebíček, muškátový květ, šafrán) a kůra (např. skořice), (Valíček, 2007).

Historie koření je velmi zajímavá a úzce souvisí se světovou historií. První doložené zmínky o koření pocházejí z období mladší doby kamenné. Hojné zprávy informují o historickém využití koření pro jejich zdravotní přínosy. Neoficiální zdroje naznačují, že lovci a sběratelé zabalili maso do listů keřů a náhodou zjistili, že tento proces vylepšil chuť masa, stejně jako některé ořechy, semena, bobule a kůra. V průběhu let se koření používalo i pro léčebné účely. Koření se také přidávalo za účelem maskování nepříjemných chutí a pachů jídla a později k udržování čerstvých potravin. Koření mimo jiné bylo také cenné jako položka směny a obchodu. Od nepaměti byla po koření poptávka ve všech částech světa (Rosengarten, 1969). V současné době se uvádí, že jako koření se využívá přes 200 druhů rostlin patřících do více než 30 čeledí. Nejvýznamnější druhy koření poskytují rostliny pocházející většinou z tropických oblastí Asie, Afriky a Ameriky (Dostálová, 2009).

Kromě výše uvedených farmakologických a konzervačních účinků vykazuje koření i neméně důležité antioxidační vlastnosti. Termín antioxidant je široce používaný, ale zřídka definovaný.

Halliwell a Gutteridge ve své definici uvádějí, že se jedná o takové látky, které, pokud jsou přítomny v nízkých koncentracích v porovnání s oxidovaným substrátem, významně zpomalují nebo inhibují oxidaci tohoto substrátu (Halliwell and Gutteridge, 1995). Ve své podstatě to jsou látky, které inhibují nebo zpožďují oxidaci jiných molekul tím, že brání iniciaci nebo šíření oxidační řetězové reakce. Jedná se o dostatečně vazebně stabilní molekuly, aby mohly věnovat svůj elektron volným radikálům a neutralizovat je, a tím snížit jejich kapacitu k poškození buněk (Lobo et al., 2010). Mnoho lidských nemocí je způsobeno nebo negativně ovlivněno volnými radikály. Přirozená obrana lidského organismu proti volným radikálům není vždy dostatečná a to zejména kvůli významnému výskytu volných radikálů z vnějších zdrojů v moderním světě (Buřičová and Réblová, 2008). Antioxidanty by měly být proto přijímány jako součást běžné stravy. Kromě koření jsou bohatými zdroji přírodních antioxidantů ovoce a zelenina, semena, cereálie, bobule, víno, čaj, olivový olej a aromatické rostliny (Dimitrios, 2006).
Screeningové stanovení antioxidační aktivity metodami DPPH a FRAP v koření používaném v běžné české kulinářské praxi se stalo předmětem zájmu této práce.

Materiál a metody

Rostlinný materiál: V tržní síti v ČR bylo zakoupeno 28 vzorků jednodruhového koření. Analyzované vzorky jsou uvedeny pod svými komerčními názvy s uvedením latinského názvu, výrobce (Koření od Antonína (KA) nebo Vitana (Vit)), země původu a data minimální trvanlivosti (DMT):
bazalka (*Ocimum basilicum*, KA, Egypt, DMT 24.5.2022), bobkový list celý (*Laurus nobilis*, KA, Turecko, DMT 16.7.2022), chilli mleté (*Capsicum frutescens*, KA, Čína, DMT 20.5. 2022), cibule prášek (*Allium cepa*, KA, Indie, DMT 22.5.2022), citronová kůra mletá (*Citrus limon*, KA, Španělsko, DMT 15.7.2022), cumin celý (římský kmín, *Cuminum cyminum*, KA, Sýrie, DMT 16.5.2022), česnek medvědí (*Allium ursinum*, KA, Rumunsko, DMT 25.6.2022), česnek prášek (*Allium sativum*, KA, Čína, DMT 5.6.2022), kmín celý (*Carum carvi*, KA, Česká republika, DMT 4.7.2022), kopr (*Anethum graveolens*, KA, Německo, DMT 14.6.2022), kurkuma (*Curcuma longa*, KA, Indie, DMT 10.7.2022), libeček (*Levisticum officinale*,neuvedeno, Vit, DMT 23.6.2021), majoránka (*Majorana hortensis*, Vit, neuvedeno, DMT 16.7.2021) muškátový ořech mletý (*Myristica fragrans*, Indonésie, KA, DMT 17.6.2022), nové koření celé (jamajský pepř, *Pimenta officinalis*, KA, Honduras, DMT 9.7.2022), oregano (dombromysl, *Origanum vulgare*, KA, Německo, DMT 24.6.2022), paprika pálivá (*Capsicum annuum*, KA, Španělsko, DMT 6.6.2022), paprika sladká (*Capsicum annuum*, KA, Maďarsko – Szeged, DMT 16.7.2022), paprika sladká (*Capsicum annuum*; KA, Španělsko, DMT 15.7.2022), pažitka (*Allium schoenoprasum*, KA, Německo, DMT 29.4.2022), pepř bílý celý (*Piper nigrum*, KA, Indonésie, DMT 27.5.2022), pepř černý celý „Tellicherry“ (*Piper nigrum*, KA, Indie-Malabar, DMT 17.7.2022), pepř růžový (*Schinus terebinthifolius*, KA, Brazílie, DMT 14.6.2022), petržel (Petroselinum sativum, KA, Německo, DMT 14.6.2022), saturejka (*Satureia hortensis*, KA, Německo – Duryňsko, DMT 10.5.2022), rozmarýn (*Rosmarinus officinalis*, KA, Německo, DMT 31.5.2022), tymián (*Thymus vulgaris*, Vit, neuvedeno, DMT 21.7.2022), zázvor mletý (*Zingiber officinalis*, Vit, neuvedeno, DMT 28.7.2021).
Chemikálie: Většina použitých chemikálií byla dodána firmou Sigma-Aldrich (Česká republika): methanol LC LICHROSOLV, chlorid železitý (čistota ≥ 98 %), kyselina chlorovodíková (37 %), 2,4,6-tris (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ, čistota ≥ 98 %), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), Trolox (čistota ≥ 97 %), demineralizovaná voda (VÚPP, Česká republika), octan sodný trihydrát p. a. (Lach-Ner, Česká republika), kyselina octová p.a. (PENTA, Česká republika, 99 %),
Přístroje:

Spektrofotometr Helios α (Thermo Spectronic, Velká Británie)
Odtředivka Universal 32R (Hettich, Německo)
Metody:
Stanovení sušiny – metoda 925.09, 926.08 (AOAC).
Příprava metanolového extraktu koření: 0,1 – 0,2 g mletého vzorku bylo extrahováno do 9,8 – 9,9 ml směsi metanol:voda (80:20 v/v) sonifikací dvakrát po dobu 15 minut a poté necháno stát při pokojové teplotě 24 hodin. Připravený extrakt byl následně odstředěn při teplotě 5°C po dobu 15 minut při otáčkách 7 000 RPM. Získaný supernatant byl použit pro stanovení AOA metodami DPPH a FRAP.
Stanovení antioxidační aktivity (AOA) pomocí metody DPPH – modifikovaná metoda vycházející z publikace Brand-Wiliams et al., 1995: 100 µl extraktu bylo přidáno do 4 ml roztoku DPPH v metanolu (27,5 $\mu g.ml^{-1}$). Reakce probíhala ve tmě při pokojové teplotě po dobu 2 hodin. Poté byla měřena absorbance při 515 nm.
Stanovení antioxidační aktivity pomocí metody FRAP – modifikovaná metoda vycházející z publikace Benzie and Strain, 1996: činidlo FRAP bylo připraveno smísením 100 ml 300mM octanového pufru (pH 3,6), 10 ml 10mM TPTZ (2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazin) ve 40mM HCl a 10 ml 20mM FeCl3. K 4 ml činidla bylo přidáno 100 µl extraktu a po reakční době 30 min při 37 °C byl měřen nárůst absorbance při 593 nm.

Výsledky a diskuse
Pro vzájemné porovnání antioxidačních účinků různých druhů koření používaných v běžné české kulinářské praxi byla stanovena antioxidační aktivita, která kvantifikuje kapacitu vzorku biologického materiálu eliminovat volné radikály. Z velkého počtu popsaných metod byly pro získání komplexnější informace o AOA jednotlivých druhů koření zvoleny nejčastěji používané metody DPPH a FRAP, které jsou založeny na zcela odlišných principech stanovení a sledují tak specifický antioxidační účinek. První výše uvedená metoda je řazena mezi postupy založené na eliminaci syntetických radikálů. Spočívá v reakci testované látky se stabilním radikálem DPPH a následné redukci radikálu za vzniku DPPH-H (difenylpikrylhydrazin). Výsledky reakce byly sledovány spektrofotometricky.
Metoda FRAP (ferric reducting antioxidant potential) patří mezi metody založené na hodnocení redoxních vlastností látek. Tato metoda kvantifikuje schopnost antioxidantů redukovat komplex Fe^{3+}TPTZ na Fe^{2+}TPTZ. Nárůst absorbance odpovídající množství komplexu
Fe^{2+}- TPTZ je pak mírou antioxidační aktivity vzorku.
Screeningové hodnocení antioxidační aktivity metodami DPPH a FRAP v 28 druzích koření používaném v běžné české kulinářské praxi je uvedeno v Tab. 1 a na Obr. 1. Hodnoty antioxidační aktivity v případě obou metod byly vyjádřeny jako mg ekvivalentu Troloxu (TE) na g sušiny a byly průměrnými hodnotami čtyř paralelních měření včetně směrodatné odchylky (SD). Antioxidanty jsou sekundární metabolity a jejich obsah v rostlinách závisí na různých stresových podmínkách vegetace (Verpoorte et al., 1999), proto lze uvedené výsledky hodnotit pouze jako screeningové.
Hodnoty antioxidační aktivity extraktů sledovaného souboru koření stanovené metodami DPPH a FRAP se pohybovaly od 1,64 do 317,82 mg $TE.g^{-1}$ suš., resp. od 1,39 do 348,92 mg $TE.g^{-1}$ suš. Porovnání vzorků jednodruhového koření vychází z výsledků obou metod. Výsledkům každé metody na stanovení antioxidační aktivity v jednotlivých vzorcích koření byla přiřazena pořadová čísla (1. – nejvyšší AOA, 28. – nejnižší AOA). Konečné pořadí reflektuje součet obou hodnocení. Antioxidační aktivita koření klesala v pořadí oregano > nové koření > majoránka, rozmarýn > saturejka > bobkový list, tymián > bazalka > pepř růžový > muškátový ořech > libeček > zázvor > kopr > kurkuma, citronová kůra > pažitka > česnek medvědí > kmín, cumin (římský kmín), paprika sladká španělská > petržel > paprika pálivá, pepř černý > paprika sladká maďarská > chilli > pepř bílý > cibule > česnek.

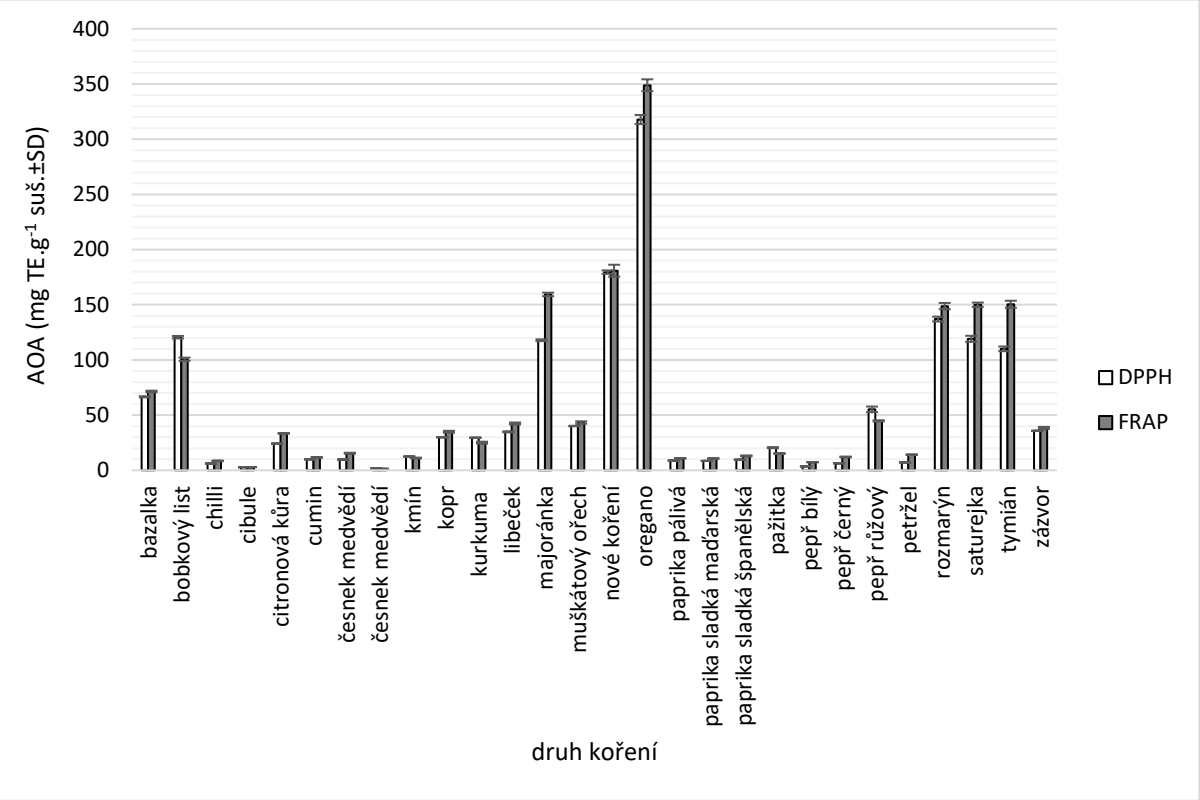
Výsledné hodnoty antioxidační aktivity jednoznačně ukázaly, že ze sledovaného souboru jednodruhového koření je oregano nejbohatším zdrojem antioxidantů. Statistickým šetřením Studentovám t-testem bylo vyhodnoceno, že rozdíly mezi průměry hodnot AOA oregana a nového koření (tzn. 2. nejsilnějšího antioxidantu) stanovenými metodami DPPH a FRAP byly statisticky významné ($p<0,05$). Velmi bohatými zdroji jsou také nové koření, majoránka, rozmarýn, saturejka, bobkový list, tymián a bazalka. Ale ani ostatní druhy koření nejsou co do obsahu antioxidantů zanedbatelné. I když např. cibule nevykázala vysoký antioxidační účinek, tak vzhledem ke konzumovanému množství patří mezi významné zdroje.
Metodou regresní analýzy byla zjišťována korelace mezi výsledky antioxidační aktivity získanými metodami DPPH a FRAP. Na základě zjištěných dat lze konstatovat, že v analyzovaných vzorcích koření existuje těsná korelace mezi výsledky obou metod (korelační koeficient $R = 0,988$, $n = 28$).

Tab. 1: Antioxidační aktivita rostlinných extraktů koření stanovená metodami DPPH a FRAP

druh koření	forma	sušina[a]	antioxidační aktivita	
			DPPH[b]	FRAP[b]
bazalka	drhnutá	92,06	65,55±0,51	71,42±0,73
bobkový list	celý	93,57	120,61±1,11	100,67±1,45
chilli	mleté	93,04	6,13±0,21	8,53±0,34
cibule	mletá	89,17	2,76±0,05	2,86±0,12
citronová kůra	mletá	90,09	24,21±0,23	33,42±0,15
cumin	celý	92,53	9,89±0,21	11,61±0,33
česnek medvědí	mletý	89,76	9,73±0,20	15,43±0,47
česnek	mletý	93,07	1,64±0,04	1,39±0,05
kmín	celý	91,42	12,45±0,28	11,09±0,35
kopr	drhnutý	92,13	29,87±0,52	34,88±1,08
kurkuma	mletá	90,30	29,55±0,09	25,01±0,90
libeček	drcená	94,81	34,81±0,46	42,40±0,88
majoránka	drhnutá	91,57	117,85±0,80	159,33±1,59
muškátový ořech	mletý	90,82	40,12±0,20	43,27±1,10
nové koření	celé	91,47	179,53±1,59	180,82±5,42
oregano	drhnuté	90,82	317,82±4,14	348,92±5,35
paprika pálivá	mletá	91,66	8,88±0,20	10,82±0,29
paprika sladká maďarská	mletá	87,88	8,54±0,09	10,66±0,23
paprika sladká španělská	mletá	89,26	9,61±0,18	13,04±0,45
pažitka	neuvedeno	89,72	20,53±0,47	15,16±0,44
pepř bílý	celý	89,62	3,52±0,05	7,33±0,15
pepř černý	celý	90,86	6,32±0,07	12,04±0,40
pepř růžový	celý	88,06	55,21±2,54	44,77±0,55
petržel	neuvedeno	92,16	7,11±0,09	14,16±0,17
rozmarýn	neuvedeno	92,78	137,01±2,16	148,79±2,84
saturejka	drhnutá	89,86	119,10±2,77	150,01±1,95
tymián	drhnutý	93,24	110,05±2,12	150,45±3,18

druh koření	forma	sušina[a]	antioxidační aktivita	
			DPPH[b]	FRAP[b]
zázvor	mletý	91,28	35,82±0,20	38,42±0,89

[a] g.100 g^{-1}; [b]mg TE.g^{-1} suš.±SD



Obr. 1 Antioxidační aktivita stanovená u 28 vzorků jednodruhového koření metodami DPPH a FRAP

Závěr

V současné době vlivem znečištění životního prostředí, slunečního záření, stresu, nesprávného životního stylu, kouření, nadměrné konzumace alkoholu, nevhodné stravy, nedostatku aktivního pohybu stoupá počet civilizačních onemocnění, která úzce souvisí s výskytem volných radikálů škodlivého oxidačního stresu. Na druhou stranu vzrůstá snaha chránit organismus před jejich působením. K eliminaci jejich vlivu může přispět mimo jiné i vyšší příjem přirozených antioxidantů.

Mezi velmi bohaté zdroje antioxidantů patří i některé druhy koření, které běžně používáme v naší kulinářské praxi. Ve sledovaném souboru koření prokázalo nejvyšší antioxidační aktivitu oregano. K velmi bohatým zdrojům AOA patřily i další druhy jako nové koření, majoránka, rozmarýn, saturejka, bobkový list, tymián a bazalka.

Velkým přínosem koření je i fakt, že jejich přídavek do potravy může snižovat i nadměrnou spotřebu soli.

Poděkování

Práce vznikla za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpory MZE-RO0318 a projektu výzkumné infrastruktury METROFOOD-CZ, grant MŠMT: LM2018100.

Použitá literatura

Benzie, I.F.F. and Strain, J. J.:The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*. 1996, 239, 70-76.

Brand-Wiliams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C.:Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 1995, 28, 25-30.

Buřičová, L. and Réblová, Z.:Czech medicinal plants as possible sources of antioxidants. *Czech J. Food Sci*. 2008, 26, 132–138.

Dimitrios, B.:Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science &Technology*. 2006, 17, 505-512.

Dostálová, J.:Výroba pochutin a zpracování suchých plodů, s. 525-529. In: Kadlec P. et al. *Co byste měli vědět o výrobě potravin?: technologie potravin*. Key Publishing, Ostrava, 2009, 536 s. ISBN 978-80-7418-054-4.

Halliwell, B. and Gutteridge, J. C.:The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biology and Medicine*. 1995, 18, 125-126.

Lobo, V. Ch., Patil, A., Phatajk, A., Chandra, N.:Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmocognosy review*. 2010, 4, 118-126.

Official Methods of Analysis of AOAC International (2000) 17 th Ed., AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, Official Method 925.09, 926.08.

Rosengarten, F.:*The Book of Spices*. Livingston Pub. Co, 1969, 489 s. ISBN 978-0870980312.

Valíček, P.:*Pochutiny a koření*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007, 262 s. ISBN 978-80-7375-049-7.

Verpoorte, R., van der Heijden, R., ten Hoopen, H., Memelink, J.:Metabolic engineering of plant secondary metabolite pathways for the production of fine chemicals. *Biotechnology Letters*. 1999, 21, 467-479.

Kontaktní adresa:

Ing. Ivana Laknerová
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.
Radiová 1285/7, 102 31 Praha-10, Hostivař
ivana.laknerova@vupp.cz

HODNOCENÍ KVALITY FERMENTOVANÝCH KUKUŘIČNÝCH SILÁŽÍ POMOCÍ NIR SPEKTROSKOPIE

Evaluation of quality of fermented maize silages using NIR spectroscopy

Nerušil P.[1], Menšík L.[1], Jambor V.[2]

[1] *Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., VS Jevíčko*
[2] *NutriVet s.r.o., Pohořelice*

Abstrakt

V příspěvku je představen progresivní postup hodnocení vybraných parametrů nutriční hodnoty krmiva (obsah N-látek, hrubé vlákniny, škrobu, neutrálně detergentní vlákniny, stravitelnost organické hmoty apod.), stanovovaných v usušených a semletých vzorcích konzervované kukuřičné siláže pomocí blízké infračervené spektroskopie (NIRS). Hodnota koeficientu determinace (R^2) validačního souboru (n=20) se pohybovala v rozmezí hodnot 0,59–0,97. Přínosem metody NIRS je podstatné zvýšení efektivnosti a rychlosti prováděných exaktních rozborů ve smyslu naplnění praktických potřeb široké obce uživatelů. Měření (stanovení) je pracovně bezpečné a nemá negativní vliv na životní prostředí. Přístrojová technika NIRS má značný potenciál svého využití nejen v zemědělských podnicích s rozvinutou živočišnou, ale také v zemědělském výzkumu (včetně vysokých škol) a ve státních institucích.

Klíčová slova: blízká infračervená spektroskopie; výživná hodnota; silážní kukuřice; laboratorní kontrola.

Abstract

The paper presents the progressive approaches to evaluation of selected nutrition values of forage (crude protein content, nitrogen substances, crude fibre, starch content, neutrally detergent fibre, digestibility of organic matter etc.) about near infrared spectroscopy (NIRS). Values for the validation file determination coefficients range from 0.59 to 0.97. The benefit of the methodology is a significant increase in the rate of exact analysis for a wide range of customers. The analysis is very safe and environmentally friendly. NIRS instrumentation has considerable potential for use not only in farms with high performance livestock, but also in agricultural research (including universities) and in state institutions.

Key words: near infrared spectroscopy; nutrition value; silage maize; laboratory control.

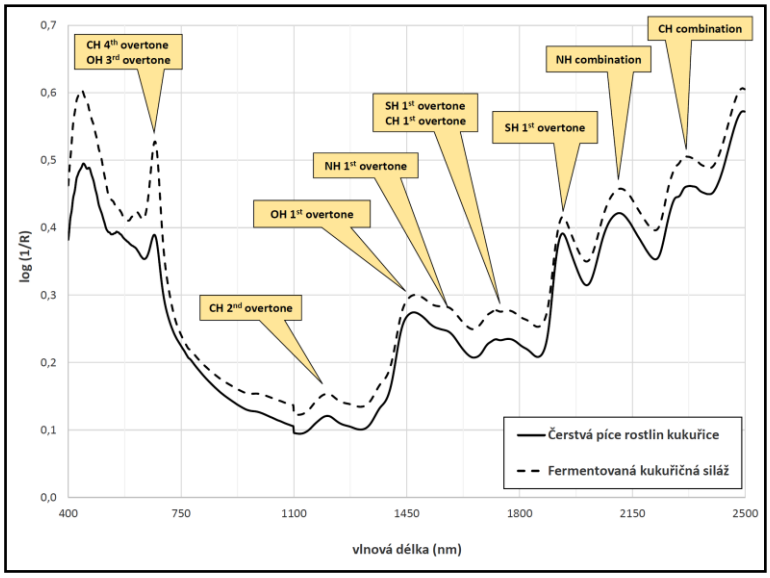
Úvod

Současné intenzivní zemědělství, ovlivněné změnou klimatu, musí zajistit bezpečné a kvalitní potraviny (García-Sánchez et al. 2017), ale i krmiva pro krmení hospodářských zvířat (Molano et al. 2016; Hopkins et al. 2019). Zemědělské provozy s živočišnou výrobou kladou vysoké nároky na kvalitu a jakost objemných krmiv (Míka 1997; Berzaghi, Riovanto, 2009; Deepa et al. 2016). Vysokoprodukční dojnice musí mít pro vysokou produkci mléka zajištěné v krmné dávce velké množství živin (energie), protože v případě nutričního stresu dojde k výrazné ztrátě na produktivitě a poklesu zdraví zvířat (Schwartzkopf-Genswein et al. 2004; Holtshausen et al. 2011). Náročné požadavky na kvalitu krmiv a jejich kontrolu je obtížné plnit pouze prostřednictvím klasických analytických (laboratorních) metod (např. Tilley, Terry 1963; Orskov, Mcdonald 1979; Mertens 2002; ISO 16472 2012 a další), které jsou sice přesné a dostatečně reprodukovatelné, ale zároveň velmi často náročné na personál pracující ve specializované laboratoři, dále na čas (relativně dlouhá doba stanovení výsledku), ale i na finanční prostředky (Kong et al. 2005; Čižmár 2006; Wittkop et al. 2012; Berzaghi, Marchesini 2014; Nerušil et al. 2016; Yang et al. 2017 aj.). V současné době již existuje řada chemických

analytických metod, např. spektroskopie v blízké infračervené spektrální oblasti /NIRS/ (Lovett et al. 2004; Čižmár 2006; Muselík et al. 2012; Bien, Hrbáčková 2017 aj.). Vývojem kalibračních rovnic pro predikci parametrů výživné hodnoty konzervované kukuřičné siláže pomocí NIRS se ve světě zabývala již řada výzkumných prací (Lovett et al. 2004; Sørensen 2004; Kański, Kowalski 2005; Park et al. 2005; Lomborg et al. 2009; Park et al. 2016 a další). V moderní zemědělské praxi (Smart Farming, Presision Farming apod.) se v poslední době pro hodnocení kvality krmiv uplatňují rovněž i mobilní (ruční) přístroje (Old et al. 2016; Marchesini et al., 2017; Bell et al. 2018; Weld, Armentano 2018; Cherney, Cherney, 2019 a další).
Studie na základě vývoje kalibračních rovnic představuje progresivní postup hodnocení vybraných parametrů nutriční hodnoty krmiva (dusíkaté látky, hrubá vláknina, škrob, neutrálně detergentní vláknina, stravitelnost organické hmoty apod.), stanovovaných v usušených a semletých vzorcích konzervované kukuřičné siláže pomocí NIRS.

Materiál a metody

Kalibrační rovnice pro stanovení výživné hodnoty fermentované kukuřičné siláže a její validace byly zpracovány ze standardně usušených a pomletých (velikost částic <1 mm) vzorků ze sklizňových let 2015–2016 (jižní a severní Morava, Vysočina, apod.; odlišné agroekologické pěstební podmínky, vysoká variabilita apod.). Pro zpracování kalibračních rovnic bylo použito celkem 176 vzorků a jejich následnou validaci dalších 20 vzorků. Při odběru vzorků byl dodržen metodický postup v souladu s nařízením komise ES č. 152/2009.



Obr. 1: Absorpční pásy NIR spektroskopie dle (NIR Absorption Chart, NDC, 2013) na příkladu kukuřice seté (řezanka čerstvé píce rostlin kukuřice a fermentovaná kukuřičná siláž).

Odebrané vzorky kukuřičné siláže byly usušeny při teplotě 50 °C ± 5 °C za intenzivního větrání po dobu 24 hod. U vzorků byla laboratorně stanovena sušina fermentované řezanky při 105 °C (průměrná hodnota dvou paralelních stanovení jednoho vzorku). Chemické analýzy vzorků v rozsahu stanovení obsahu organických živin (dusíkatých látek, vlákniny, škrobu) byly provedeny referenčními metodami podle zákona č. 209/2019 Sb., o krmivech a postupy uvedenými v příslušných prováděcích vyhláškách. Dále podle Mertense (2002) a v souladu s ISO 16472 2012, byla stanovena NDF (NDF s amylázou). Stravitelnost organické hmoty (SOH) byla stanovena podle Ørskova, McDonalda (1979), metodou *in situ* (*in sacco*) v sáčcích

ponořených 24 hodin do bachoru nelaktujících dojnic s bachorovou kanylou při záchovné krmné dávce. Identické vzorky byly proměřeny na disperzním spektrometru FOSS NIRSystems 6500 instrument (Company NIRSystems, Inc., Silver Spring, USA), umístěném na pracovišti VÚRV, v.v.i., 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, krok snímání 2 nm. Na *obr. 1* jsou uvedena charakteristická spektra a řezanky čerstvé píce celých rostlin kukuřice a fermentované kukuřičné siláže s vyznačením maxima absorpčních pásů molekulárních vazeb. Pro vývoj kalibračních rovnic a jejich validaci včetně grafických výstupů byl využit software WinISI II (Infrasoft International, Inc., USA), verze 1.50. Byla použita metoda částečných nejmenších čtverců PLS (*angl. Partial Least Squares),* nejlepší a nejstarší metoda používaná pro spektrální kalibraci a predikci mezi více lineárními kalibračními algoritmy (Næsset et al. 2005, Wang et al. 2006). Dále byla použita modifikovaná PLS (Martens, Naes 1992; Cheng, Wu 2006; González-Martín et al. 2015).

Výsledky a diskuze

Výživná hodnota píce je významným faktorem, určujícím živočišnou produkci, není však jediným (Míka et al. 1997). Proto se u jednotlivých parametrů výživné hodnoty připojuje přívlastek "potenciální" (stravitelnost, degradovatelnost v bachoru) a v případě měření NIRS, že se jedná o predikci (odhad). To nezmenšuje skutečné problémy standardizace krmivářských pokusů u zvířat a přínos metod *in vitro* k měření těchto důležitých atributů. Při využití NIR spektroskopie je obecně známo, že predikce NL je společně predikcí obsahu sušiny a jednou z nejlepších aplikací NIRS u krmiv. Stanovení obsahu vody bylo jednou z prvních praktických aplikací NIRS v analýze zemědělských produktů a potravinářských surovin. NIRS absorpční spektrum čisté vody má pět absorpčních pásů (s maximy při 1940, 1450, 1190, 970 a 760 nm při teplotě 20 °C), čisté NL mají vzhledem k absorpci amidických skupin zřetelné dva absorpční pásy (2050 a 2180 nm). Dosažené výsledky přesnosti predikce výživné hodnoty fermentované kukuřičné siláže ověřené na nezávislém validačním souboru o počtu 20 vzorků shodného charakteru tento předpoklad potvrzují (*tab. 2 a 3*). Nejvyšší hodnoty přesnosti predikce, vyjádřených koeficientem determinace bylo dosaženo u obsahu NL ($R^2=0,97$), čím se potvrdily dosavadní poznatky a zkušenosti s přesností predikce těchto parametrů u organických materiálů podobného charakteru.

Tab. 2: Predikce výživné hodnoty fermentované kukuřičné siláže pomocí techniky NIRS.

Parametr	Kalibrace				Predikce	
	n	Průměr	SEC	R^2	SEP	R^2
NL	168	8,537	0,226	0,98	0,316	0,97
NDF	140	42,576	1,663	0,76	2,194	0,68
Škrob	150	32,010	1,339	0,91	2,229	0,79
Vláknina	150	19,597	1,224	0,76	1,305	0,73
Popel	161	3,638	0,304	0,89	0,334	0,87
SOH	151	69,240	2,429	0,75	3,196	0,62
ADF	175	23,609	1,817	0,63	1,930	0,58

Pozn.: n - počet vzorků kalibrace; Průměr - průměrná hodnota; SEC - směrodatná odchylka kalibrace; SEP - směrodatná odchylka predikce; R^2 - koeficient determinace; NL - dusíkaté látky; ADF - acidodetergentní vláknina; NDF - neutrodetergentní vláknina; SOH - stravitelné organické látky.

Při stanovení obsahu vlákniny a její frakcí (NDF, resp. ADF) bylo u prezentovaného kalibračního modelu dosaženo vyšší shody s referenčními hodnotami u parametru NDF a to na úrovni $R^2=0,83$; u obsahu vlákniny, resp. ADF pak hodnota byla nižší a činila $R^2=0,72$, resp. $R^2=0,59$. Maxima absorpčních pásů celulózy se nacházejí na vlnových délkách 1544 a 2336

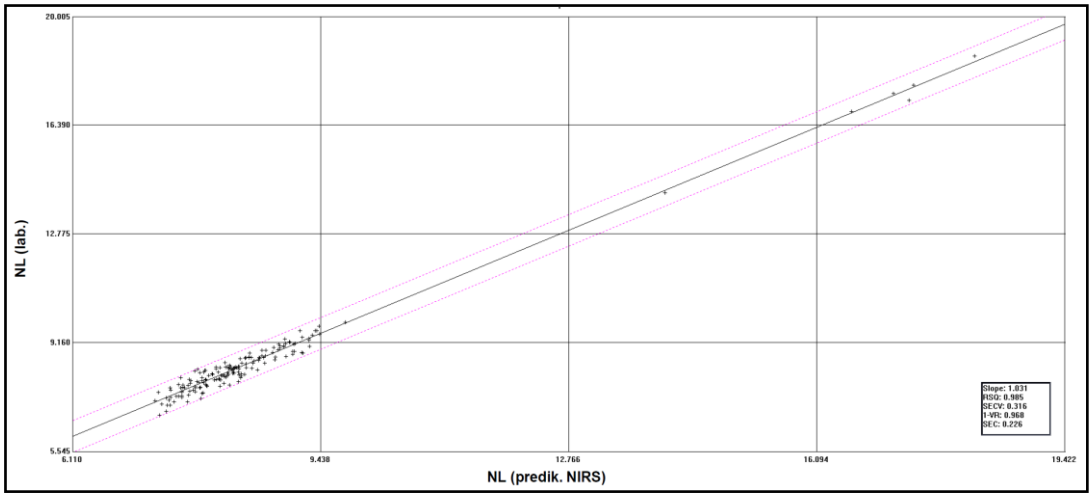
nm. Pokud se týká stanovení obsahu škrobu jako jednoho z nejdůležitějších parametrů výživné hodnoty kukuřičné siláže, maximum hlavního absorpčního pásu se nachází na úrovni 2100 nm, přičemž přesnost predikce činila $R^2=0,73$. Z celkového výčtu predikovaných parametrů byla zjištěná nižší shoda s referenčními hodnotami u obsahu popelovin ($R^2=0,62$). V současné době v praxi velmi požadovanou a rozšířenou aplikací je měření stravitelnosti, kterou využívají jak tvůrci krmných dávek a výživoví poradci, tak i pracovníci výzkumu v oblasti výživy a krmení hospodářských zvířat. Předpokladem pro vytvoření robustního a spolehlivého kalibračního modelu je dostatečně vysoký počet kalibračních vzorků (n>300) a současně dostatečně široké variační rozpětí hodnot, spolehlivě pokrývající testované vzorky při budoucí predikci. Z řady obsáhlých studií vyplývá, že při NIRS predikci *in vitro* - charakteristik (např. stravitelnost organické hmoty) se musí brát v úvahu více než jedna referenční metoda (Shenk et al. 2007), neboť každá v sobě nese určitou chybu. Jak je patrno ze statistických charakteristik regrese predikovaných stravitelností, hodnota koeficientu determinace dosažená u stravitelnosti organické hmoty činila $R^2=0,62$.

Tab. 3: Validace výživné hodnoty fermentované kukuřičné siláže pomocí techniky NIRS.

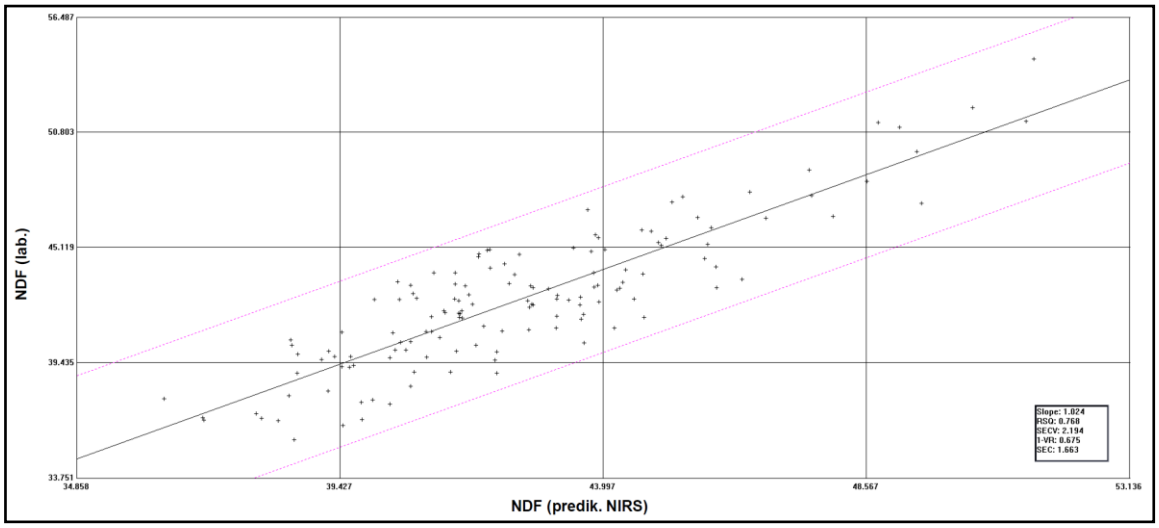
Parametr	Validace					
	n	SEP	SEP (C)	BIAS	SLOPE	R^2
NL	20	0,021	0,024	0,036	0,972	0,97
NDF		1,262	1,149	0,583	1,174	0,83
Škrob		1,463	1,500	-0,038	0,881	0,73
Vláknina		1,345	1,342	0,314	1,121	0,72
Popel		0,322	0,319	-0,084	1,224	0,62
SOH		3,452	3,538	-0,170	1,005	0,62
ADF		1,761	1,586	0,843	1,249	0,59

Pozn.: n - počet vzorků kalibrace; SEP - směrodatná odchylka predikce; SEP (C) - směrodatná odchylka predikce korigovaná konstantou kalibrační křivky (BIAS); BIAS - konstanta kalibrační křivky; SLOPE - směrnice kalibrační křivky; R^2 - koeficient determinace; NL - dusíkaté látky; NDF - neutrodetergentní vláknina; SOH - stravitelné organické látky; ADF - acidodetergentní vláknina.

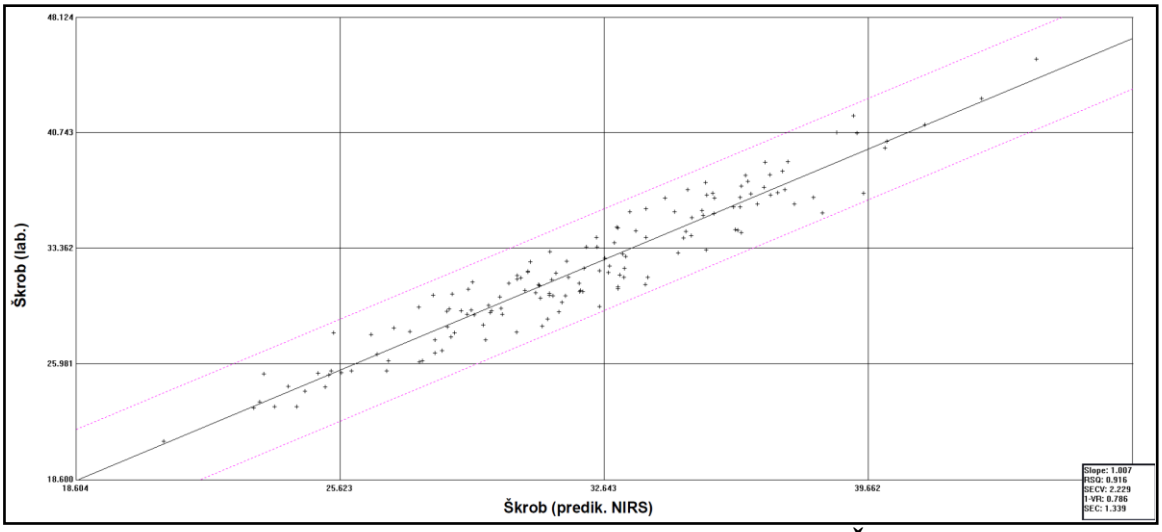
Chyby predikce živočišné odezvy (užitkovosti) bývají obecně větší než chyby predikce chemického složení. Může se na tom podílet už samotné shromažďování dat použitých pro kalibraci i možným výskytem několika *outlierů*. Při využití NIR spektroskopie je nutno mít na zřeteli, že kalibrace je prostý matematický postup, jehož úspěšnost je založená na těsnosti vztahu mezi NIRS spektry a chemickým složením. Proto nelze očekávat, že NIRS bude přesně predikovat parametry kvality píce jakéhokoliv vzorku či populace vzorků, jejichž charakteristiky nebyly zařazeny do kalibrace. U predikovaných parametrů zpracovaných kalibračních rovnic bylo dosaženo statisticky průkazné závislosti kalibračního modelu na referenčních hodnotách viz *tab. 2 a 3*, příklad grafického zpracování je uveden na *obr. 2–4*. Naše výsledky jsou v souladu obdobnými studiemi, zabývajícími se hodnocením kvality fermentovaných siláží pomocí techniky NIRS. V práci Park et al. (2016) bylo pro predikci chemických parametrů (pH) a kvality nutričních hodnot (NL, ADF, NDF) fermentovaných kukuřičných siláží v letech 2014–2015 použito cca 407 vzorků. Kalibrační modely (rovnice) pro parametry fermentace měly nižší přesnost predikce než chemické analýzy. U kalibrace sušiny se hodnoty koeficientů determinace pohybovaly R^2=0,86–0,92; dusíkaté látky (NL): R^2=0,72–0,87; neutrodetergentní vláknina (NDF): R^2=0,81–0,88 a acidodetergentní vláknina (ADF): R^2=0,77–0,85. Práce Restaino et al. (2009) uvádí u fermentovaných siláží z travních druhů a leguminóz příznivé hodnoty koeficientů determinace R^2=0,75–0,81 pro parametry sušina, NL, ADF a NDF. Obdobné hodnoty koeficientů determinace pro sušinu a NDF u fermentované kukuřice uvádí práce (Liu et al. 2008), dále pro parametr stravitelnost organické hmoty (OMD): R^2=0,74 (Lovett et al. 2005).



Obr. 2: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu NL (dusíkaté látky) ve fermentované kukuřičné siláži.



Obr. 3: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu NDF ve fermentované kukuřičné siláži.



Obr. 4: Statisticky průkazná závislost kalibračního modelu Škrob ve fermentované kukuřičné siláži.

Závěr

Dosažené výsledky přesnosti predikce výživné hodnoty fermentovaných siláží kukuřice nabývají příznivě vysokých koeficientů determinace R^2=0,97–0,72 (dusíkaté látky, neutrálně detergentní vláknina, škrob a vláknina) a středně vysokých R^2=0,62–0,59 (popel, stravitelnost organické hmoty, acidodetergentní vláknina). Tato zjištění potvrzují, že NIRS je vhodná a dostatečně přesná metoda ke stanovení výživné hodnoty fermentovaných siláží kukuřice. Přínosem je podstatné zvýšení efektivnosti a rychlosti prováděných exaktních rozborů ve smyslu naplnění praktických potřeb široké obce uživatelů (zemědělská praxe).

Využití techniky NIRS se ukazuje jako vhodný nástroj pro velké série měření, protože se jedná o relativně rychlou analýzu se schopností stanovit nejvýznamnější složky rozborovaného materiálu z jednoho měření vzorku. Vhledem k tomu, že se jedná o sekundární instrumentální metodu, je rychlost a jednoduchost vykoupena o něco nižší přesností ve srovnání s klasickou referenční analýzou. Při dodržení hlavních zásad při práci s NIRS modely, lze však dosáhnout velmi dobrých výsledků. Další předností je, že pro analýzu stačí pouze malé množství vzorku, bezpečnost práce a ekologická nezávadnost (není spotřebováván žádný materiál a nevznikají chemické odpady). Významnou výhodu, pokud nejsou brány v úvahu náklady na pořízení techniky NIRS a chemometrického software, však představuje v porovnání s metodami „mokré chemie“ nízká cena za provedený rozbor. Metoda NIRS má vysokou průchodnost (rychlost stanovení jednoho vzorku cca 2 minuty), poskytuje dostatečně přesné informace o výživné hodnotě a má vysoký potenciál pro řízení kvality on-line. Statisticky robustní kalibrační modely predikce nutriční hodnoty krmiva představují do budoucna v odvětví živočišné výroby vysoký potenciál v řízení a kontrole složení krmné dávky a tím i užitkovosti hospodářských zvířat.

Literatura

Bell, M.J., Mereu, L., Davis, J., 2018. The Use of Mobile Near-Infrared Spectroscopy for Real-Time Pasture Management. Frontiers in Sustainable Food Systems 2, 76.

Berzaghi, P., Marchesini, G., 2014. Rapid methods of analysis of silages to improve feeding management in Dairy Farms, in: Jambor, V., Malá, S., Vosynková, B., Kumprechtová, D. (Eds.), 16th International Symposium Forage conservation. NutriVet Ltd., Brno, pp. 65–70.

Berzaghi, P., Riovanto, R., 2009. Near infrared spectroscopy in animal science production: principles and applications. Italian Journal of Animal Science 8, 39–62.

Bien, R., Hrbáčková, B., 2017. NIR analýza - spolehlivá kontrola jakostních parametrů v krmivářském průmyslu a dalších odvětvích. Krmivářství, 2: 27–28.

Čižmár, D., 2006. Využití NIR spektrometrie v zemědělaké analytice. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita.

Deepa, K., Senthilkumar, S., Kalpana, K., Suganya, T., Sasikumar, P., Thirumalaisamy, G., Sureshkumar, R., Vasanthakumar, P., 2016. NIRS in Animal Sciences. International Journal of Science 5, 605–610.

García-Sánchez, F., Galvez-Sola, L., Martínez-Nicolás, J.J., Muelas-Domingo, R., Nieves, M., 2017. Using Near-Infrared Spectroscopy in Agricultural Systems, in: Kyprianidis, K., Skvaril, J. (Eds.), Developments in Near-Infrared Spectroscopy. IntechOpen, pp. 97–127.

González-Martín, M.I., Escuredo, O., Revilla, I., Vivar-Quintana, A.M., Carmen Coello, M., Riocerezo, C.P., Moncada, G.W., 2015. Determination of the mineral composition and toxic element contents of propolis by near infrared spectroscopy. Sensors (Switzerland) 15, 27854–27868.

Holtshausen, L., Beauchemin, K.A., Schwartzkopf-Genswein, K.S.G., González, L.A., McAllister, T.A., and Gibb, D.J., 2011. "Performance, feeding behaviour and rumen pH profile of beef cattle fed corn silage in combination with barley grain, corn or wheat

distillers' grain or wheat middlings.", Canadian Journal of Animal Science, 91(4), pp. 703-710.

Hopkins, K., Bowen, M., Dixon, R., Reid, D., 2019. Evaluating crude protein concentration of leucaena forage and the dietary legume content selected by cattle grazing leucaena and C4 grasses in northern Australia. Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales 7, 189–192.

Cheng, B., Wu, X., 2006. An modified PLSR method in prediction. Journal of Data Science 4, 257–274.

Cherney, B.J., Cherney, D., 2019. On-farm instant quality analysis. The Manager 2 pp.

ISO 16472, 2012. Krmiva - Stanovení obsahu neutrálně detergentní vlákniny po úpravě vzorku amylázou (aNDF).

Kański, J., Kowalski, Z., 2005. Protein degradability of silages in the rumen estimated by NIRS. Journal of Animal and Feed Sciences, 14: 567–570.

Kong, X., Xie, J., Wu, X., Huang, Y., Bao, J., 2005. Rapid prediction of acid detergent fiber, neutral detergent fiber, and acid detergent lignin of rice materials by near-infrared spectroscopy. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 2843–2848.

Liu, X., Han, L., Yang, Z., Xu, C., 2008. Prediction of silage digestibility by near infrared refl ectance spectroscopy. Journal of Animal and Feed Sciences, 17: 631–639.

Lomborg, C. J., Holm-Nielsen, J. B., Oleskowicz-Popiel, P., Esbensen, K. H. 2009. Near infrared and acoustic chemometrics monitoring of volatile fatty acids and dry matter during co-digestion of manure and maize silage. Bioresource Technology, 100: 1711–1719.

Lovett D. K., Deaville E. R., Moulda, F., Givens D. I., Owena E., 2004. Using near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict the biological parameters of maize silage. Animal Feed Science and Technology, 115: 179–187.

Lovett, D. K., Deaville, E. R., Givens, D. I., et al., 2005. Near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to predict biological parameters of maize silage: Effects of particle comminution, oven drying temperature and the presence of residual moisture. Animal Feed Science and Technology, 120: 323–332.

Marchesini, G., Serva, L., Garbin, E., Mirisola, M., Andrighetto, I., 2017. Near-infrared calibration transfer for undried whole maize plant between laboratory and on-site spectrometers. Italian Journal of Animal Science 17, 1–7.

Martens, H., Naes, T., 1992. Multivariate calibration. John Wiley & Sons, Chichester, England.

Mertens, D.R., 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. Journal of AOAC International 85, 1217–1240.

Míka, V., 1997. Využití infračervené spektroskopie (NIRS) pro hodnocení kvality rostlinných výrobků. Ústav zemědělskcýh a potravinářských inforamcí, Praha, Praha.

Molano, M.L., Cortés, M.L., Ávila, P., Martens, S.D., Muñoz, L.S., 2016. Ecuaciones de calibración en espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) para predicción de parámetros nutritivos en forrajes tropicales. Tropical Grasslands-Forrajes Tropicales 4, 139.

Muselík, J., 2012. Aplikace blízké infračervené spektroskopie ve farmaceutické analýze. Chemické listy, 106: 10–15.

Næsset, E., Bollandsås, O.M., Gobakken, T., 2005. Comparing regression methods in estimation of biophysical properties of forest stands from two different inventories using laser scanner data. Remote Sensing of Environment 94, 541–553.

Nerušil, P., Menšík, L., Jambor, V., 2016. Využití blízké infračervené spektroskopie ke stanovení výživné hodnoty hybridů kukuřice, určených k výrobě kukuřičné siláže. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha – Ruzyně, Praha.

Old, C.A., Oltjen, J.W., Miller, J.R., Ohanesian, N., Hinders, R.G., Vogt, W., Sapienza, D.A., 2016. Reliability of in vivo, in vitro, in silico, and near infrared estimates of pure stand alfalfa

hay quality: component degradability and metabolizability of energy. Professional Animal Scientist 32, 470–483.

Orskov, E.R., Mcdonald, I., 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. The Journal of Agricultural Science 92, 499–503.

Park, H., Kim, J., Choi, K. et al., 2016. Mathematical Transformation Influencing Accuracy of Near Infrared Spectroscopy (NIRS) Calibrations for the Prediction of Chemical Composition and Fermentation Parameters in Corn Silage. Journal of the Korean Society of Grassland and Forage Science, 36: 50–57.

Park, H. S., Lee, J. K., Fike, J. H. et al., 2005. Effect of sample preparation on prediction of fermentation quality of maize silages by near infrared reflectance spectroscopy. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 18: 643–648.

Restaino, E. A., Fernández, E. G., La Manna, A., Cozzolino, D., 2009. Prediction of the Nutritive Value of Pasture Silage by Near Infrared Spectroscopy (NIRS). Chilean journal of agricultural research, 69: 560–566.

Shenk, J. S., Workman, J. J., Westerhause, M. O., 2007. Application of NIR Spectroscopy to Agricultural Products. In: D. A. Burns, E. W. Ciurczak (eds.): Handbook of Near-Infrared Analysis. 3rd ed. CRC Press, Boca Raton, FL (USA): 347–386.

Schwartzkopf-Genswein, K. S., Beauchemin, K. A., McAllister, T. A., et al., 2004. Effect of feed delivery fluctuations and feeding time on ruminal acidosis, growth performance, and feeding behavior of feedlot cattle, Journal of Animal Science, 82, 3357–3365.

Sørensen, L. K., 2004. Prediction of Fermentation Parameters in Grass and Corn Silage by Near Infrared Spectroscopy. Journal of Dairy Science, 87: 3826–3835.

Tilley, J. M. A., Terry, R. A., 1963. A Two - Stage Technique for the in Vitro Digestion of Forage Crops. Grass and Forage Science 18, 104–111.

Wang, H.W., Wu, Z.B., Meng, J., 2006. Partial Least Squares Regression: Linear and Nonlinear Methods. National Defence Industry Press, Beijing.

Weld, K.A., Armentano, L.E., 2018. Feeding high oleic acid soybeans in place of conventional soybeans increases milk fat concentration. Journal of Dairy Science 101, 9768–9776.

Wittkop, B., Snowdon, R.J., Friedt, W., 2012. New NIRS calibrations for fiber fractions reveal broad genetic variation in Brassica napus seed quality. Journal of Agricultural and Food Chemistry 60, 2248–2256.

Yang, Z., Nie, G., Pan, L., Zhang, Y., Huang, L., Ma, X., Zhang, X., 2017. Development and validation of near-infrared spectroscopy for the prediction of forage quality parameters in Lolium multiflorum. PeerJ 5, e3867. doi:10.7717/peerj.3867

Zákon č. 209/2019 Sb., kterým se mění zákon č. 91/1996 Sb., o krmivech, ve znění pozdějších předpisů. Dostupné také z: http://eagri.cz/public/web/mze/legislativa/pravni-predpisy-mze/tematicky-prehled/Legislativa-MZe_uplna-zneni_zakon-2019-209-novela-91-1996.html

Poděkování

Příspěvek byl vypracován s podporou projektů MZe ČR - RO0418, QK1910334 a QJ1810010.

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Nerušil, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., VS Jevíčko
K. H. Borovského 461, 569 43 Jevíčko
Email: nerusil@vurv.cz
Tel.: +420 461 327 814

STANOVENÍ THIAMINU V JEČMENI METODOU LC-MS/MS

Determination of Thiamine in Barley by LC-MS/MS

Pokorná-Bartošková M.[1], Rysová J.[1], Vaculová K.[2]

[1]Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.,
[2]Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s.r.o.

Abstrakt
Thiamin neboli vitamin B_1 je ve vodě rozpustný vitamin, který je nezbytný pro správné fungování lidského těla. V této práci jsme se zaměřily na stanovení thiaminu ve vzorcích ječmene metodou kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí a výsledky jsme porovnaly s běžně využívanou metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí (po oxidaci thiaminu na thiochrom)[1]. Pro kvantitativní stanovení pomocí hmotnostní spektrometrie byl využit izotopicky značený standard thiamin-$^{13}C_3$ hydrochlorid.
Klíčová slova: thiamin, vitamin, ječmen, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

Abstract
Thiamine (B_1 vitamin) is a water-soluble vitamin that is essential for the proper functioning of the human body. In this work, we focused on the determination of thiamine in barley samples by liquid chromatography with tandem mass spectrometry and we compared the results with the commonly used high performance liquid chromatography with fluorescence detection (after oxidation of thiamine to thiochrome)[1]. The stable labeled thiamine-$^{13}C_3$ hydrochloride standard was used for mass spectrometry quantitative determination.
Key words: thiamine, vitamin, barley, liquid chromatography, mass spectrometry

Úvod

Thiamin patří do skupiny vitaminů B a v lidském organismu se vyskytuje ve volné formě či jako vázaný ve formě fosfátů, kdy je aktivním koenzymem v mnoha enzymových reakcích. Vyskytuje se v potravinách živočišného i rostlinného původu, především je součástí celozrnných obilovin, luštěnin, kvasnic, masa, vnitřností a mléčných výrobků. V obilovinách je nejvyšší obsah thiaminu v klíčcích a obalových vrstvách, uvnitř zrna v endospermu je naopak jeho obsah nejnižší[1,2].

Pro stanovení thiaminu v ječmeni je potřeba zpracovat celé zrno včetně obalů. Po rozemletí zrna je potřeba uvolnit z matrice thiamin, což se provádí kyselou a enzymovou hydrolýzou. Při stanovení kapalinovou chromatografií s fluorescenční detekcí je dále nutné provést oxidaci thiaminu na thiochrom kyanoželezitanem draselným v alkalickém prostředí. Tato metoda vychází z normy ČSN EN 14122 (560046)[3] a byla použita jako referenční metoda pro porovnání výsledků. V případě využití tandemové hmotnostní spektrometrie se vzorek neoxiduje, ale je možné jej změřit ihned po hydrolýze.

Materiál a metody

LC-MS/MS analýza byla vyvinuta a optimalizována na kapalinovém chromatografu Agilent 1260 UHPLC ve spojení s hmotnostní detekcí 6460 Triple Quad MS systémem s elektrosprejem jako zdrojem ionizace, který je pro analýzy podobného typu často využíván[4]. Pro separaci byla využita kolona Agilent ZORBAX RRHT SB-Aq, 3.0 mm x 100 mm, 1.8 µm. Podmínky analýzy jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2.

Tab. 1: Podmínky LC-MS/MS analýzy

Teplota kolony	30°C	
Objem nástřiku	1 µl	
Mobilní fáze	A	B
	Demineralizovaná voda + 25mM $HCOONH_4$ + 0,1% HCOOH	Methanol + 25mM $HCOONH_4$ + 0,1% HCOOH
Doba analýzy	10 min	
Gradient	Čas (min)	%B
	0	5
	5	60
	6	60
	6,1	5
	7	5

Tab. 2: Podmínky MS

Mód iontového zdroje	ESI-JET	
Teplota sušícího plynu	260 °C	
Průtok sušícího plynu	6 l/min	
Tlak při nebulizaci	40 psi	
Teplota kolizní cely	380 °C	
Průtok plynu v kolizní cele	12 l/min	
MRM přechody	Prekurzorový iont	Produktový iont
Thiamin	265.1	122.0
		144.0
		113.0
		81.0
$13C_3$-Thiamin	269.1	122.0
		81.0

Chemikálie

K analýze byl použit methanol v kvalitě HPLC-grade firmy Merck a demineralizovaná voda ze zařízení Milli-Q od firmy Merck Millipore. Standard mravenčanu amonného (≥ 99%) byl od firmy Sigma-Aldrich a kyselina mravenčí (≥ 97.5%) od firmy Honeywell. Standard thiaminu (≥ 99.0%) byl dodán firmou Fluka, standard značeného thiaminu-$^{13}C_3$ (neat) byl dodán firmou TRC. K hydrolýze vzorků ječmene byla použita kyselina sírová (95%) a octan sodný, dále enzym takadiastáza od dodavatele Sigma-Aldrich.

Zásobní roztok thiaminu o koncentraci 0,1 mg/ml byl připraven rozpuštěním navážky v 0,1M kyselině sírové. Ze zásobního roztoku standardu bylo naředěno celkem 6 kalibračních úrovní v rozsahu koncentrací 0,5-500 ng/ml v demineralizované vodě. Tato kalibrace byla proměřována vždy na začátku sekvence měření reálných vzorků. Roztok značeného thiaminu byl připraven naředěním 1 mg thiaminu-$^{13}C_3$ do 100 ml 0,1M kyseliny sírové. Takto připravený roztok byl dále dávkován do jednotlivých kalibračních roztoků tak, aby výsledná koncentrace značeného standardu byla 50 ng/ml. Značený standard byl přidáván také do reálných vzorků.

Vzorky

K analýze byly vybrány vzorky zrna materiálů ječmene z pokusů Agrotestu fyto, s.r.o., vedených v polních podmínkách lokality Kroměříž v roce 2018. Dodané vzorky byly

uchovávány v suchu a temnu a před analýzou byly homogenizovány. Celkem byly analyzovány 4 odrůdy: Bojos, Vendela, KM2454.439.99.496.4.02-1 a KM2881.164.10.

Hydrolýza

2 až 10g vzorku bylo naváženo do Kohlrauschovy odměrné baňky na 100 ml. Současně bylo napipetováno 2,5 ml pracovního roztoku thiaminu o koncentraci 5 µg/ml do další odměrné baňky na 100 ml. Do baněk bylo přidáno 40 ml 0,1M H_2SO_4. Vzorky byly hydrolyzovány v autoklávu po dobu 15 minut při 116°C. Následně byly ochlazeny a přídavkem 8 ml 2M octanu sodného bylo pH upraveno na 4,5, poté bylo přidáno 5ml 10% roztoku enzymu takadiastázy. Vzorky byly vloženy do termostatu, kde se při teplotě 37°C nechaly temperovat 14-16 hodin. Po uvedené době byly vzorky ochlazeny na laboratorní teplotu a byly přidány 4 ml 30% H_2SO_4. Odměrné baňky byly doplněny na 100 ml 0,1M H_2SO_4 a obsah byl zfiltrován.

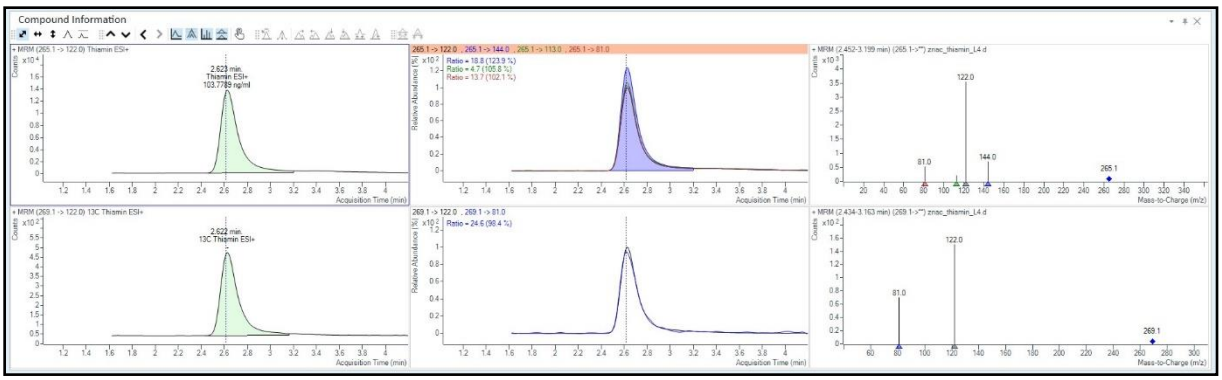
Instrumentální analýza

Vzorky byly připraveny vždy ve dvou opakováních, po hydrolýze vzorků byla část filtrátu použita pro stanovení pomocí LC-MS/MS a další část pro stanovení metodou HPLC s fluorescenční detekcí.

U metody HPLC s fluorescenční detekcí byl vzorek po hydrolýze v alkalickém prostředí oxidován na thiochrom, zneutralizován a přečištěn na SPE kolonkách LiChrolut RP 18, 200mg od firmy Merck. Vlastní separace probíhala v izokratickém módu na koloně LiChrospher 100RP 18, mobilní fází byla směs methanol:fosfátový pufr pH 7 (45:55), fluorescenční detekce při excitační vlnové délce 365 nm a emisní vlnové délce 425 nm.

Pro analýzu LC-MS/MS bylo potřeba do vzorku přidat značený thiamin-$^{13}C_3$ tak, aby výsledná koncentrace odpovídala stejné koncentraci jako v kalibračních úrovních. Vzorky byly změřeny tentýž den společně s kalibrací. Vyhodnocení probíhalo pomocí softwaru MassHunter (záznam ze SW je zobrazen na obrázku 1 a statistické zpracování pak v tabulkovém procesoru Excel.

Obr. 1: Záznam thiaminu a thiaminu-13C$_3$ v MassHunter



Výsledky a diskuze

Metoda byla ověřena změřením validačních charakteristik, kdy byl standard thiaminu přidán do extraktu po hydrolýze ječmene (odrůda Bojos). Byla vyhodnocena opakovatelnost a výtěžnost metody, nejistota měření a limity detekce a kvantifikace. Všechny parametry byly měřeny na třech kalibračních úrovních v sériích po deseti opakováních. Opakovatelnost metody je dána relativní směrodatnou odchylkou výsledků (RSD). Výtěžnost byla měřena na vybrané koncentrační hladině ve středu kalibračního rozsahu. Limity detekce (LOD) a stanovitelnosti (LOQ) byly získány analýzou dat z kalibračních závislostí a nejistota měření byla vypočtena z analýzy rozptylu v Excelu (ANOVA) jako odhad kombinované nejistoty. Výsledky validačních charakteristik jsou uvedeny v tabulce 3.

Tab. 3: Validační charakteristiky metody

Sloučenina	Opakovatelnost RSD [%]	Výtěžnost [%]	LOD [ng/ml]	LOQ [ng/ml]	Nejistota měření [%]
Thiamin	0,52	97,2	0,083	0,249	6,6

Výsledky získané oběma metodami byly dále porovnány pomocí Studentova t-testu shodnosti výsledků a srovnány s kritickou hodnotou pro daný počet měření pro hladinu významnosti 0,05. Z výsledků, které jsou uvedeny v tabulkách 4 a 5, vyplývá, že výsledky obou metod se dají považovat za shodné.

Tab. 4: Obsah thiaminu v jednotlivých odrůdách ječmene

Metoda	Odrůda	Bojos	Vendela	KM2454.439.99.496.4.02-1	KM2881.164.10
LC-MS/MS [mg/100g]	1. měření	0,2122	0,2308	0,2988	0,2581
	2. měření	0,2194	0,2330	0,3012	0,2625
	Průměr	0,2158	0,2319	0,3000	0,2603
	Odchylka	0,007	0,012	0,011	0,010
HPLC-FLD [mg/100g]	1. měření	0,2649	0,2941	0,2772	0,3187
	2. měření	0,2537	0,2917	0,2892	0,3506
	Průměr	0,2593	0,2929	0,2832	0,3347
	Odchylka	0,006	0,001	0,006	0,016

Tab. 5: Výsledky Studentova t-testu shodnosti výsledků

Odrůda	Bojos	Vendela	KM2454.439.99.496.4.02-1	KM2881.164.10
t	4,562	4,982	1,303	3,982
t_α*		12,706		

*Kritická hodnota Studentova rozdělení t_α pro vylučování odlehlých výsledků ($n_a=n_b=n=2$)

Závěr

Pro stanovení thiaminu byla vyvinuta a optimalizována metoda kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí. Tato metoda má oproti běžně používané metodě kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí výhodu, že není potřeba po hydrolýze reálného vzorku tento vzorek dále oxidovat na thiochrom, ale stačí vzorek pouze přefiltrovat. Pro analýzu pomocí LC-MS/MS bylo potřeba přidat ke vzorkům také značený thiamin-$^{13}C_3$, který zpřesňuje stanovení. Opakovatelnost vyvinuté metody je 0,52%, její výtěžnost je 97,2%. Limity detekce a stanovitelnosti pro danou metodu jsou 0,083 a 0,249 ng/ml. Odhad kombinované nejistoty měření z analýzy rozptylu je 6,6%.

Výsledky metody byly porovnány s výsledky získanými metodou HPLC uvedenou v normě ČSN EN 14122 (560046). Podle Studentova t-testu shodnosti výsledků je možné výsledky obou metod považovat za shodné.

Dedikace

Vypracováno s finanční podporou projektu výzkumné infrastruktury METROFOOD-CZ, grant MŠMT: LM2018100 a s podporou Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO0318 a MZE-RO1118.

Použitá literatura

Davídek J., Janíček G., Pokorný J.: *Chemie potravin*, kapitola 7, str. 138. SNTL/ALFA, Praha 1983

https://www.vyzivaspol.cz/vitamin-b1/, staženo 16. 7. 2019.

ČSN EN 14122 (560046): *Potraviny - Stanovení vitaminu B1 metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie* (únor 2015).

Agilent Technologies: Quantitative Analysis of Water-Soluble B-Vitamins in Cereal Using Rapid Resolution LC/Ms/MS 2008 (USA).

Kontaktní adresa:

Mgr. Marie Pokorná Bartošková
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.
Radiová 1285/7
102 00 Praha
e-mail: marie.pokorna@vupp.cz

VYUŽITÍ BATÁTŮ A TOPINAMBUR DO BEZLEPKOVÉHO TĚSTA

The use of sweet potatoes and Jerusalem artichokes in gluten-free dough

Rysová, J., Ptáčková, K., Laknerová, I., Šmídová, Z., Strohalm, J.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Abstrakt

Počet pacientů s intolerancí lepku v současné době neustále roste a sortiment bezlepkových polotovarů a hotových jídel je stále nedostatečný. Byly sestaveny receptury bezlepkového těsta založeného na přirozeně bezlepkových surovinách. Do těsta se přidávají brambory, topinambury nebo batáty, cereální složka a mouky z luštěnin. Placky a knedlíky připravené z navrženého těsta se vyznačují vysokým obsahem bílkovin (4,4-10,9 %) a vlákniny potravy (2,9-7,6 %). Senzorické hodnocení připravených vzorků příloh bylo příznivé. Při testování údržnosti těsta bylo zjištěno, že pro prodloužení trvanlivosti těsta je nutná konzervace přídavkem sorbanu draselného nebo paskalizací. Při použití konzervantu nebo ošetření vysokým tlakem bylo dosaženo skladovatelnosti hotových příloh v chladu po dobu 7dnů.

Klíčová slova: bezlepková dieta, těsto, topinambury, batáty, brambory, nutriční hodnota

Abstract

The number of patients with gluten intolerance constantly increases and the range of gluten-free semi-finished and ready-to eat meals is still insufficient. Gluten-free dough recipes based on naturally gluten-free ingredients have been compiled. Potatoes, Jerusalem artichokes or sweet potatoes, cereal ingredients and leguminous flour were added to the doughs. Flat breads and dumplings prepared from these doughs are characterized by high protein content (4.4-10.9%) and high dietary fiber content (2.9-7.6%). Sensory evaluation of prepared samples of the side dishes was favorable. During the dough shelf life testingt has been found that the preservation by the addition of potassium sorbate or by high pressure pascalisation is necessary to extend the shelf life. When using a preservative or high pressure treatment, the shelf life of the doughs was prolonged to 7 days.

Key words: gluten-free diet, dough, Jerusalem artichokes, sweet potatoes, potatoes, nutritional value

Úvod

Intolerance lepku je skupina onemocnění s neustále narůstajícím počtem pacientů. Patří sem nejznámější celiakie, alergie na pšeničnou bílkovinu, Duhringova dermatitida, glutenová ataxie a neceliakální glutenová senzitivita. Pro všechna tato onemocnění je nejdůležitějším léčebným opatřením vyloučení lepku ze stravy, což znamená dodržování bezlepkové diety s vyloučením všech druhů pšenic, ječmene, žita a jejich kříženců. Konzumace ovsa je řešena individuálně (Kohout 2012). Podle Nařízení 828/2014 je možné potraviny označit výrazem „bez lepku“, pokud neobsahují více než 20 mg lepku/kg potraviny ve stavu dodaném spotřebiteli. Do bezlepkové diety je možné zařadit mnoho přirozeně bezlepkových potravinářských surovin, největší problém představuje náhrada chleba, pečiva a příloh. Domácí příprava bezlepkových příloh je náročná na čas i kuchařskou zručnost a bezlepkových polotovarů je na trhu nedostatek, proto jsme se zaměřili na recepturu těsta vhodného pro zpracování na knedlíky nebo placky v domácích podmínkách i provozovnách společného stravování.

Materiál a metody

Obsah *sušiny* byl stanoven sušením při 105°C do konstantní hmotnosti, *obsah bílkovin* podle Kjeldahla (Nx6,25), *popel* žíháním při 545°C, *tuky po kyselé hydrolýze* a extrakci chloroformem, *vláknina potravy (TDF)* AOAC enzymově – gravimetrickou metodou. Hodnoty v tabulkách jsou průměrem 2 paralelních stanovení. *Celkový počet mikroorganismů* (CPM) byl stanoven na půdě GTK a *kultivace plísní* proběhla na půdě DG18. *Paskalizace* při 400 MPa po dobu 5 min byla provedena na vysokotlakém lisu CYX 6/0103 ze ŽĎAS, a.s. Žďár n/S.

Senzorické hodnocení probíhalo ve specializované laboratoři za účasti 10 školených osob. Byla použita stupnicová metoda s grafickou stupnicí (úsečka 100mm) a pořadový test. Součástí statistického vyhodnocení je Shapiro-Wilkův test normality (na hladině významnosti 5 %), test odlehlosti výsledků podle Dean-Dixona (Q krit11= 0,392; Q krit10= 0,412 na hladině významnosti α = 0,05), Friedmanův test na statistické zpracování výsledků pořadové zkoušky na hladině významnosti α = 0,05.

Suroviny na přípravu těsta pocházely z maloobchodního prodeje. Základem receptur je kombinace brambor a batátů nebo topinambur. Dále obsahují těsta cereální složku a luštěninové mouky. Oloupané brambory a topinambury/batáty se uvaří do úplného změknutí a po vychlazení se rozmixují do kašovité konzistence. Přidá se rýžová/kukuřičná mouka, další mouka luštěninová nebo čiroková, bramborový škrob, vejce, rostlinný olej a sůl. Vše se prohněte do vzniku mírně lepivého, ale soudržného těsta. Při skladovacím pokusu bylo těsto skladováno v jednotlivých porcích v zatavené PA/PE fólii v chladničce při 8°C. Do vybraných vzorků byl přidán konzervant sorban draselný v množství 0,2 %, a to zamícháním do suchých surovin na těsto. Skladovací pokus probíhal po dobu 14 dnů, sledovány byly vzorky bez konzervace, vzorky s přídavkem sorbanu draselného a vzorky ošetřené vysokým tlakem.

Výsledky a diskuse

Nutriční složení knedlíků a placek připravených z testovaného těsta je v tabulce 1. Sušina bezlepkových placek je vzhledem ke způsobu tepelné úpravy vyšší než u knedlíků. Receptury na těsto byly sestaveny tak, aby měly připravené potraviny dostatečný obsah vlákniny a bílkovin. V bezlepkových přílohách se často používají jako náhrada pšeničné mouky škroby, proto může být bezlepková dieta na bílkoviny a vlákninu deficitní (Missbach a kol. 2015). Obsah bílkovin i vlákniny potravy je vyšší u vzorků s přídavkem luštěnin, tedy cizrnové nebo lupinové mouky. Nejnižší jsou tyto parametry u vzorků s přídavkem čiroku, tato skutečnost je dána složením této cereální suroviny. Obsah vlákniny u vzorků s luštěninovými moukami je vyšší než 3%, podle Nařízení 1924/2006 mohou být takové potraviny považovány za zdroj vlákniny. Knedlíky a placky s lupinovou nebo cizrnovou moukou obsahují více jak 6 % TDF, takže je lze označit jako potraviny s vysokým obsahem vlákniny. Stejné vzorky obsahují také nejvyšší podíl bílkovin. Kombinace cereálií a luštěnin je důležitá i z hlediska vyrovnání obsahu esenciálních aminokyselin. V cereáliích je limitující aminokyselinou lysin, zatímco v luštěninách je nižší obsah methioninu (Velíšek 1999).

Vedle brambor, které jsou domácí a levnou základní surovinou, jsou do těsta přidávány topinambury nebo sladké brambory (batáty). Topinambury jsou bohatým zdrojem inulinu. Inulin lineární fruktan a je řazen do rozpustné frakce vlákniny. Používá se jako prebiotikum a má profylakticko-léčebné účinky. Batáty obsahují více vlákniny než klasické brambory a jsou zajímavé obsahem karotenů. Topinambury i batáty jsou zdrojem dalších biologicky aktivních látek (Bobrivnyk a kol. 2017, Ji a kol. 2015). Tuková složka je v recepturách doplněna o polynenasycené mastné kyseliny z přidaného řepkového oleje.

Tab. 1: Nutriční složení bezlepkových knedlíků a placek (g/100g vzorku)

vz.	popis	sušina	bílkoviny	tuky	popel	TDF
	knedlíky					
1	top, rýž., čirok	42,3	4,4	4,0	1,3	2,9
2	top, rýž., lupina	42,3	7,3	4,8	1,6	6,1
3	bat., kuk. žl. hrách	44,8	5,7	4,6	1,7	4,0
4	bat., kuk., cizrna	45,6	6,1	4,8	1,9	6,3
	placky					
1	top, rýž., čirok	61,1	6,2	5,0	2,2	3,1
2	top, rýž., lupina	62,7	10,9	6,1	2,6	6,5
3	bat., kuk. žl. hrách	55,9	7,6	5,6	2,4	3,4
4	bat., kuk., cizrna	66,6	8,7	7,2	2,9	7,6

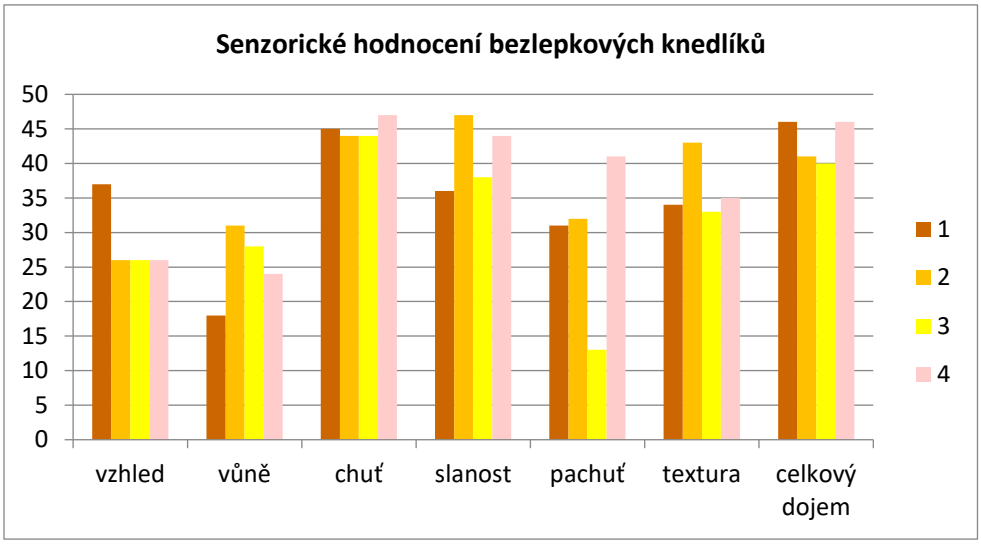
Výsledky senzorického hodnocení jsou na obrázcích 1 a 2. Celkově vyznívá senzorické hodnocení velmi dobře, vzorky jsou hodnoceny lépe než průměr. Pouze placky s čirokovou moukou tuto hranici mírně překračují. Vzorky knedlíků jsou chutí i v celkovém senzorickém dojmu velmi vyrovnané. Intenzita slané chuti byla hodnocena jako mírně nižší, což navazuje na současné snahy o snížení obsahu soli v potravinách v rámci reformulací.

V pořadovém testu (viz. Tabulka č. 2) byly jako nejlepší hodnoceny knedlíky s lupinovou moukou a nejhůře vzorek s čirokem, u placek byl nejlépe hodnocen vzorek č. 4 s cizrnovou moukou.

Tab. 2: výsledky pořadového testu senzorické analýzy (1= nejlepší, 4= nejhorší)

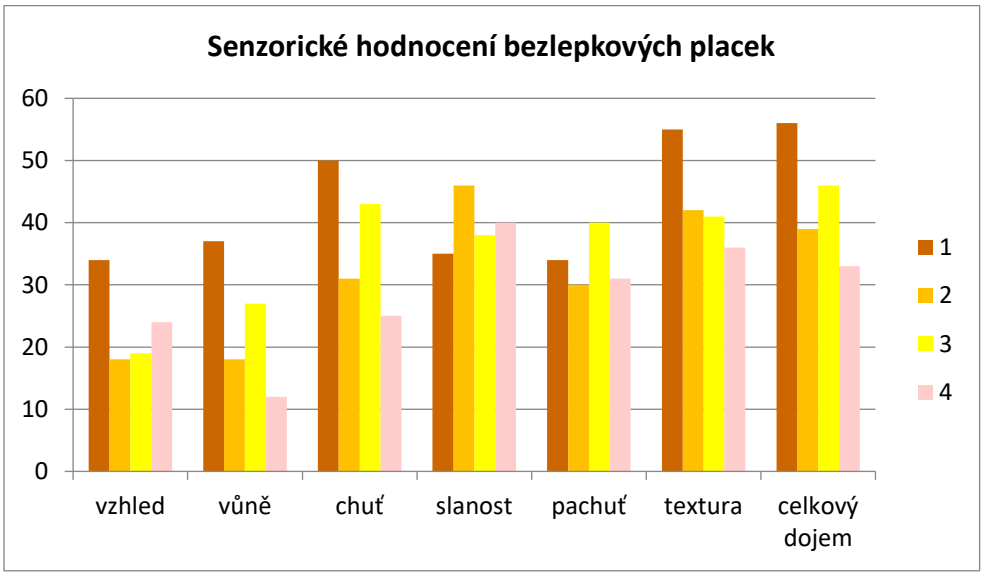
vzorek	Pořadí knedlíky	Pořadí placky
1	4	4
2	1	2
3	2	3
4	3	1

Záměrem autorů bylo, aby těsto bylo použitelné ihned po přípravě v zařízeních společného stravování, ale současně aby se ve vhodném obalu mohlo prodávat jako polotovar pro domácí přípravu pokrmů. Proto byl u bramborovo-batátového těsta proveden skladovací pokus a mikrobiologické analýzy vzorků. Skladovací pokus probíhal po dobu 14 dnů, byly sledovány vzorky skladované v chladu; vzorky konzervované chemicky a skladované v chladu a vzorky ošetřené vysokým tlakem (paskalizací) a skladované v chladu. Výsledky jsou uvedeny v následujících tabulkách a obrázcích (obr. 3 a tab. č. 3).

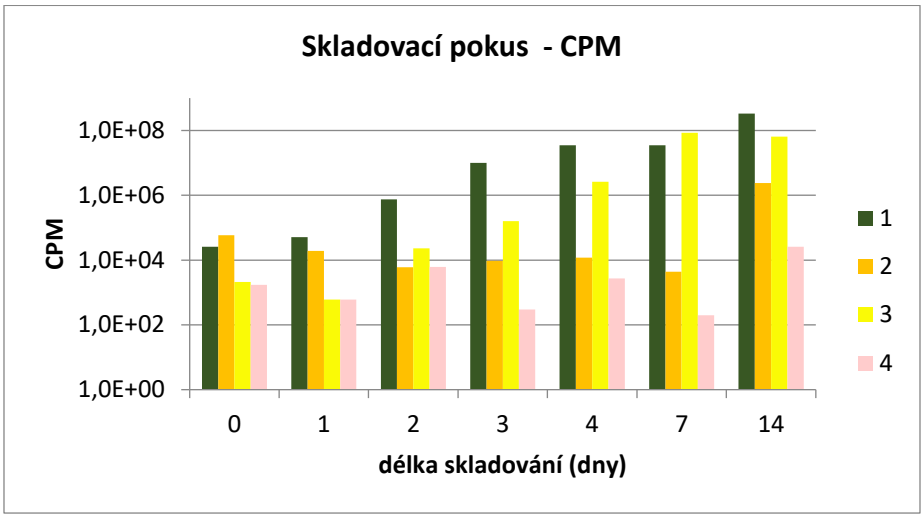


Obr. 1: senzorické hodnocení bezlepkových knedlíků (vzhled, vůně, chuť, textura, celkový dojem - 0 = vynikající, 100 = velmi špatný, intenzita slané chuti a intenzita pachuti- 0 = nepřítomna, 100 = velmi silná).

Popis vzorků:
1 – brambory, topinambury, rýžová a čiroková mouka
2 – brambory, topinambury, rýžová a lupinová mouka
3 – brambory, batáty, mouka z kukuřice a žlutého hrachu
4 – brambory, batáty, kukuřičná a cizrnová mouka



Obr. 2: senzorické hodnocení bezlepkových placek



Obr. 3: celkový počet mikroorganismů při skladování bramborovo-batátového těsta s lupinovou moukou (na 1g vzorku); 1=těsto s rýžovou moukou, 2=rýžová mouka+konzervant, 3=těsto s kukuřičnou moukou, 4= kukuřičná mouka+konzervant

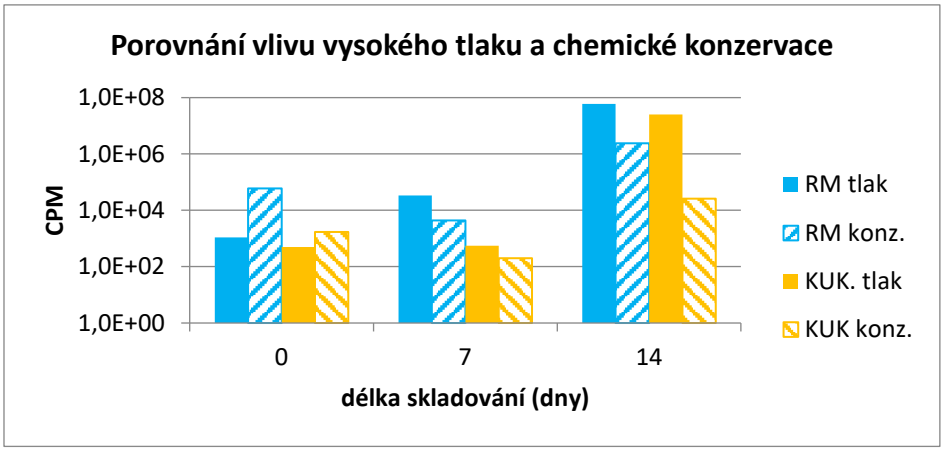
Vyhláška 132 / 2004 o mikrobiologických požadavcích na potraviny neuvádí přípustné hodnoty CPM a plísní pro potraviny neurčené k přímé spotřebě, pouze limit 10^4/g pro koliformní mikrorganismy. Jako pomocné kritérium byla proto zvolena přípustná hodnota CPM pro nesušené těstoviny, která činí 10^6/g vzorku. Již třetí den skladování jeden ze vzorků bez konzervace tuto hranici převyšoval, naopak vzorky 2 a 4 s přídavkem sorbanu draselného byly po týdnu skladování relativně stabilní, ale po 14 dnech už počet CPM narostl také u těchto vzorků. Vliv konzervantu je možné sledovat i v rozdílném nárůstu plísní v tabulce 3.

Tab. 3: počet plísní při skladování bramborovo-batátového těsta s lupinovou moukou (na 1g vzorku); 1=těsto s rýžovou moukou, 2=rýžová mouka+konzervant, 3=těsto s kukuřičnou moukou, 4= kukuřičná mouka+konzervant

vzorek /dny	0	1	2	3	4	7	14
1	900	730	6	200	80	73	over
2	0	0	0	0	0	0	13
3	80	86	6	13	40	20	0
4	0	130	0	0	0	0	0

Na obrázku 4 je uvedeno porovnání vlivu paskalizace a přídavku konzervantu při skladování těsta z brambor, batátů, lupinové a rýžové nebo kukuřičné mouky. První týden skladování je ošetření vysokým tlakem i chemická konzervace účinné, v průběhu dalšího skladování už počet CPM roste do nežádoucích hodnot. V obou případech je třeba ovšem zachovat skladování v chladu.

Ze skladovacího pokusu vyplývá, že těsto s rýžovou i s kukuřičnou moukou jsou z hlediska údržnosti rovnocenné. Těsto bez konzervantu nebo paskalizace je určeno pouze na okamžitou spotřebu. Těsta s přídavkem sorbanu draselného nebo těsta ošetřená vysokým tlakem je možné skladovat 7 dní při dodržení chladírenských podmínek.



Obr. 4: porovníní vlivu paskalizace a přídavku sorbanu draselného při skladování bramborovo-batátového těsta s lupinovou a rýžovou/kukuřičnou moukou.

Závěr

Byly připraveny vzorky bezlepkového těsta z brambor, topinambur nebo sladkých brambor s obsahem cereální složky a luštěninové mouky. Nutriční hodnocení knedlíků a placek z těchto těst připravených prokázalo uspokojivý obsah bílkovin a vlákniny potravy. Senzorické hodnocení hotových příloh bylo lepší než průměrné. Skladovací pokus vybraných vzorků těst potvrdil pro případný prodej nutnost konzervace těsta chemickým konzervantem nebo paskalizací. Při skladování v chladu bylo dosaženo údržnosti těsta po dobu 7 dnů.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu METROFOOD-CZ, grant MŠMT: LM2018100 a za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO0318

Literatura

Bobrivnyk, L. D., Remeslo, N.V., Stepanets, L.F., Fedorenchenko L.O.: Chemické složení hlíz vybraných odrůd topinamburu. Listy cukrovarnické a řepařské, 133 (3), 2017, 104 – 108.

Ji,H., Zhang, H., Li, H., Li, H.Y.: Analysis on the Nutrition Composition and Antioxidant Activity of Different Types of Sweet Potato Cultivars Food Nutr. Sci.,6, 2015, 161-167.

Kohout, P.: Postgraduální medicína, 2012, č.2
http://zdravi.euro.cz/clanek/postgradualni-medicina/celiakie-463474 staženo 16.6.16

Missbach B., Schwingshackl L., Billmann A., Mystek A., Hickelsberge M., Bauer G., Konig J.:Gluten-free food database: the nutritional quality and cost of Packard gluten-free food.

Peer J., 3, 2015, 1337 Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1924/2006 ze dne 20. prosince 2006 o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin.

Prováděcí nařízení Komise (EU) č. 828/2014 ze dne 30. července 2014 o požadavcích na poskytování informací o nepřítomnosti či sníženém obsahu lepku v potravinách spotřebitelům USDA Food Composition Databases. The National Agricultural Library. 31.7.2018

dostupné z: https://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list

Velíšek, J.: Chemie potravin 1. Tábor: OSSIS, 1999. 352 s.

Vyhláška č. 132 ze dne 12. března 2004 o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení

Kontaktní adresa:

Ing. Jana Rysová,
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i., Radiová 7, 102 00 Praha 10 Hostivař,
e-mail: j.rysova@vupp.cz

APLIKACE KOZINCE BLANITÉHO *ASTRAGALUS MEMBRANACEUS* DO POTRAVIN

The addition of the Astragalus membranaceus into the foods

Rysová J., Houška M., Laknerová I., Novotná P., Strohalm J.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.

Abstrakt

Kozinec blanitý *(Astragalus membranaceus)* je tradiční bylina v asijské medicíně a je mu přiznávána řada ochranných účinků na lidský organismus. Do potravin byl přidáván sušený kořen kozince jako jemně mletý prášek nebo byl z kořene připraven odvar. Byly připraveny ovocné přesnídávky s cereální složkou a ořechové krémy s přídavkem kozince, z odvaru pak sirupy ochucené ovocem nebo bylinami. Bylo provedeno senzorické hodnocení vzorků s kozincem a bylo stanoveno nutriční složení ořechových krémů. Výsledky senzorického hodnocení byly pro všechny vzorky příznivé, za optimální přídavek práškového kořene ve formě jemně mleté považujeme dávku 0,7 – 0,8 %.

Klíčová slova: kozinec blanitý, *Astragalus membranaceus*, potraviny, senzorické hodnocení

Abstract

Astragalus membranaceus is a traditional herb in Asian medicine and this plant is recognized for a number of protective effects in the human body. *Astragalus* root powder was added to the foods or a decoction was prepared from the root. Fruit blends with cereal ingredient and nut creams with the addition of *Astragalus* and by fruits and herbs flavored syrups with *Astragalus* decoction were prepared. Sensory evaluation of samples with *Astragalus* was performed and nutritional composition of nut creams was determined. The results of sensory analysis were favorable for all samples, the optimal addition of the powdered root is considered to be 0.7 - 0.8 %.

Key words: *Astragalus membranaceus*, huang qi, foods, sensory analysis

Úvod

V současné době se vracíme díky novým znalostem o dějích v živém organismu a díky rezistenci mikrobiálních kmenů k přírodním surovinám, ve kterých jsou nalézány moderními analytickými metodami mnohé biologicky účinné látky. Většinou se jedná o sekundární metabolity, které chrání rostlinu před poškozením. Tyto látky mají typické organoleptické vlastnosti, schopnost potlačovat růst mikroorganismů nebo mají významné antioxidační vlastnosti.

Kozinec blanitý (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge a kozinec *Astragalus mongholicus* Bunge z čeledi *Fabaceae* jsou zdrojem drogy Radix astragalii. Kozinec je vytrvalá bylina 40-100 cm vysoká, s lichozpeřenými listy a žlutými květy. Kořen o průměru 1-3,5 cm a délky až 90cm je většinou nerozvětvený, kuželovitý, jen s malými postranními kořínky. Barva je šedo- až hnědo-žlutá, kořen má vláknitou texturu. Chuť je mírně nasládlá, vůně nevýrazná (WHO 1999). Hlavními účinnými látkami jsou triterpenické saponiny (astragalosidy a izoastragalosidy), flavonoidy a polysacharidy astragalany a astraglukany, lektiny a fenolické kyseliny (Yin a kol. 2019 a)

Kozinec pochází ze severní Číny, Mongolska a ze Sibiře, kde je používán v lidovém léčitelství a je považován za tzv. adaptogen. Vybrané zdravotní účinky kozince byly předloženy ke schválení Evropské komisi a jsou uvedeny na tzv. „on hold“ seznamu. Předpokládá se kardioprotektivní účinek a ochranný vliv na cévní systém, dále účinek protizánětlivý, diuretický

a účinky antioxidační. Kozinec pomáhá po prodělaných záchvatech mrtvice, zvyšuje přirozenou obranyschopnost organismu, udržuje normální hladinu cukru v krvi, brání poškození DNA a zpomalují zkracování telomer v buňkách (Epel a kol. 2004, Patel 2017, EFSA 2011). Byla publikována řada prací ověřující účinky látek obsažených v kozinci na pokusných zvířatech nebo modelových tkáňových kulturách, ověřovány jsou i antikancerogenní účinky (Strohalm a kol. 2018.). Kozinec je již nabízen v čajových směsích a doplňcích stravy, cílem naší práce byla aplikace kozince do běžných potravin.

Materiál a metody

Obsah *sušiny* byl stanoven sušením při 105°C do konstantní hmotnosti, *obsah bílkovin* podle Kjeldahla (Nx6,25), *popel* žíháním při 545°C, *tuky po kyselé hydrolýze* a extrakci chloroformem, *vláknina potravy (TDF)* AOAC enzymově – gravimetrickou metodou. Výsledky v tabulkách jsou průměrem dvou paralelních stanovení.

Senzorické hodnocení probíhalo ve specializované laboratoři za účasti 10 školených osob. Byla použita stupnicová metoda s grafickou stupnicí (úsečka 100mm). Součástí statistického vyhodnocení je Shapiro-Wilkův test normality (na hladině významnosti 5 %) a test odlehlosti výsledků podle Dean-Dixona (Q krit11= 0,392; Q krit10= 0,412 na hladině významnosti α = 0,05

Sušený kořen kozince kusový byl získán od firmy Byliny Mikeš s.r.o. a mletý kořen byl zakoupen od firmy *Salvia Paradise*, s.r.o., ostatní suroviny pro přípravu potravin pocházely z maloobchodního prodeje.

Vzorky ořechových krémů s obsahem kozince blanitého byly připraveny z mletých nesolených ořechů nebo arašídů nepražených i pražených, tukové složky, cukru nebo soli a ochucujících složek. Sušený kořen kozince byl přidán ve formě komerčně dostupného prášku (firma Salvia Paradise) v množství 0,5-0,8 %. Ochucujícími složkami krémů jsou homogenáty čerstvých bylin, ochucené oleje, sušené byliny, kakao, karob, mléko a další suroviny. Jako emulgátor byl využit lecitin

Sirupy byly připraveny z odvaru kořene kozince ochuceného ovocem, ovocnou šťávou nebo homogenáty bylin. Sirupy byly slazeny řepným cukrem, dalšími složkami sirupů byly kyselina citronová a případně i kyselina askorbová. Při senzorickém hodnocení byl hodnocen původní sirup a ředění si pak volili hodnotitelé podle svých zvyklostí

Přesnídávky byly připraveny z ovocného protlaku, cereální složky, cukru a kyseliny askorbové. Kořen kozince byl přidáván do ovocné hmoty ve formě jemně mletého prášku, dávka dosahovala 0,7-0,8 %. Vzorky byly následně konzervovány pasterací.

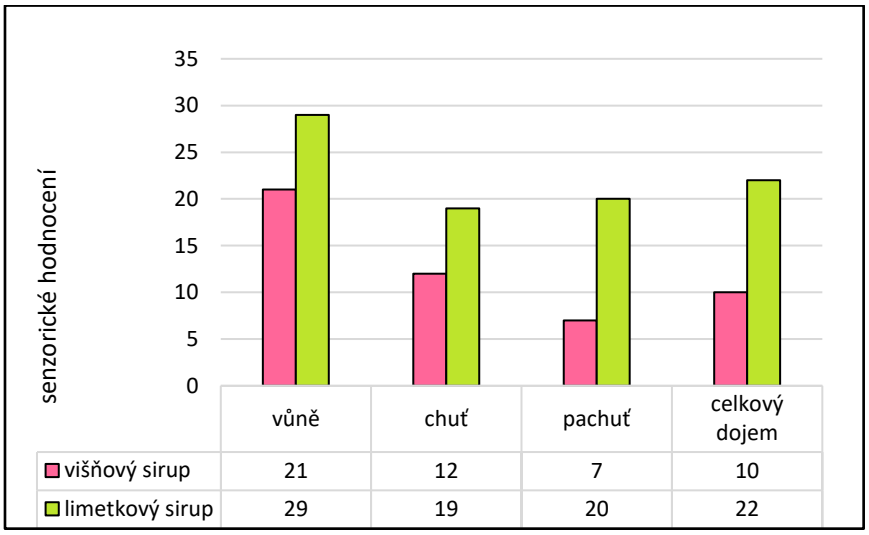
Výsledky a diskuse

Při přípravě odvaru z kořene kozince se ukázalo, že by bylo vhodné použít kusovou surovinu o menší velikosti částic. Kořen kozince se však mele obtížně, na laboratorním mlýnku byla získána pouze částečně rozvlákněná hmota, která se vařila při přípravě odvaru 15 minut, zatímco původní kusový materiál se vařil 30 minut. Sirupy byly okyseleny kyselinou citronovou na hodnoty pH nižší než 4 a také dávka cukru byla volena tak, aby byla zajištěna údržnost sirupu. Parametry sirupů jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1 Vlastnosti připravených sirupů

sirup	pH	refraktometrická sušina (%)
višňový	3,78	62,8
limetkový s mátou	3,62	61,5

Obr. 1 Výsledky senzorického hodnocení sirupů v koncentrované formě (sirup višňový - pH 3,78, refraktometrická sušina 62,8 %; sirup ochucený limetkou - pH 3,62, refraktometrická sušina 61,5 %) s vyloučením odlehlých výsledků dle Dean-Dixonova testu (stupnice 0 – 100 bodů: vůně, chuť a celkový dojem 0 = vynikající, 100 = velmi špatný; intenzita pachuti 0 = žádná, 100 = velmi silná)



Obr. 2 Výsledky senzorického hodnocení sirupů v ředěné formě s vyloučením odlehlých výsledků dle Dean-Dixonova testu (stupnice 0 – 100 bodů: vůně, chuť a celkový dojem 0 = vynikající, 100 = velmi špatný; intenzita pachuti 0 = žádná, 100 = velmi silná)

Výsledky senzorického hodnocení sirupů s odvarem z kozince jsou uvedeny na obrázcích 1 a 2. Hodnocení všech sledovaných senzorických deskriptorů bylo u analyzovaných vzorků sirupů v koncentrované formě velmi dobré, žádný z uvedených znaků nepřesáhl hranici 50 bodů, výsledné střední hodnoty se pohybovaly v rozmezí 7 – 29 bodů. Nejlépe hodnotili asesoři vzorek višňového sirupu u vůně, chuti i u ostatních parametrů. Velmi dobré bylo také hodnocení všech senzorických parametrů v případě analyzovaných vzorků sirupu v ředěné formě. Dle očekávání i v ředěné formě byl hodnocen vzorek višňového sirupu lépe než vzorek limetkového sirupu s mátou. Ukázalo se, že sirup výrazně ochucený ovocem je pro konzumenta více přijatelný, protože je lépe překryta chuť kozincového odvaru. Tato chuť byla také více vnímána

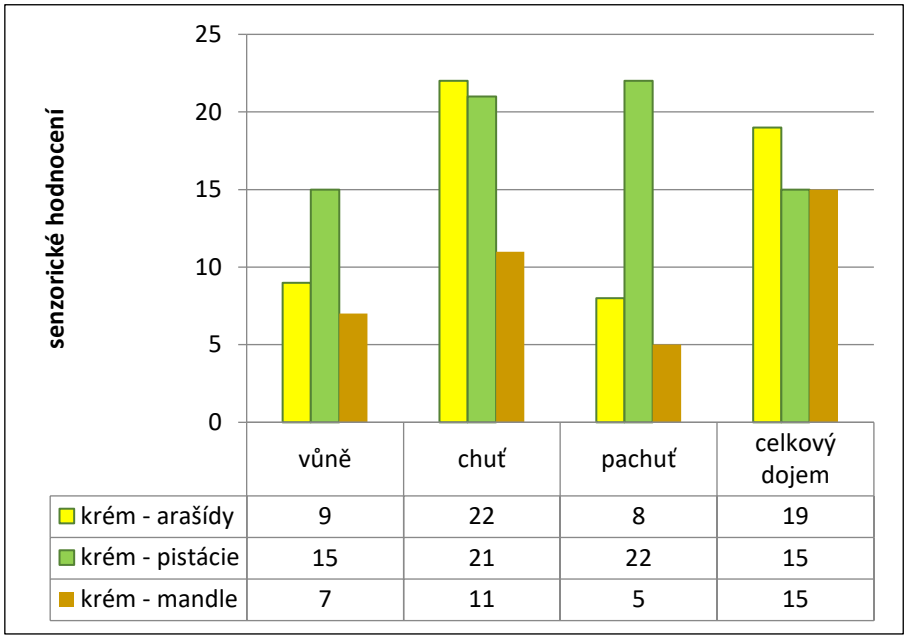
v naředěném sirupu než v koncentrovaném. Přes tuto skutečnost je hodnocení sirupů velmi příznivé.
Ořechové krémy byly pro aplikaci kozince zvoleny pro svou oblibu a možnost výrazného ochucení. Ořechy a arašídy jsou nutričně významnou složkou navržených krémů, jsou zdrojem bílkovin, vlákniny i nenasycených mastných kyselin. Zajímavý je především obsah kyseliny alfa- ve vlašských a lískových ořeších. Ořechové krémy obsahují řadu dalších biologicky aktivních látek, jako například polyfenolů s antioxidační aktivitou nebo rostlinných sterolů.

Tab. 2 Nutriční složení ořechových krémů (g/100g vzorku).

krémy	sušina	bílkovina	tuk	popel	TDF
arašídový s bazalkou	97,5	23,7	52,5	2,6	12,5
pistáciový	96,2	18,3	52,6	2,4	14,7
mandlový s kakaem	96,9	15,5	53,7	2,4	5,9

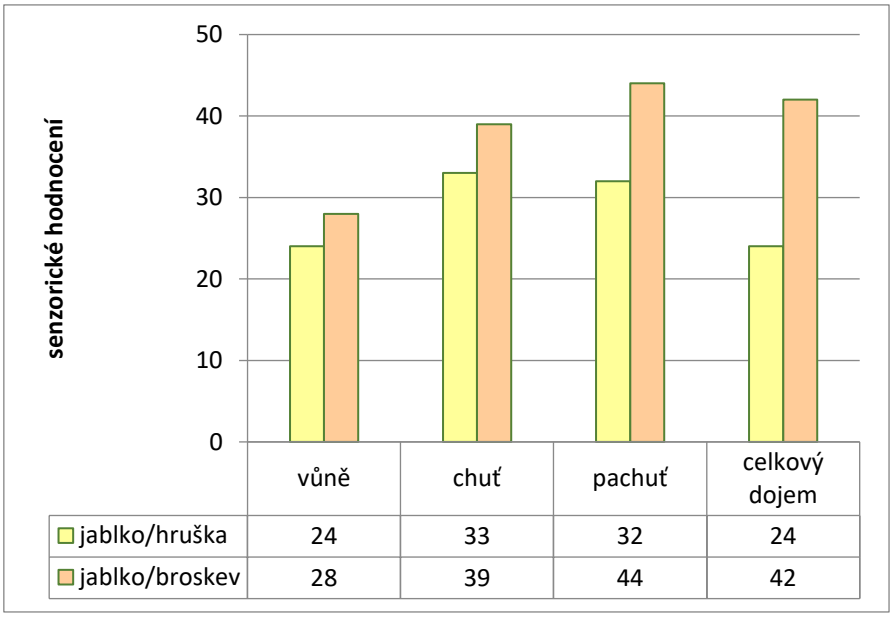
Vzorky 3 ořechových krémů byly připraveny na senzorickou analýzu: arašídový krém s bazalkovým olejem, pistáciový krém s máslem a mandlový krém s kakaem slazený cukrem. Základní složení uvedených krémů je v tabulce 2, kde je zřejmý vysoký obsah bílkovin i vlákniny ve vzorcích. Výsledky senzorického hodnocení jsou uvedeny na obrázku 3. V hodnocení senzorického celkového dojmu jsou výsledky u vzorků krémů s pistáciemi a mandlemi shodné, v dílčích parametrech pak je lépe hodnocen krém s mandlemi. Nejhorší hodnocení intenzity pachuti se objevuje u krému s pistáciemi. Příčinou může být skutečnost, že krém byl připraven z nativní pistáciové mouky, která má poněkud jinou chuť než pražené pistácie, na které jsou hodnotitelé zvyklí. Celkově však vyznívá senzorické hodnocení velmi dobře.
Sušený kořen kozince byl přidán ve formě jemně mletého prášku také k ovocným přesnídávkám s cereální složkou. Byla připravena jablečno-hrušková přesnídávka s ovesnými otrubami (pH 3,6, sušina 17,88%, refraktometrická sušina 14,2 %) a bezlepková přesnídávka z jablek a divokých broskví s jahelnou moukou (pH 4,42, sušina 18,7 % a refraktometrická sušina 15,4 %). Výsledky senzorického hodnocení jsou na obrázku 4. Lépe byl hodnocen vzorek jablko/hruška, zatímco nahořklá chuť broskví zůstala i po oloupání slupky a ovlivnila spolu s kozincem chuť i celkový senzorický dojem. Přesto byly oba vzorky hodnoceny jako mírně lepší než průměrné

Obr. 3:Výsledky senzorického hodnocení ořechových krémů s vyloučením odlehlých výsledků dle Dean-Dixonova testu (stupnice 0 – 100 bodů: vůně, chuť a celkový dojem 0 = vynikající, 100 = velmi špatný; intenzita pachuti 0 = žádná, 100 = velmi silná)



	vůně	chuť	pachuť	celkový dojem
krém - arašídy	9	22	8	19
krém - pistácie	15	21	22	15
krém - mandle	7	11	5	15

Obr. 4: Výsledky senzorického hodnocení ovocných přesnídávek s vyloučením odlehlých výsledků dle Dean-Dixonova testu (stupnice 0 – 100 bodů: vůně, chuť a celkový dojem 0 = vynikající, 100 = velmi špatný; intenzita pachuti 0 = nepřítomna, 100 = velmi silná)



	vůně	chuť	pachuť	celkový dojem
jablko/hruška	24	33	32	24
jablko/broskev	28	39	44	42

Závěr

Sušený kořen kozince blanitého byl přidáván jako jemně mletý prášek do ovocných přesnídávek a ořechových sladkých a slaných krémů. Z odvaru z kořene kozince byly připraveny sirupy ochucené ovocem a bylinami. Ořechové krémy jsou vedle kozince dobrým zdrojem bílkovin i vlákniny. Senzorické hodnocení připravených vzorků bylo v případě ořechových krémů a

sirupů velmi dobré a u přesnídávek lepší než průměrné. Jako optimální přídavek sušeného kozince se jeví množství kolem 0,8 %.

Dedikace

Práce vznikla za podpory projektu METROFOOD-CZ, grant MŠMT: LM2018100 a za podpory projektu NAZV QK1910103

Použitá literatura

Consolidated list of Article 13 health claims, List of references received by EFSA Part 4 IDs 3001 – 4705, EFSA, Parma 2011

článek 13. 1. on hold claims – dostupné 29. 8. 2018 na http://www.food-law blog.co.uk/2014/06/department-of-health-provides-spreadsheet-of-article-131-on-hold-health claims-.html

Epel, E.S., Blackburn, E.H., Lin, J., Dhabhar, F.S., Adler, N.E., Morrow, J.D., Cawthon, R.M.: Accelerated telomere shortening in response to life stress. PNAS, 101(49), 2004, 17312–17315

Patel, K.: Summary of *Astragalus membranaceus*. Primary Information, Benefits, Effects, and Important Facts, staženo 10. 12. 2017 https://examine.com/supplements/astragalus-membranaceus/

Strohalm J., Boesenberg K., Novotná P., Rysová J., Houška M., Kozinec blanitý, rdesno mnohokvěté a šalvěj červenokořenná – přehled účinků, Výživa a potraviny, 2018, 3, s. 72-74

WHO monographs on selected medicinal plants, Volume 1, WHO Genève 1999, 295s.

Yin M., Yang, M., Chu, S., Li, R., Zhao, Y., Peng, H., Zhan, Z., Sun, H.F.: Quality Analysis of Different Specification Grades of *Astragalus membranaceus var. mongholicus* (Huangqi) from Hunyuan, Shanxi. Journal of AOAC International, 102 (3), 2019, 734-740.

Kontaktní adresa:

Ing. Jana Rysová,
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.,
Radiová 7,
102 00 Praha 10 Hostivař,
e-mail: j.rysova@vupp.cz

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

SPEKTRUM HOUBOVÝCH PATOGENŮ ČIROKU SÚDÁNSKÉHO PĚSTOVANÉHO NA MORAVĚ

The spectrum of fungal pathogens of Sorghum vulgare grown in Moravia

Nováková E., Šafránková I.

Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství, Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Cílem pokusu bylo zjistit spektrum houbových patogenů, které napadají čirok v podmínkách jižní Moravy. V roce 2019 (květen–srpen) byl na pozemku polní pokusnické stanice v Žabčicích v šesti termínech proveden monitoring výskytu houbových patogenů čiroku na odrůdě „KWS Tarzan“. Části rostlin, které vykazovaly známky napadení byly vyfotografovány a odebrány pro další stanovení. Houboví patogeni byli identifikováni dle morfologických charakteristik (skvrny, mycelium) přímo na stanovišti, nebo po laboratorní kultivaci metodou „vlhké komůrky“ mikroskopickými strukturami (mycelium, spory). Na rostlinách čiroku byli identifikováni patogeni ze skupiny listových a stonkových skvrnitostí (*Colletotrichum sublineola*, *Cercospora sorghi*, *Exserohilum turcicum*, *Bipolaris cookei*, *Ascochyta sorghi*) a rzivost čiroku (*Puccinia sorghi*).

Klíčová slova: *Sorghum vulgare*, listové skvrnitosti, *Colletotrichum sublineola*, monitoring

Abstract

The aim of the experiment was to determine a spectrum of fungal pathogens which attack sorghum in south Moravian conditions. Six evaluations were performed in 2019 (May–August) under the field condition on sorghum variety ´KWS Tarzan´ in the field experimental station in Žabčice. Parts of plants which were affected by fungal pathogens were photographed and collected for their determination. The fungal pathogens were identified according to morphological characteristic (spots, mycelium) on the field or after laboratory ´wet cell´ cultivation by microscopic characteristics (mycelium, spores). The sorghum plants were infected by pathogens from the group of leaves and stalks spots (*Colletotrichum sublineola*, *Cercospora sorghi*, *Exserohilum turcicum*, *Bipolaris cookei*, *Ascochyta sorghi*) and sorghum rust (*Puccinia sorghi*).

Key words: *Sorghum vulgare*, leaf spot disease, *Colletotrichum sublineola*, monitoring

Úvod

Celosvětově patří čirok mezi nejpěstovanější plodiny, slouží převážně pro výživu lidí, zvířat a výrobu bioplynu. V České republice se dosud pěstuje pouze okrajově, ale do budoucna má velký potenciál. Důvodem je jeho schopnost podávat stabilní výnosy v suchých a teplých oblastech. Tato vlastnost je díky měnícím se klimatickým podmínkám, tj. vyšší teplota a nerovnoměrný úhrn srážek v průběhu vegetace, velice přínosná. Problematické jsou však nízké teploty v době vzcházení, ty mají za následek oslabení rostlin a mezerovitost porostu (Adamčík a Tomášek, 2016). Oslabené rostliny pak mohou vykazovat vyšší náchylnost k napadení škodlivými organismy. V našich klimatických podmínkách se vyskytuje jen úzké spektrum houbových patogenů, které jsou schopny čirok napadnout, přesto je nelze pominout. Jedná se především o antraknózu čiroku, jejímž původcem je *Colletotrichum sublineola* (Das, 2018). Dále se o patogeny způsobující různé skvrnitosti: *Ascochyta sorghi* (Frederiksen et al., 1986), *Bipolaris cookei* (Das, 2018), *Cercospora sorghi*, *Ramulispora sorghicola*,

Exserohilum turcicum a patogena způsobujícího rzivost (*Puccinia sorghi*). Výše zmínění hubovi patogeni mohou při vyšší intenzitě napadení významně snižovat kvalitu a výnos produkce (Nedělník et al., 2011).

Materiál a metody

Výskyt patogenů byl monitorován na pozemku v Žabčicích (49°00'57.614" N, 16°5'92.1042 E), který spadá pod polní pokusnickou stanici Žabčice, průměrná roční teplota zde je 9,5 °C a průměrný roční úhrn srážek je 480 mm.

Obr. 1 Umístění Polní pokusnické stanice v Žabčicích

Výsev čiroku súdánského (*Sorghum vulgare*) odrůdy ´KWS Tarzan´ proběhl 25. 4. 2019, na pozemku s lehkou vysychavou půdou, bez předplodiny. Pozemek byl před setím (15. 3. 2019) vyhnojen hnojem v dávce 100 t/ha. V průběhu vegetace (květen–srpen) byl sledován celkový zdravotní stav porostu. Proběhlo celkem 6 pozorování (10. 5., 20. 6., 10.7, 20. 7., 31.7. a 28. 8.). Rostlinné části, které vykazovaly známky napadení, byly vyfotografovány a uloženy do papírových sáčků za účelem dalšího zpracování v laboratoři Mendelovy univerzity v Brně.

Nasbírané listy a stonky byly rozřezány na segmenty a povrchově dezinfikovány 0,2% roztokem chloranu sodného. Následně byly promývány destilovanou vodou po dobu 3 minut. Segmenty byly osušeny mezi filtračními archy a kultivovány v Petriho miskách (Ø 15 cm) na dvou-vrstvě filtračního papíru ovlhčeném destilovanou vodou za standartních laboratorních podmínek (20/25 °C, při světelném režimu 14/10 hodin) po dobu jednoho týdne. V průběhu kultivace byly jednotlivé vzorky mikroskopovány a fotografovány.

Na základě mikroskopického pozorování byli patogeni identifikováni. V případě, že nebylo možné patogena určit pomocí mikroskopického pozorování, byla sterilizovanou preparační jehlou odebrána část mycelia, která byla umístěna na kultivační agarové médium (Potato Dextrose Agar = PDA), tento proces probíhal za sterilních podmínek ve flow-boxu. Kultivace na médiu byla provedena při běžných laboratorních podmínkách po dobu 7–10 dní při teplotě 20/23 ° C a světelném režimu 14/10 hodin.

Výsledky a diskuse

Vzcházení bylo u čiroku vlivem vlhkého a chladného května (Tab. 1) zpožděno. Porost v prvních fázích vývoje vykazoval značné známky zaplevelení a špatného zapojení. V první polovině června (Tab. 2) byly zaznamenány první nálezy napadených jedinců.

Tab. 1 Tabulka průměrných měsíčních teplot a celkového měsíčního úhrnu srážek za vegetační období v roce 2019

měsíc	průměrná teplota ve 2 m (°C)	celkový úhrn srážek (mm)
IV	16,7	20,3
V	16,8	73,6
VI	28,8	36
VII	26,8	38,6
VIII	27,4	45,2

Jednalo se o napadení patogenem *Colletotrichum sublineolum*, který je původcem antraknózy čiroku (JA Crouch et. al., 2006), jež se řadí mezi nejvýznamnější onemocnění (Baroncelli et al., 2014, Das, 2018). Během monitoringu 10. 7. 2019 byly objeveny rostliny, které vykazovaly známky počínajícího napadení rzivostí čiroku (*Puccinia sorghi*). Při následujícím pozorování bylo zjištěno celkem 5 druhů houbových patogenů (Tab. 2). Počet detekovaných patogenů zůstal shodný i v následujícím termínu pozorování a k nárůstu celkového množství identifikovaných patogenů došlo až při posledním pozorování (28. 8. 2019), kdy byla na stanovišti detekována *Ascochyta sorghi*.

Tab. 2 Výskyt patogenů čiroku během vegetace v roce 2019

datum / patogen	10. 5.	20. 6.	10. 7.	20. 7.	31. 7.	28. 8.
Ascochyta sorghi	-	-	-	-	-	+
Bipolaris cookei	-	-	-	+	+	+
Cercospora sorghi	-	-	-	+	+	+
Colletotrichum sublineola	-	+	+	+	+	+
Exserohilum turcicum	-	-	-	+	+	+
Puccinia sorghi	-	-	+	+	+	+

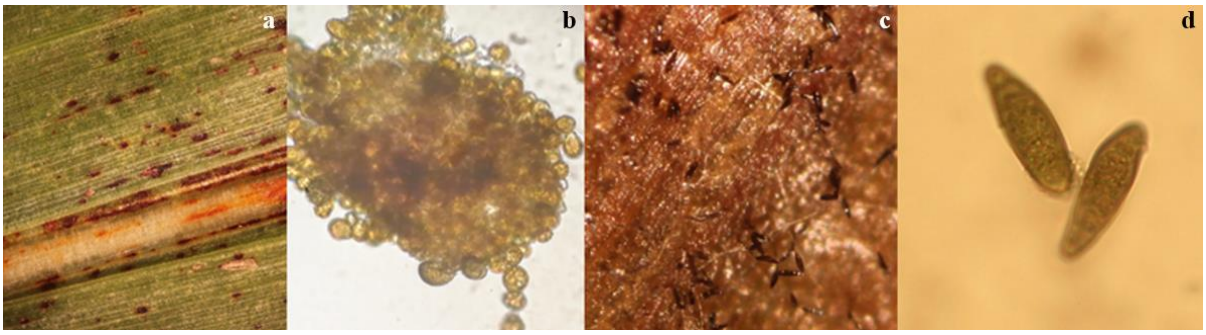
Nejvíce byly rostliny napadeny antraknózou čiroku (*C. sublineollum*). Počáteční příznaky onemocnění se projevovaly ve formě eliptických skvrn s červenou pigmentací na (Obr. 2a). Střed skvrn se vyběloval, skvrny se zvětšovaly a vytvářely na listech okrouhlé léze. Patogen se postupně šířil na další listy a napadal stébla (Obr. 2b). Velikost lézí byla 3–20 cm, v jejich středu se tvořily při dostatečné vlhkosti a teplotě černé acervuly s černými sety (Obr. 2c). Acervuly obsahovaly bezbarvé srpovité konidie. Někteří autoři (Thakur et al., 2007; Kuthan, 2010) uvádějí, že případě napadení stébel dochází k jejich lámání vlivem narušení cévních svazků. Napadení antraknózou (*C. sublineollum*) je na území České republiky známo již několik let. Její výskyt byl popsán v Lednici, Čáslavi, Žatci, (Kuthan, 2010) i Žabčicích (Nováková a Šafránková, 2018). Jedná se tedy o patogena, který v našich oblastech porosty čiroku napadá pravidelně.

Obr. 2 Projevy napadení antraknózou čiroku (C. sublineollum)

Legenda: 2a symptomy na listu, 2b symptomy na stéble, 2c acervuly na čepeli listu

V první polovině července se v porostu rozvinulo napadení rzí (*P. sorghi*), na listech byly patrné drobné žluté, později žlutohnědé skvrny, které tmavly (Obr. 3a). Na nich se vytvářely kupky uredospor (Obr. 3b). Ve $^{2}/_{2}$ července byly rostliny napadeny směsnou infekcí. Na listech byly patrné různé druhy skvrn, které byly zkoumány v laboratoři. Na základě laboratorního pozorování byli jednotliví patogeni identifikováni. Byly zjištěny mikroskopické struktury *C. sublineolla*, *Bipolaris cookei* (Obr. 3c–d), *Exserohilum turcicum* a *Cercospora sorghi*. Poslední termín pozorování proběhl na konci srpna, mimo výše zmíněné patogeny byla dále identifikována *Ascochyta sorghi*. Prvními příznaky napadení jsou drobné načervenalé skvrny o velikosti 2 mm, které se tvoří při okraji čepele. Na stanovišti byly pozorovány příznaky typické pro pokročilé stádium onemocnění = dlouhé léze s červeným okrajem, na kterých byly patrné drobné pyknidy. Výskyt těchto patogenů v podmínkách ČR byl potvrzen již dříve Kuthanem (2010) a Hermuthem et al. (2012).

Obr. 2 Projevy napadení a mikroskopické struktury patogenů P. sorghi (a–b) a B. cookei (c–d)



Závěr

Čirok se jeví jako velmi vhodná plodina pro pěstování v suchých a teplých oblastech. Za těchto klimatických podmínek je vhodné jej použít jako alternativní plodinu ke kukuřici, neboť je odolnější vůči stresu způsobeným nedostatkem vláhy v kombinaci s vysokými teplotami. Při změně vodního režimu je schopen velmi rychle regenerovat, což má pozitivní vliv na odolnost vůči houbovým patogenům. Nevýhodou čiroku je pomalý počáteční růst při nižších teplotách na počátku vegetačního období, kdy dochází ke špatnému zapojení porostu s rizikem vysokého zaplevelení s negativním dopadem na celkový zdravotní stav rostlin. V podmínkách České republiky se většina typických patogenů, které čirok napadají nevyskytuje, neboť se jedná o exotické organismy, které v našich geografických oblastech nemají optimální podmínky pro svůj vývoj. Avšk někteří patogeni se sem rozšířili v průběhu několika minulých let, proto je nutné tuto problematiku řešit. Pro implementaci těchto plodin do osevních postupů je nutné

zvolit vhodné stanoviště a ošetření, zejména s ohledem na předplodinu a v neposlední řadě na odrůdu. K určení spektra a významnosti patogenů je zapotřebí více pozorování. Lze však říci, že druhy *Colletotrichum sublineola*, *Ascochyta sorghi*, *Bipolaris cookei*, *Cercospora sorghi*, *Ramulispora sorghicola*, *Exserohilum turcicum* a *Puccinia sorghi* se v podmínkách České republiky vyskytují pravidelně. Tito patogeni by mohli mít v příštích letech, vzhledem ke klimatickým změnám, větší vliv na kvalitu a výši výnosů.

Dedikace

The research was financially supported by grant no. AF-IGA-2018-tym001.

Použitá literatura

Adamčík, J., Tomášek, J. 2016. Stimulace osiva čiroku pro praktické využití. Biom.cz [Online], dostupné na: https://biom.cz/cz/odborne-clanky/stimulace-osiva-ciroku-pro-prakticke-vyuziti. [2019-08-22].

Baroncelli, R. et al. 2014. Draft genome sequence of Colletotrichum sublineola, a destructive pathogen of cultivated sorghum. Genome Announcements, 2(3): e00540–14

Crous, P. W. et al. 2006. Species of Cercospora associated with grey leaf spot of maize. Studies in Mycology, 55: 189–197.

Das, I. K. 2018. Advances in Sorghum Disease Resistance. In Breeding sorghum for diverse end uses. Netherlands: Elsevier Books, 313–324 ss.

Frederiksen, R. A. et al. 1985. Analysis of spatial patterns in sorghum downy mildew with Morisita's index of dispersion. Phytopathology, 76: 446–450 ss.

Hermuth, J., Janovská, D., Strašil, Z., Usťak, S., Hýsek, J. 2012. ČIROK OBECNÝ SORGHUM BICOLOR (L.) MOENCH, možnosti využití v podmínkách České republiky. [Online]. dostupné na: https://www.vurv.cz/sites/File/Publications/ISBN978-80-7427-093-2.pdf. [2019-09-20].

Kuthan, A. 2010. Ochrana čiroku proti škodlivým činitelům: plevele choroby a ochrana. Kukuřičné listy. [Online]. dostupné na: http://www.crs-marketing.cz/files/crs-kukuricne-listy-c.4-2010-155.pdf. [2019-08-20].

Nedělník, J. et. al. 2011. Výroba kukuřičné siláže z různých fyziologických typů hybridů kukuřice. Metodika 15/11. Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko, Mendelova univerzita Brno, Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko, pp. 36.

Nováková, E., Šafránková, I. 2018. The fungal pathogens of Sorghum vulgare and Lolium multiflorum with focus on feed quality. In Proceedings of International PhD Students Conference MendelNet 2018 [Online]. Brno, Czech Republic, 7–8 November, Brno: Mendel university in Brno, Faculty of Agronomy, pp. 75–79. dostupné na: https://mnet.mendelu.cz/mendelnet2018/mnet_2018_full.pdf . [2019-09-15].

Thakur, R. P. et al. 2007. Screening techniques for sorghum diseases. In Information Bulletin No. 76. Andhra Pradesh, India: International Crops Research Institute for the Semi Arid Tropics, ss. 92.

Kontaktní adresa:
Ing. Eliška Nováková
Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1, 613 00 Brno,
telefon: +420 545 133 049, e-mail: eliska.novakova@mendelu.cz

Název publikace:	**Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů**
Druh publikace:	**Vědecká příloha časopisu Úroda 12/2019**
Autoři publikace:	**Kolektiv autorů dle obsahu**
Editor:	**Ing. Barbora Badalíková** **Ing. Ivana Šindelková**
Náklad:	**5. 500 výtisků**
Forma:	**CD**
Vydal:	**Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko** **Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko** **a Úroda 12/2019**

ISSN 0139-6013