

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 12/2020, vědecká příloha časopisu

ČAZV | ČESKÁ AKADEMIE
ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD



Hlavní mediální partneři konference

úroda

PP
ROFI PRESS s.r.o.

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 12/2020, 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 Vašínska

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.

Príspevky byly recenzovány členy vědeckého výboru

Doporučená citace příspěvků:

Autoři příspěvků: Název příspěvku. Úroda 12, roč. LXVIII, 2020, vědecká příloha, s. od – do

ISSN 0139-6013

OBSAH

Nedělník Jan: Úvodní slovo	9
----------------------------------	---

Sekce „Šlechtění“

Alba-Mejía J. E., Jovanović I., Klimešová J., Středa T.: Tvorba kořenové biomasy v různých vláhových podmínkách	11
Bilavčík A., Faltus M., Zámečník J.: Studium odolnosti rostlin k nízkým teplotám s využitím termických metod	19
Dostálová R., Hýbl M., Trněný O., Říha L., Griga M.: Asociační analýza (GWAS) hrachu setého (<i>Pisum sativum</i> L.) a identifikace SNP markerů pro genomickou selekci hospodářsky významných znaků	27
Dostálková L., Hlásná Čepková P., Dvořáček V., Viehmannová I.: Polymorfismus aveninů u odrůd ovsa různého geografického původu	35
Faltus M., Svoboda P., Domkářová J., Bilavčík A., Zámečník J.: Vliv dehydratace na obsah vody a termické vlastnosti pylu chmele a bramboru	41
Horáček J., Ludvíková M., Rychlá A.: Odlišování odrůd máku setého (<i>Papaver somniferum</i> L.) s využitím metody IRAP	49
Jozová E., Čurn V.: Hodnocení genetické diverzity genetických zdrojů hořčice pomocí mikrosatelitových markerů	55
Kaffková K., Navrátilová B., Cavar Zeljković S., Smékalová K., Pavela R.: Vliv polyploidizace na obsah silice u tymiánu (<i>Thymus vulgaris</i> 'Varico 3')	63
Knotová D., Pelikán J.: Porovnání výkonnosti české odrůdy vojtěšky seté niva s některými francouzskými odrůdami	71
Knotová D., Pelikán J.: Porovnání výkonnosti některých evropských odrůd vojtěšky seté s českou odrůdou tereza	75
Nedělník J., Kubánková M., Hyršlová J., Jakešová H., Řepková J., Trněný O., Novotný P.: Případová studie ekonomicko – environmentálního hodnocení nových technik šlechtění	79
Nekvindová, V., Žďárská, I., Čmejlová, J.: Využití genetických markerů pro ověření odrůdové identity meruněk	85
Kopecký P., Hýbl M., Petrželová I., Duchoslav M.: Odolnost vybraných genotypů ředkvičky vůči nádorovitosti kořenů brukvovitých	93
Kopecký P., Renzi J. P., Brus J., Duchoslav M., Smýkal P.: Je ukočení fyzikální dormance semen medicago truncatula a pisum sativum subsp. elatius testovaných v půdních podmínkách adaptivní plasticitou nebo bet-hedging strategií?	99
Kosová K., Vítámvás P., Ovesná J., Nesvadba Z., Prášil I. T.: Hodnocení odolnosti souboru jarních ječmenů (<i>Hordeum vulgare</i> L.) vůči suchu	107
Ludvíková M., Griga M., Vrbová M., Smýkalová I.: Použití metody floral dip pro transformaci lnu	115
Prášil I. T., Musilová J., Veškra O., Ježek S., Kosová K., Vítámvás P.: Mrazuvzdornost pšenice podle růstového typu a geografického původu	121
Prokopová M., Smýkalová I., Griga M.: Metodické aspekty agrobakteriální genetické transformace lnu	125

Prokopová M., Ondráčková E.: Změny ve výskytu fusarióz v genových zdrojích lnu.....	133
Rychlá A., Vrbovský V., Gališová V.: Vliv genomu na energii klíčení máku setého (<i>Papaver somniferum</i>)	139
Leišová-Svobodová L., Dvořáček V.: Výběr mikrosatelitních markerů pro identifikaci odrůd ovsa	143
Sochor, M., Doležalová I.: Hodnocení vybraných duplicitních položek v kolekci genetických zdrojů lociky salátové (<i>L. sativa</i> L.)	149
Stará M., Jozová E., Čurn V.: Molekulární charakterizace a hodnocení genetické diverzity genetických zdrojů máku.....	157
Trněný O., Čegan R., Šimková H., Šafář J., Vlk D.: Hybridní sestavení referenčního genomu jetele lučního (<i>Trifolium pratense</i> L.)	163
Zámečník J., Domkářová J., Lukáš J., Faltus M., Švecová R., Ptáček J.: Hodnocení šlechtitelského materiálu brambor za použití fyziologických charakteristik získaných ze spektrální analýzy dat z bezpilotního snímání porostu	167

Sekce „Rostlinolékařství“

Drápalová I., Lošák M.: Porovnání výskytu endofytních hub rodu <i>neotyphodium</i> spp. v semenech a čerstvém pletivu u vybraných genotypů krmné rýžovité a jílku vytrvalého.....	173
Kadlček L., Stehlíková J., Zdražilová M., Winkler J.: Analýza druhového složení vybraných travních porostů.....	181
Kmoch M., Petržík K., Brázdová S., Kopačka V., Vacek J., Ševčík R.: Využití bakteriofágů při ochraně bramboru proti bakteriím rodu <i>Dickeya</i>	187
Kolařík, P.: Možnosti ochrany lničky seté (<i>Camelia sativa</i> L.) proti dřepčákům rodu <i>phyllostreta</i>	193
Kracíková M., Jaklová P.: Ověření účinnosti přípravků proti marssonina coronaria v polních podmínkách	199
Plachká E., Šafář J.: Význam fomového černání stonku řepky v ČR.....	207
Kubíková Z., Smejkalová H., Kolaříková K.: Výsledky desikačních pokusů u jetele lučního: hodnocení účinnosti zkoušených účinných látek a jejich kombinací.....	213
Kubíková Z., Smejkalová H., Kolaříková K.: Výsledky desikačních pokusů u jetele nachového: hodnocení účinnosti zkoušených účinných látek a jejich kombinací.....	221
Šafář J., Seidenglanz M.: Možnosti ochrany hrachu proti zrnokazu hrachovému.....	229
Winkler J., Černý M., Hurajová E., Vavřková M. D., Adamcová D., Koda E.: Analýza druhového složení vegetace rekultivované skládky komunálního odpadu.....	237
Žabka M., Pavela R.: Synergismus vybraných látek zvyšující účinnost měďnatých fungicidů.....	247
Žabka M., Pavela R.: Antifungální účinnost nového preparátu z oleje <i>pongamia glabra</i> na vybrané houbové patogeny obilnin.....	253

Sekce „Technologie pěstování plodin a ekologie“

Badalíková B., Vašínská M., Jelínek A., Roy A., Burg P., Zemánek P.: Význam organické hmoty v půdě.....	257
Bilošová H., Mikisková J., Látal O., Novák V., Mrázková M.: Pomocné půdní látky jako prostředek ke zlepšení půdní úrodnosti	263

Bjelková M.: Pěstování olejného lnu v ekologickém zemědělství	271
Boturová K., Záhora J., Pospíšilová L., Vlček V.: Projevy zhutnění půdy a možnosti nápravy	277
Brtnický M., Hammerschmiedt T., Škarpa P., Brtnická H., Holátko J.: Ovlivnění půdní respirace přídavkem digestátu s různým obsahem síry.....	283
Čížek M., Komárková Z., Krpálková A.: Uplatnění technologie aeroponie u brambor, zeleniny a jahod	289
Čížková A., Zatloukal P., Mašán V., Burg P.: Hodnocení vlivu půdopracujících technologií ve vinicích na půdní smyv	297
Dryšlová T., Smutný V.: Dlouhodobý stacionární polní pokus v žabčicích	303
Frydrych J., Bradáčová L., Volková P.: Zakládání porostů trav pěstovaných na semeno do krycích plodin	307
Frydrych J., Lošák M., Hermuth J., Bradáčová L.: Výzkum a využití trav jako meziplodin.....	313
Haberle J., Křížová K., Svoboda P., Lukáš J., Raimanová I., Stehlík M.: Využití projevů sucha u plodin pro monitoring prostorové variability půd.....	321
Hammerschmiedt T., Brtnický M., Holátko J., Hammerschmiedt M., Látal O.: Vliv obohaceného digestátu na půdní respiraci	329
Holátko J., Hammerschmiedt T., Kintl A., Látal O., Brtnický M.: Vliv pomocných půdních látek na množství a složení půdní mikroflóry	335
Horniaček I., Lukas V., Neudert L., Duffková R., Smutný V.: Hodnotenie stavu výživy plodín pomocou bezpilotného prieskumu pre lokálne ciele hospodárenie na pôde	341
Hoštičková I., Kobes M., Tonka T.: Obhospodařování na fytoecologickou dynamiku a fytopatologické aspekty horských travních porostů.....	347
Hutyrová H., Pelikán J., Kubíková Z.: Výnos zelené hmoty svazenky shloučené v závislosti na hmotnosti výsevu	355
Hutyrová H., Kubíková Z., Pelikán J.: Vliv termínu a šířky řádků na výnos semen u svazenky shloučené.....	361
Hutyrová H., Pelikán J., Knotová D., Frei I.: Hodnocení sortimentu odrůd svazenky vratičolisté (<i>Phacelia tanacetifolia</i> benth.)	367
Jakubová J., Kováč L., Hecl J., Mišľan Ľ.: Využitie suchých oblastí slovenska na efektívne pestovanie amarantu (<i>Amaranthus</i> sp. L.)	371
Kasal P., Svobodová A.: Optimalizace hnojení topinamburu dusíkem s ohledem na uplatnění produkce	377
Kováč L., Jakubová J., Hecl J., Mišľan Ľ.: Interakcia suchých podmienok, výživy a obrábania pôdy na úrody viky siatej jarnej (<i>Vicia sativa</i> L.).....	383
Kurešová G., Raimanová I., Svoboda P., Lukáš J., Haberle J.: Odrůdové rozdíly v reakci na dostupnost vody u pšenice	389
Lang, J.: Potenciál výnosu jestřabiny východní (<i>Galega orientalis</i> lam.) v rozdílných agrotechnických opatřeních na orné půdě	393
Lošák M., Vymyslický T., Frydrych J., Raab S., Chovančíková E.: Počáteční vývoj vybraných druhů trav v oblasti hodonínska v závislosti na termínu výsevu a úpravě osiva	397
Lošák M., Raab S.: Hodnocení rychlosti růstu intenzivně ošetřovaného trávníku v kolekci genetických zdrojů kostravy červené (<i>Festuca rubra</i> agg.)	405

Lukas V., Širůček P., Mezera J. Elbl J., Vlček V.: Vyhodnocení heterogenity pozemků z výnosových map a dálkového průzkumu	411
Madaras M., Czako A., Mayerová M., Stehlík M., Procházka J.: Stanovení stability půdních agregátů pomocí optické detekce jejich rozpadu ve vodě	419
Matoušková M., Malec J., Trněný O., Hofbauer J., Vejražka K.: Biologická fixace dusíku symbiotickými kmeny bakterií u jeřábiny východní (<i>Galega orientalis lamb.</i>).....	427
Mezera J., Lukas V., Elbl J., Smutný V.: Mapovacích systémů isaria a sentinel-2 pro variabilní aplikaci dusíkatých hnojiv v pšenici ozimé.....	437
Mühlbachová G., Káš M., Vavera R., Kusá H.: Použití digestátů s inhibitory nitrifikace ke hnojení	443
Nedělník, J., Kubánková, M., Hyršlová, J.: Hodnocení aplikovaného výzkumu v podmínkách malých a středních podniků	451
Pospíšilová L., Horáková E., Dryšlová T., Smutný V.: Hodnocení kvality humusových látek pomocí infračervené spektroskopie.....	461
Sedlák, L., Pospíšilová, L., Vlček, V.: Vliv vodní eroze na vybrané půdní vlastnosti	467
Svobodová A., Kasal P.: Závlahy s fertigací na výnos a kvalitu brambor	471
Šindelková I., Lang J., Loučka R., Nedělník J., Jambor V.: Sledování kvalitativních parametrů vojtěšky seté	479
Šindelková I.: Biostimulace půdy ve vztahu k managementu zásoby půdní vláhy	483
Šindelková I., Kintl A.: Zlepšení funkce rhizosféry pšenice ozimé prostřednictvím kořenového biostimulantu.....	491
Vacek J., Ševčík R.: Využití a vliv etylénu na dočasnou inhibici klíčení sadby bramboru	499
Vašínská M., Badalíková B.: Změny fyzikálních vlastností při aplikaci digestátu.....	503
Zemánek P., Mašán V., Zatloukal P., Čížková A., Bukovská P.: Hodnocení kompostů z hlediska energetického potenciálu a vlastností tvarovaných paliv	509

Sekce „Kvalita a zpracování produktů“

Bárta J., Bártová V., Jarošová M., Jarošová E., Švajner J.: Semena olejnin jako významný zdroj bílkovin pro potravinářské aplikace.....	515
Dvořáček V., Maternová A.: Využití mikrovlnného rozkladu při stanovení obsahu bílkovin obilného zrna na principu Kjeldahlovy metody.....	523
Huňady I., Pozdíšek J.: Nutriční hodnota luskovino-obilných směsí z maloparcelových pokusů za roky 2015 až 2019	529
Jarošová M., Bárta J., Bártová V., Bjelková M.: Funkční vlastnosti slizotvorné frakce z lněného semene.....	537
Jarošová E., Bárta J., Bártová V.: Porovnání antioxidační aktivity u výlisků vybraných olejnin	543
Jurkaninová L., Švec I., Lamačová L.: Reformulace receptury pšeničných máslových sušenek a vliv na kvalitu během skladování.....	547
Kováříková E., Novotná P., Rysová J., Pokorná Bartošková M.: Šetrné uchovávání zeleniny výhody a nevýhody fermentace	553
Laknerová I., Novotná P.: Antioxidanty v rajčatech dostupných na českém trhu.....	559

Pokorná Bartošková M.: Stanovení lykopenu v rajčatech metodou lc-ms/ms	567
Rysová J., Houška, M., Novotná, P., Laknerová, I., Strohalm J.: Využití bazalky posvátné do potravin	573

Vážení čtenáři časopisu Úroda,

již se stalo téměř tradicí, že vždy v prosincovém čísle najdete CD, jehož obsah tvoří desítky odborných příspěvků z různých oblastí zemědělského výzkumu. Letošní příspěvky měly být prezentovány na 24. ročníku mezinárodní konference Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů, která se měla konat ve dnech 19.-20.11.2020 v Brně. Pořadatelem konference jsou jako vždy Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko a jeho dceřiná společnost Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko. Významnými spolupřadatelé a partneři této akce jsou Česká akademie zemědělských věd, Agrární komora ČR, České technologická platforma rostlinných biotechnologií – Rostliny pro budoucnost a mediálním partnerem je vydavatelství ProfiPress. Na konferenci také vždy vystupuje zástupce Ministerstva zemědělství ČR. Letošní konference musela být vzhledem k aktuální epidemiologické situaci zrušena. Ale bylo by škoda nevyužít autorský potenciál, proto sborník s příspěvky vychází v nezměněné podobě. Počet odborných příspěvků je více než 90. Všechny příspěvky uvedené na tomto CD byly recenzovány členy vědeckého výboru konference, za což jim patří moje velké poděkování.

Již před mnoha lety byla ve spolupráci s redakcí časopisu Úroda zvolena tato forma prezentace elektronickou cestou. Vytisknutí všech příspěvků by znamenalo několika set stránkový sborník. Kromě formy zpracování je dle našeho názoru důležité i to, že příspěvky jsou psány v mateřském jazyce a jsou tak více dostupné širokému spektru uživatelů. Věřím, že každý z Vás si v této odborné příloze najde téma, které ho zajímá. Příloha je rozdělena na 4 základní obory. První část je věnována oblasti šlechtění a tvorbě nových genetických materiálů. Dozvíte se nové informace o využití molekulárních markerů ve šlechtění rostlin, zajímavé jsou poznatky o celogenomových analýzách i genomické selekci. Druhý oddíl je věnovaný rostlinolékařské problematice. Zvláště v letošním roce, který je mezinárodním rokem zdraví rostlin, aktuální téma. V příspěvcích jsou uvedeny nové poznatky o škodlivých organismech, nové technologické postupy v ochraně rostlin i význam endofytů pro praktické využití. Aktuální bylo a je téma desikací např. jetelovin. Ani téma klimatické změny v příspěvcích nechybí. Objevuje se ve třetí části věnované technologiím pěstování a ekologii. Téma organické hmoty v půdě či využití meziplovin jsou jen namátkou vybrané oblasti. V poslední sekci věnované kvalitě produkce jsou např. výsledky studia antioxidačních aktivit u některých plodin či téma semena olejnin jako významný zdroj bílkovin. Ve sborníku jsou ale také témata průřezová věnovaná bioekonomice či hodnocení výzkumných aktivit na úrovni podniku.

Znovu si dovoluji na tomto místě zopakovat svůj názor, že věřím, že si každý najde v širokém spektru témat to, které ho nejvíce zajímá. Autory jednotlivých příspěvků jsou přední čeští odborníci, což je již samo o sobě garancí kvality.

Neustále hledáme a diskutujeme, jaké formy výsledků výzkumu jsou zajímavé pro uživatele, hledáme a diskutujeme, jakou mají váhu, jak jsou transferovány, co přinášejí praxi. Všichni autoři budou určitě rádi, pokud Vás, čtenáře časopisu Úroda, jejich výsledky zaujmou a budou určitě rádi za zpětnou vazbu. Inovace a jejich aplikace v zemědělské praxi budou i v budoucnu nezbytným předpokladem pro rozvoj trvale udržitelného zemědělství.

Jan Nedělník

TVORBA KOŘENOVÉ BIOMASY V RŮZNÝCH VLÁHOVÝCH PODMÍNKÁCH

Root biomass formation under different moisture conditions

Alba-Mejía J. E., Jovanović I., Klimešová J., Středa T.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Vlastnosti kořenového systému, výnos zrna a nadzemní biomasy pšenice ozimé (*Triticum aestivum* L.) v závislosti na vláhových podmínkách byly hodnoceny v kontejnerovém pokusu. V jednoletém pozorování, ve čtyřech variantách závlahy (nestresovaná varianta, mírně stresovaná varianta, silně stresovaná varianta, varianta s přirozeným úhrnem srážek) byly u šesti genotypů hodnoceny znaky kořenového systému hustota prokořenění (RLD – root length density) a hmotnost sušiny kořenů (RWD – root weight density). Velikost kořenového systému (VKS) byla v průběhu vegetace také hodnocena metodou měření jeho elektrické kapacity. Tvorba kořenového systému byla významně ovlivněna odrůdou, méně variantou. U varianty bez stresu (optimální vláhové podmínky) a u suchem silně stresované varianty byl zjištěn vysoce průkazný vztah mezi velikostí kořenového systému a výnosem zrna a biomasy.

Klíčová slova: velikost kořenového systému, elektrická kapacita, soil core, výnos, WinRHIZO

Abstract

The root system traits and yield of grain and aboveground biomass of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) depending on soil moisture conditions were evaluated in a pot experiment. The root traits (root length density RLD, root weight density RWD) of six wheat genotypes in a one-year observation in four different irrigation treatments (non-stress treatment, mild drought stress, severe drought stress and treatment with natural precipitation) were evaluated. The root system size (RSS) was also evaluated by measuring its electrical capacity during vegetation. Development of the root system traits was significantly affected by variety, less by treatment. A highly significant relationship was found between the root system size and the yield of grain and aboveground biomass under non-stress and severe drought stress treatment.

Keywords: root system size, electrical capacity, soil core, yield, WinRHIZO

Úvod

Vlastnosti kořenového systému silně interagují se získáváním vody a živin rostlinou a mohou mít přímou vazbu k růstu, tvorbě výnosu biomasy a přežití v prostředích s omezenými zdroji (Lopez-Iglesias et al., 2014). Během období nedostatku vody prochází architektura kořenového systému morfologickými změnami, s cílem zvýšit jeho schopnost absorbovat vodu a živiny (Dinneny, 2019). Celková velikost kořenového systému a jeho morfologické znaky jsou řízeny polygenními systémy. Souvisí také s dalšími vlastnostmi rostlin, jako je rychlost růstu, růstová fáze a poměrem nadzemní a podzemní biomasy (Lynch, 2007). Vertikální i horizontální distribuce kořenového systému je tak dynamická a modifikují ji mnohé faktory prostředí – vlhkost půdy, teplota, dostupnost a lokalizace živin, pH, toxické prvky, zasolení, mikrobiální aktivita, atd. (Robbins a Dinneny, 2015). Zejména s ohledem na vláhové podmínky prostředí se vytváří rozdílné typy kořenového systému (Gupta et al., 2020). Delší a hlubší kořeny se zmenšenými úhly větvení mohou účinně absorbovat vodu z půdy, která je na povrchu suchá, ale vlhkost se udržuje v hlubších vrstvách (např. po zimním sycení půdy srážkami). Naproti

tomu mělí kořenový systém je výhodnější pro maximalizaci zachycení vody z povrchových vrstev půdy v oblastech s nízkými srážkovými úhrny v průběhu vegetace (Dinneny, 2019). Kořeny, které se setkávají s půdním prostředím s nehomogenní distribucí vody, vykazují “hydropatterning” tím, že upřednostňují vznik postranních kořenů směrem k zónám s vyšším obsahem vody (typicky u lokální závlahy), což je proces zprostředkovaný auxinovou signalizací (Robbins a Dinneny, 2018).

Kořeny jsou prvním orgánem rostlin, který registruje různé edafické stresy, jako je nedostatek vody v půdě, zasolení, podmačení a nedostatek živin (Chen et al., 2020) a jsou první linií obrany během stresu ze sucha (Lalitha et al., 2015). Potenciálem pro pěstitelskou praxi a šlechtění je fakt, že různé plodiny a jejich genotypy disponují variabilním charakterem vlastností kořenového systému, které přizpůsobují interakci rostliny s půdou (de Vries a Wallenstein, 2017).

Kvůli metodologickým obtížím spojeným se sledováním růstu kořenů v půdě in situ (v místě růstu) nejsou dostupné jednoduché, levné a rychlé metody poskytující informace o stavu kořenů bez poškození rostliny. Jednou z mála technik pro hodnocení velikosti kořenového systému in situ je měření elektrických vlastností kořenového systému. Metodu měření elektrické kapacity kořenového systému (CR) poprvé použil Chloupek (1972). Metoda je založena na detekci elektrického náboje akumulovaného na membránách živých struktur v kořenovém systému rostliny, který vzniká v uzavřeném elektrickém obvodu. S použitím této metody např. Chloupek et al. (2010) a mnozí další prokázali, že hodnota CR významně korelovala s hmotností sušiny kořenů, délkou kořenů a plochou povrchu kořenů. Technika in situ poskytuje spolehlivé odhady velikosti kořenového systému nebo absorpční povrchové plochy kořenů jak u rostlin pěstovaných v nádobách, tak i v polních podmínkách (Cseresnyés et al., 2018).

Cílem studie bylo vyhodnotit vliv vlhkosti půdy a genotypu na formování kořenového systému a určit vztah mezi velikostí a morfologií kořenového systému a výnosem zrna a nadzemní biomasy u šesti genotypů pšenice, pěstované ve čtyřech vláhových režimech.

Materiál a metodika

Kontejnerový pokus se šesti vybranými genotypy pšenice ozimé (*Triticum aestivum* L.) provenience RAGT Czech byl veden v období 2015 – 2016 v areálu Mendelovy univerzity v Brně. Rostliny byly pěstovány v nádobách o objemu 0,2 m³ s rozměry 72 × 54 × 51 cm. V nádobách byly v půdě udržovány čtyři odlišné vláhové podmínky: varianta s přirozeným úhrnem srážek (1), nestresovaná varianta na úrovni přesahující 65 % využitelné vodní kapacity půdy – VVK (2), mírně stresovaná varianta na úrovni 65 % VVK (3) a stresovaná varianta na úrovni bodu vadnutí (4). Objemová vlhkost půdy v nádobách byla kontinuálně zaznamenávána elektromagnetickými čidly VIRRIB (AMET Velké Bílovice) s přesností ± 1 %.

V průběhu vegetace byla zjišťována velikost kořenového systému (VKS) pomocí metody měření jeho elektrické kapacity (Chloupek, 1977). Elektrická kapacita (nF) byla měřena LCR metrem (Extech Instruments) při frekvenci 1 kHz v průběhu fáze sloupkování, metání, kvetení a plnění zrna.

Vzorky kořenového systému s půdou pro morfologické analýzy byly na konci vegetace odebrány soil core metodou (Němec et al., 2019) do hloubky 30 cm. Izolované (na sítěch vyplavené) vzorky kořenového systému byly následně vyhodnoceny metodou digitální analýzy obrazu – naskenovány a analyzovány programem WinRHIZO (Régent Instruments Inc., Quebec, Kanada). Byla zjištěna délka (cm) kořenů pro výpočet indexu – hustoty prokořenění v půdním profilu (RLD root length density, délka kořenů na jednotku objemu půdy, cm.cm⁻³). Dalším hodnoceným parametrem byla RWD (root weight density, hmotnost sušiny kořenů na jednotku objemu půdy, g.cm⁻³). Hmotnost kořenového systému byla stanovena po vysušení do

konstantní hmotnosti při teplotě 103 °C. Uvedené parametry kořenového systému byly vypočteny pro vrstvy půdního profilu 0–10 cm, 10–20 cm a 20–30 cm.

V závěru vegetační doby byl stanoven výnos zrna a sušiny nadzemní biomasy (g). Data byla zpracována v programu STATISTICA 12. Následné testování analýzy variance bylo provedeno Tukeyovým HSD testem na hladině významnosti $p \leq 0,05$.

Výsledky a diskuse

S ohledem na princip metody měření elektrické kapacity kořenů nelze porovnávat hodnoty VKS z různých prostředí, nýbrž vždy jen z jednoho prostředí v tom samém čase (odlišné vlhkostní podmínky substrátu, různé fyzikální vlastnosti půdy, různý obsah iontů v půdě atd. ovlivňují hodnoty elektrické kapacity). Z toho důvodu byla VKS hodnocena pro každý režim individuálně. Tab. 1 demonstruje, že růst kořenového systému kulminuje ve fázi sloupkování. V průběhu generativních fází růstu přestává rostlina investovat asimiláty do růstu kořenového systému a ten postupně odumírá. Analýza variance potvrdila statisticky významný vliv ($p < 0,05$) odrůdy na variabilitu hodnot VKS. Například v přírodních podmínkách (Tab. 1) genotyp 501 ve fázi metaní vykazoval největší hodnoty VKS, statisticky průkazně odlišné od genotypů 509, 531 a 533. Nicméně, ve vláhových podmínkách středního stresu suchem (Tab. 2) nebyly zjištěny statistické rozdíly mezi odrůdami v jednotlivých fázích měření. Průkazný rozdíl byl zjištěn jen při hodnocení průměrné VKS za celou vegetaci, a to opět mezi genotypy 501 a 509. To naznačuje interakci genotypu a prostředí v oblasti tvorby kořenového systému, kdy genotyp může do jisté míry modifikovat VKS v závislosti na vláhových podmínkách.

Tab. 1. VKS genotypů pšenice měřená ve variantě s přírodními podmínkami (bez doplňkové závlahy, bez indukovaného stresu suchem)

Odrůda	VKS sloupkování	VKS metaní	VKS kvetení	VKS plnění zrn	VKS průměr
501	1,73 ^a	1,24 ^a	0,4 ^a	0,21 ^a	0,77 ^a
509	1,23 ^a	0,73 ^c	0,30 ^a	0,15 ^a	0,53 ^b
517	1,28 ^a	1,01 ^{ab}	0,40 ^a	0,21 ^a	0,63 ^{ab}
527	1,72 ^a	1,02 ^{ab}	0,45 ^a	0,20 ^a	0,74 ^{ab}
531	1,66 ^a	0,89 ^{bc}	0,36 ^a	0,20 ^a	0,69 ^{ab}
533	1,16 ^a	0,83 ^{bc}	0,33 ^a	0,20 ^a	0,55 ^{ab}
<i>p</i>	0,2982	0,0033	0,2842	0,1334	0,0282

^{abc} Odlišná písmena v horním indexu označují statisticky významné rozdíly mezi hodnotami ve stejném sloupci ($p < 0,05$), VKS: velikost kořenového systému

Tab. 2. VKS genotypů pšenice měřená ve variantě se střední úrovní stresu suchem

Odrůda	VKS sloupkování	VKS metání	VKS kvetení	VKS plnění zrn	VKS průměr
501	2,00 ^a	1,65 ^a	1,10 ^a	0,88 ^a	1,31 ^a
509	1,29 ^a	0,98 ^a	0,63 ^a	0,45 ^a	0,77 ^b
517	1,56 ^a	1,01 ^a	0,89 ^a	0,66 ^a	0,99 ^{ab}
527	1,80 ^a	1,40 ^a	1,00 ^a	0,75 ^a	1,16 ^{ab}
531	1,33 ^a	1,24 ^a	0,87 ^a	0,64 ^a	0,95 ^{ab}
533	1,72 ^a	1,38 ^a	0,97 ^a	0,76 ^a	1,13 ^{ab}
<i>p</i>	0,4225	0,8608	0,0772	0,6879	0,0325

^{ab} Odlišná písmena v horním indexu označují statisticky významné rozdíly mezi hodnotami ve stejném sloupci ($p < 0,05$), VKS: velikost kořenového systému

Hodnocením morfologických znaků kořenového systému prostřednictvím digitální analýzy obrazu vyplavených a naskenovaných kořenů (Tab. 3) bylo zjištěno, že vyšší hodnoty RLD (tj. prokořenění půdy) se vyskytovaly ve variantách s přirozenými vláhovými podmínkami a v režimu silného stresu suchem, ve srovnání s variantou s optimálním vláhovým režimem a středně intenzivním stresem suchem. Srážkově byl rok 2016 (hlavní část vegetačního období pšenice) hodnocen jako normální. Je tak zřejmé, že nepravidelná distribuce srážek v přirozeném vláhovém režimu podněcovala rostliny k tvorbě bohatšího kořenového systému (vyšší RLD, respektive prokořenění), podobně jako podmínky sucha ve variantě se silným stresem suchem. To naznačuje složitost v predikci a modelování kořenového systému rostlin v různých podmínkách. Již dříve bylo zjištěno, že formování kořenového systému je modifikováno prostředím, včetně abiotických stresorů (Ghosh a Xu, 2014), čímž je ovlivňována absorpce vody a živin (Luo et al., 2016).

Mezi hodnocenými genotypy nebyly pro RLD zjištěny průkazné difference a tím genotypová variabilita. Nicméně, hodnoceno bylo RLD v celém profilu (0 – 30 cm), když příjem vody se mohl lišit v závislosti na distribuci kořenů v různých hloubkách.

V parametru kořenového systému RWD, nebyly pozorovány statisticky průkazné rozdíly mezi vláhovými režimy. Zjištěny byly statisticky významné rozdíly mezi genotypy, kdy genotyp 531 vykazoval statisticky průkazně vyšší hodnotu RWD ve srovnání s genotypy 527 a 533.

Tab. 3. Znaky kořenového systému v hloubce 0 – 30 cm

	RLD	RWD
Režim		
<i>Přírodní podmínky</i>	4,23 ^a	0,00025 ^a
<i>Optimální podmínky</i>	2,06 ^b	0,00024 ^a
<i>Střední stress</i>	2,34 ^b	0,00024 ^a
<i>Silný stres</i>	4,44 ^a	0,00024 ^a
<i>p</i>	0,0000	0,9782
Odrůda		
501	3,00 ^a	0,00026 ^{ab}
509	3,76 ^a	0,00024 ^{ab}
517	2,81 ^a	0,00024 ^{ab}
527	3,46 ^a	0,00021 ^b
531	3,22 ^a	0,00029 ^a
533	3,35 ^a	0,00021 ^b
<i>p</i>	0,9170	0,0170

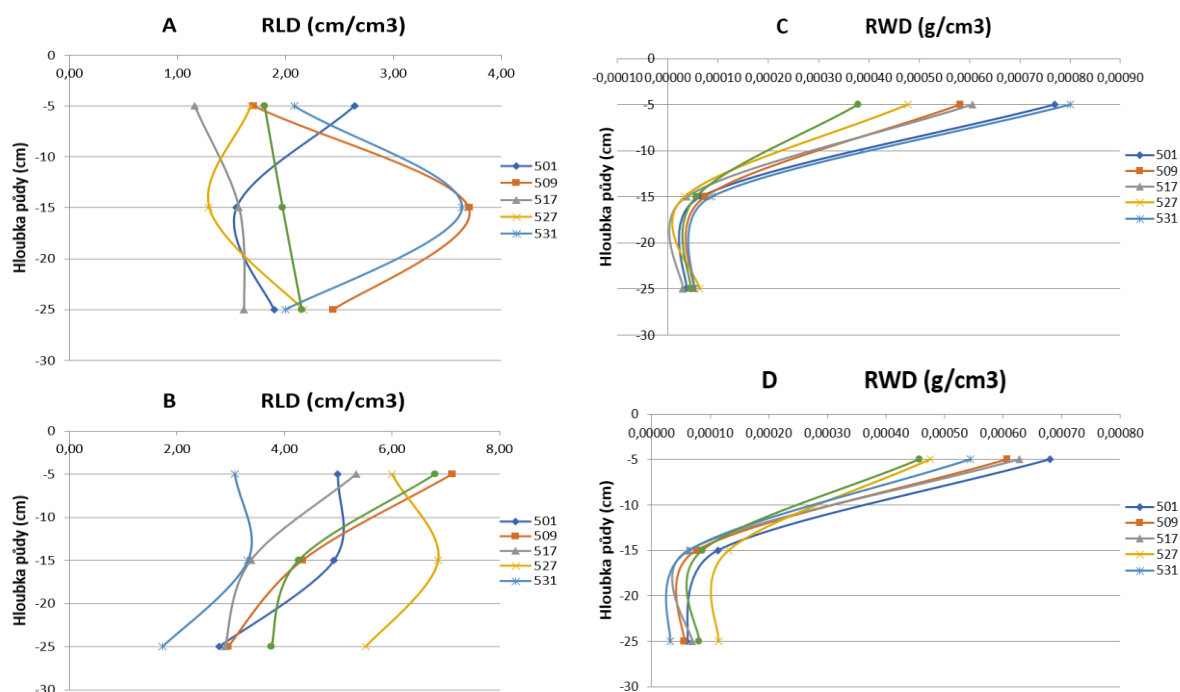
^{ab} Odlišná písmena v horním indexu označují statisticky významné rozdíly mezi hodnotami ve stejném sloupci ($p < 0,05$), RWD: hustota hmotnosti kořenu

Tab. 4. Korelace mezi velikostí kořenového systému (VKS) ve vybraných fenologických fázích a výnosem zrna a biomasy v různých vláhových režimech (napříč genotypy, tj. průměr všech genotypů)

Vláhový režim	Zrno × VKS sloupkování	Biomasa × VKS sloupkování	Zrno × VKS metání	Biomasa × VKS metání	Zrno × VKS kvetení	Biomasa × VKS kvetení	Zrno × VKS plnění zrna	Biomasa × VKS plnění zrna	Zrno × VKS průměr	Biomasa × VKS průměr
<i>Přírodní podmínky</i>	0,465	0,567	-0,180	-0,041	0,168	0,240	0,201	0,150	0,388	0,508
<i>Optimální závlaha</i>	0,203	0,291	0,744	0,785	0,870	0,899	0,887	0,886	0,723	0,771
<i>Střední stress</i>	0,378	0,428	0,517	0,563	0,531	0,561	-0,079	-0,098	0,422	0,459
<i>Silný stres</i>	0,787	0,780	0,754	0,801	0,357	0,309	-0,200	-0,236	0,793	0,774

Mezi velikostí kořenového systému, výnosem zrna a nadzemní biomasy byl zjištěn průkazný vztah v podmínkách optimální závlahy prakticky v průběhu celé vegetace (Tab. 4). Na úrovni silného stresu (vlhkost půdy blízká bodu vadnutí) byl výnos zrna, obdobně jako výnos nadzemní biomasy, pozitivně ovlivněn velikostí kořenového systému v raných fázích růstu. Kořenový systém tak měl za určitých podmínek statisticky významný vliv na produkci zrna i nadzemní biomasy.

Graf 1. Podrobné znázornění znaků kořenového systému genotypů v optimálních vláhových podmínkách (A) a (C) a v silném stresu suchem (B) a (D) v hloubce 0 – 30 cm. RLD: prokořenění, RWD: denzita biomasy (hmotnosti) kořenů



Cílem analýzy prezentované v Grafu 1 bylo vyhodnotit rozdíly ve znacích kořenové biomasy v různých vrstvách půdního profilu za různých vláhových podmínek u různých genotypů. Na Obr. 1A je zřejmé, že optimální podmínky stimulovaly k vyššímu RLD genotypy 501 a 509 v hloubce půdy 10 – 20 cm. Genotypovou variabilitu v utváření znaků kořenového systému v různých prostředích lze využít ve šlechtitelských programech pro různá prostředí. Nicméně na Obr. 1B, tj. v podmínkách silného stresu, není tento fenomén u genotypů 501 a 509 již zaznamenán.

Rozdíly hodnot RWD za optimálních a silných stresových podmínek nebyly výrazné. Mírná genotypová difference je zřejmá pouze u některých genotypů v hloubce půdy 0 – 10 cm.

Závěr

Rozdílné vláhové podmínky ovlivnily tvorbu nadzemní hmoty a částečně i kořenového systému. Rostliny z varianty s přirozeným úhrnem srážek a silnými stresem suchem měly ve srovnání se zavlažovanými variantami vyšší hustotu prokořenění (RLD), ale mezi genotypy nebyly zjištěny průkazné rozdíly. Tyto výsledky naznačují významný vliv vláhového režimu půdy během vegetační doby na tvorbu biomasy kořenového systému a nadzemní části rostlin. VKS byla významně ovlivněna genotypem ve variant s přirozenými srážkami a ve středním stresu suchem. Významné genotypové difference ve VKS byly zjištěny ve fázi metání. Korelační analýzou vazby mezi VKS a výnosem zrna byly zjištěny statisticky průkazné vztahy. Pokud genotypy pšenice vytvořily větší kořenový systém, projevilo se to pozitivně zvýšením výnosu zrna.

Porozumění souvislostem mezi formováním kořenového systému v různých podmínkách nabízí příležitosti ke zvýšení produktivity polních plodin v širokém spektru prostředí a v rámci adaptačních opatření na změnu klimatu.

Použitá literatura

- Chen, Y., J. Palta, P. V. V. Prasad, and K. H. M. Siddique. 2020. Phenotypic variability in bread wheat root systems at the early vegetative stage. *BMC plant biology* 20: 1–16.
- Chloupek, O. 1972. The relationship between electric capacitance and some other parameters of plant roots. *Biologia Plantarum* 14: 227–230.
- Chloupek, O. 1977. Evaluation of the size of a plant's root system using its electrical capacitance. *Plant and Soil* 48: 525–532.
- Chloupek, O., V. Dostál, T. Středa, V. Psota, and O. Dvořáčková. 2010. Drought tolerance of barley varieties in relation to their root system size. *Plant Breeding* 129: 630–636.
- Cseresnyés, I., K. Szitár, K. Rajkai, A. Füzy, P. Mikó, R. Kovács, and T. Takács. 2018. Application of electrical capacitance method for prediction of plant root mass and activity in field-grown crops. *Frontiers in Plant Science* 9: 93.
- Dinney, J. R. 2019. Developmental responses to water and salinity in root systems. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 35: 239–257.
- Ghosh, D., and J. Xu. 2014. Abiotic stress responses in plant roots: a proteomics perspective . *Frontiers in Plant Science* 5: 6.
- Gupta, A., A. Rico-Medina, and A. Caño-Delgado. 2020. The physiology of plant responses to drought. *Science* 368: 266–269.
- Lalitha, N., H. D. Upadhyaya, L. Krishnamurthy, J. Kashiwagi, P. B. Kavikishor, and S. Singh. 2015. Assessing genetic variability for root traits and identification of trait-specific germplasm in chickpea reference set. *Crop Science* 55: 2034–2045.
- Lopez-Iglesias, B., R. Villar, and L. Poorter. 2014. Functional traits predict drought performance and distribution of Mediterranean woody species. *Acta Oecologica* 56: 10–18.
- Luo, H. H., Y. L. Zhang, and W. F. Zhang. 2016. Effects of water stress and rewatering on photosynthesis, root activity, and yield of cotton with drip irrigation under mulch. *Photosynthetica* 54: 65–73.
- Lynch, J. P. 2007. Roots of the second green revolution. *Australian Journal of Botany* 55: 493–512.
- Němec, O., J. Klimešová, and T. Středa. 2019. Field phenotyping of root system for application in plant breeding. In R. Cerkal, N. Březinová-Belcredi, L. Prokešová, and A. Pilátová [eds.], *MendelNet*, 75–80. Mendel University in Brno, Brno.
- Robbins, N. E., and J. R. Dinney. 2018. Growth is required for perception of water availability to pattern root branches in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115: 822–831.
- Robbins, N. E., and J. R. Dinney. 2015. The divining root: Moisture-driven responses of roots at the micro- and macro-scale. *Journal of Experimental Botany* 66: 2145–2154.
- de Vries, F. T., and M. D. Wallenstein. 2017. Below-ground connections underlying above-ground food production: a framework for optimising ecological connections in the rhizosphere. *Journal of Ecology* 105: 913–920.

Dedikace

Práce byla podpořena projektem NAZV QK1910224 „Možnosti řešení protierozní ochrany v zemědělských podnicích při vyloučení používání glyfosátu“.

Kontaktní adresa

Ing. Jhonny Edison ALBA-Mejía, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1, 613 00 Brno-Černá Pole,
e-mail: jhonny.alba@mendelu.cz
Telefon: +420777531601

STUDIUM ODOLNOSTI ROSTLIN K NÍZKÝM TEPLOTÁM S VYUŽITÍM TERMICKÝCH METOD

Study of plant resistance to low temperatures using thermal methods

Bilavčík A., Faltus M., Zámečník J.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha

Abstrakt

Vlivem nízkých teplot dochází v rostlinných pletivech k ledové krystalizaci. K ledové krystalizaci dochází jak na povrchu rostlinných pletivech a orgánů, tak ve vnitřních částech rostliny. U rostlin v pozdějších vývojových stádiích v průběhu vegetace, například u generativních pupenů ovocných dřevin, koreluje ledová krystalizace s nízkoteplotním poškozením. Pomocí infračervené termografie byla sledována ledová krystalizace u generativních pupenů meruňky a pacibulkových rostlin česneku.

Využitím infračervené termografie bylo možné vizualizovat průběh krystalizace a detekovat mrznutí jednotlivých generativních pupenů meruňky a pacibulek, kořenů a listů česneku. Infračervenou termografii je možné využít jako novou perspektivní metodu pro vizualizaci, detekci a kvantifikaci ledové krystalizace jak u celých rostlin, tak i jejich orgánů pro charakterizaci mrazového poškození rostlin.

Klíčová slova: infračervená termografie, ledová krystalizace, mrazové poškození, dormantní pupeny, pacibulkové rostliny česneku

Abstract

Due to low-temperature conditions, ice crystallization takes place in plant tissues. Ice crystallization occurs both on the surface of plant tissues and organs, as well as in the inner parts of the plant. In plants at later phenological stages during vegetation, such as sprouting generative buds of fruit trees, ice crystallization correlates with low-temperature damage. Ice crystallization of generative apricot buds and garlic plants was monitored by infrared thermography. Using infrared thermography, it was possible to visualize the course of crystallization and detect freezing of individual generative buds of apricot and bulbils, roots and leaves of garlic plants. Infrared thermography can be used as a new promising method for visualization, detection and quantification of ice crystallization both in whole plants and their organs for the characterization of frost damage to plants.

Key words: infrared thermography, ice crystallisation, frost damage, dormant buds, garlic bulbil plants

Úvod

U rostlin vystavených působení nízkých teplot dochází k ledové krystalizaci v jejich pletivech a orgánech. Pro rostlinná pletiva a orgány ve vegetačním stavu může být jejich vystavení podnulovým teplotám letální. Ledovou krystalizací v dané struktuře může dojít k jejímu letálnímu poškození. Ledovou krystalizací, jako příčinu mrazového poškození, je v rostlinných pletivech a orgánech možné pozorovat přímo, pomocí např. magnetické rezonance (Ishikawa a kol., 1997, Price a kol., 1997), či nepřímo, pomocí nízkoteplotní elektronové mikroskopie (Ashworth 1990, Endoh a kol., 2014). V souvislosti s dynamicky rozvíjejícím se oborem infračervené termografie se v poslední době objevuje tato technika i při sledování mrazového

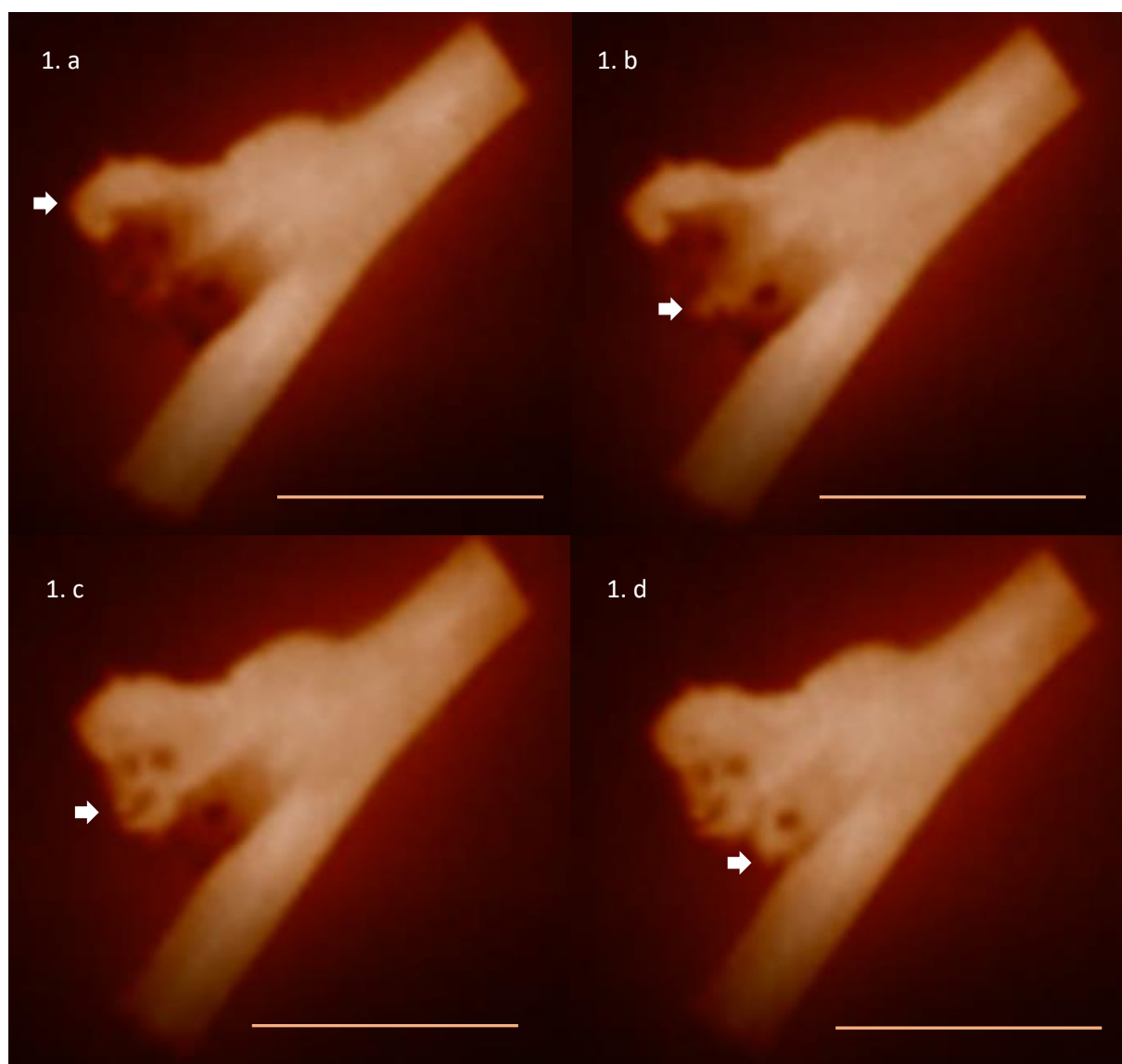
poškození u rostlin (Wisniewski a kol., 1997, Fuller a Wisniewski, 1997, Hacker a Neuner, 2007, Wisniewski a kol., 2008, Livingston a kol., 2018). Infračervená termografie je vědní obor zabývající se bezkontaktním sledováním teploty na povrchu těles. Nabízí možnosti vizualizace teplotních změn u těles v teplotách od $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ výše v reálném čase. Pomocí softwarového vybavení je možné získané termogramy vyhodnotit v časové ose. Pokud je sledovaný materiál vystaven změně teploty, tak je možné u něj v čase vizualizovat teplotní odezvu v rámci snižování, či zvyšování teploty prostředí, ve kterém se nachází. Díky tomu je možné vizualizovat ledovou krystalizaci a tání neboť v těchto případech dochází k vytvoření teplotního rozdílu mezi sledovaným objektem a okolním prostředím, které termokamera vizualizuje a vhodný SW zachytí. Cílem této práce je pomocí infračervené termografie detekce a vizualizace ledové krystalizace v rostlinných orgánech a pletivech, na příkladu generativních pupenů meruňky a pacibulkových rostlinách česneku, ke které dochází jejich vystavením podnulovým teplotám.

Materiál a metody

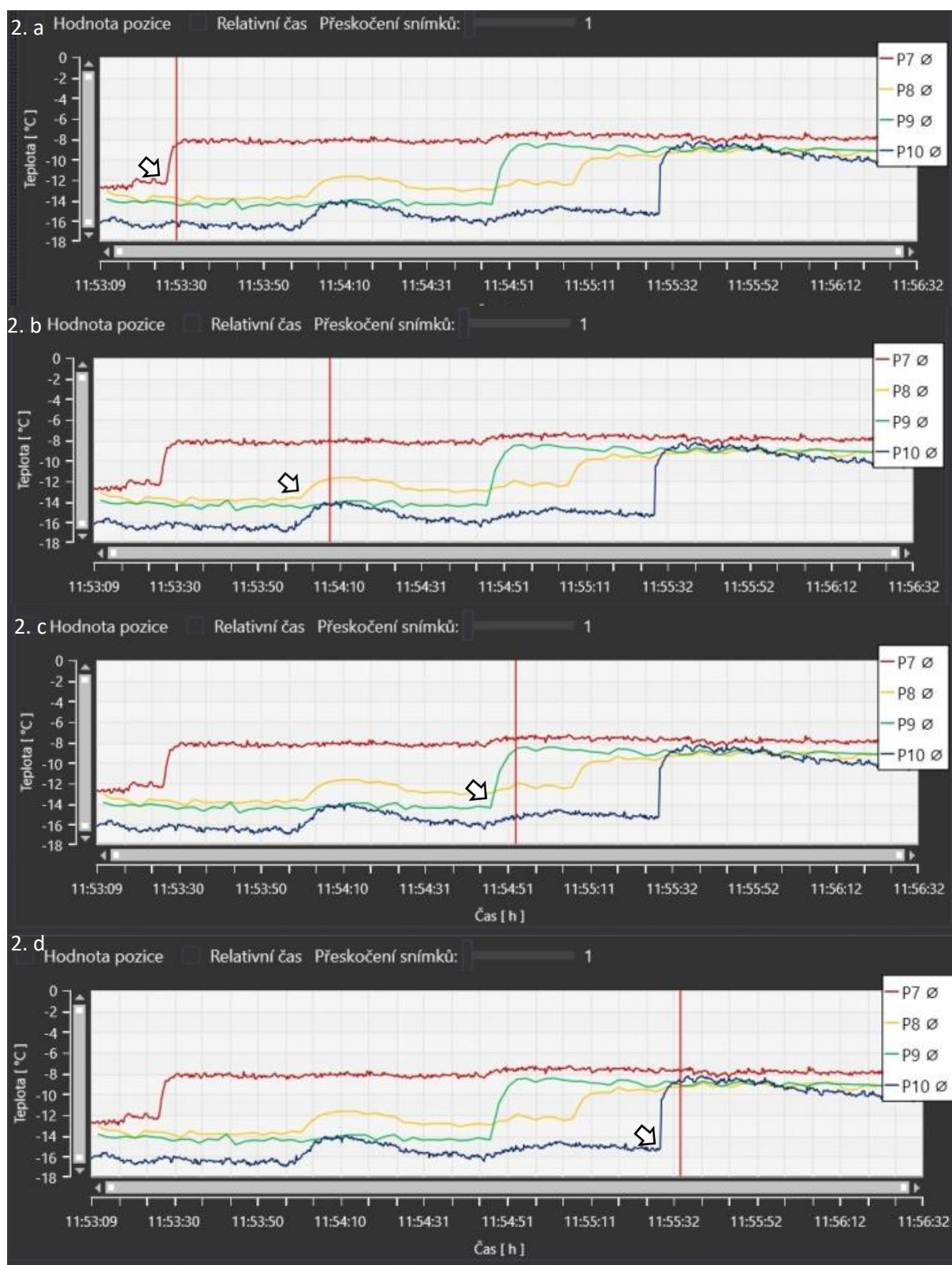
V pokusech byly použity jednoleté dormantní prýty odrůdy meruňky 'Velkopavlovická', a klíčící rostliny z pacibulek česneku 'Djambul'. Pro termografické sledování byly dormantní prýty meruňky odebrány z venkovních podmínek začátkem března 2020 ve stádiu viditelné koruny a ten samý den bylo provedeno měření. Rostliny česneku byly předpěstované z pacibulek v minipařníčkách v zahradnickém substrátu za laboratorní teploty a 16/8 fotoperiody. Pro měření byly celé rostliny včetně kořenů vyjmuty z minipařníčků a vystaveny termografickému měření. Měřený rostlinný materiál byl umístěn na kancelářský papír, který byl položen na měděnou podložku umístěnou v mrazicím boxu nastaveném na teplotu $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$. Přesná teplota na měděné podložce byla kontrolně sledována pomocí digitálního teploměru. Bezprostředně po umístění rostlinného materiálu do mrazicího boxu bylo spuštěno infračervené snímání pomocí stacionární LWIR termovizní kamery Workswell WIC 640 s rozlišením 640x512px o vzorkovací frekvenci 15 fps. Záznam termokamery a následné vyhodnocení bylo provedeno pomocí SW Workswell CorePlayer Beta.

Výsledky

V průběhu chlazení byl u větvičky s klastrem čtyř generativních pupenů meruňky na části jednoletého prýtu vizualizován průběh ledové krystalizace, viz obr. 1. K ledové krystalizaci prýtu došlo jako první a poté došlo k postupnému mrznutí pupenů, viz obr 1. a až 1. d. Na obrázku 2 je záznam detekovaných exoterm odpovídajících ledové krystalizaci čtyřem jednotlivým pupenů, P7 až P10. Nejdříve došlo k ledové krystalizaci u prvního pupene, P7 (obr. 2. a) a následně P8 (obr. 2. b), P9 (obr. 2. c) a jako poslední krystalizoval pupen P10 (obr. 2. d). Začátky jednotlivých exoterm jsou znázorněny šipkou.

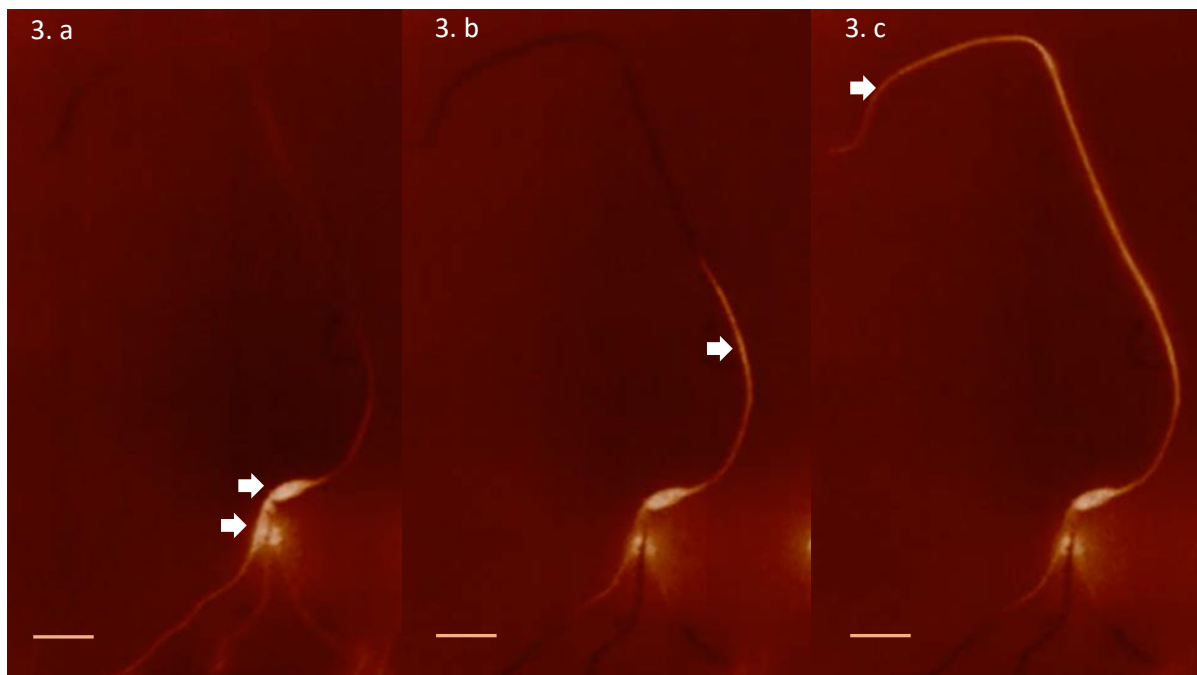


Obr. 1. Termografické snímky větvičky meruňky 'Velkopavlovická' s klastrem čtyř generativních pupenů v průběhu vložení do -16°C . Ledová krystalizace generativního pupene je znázorněna šipkou. K ledové krystalizaci jednotlivých pupenů dochází v pořadí 1. a až 1. d. Délka úsečky je 10 mm.

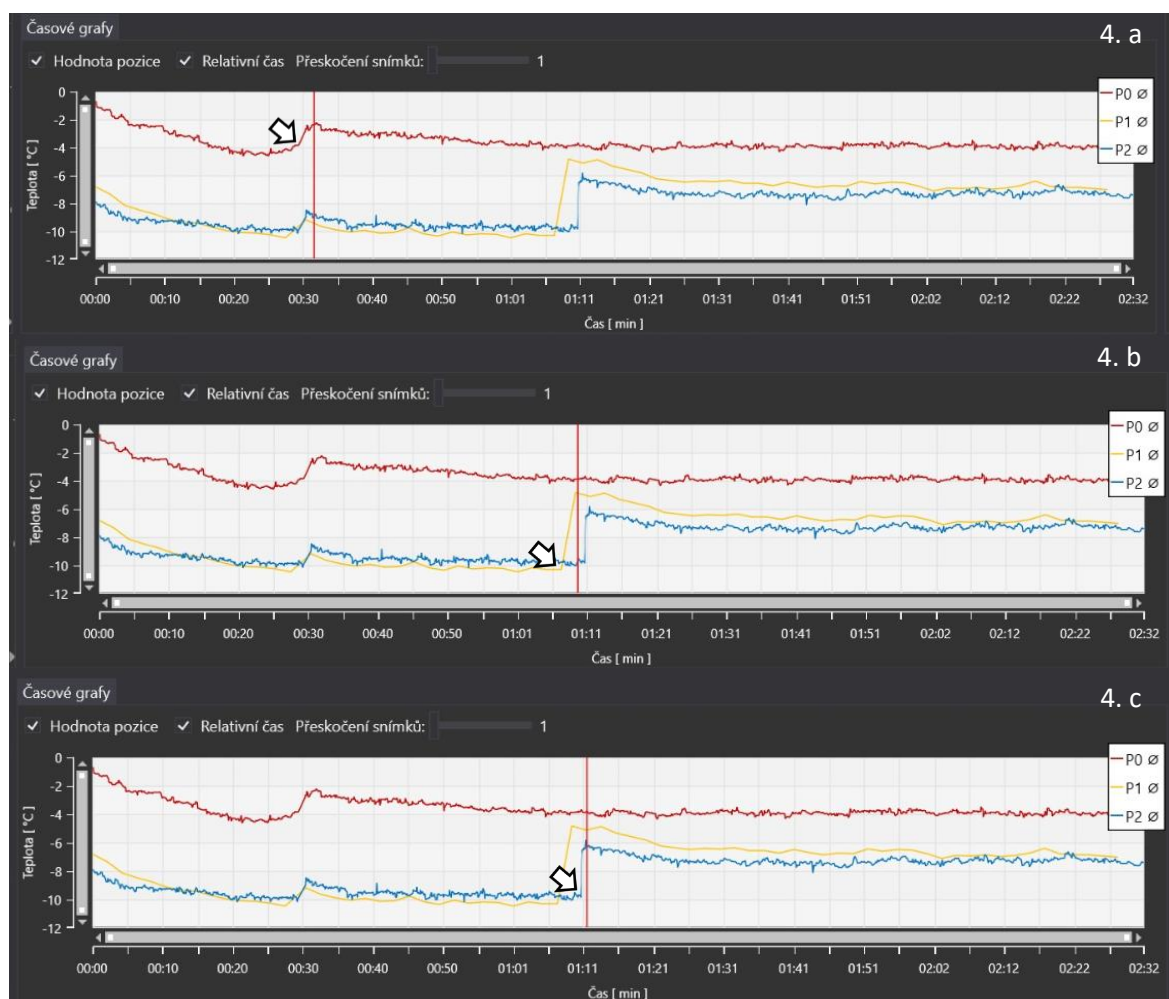


Obr. 2. Časové termografické záznamy ledové krystalizace jednotlivých pupenů větvičky meruňky 'Velkopavlovická' s klastrem čtyř generativních pupenů po vložení do -16°C . Ledová krystalizace generativního pupene je znázorněna šipkou. K ledové krystalizaci jednotlivých pupenů dochází v pořadí 2. a až 2. d.

V průběhu chlazení byl u rostliny česneku ‘Djambul’ vizualizován průběh ledové krystalizace, viz obr. 3. K ledové krystalizaci došlo jako první u pacibulky a kořene (obr. 3. a), poté došlo k ledové krystalizaci ve střední části listu (obr 3. b) a následně krystalizoval led ve špičce listu (3. c). Na obrázku 4 je záznam detekovaných exoterm odpovídajících ledové krystalizaci jednotlivým částem rostliny česneku. Nejdříve došlo k ledové krystalizaci u pacibulky a kořene (obr. 4. a), následně střední části listu (obr. 4 b.) a jako poslední krystalizoval listová špička (obr. 4 c.).



Obr. 3. Termografické snímky rostliny česneku ‘Djambul’ v průběhu vložení do -16 °C. Ledová krystalizace pacibulky a kořene (3. a), střední části listu (3. b) a špičky listu (3. c) je znázorněna šipkou. K ledové krystalizaci jednotlivých částí rostliny dochází v pořadí 3. a až 3. c. Délka úsečky je 10 mm.



Obr. 4. Časové termografické záznamy ledové krystalizace rostliny česneku 'Djambul' po vložení do -16°C . Ledová krystalizace pacibulky (4. a), střední části listu (4. b) a špičky listu (4. c) je znázorněna šipkou. K ledové krystalizaci jednotlivých částí rostliny česneku dochází v pořadí 4. a až 4. c.

Diskuze

V průběhu termografického měření byla u klastru generativních pupenů meruněk při chlazení detekována ledová krystalizace odpovídající vždy konkrétnímu pupenu, neboli bylo možné odlišit mrznutí každého pupenu zvlášť. Jednotlivé generativní pupeny merunki byly v dané fenologické fázi, viditelné koruny, podle výsledků dostatečně odděleny proti šíření ledu vodivými pletivy, protože ke krystalizaci pupenů docházelo relativně po delším časovém intervalu od krystalizace prýtu. Tyto výsledky jsou v souladu například s prací Chalker-Scott, 1992. Z teplotního průběhu na obr. 2 je vidět, že ledovou krystalizací pupene značeného P8 (obr. 2. b) došlo k ovlivnění teploty pupene značeného P10, tedy k jeho zvýšení, které však nemělo vliv na jeho ledovou krystalizaci, ke které došlo nezávisle na tomto jevu. Z náběhů hran exoterm na obr. 2., které jsou kromě druhého pupene všechny přibližně kolmé k baseline, lze usoudit o časově rychlé krystalizaci podchlazené části rostliny, v tomto případě generativního pupene. K obdobnému jevu docházelo především u podchlazených listů a kořenů rostlinky česneku. K obdobným charakteristikám ledové krystalizace došlo i u dalších testovaných rostlinných vzorků - ke stejnému postupu ledové krystalizace, kdy nejdříve krystalizovala pacibulka, s kořínky a následně list od stonku ke špičce. Časová prodleva u krystalizace listu od báze ke špičce byla oproti krystalizaci pacibulky minimální, což svědčí o tom, že mezi pacibulkou a listem je v dané fázi vývoje rostliny pravděpodobně anatomická bariéra proti

šíření ledu. Tuto domněnku potvrzuje zjištění výskytu bariér u rostliny pšenice (Zámečník a kol., 1994). Vizualizace ledové krystalizace pomocí infračervené termografie pomáhá charakterizovat průběh mrznutí u mrazově citlivých částí rostlin a tím přispívá k studiu protimrazové ochrany u sledovaných rostlin.

Závěr

Vlivem podnulových teplot dochází často v jarním období u rostlin v pozdějších fenofázích k ledové krystalizaci. Především u takových struktur jako jsou generativní orgány ovocných dřevin nebo mladé rostliny zelenin může být ledová krystalizace letální. S pomocí infračervené termografie je možné vizualizovat průběh ledové krystalizace a detekovat mrznutí jednotlivých generativních pupenů meruňky a pacibulek, kořenů a listů česneku. Infračervenou termografii je možné využít jako novou perspektivní metodu pro vizualizaci, detekci a kvantifikaci ledové krystalizace jak u celých rostlin, tak i jejich orgánů pro charakterizaci jejich mrazového poškození. Uvedená metoda bude na pracovišti VÚRV, v.v.i. v Praze Ruzyni využita při stanovení průběhu mrazového poškození u generativních orgánů meruněk a dalších zemědělsky významných plodin.

Použitá literatura

- Ashworth EN., 1990 The formation and distribution of ice within forsythia flower buds. *Plant physiology*, 92(3), pp.718-725.
- Bilavčík A., Zámečník J., Faltus M., 2006 Termická analýza dormantních pupenů révy vinné 28. Mezinárodní český a slovenský kalorimetrický seminář Univerzita Pardubice, Pardubice, 59–62.
- Endoh K., Kuwabara C., Arakawa, K., Fujikawa, S., 2014 Consideration of the reasons why dormant buds of trees have evolved extraorgan freezing as an adaptation for winter survival. *Environmental and experimental botany*, 106, pp.52-59.
- Fuller MP., Wisniewski M., 1998 The use of infrared thermal imaging in the study of ice nucleation and freezing of plants. *J Therm Biol* 23:81–89.
- Hacker J., Neuner G., 2007 Ice propagation in plants visualized at the tissue level by infrared differential thermal analysis (IDTA). *Tree Physiol* 27:1661–1670.
- 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., Price, WS., Ide H., Arata Y., 1997 Visualization of freezing behaviors in leaf and flower buds of full-moon maple by nuclear magnetic resonance microscopy. *Plant Physiology*, 115(4), pp.1515-1524.
- Livingston DP., Tuong TD., Murphy JP., Gusta LV., Willick I., Wisniewski ME., 2018 High-definition infrared thermography of ice nucleation and propagation in wheat under natural frost conditions and controlled freezing. *Planta*, 247(4), pp.791-806.
- Price WS., Ide H., Arata Y., Ishikawa M., 1997 Visualisation of freezing behaviours in flower bud tissues of cold-hardy Rhododendron japonicum by nuclear magnetic resonance micro-imaging. *Functional Plant Biology*, 24(5), pp.599-605.
- Wisniewski M., Glenn DM., Gusta L., Fuller M., 2008 Using infrared thermography to study freezing in plants. *Hortscience* 43:1648–1651.
- Wisniewski M., Lindow SE., Ashworth E., 1997 Observations of ice nucleation and propagation in plants using infrared video thermography. *Plant Physiol* 113:327–334.
- Zámečník J., Bieblova J., Grospietsch M., 1994 Safety zone as a barrier to root-shoot ice propagation. *Plant and soil*, 167(1), pp.149-155.

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.

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

ASOCIAČNÍ ANALÝZA (GWAS) HRACHU SETÉHO (*PISUM SATIVUM* L.) A IDENTIFIKACE SNP MARKERŮ PRO GENOMICKOU SELEKCI HOSPODÁŘSKY VÝZNAMNÝCH ZNAKŮ

Association Analysis (GWAS) of Pea (*Pisum sativum* L.) and Identification of SNP Markers for Genomic Selection of Economically Important Traits

Dostálová R.¹, Hýbl M.², Trněný O.³, Říha L.⁴, Griga M.¹

¹Agritec Plant Research, s. r. o.

²Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i.

³Zemědělský výzkum, s.r.o.

⁴SEMO a.s.

Abstrakt

Za účelem identifikace DNA markerů spojených s agronomickými znaky (délka rostliny, počet větví, typ olistění, tvar a barva semene, počet a hmotnost semen, HTS, odolnost vůči padlí a PEMV) a kvalitativními znaky semen (obsah N-látek a škrobu) byla provedena asociační analýza (GWAS) u hrachu setého (*Pisum sativum* L.). Soubor 564 genotypů polního a dřeňového hrachu byl hodnocen v letech 2019 a 2020 na třech lokalitách (Šumperk, Olomouc, Smržice). Pro zjištění SNP variant byla použita metoda DArTseq analýzy sekvenování knihoven DNA s redukovanou komplexitou. Asociační analýzou byla získána sada 376 SNP markerů, jejichž pozice na jednotlivých chromozomech byla určena na základě referenční sekvence hrachu. Pro detekci SNP je uvedena 69 bp dlouhá sekvence přiléhající k asociovaným SNP, kterou lze využít pro všechny známé postupy detekce markerů typu SNP (hybridizačně, enzymaticky, sekvenačně i fyzikálně založené metody detekce SNP). Identifikované markery mohou být využity pro efektivnější šlechtění hrachu.

Klíčová slova: hrách, *Pisum sativum*, agronomické znaky, kvalitativní znaky semen, asociační analýza (GWAS), SNP markery, genomická selekce

Abstract

Genome-Wide-Association Study (GWAS) was performed to identify DNA markers associated with agronomic (plant height, number of branches, leaf type, seed shape and colour, seed yield and seed weight, TSW, resistance to powdery mildew and PEMV) and seed quality (protein and starch content) traits in pea (*Pisum sativum* L.). A set of 564 accessions of field and garden pea was evaluated in 2019 and 2020 on three locations (Šumperk, Olomouc, Smržice). DArTseq sequencing of DNA libraries with reduced complexity was used for identification of SNP variants. 376 SNP markers were obtained, whose position on individual chromosomes was determined based on pea reference sequence. For SNP detection, a 69 bp sequence attached to associated SNPs was provided, which can be used for any available approaches of SNP markers detection (hybridization, enzymatic, sequenation and physical SNP detection methods). Identified markers may be used for more efficient pea breeding.

Keywords: pea, *Pisum sativum*, agronomic traits, seed quality traits, Genome-Wide Association Study (GWAS), SNP markers, genomic selection

Úvod

Prakticky veškeré odrůdy polního a dřeňového hrachu v dosavadní historii šlechtění této plodiny byly vytvořeny dvěma klasickými postupy, (1) dřívější hybridizací rodičovských

genotypů a (2) pozdější mutagenezi (chemomutageneze a radiomutageneze; cca od 50. let minulého století; Blixt 1972, Jaranowski 1976) většinou následovanou pozitivním výběrem v rámci různých šlechtitelských schémat. Požadovaný genotyp mohl být selektován na základě svého projevu (exprese fenotypu) v průběhu vegetace (morfologie rostliny, barva květu, semen, ranost/pozdnost, citlivost či odolnost k negativním abiotickým a biotickým faktorům) nebo až po sklizni semen (obsahové látky jak žádoucí, tak nežádoucí). Heritabilita a stabilita požadovaného znaku pak musela být potvrzena opakovaným samosprášením a hodnocením. K tomu často přistupovalo zpětné křížení za účelem eliminace nežádoucích vlastností některého z rodičů. Celý proces byl tak značně zdoluhavý (standardní doba na vyšlechtění/registraci nové odrůdy cca 10-15 let), náročný na pěstební plochy, práci a finance. Zhruba od 70. let minulého století se šlechtitelé pokoušeli formulovat a posléze realizovat tzv. ideotyp, který by v sobě sdružoval maximum požadovaných vlastností jak z hlediska agronomického, tak uživatelského.

Od 80. let minulého století lze datovat nástup biotechnologií a jejich postupné začleňování do šlechtění včetně luskovin – hlavním motivem bylo přenesení části procesu do laboratoře s cílem jeho urychlení, respektive zkrácení (techniky mikropropagace/ mikroklonování, selekce *in vitro* s využitím filtrátů/toxinů fytopatogenních hub na úrovni kalusových a suspenzních kultur, mezidruhov/ mezirodová hybridizace fúzí protoplastů, rychlá homozygotizace formou dihaploidizace – prašníkové a pylové kultury, fenomén „somaklonální variability“ generované *in vitro*). Přelomovým momentem se pak staly techniky transgenózy (agrobakteriální transformace, „particle bombardment“; nověji též NBT – New Breeding Techniques), úspěšně realizované i u hrachu (Schroeder et al. 1995, Jones et al. 1998). V této fázi však do hry vstoupila politika a populistická/negativní role masmédií se zvláště úrodnou půdou v EU. Šlechtitelé v EU tak ztrácejí oproti kolegům v technologicky vyspělých zemích mimo EU jedinečnou možnost transferu genů mezi biologickými říšemi či inkorporaci synteticky připravených genů; pěstitelé pak možnost pěstování plodin s agronomicky i spotřebitelsky zcela novými unikátními vlastnostmi. Rezignace na metody genového inženýrství vede k hledání alternativních přístupů, z nichž nejúčinnější je selekce s využitím markerů (MAS = Marker-Assisted Selection).

Prudký rozvoj molekulární genetiky, funkční genomiky a vysoce výkonného celogenomového sekvenování (DArtSeq) umožňuje v ideálním případě přímo identifikaci a lokalizaci genů na jednotlivých chromozomech v rámci vazebných skupin, respektive molekulárních DNA markerů s předmětnými geny těsně svázaných. Tomu musí předcházet detailní fenotypování, tedy popis vybraných kvalitativních či kvantitativních znaků dle klasifikátoru dané plodiny a jejich přiřazení k datům genotypovým nástroji bioinformatiky (GWAS analýza).

Cílem práce byla identifikaci molekulárních DNA markerů (zde SNP = Single-Nucleotide Polymorphism; jednonukleotidový polymorfismus) spojených s hospodářsky významnými znaky hrachu. Těsná vazba markeru s genem pro předmětný znak a jeho rychlá, spolehlivá a finančně příznivá identifikace posune klasickou selekci fenotypu během vegetace v polních podmínkách na kvalitativně vyšší úroveň genomické preselekce a výběru rodičů pro hybridizaci již v laboratorních podmínkách. Kombinací metod molekulární genetiky a bioinformatiky tak bude dán šlechtitelům hrachu k dispozici účinný nástroj pro zpřesnění, zrychlení a finanční zefektivnění procesu selekce a tvorbu kvalitativně nových a konkurenceschopných odrůd hrachu.

Materiál a Metody

Rostlinný materiál: 564 genotypů hrachu (*Pisum*) pochází z registrovaných komerčních odrůd druhu *Pisum sativum*, zdrojů rezistence k houbovým a virovým patogenům využívaných ve šlechtění, odrůd/linií z kolekce VIR St. Petersburg (RUS), planých a příbuzných druhů/forem

rodu *Pisum*, vlastního novošlechtění polního a dřeňového hrachu (Agritec, SEMO) a mutantních linií s nízkým obsahem kyseliny fytové. Výběr byl proveden tak, aby pokrýval genetickou diverzitu druhu a zároveň obsahoval šlechtitelský materiál selektovaný ve vybraných znacích.

Hodnocení genotypu rostlin: Pro vytvoření celogenomového SNP profilu položek byla použita metoda DArTseq analýzy, která využívá sekvenování knihoven DNA s redukovanou komplexitou. Rostliny pro analýzu DNA byly napěstovány ve skleníku do fáze čtvrtého pravého listu. DNA byla extrahována z 564 genotypů hrachu, kdy byl čerstvý materiál nejprve lyofilizován a poté homogenizován pomocí skleněných kuliček. Pro vlastní izolaci byl použit NucleoSpin Plant II kit (Macherey-Nagel). Byla zkontrolována kvalita DNA a poté vzorky naředěny na požadovanou koncentraci. Izolovaná DNA byla zaslána do Diversity Arrays Technology Pty Ltd, Canberra, Austrálie k vlastní analýze genotypu pomocí DArTSeq analýzy. Výsledkem DArTseq analýzy jsou celogenomová genotypová data SNP polymorfismů. Genotypová data byla dále filtrována na podíl chybějících genotypů a frekvenci minoritní alely (MAF>0.05). Sekvence přiléhající k SNP byly mapovány k aktuální verzi genomu hrachu pomocí algoritmu blastn programem Blast+ v2.2.18 s parametrem mapování e-value < 0,00001. K mapování SNP byla využita referenční sekvence *P. sativum v1a*, která je dostupná online: (<https://urgi.versailles.inra.fr/Species/Pisum/Pea-Genome-project>). Referenční sekvence je dostupná ve formě chromozomů, na kterých jsou lokalizovány asociované SNP (Kreplak et al. 2019).

Hodnocení fenotypu u vybraných znaků: (1) barva osemení, (2) semeno – povrch, (3) typ listu (*afila*), (4) délka rostliny, (5) počet větví, (7) počet semen na rostlinu, (8) hmotnost semen na rostlinu (9), HTS, (10) obsah N-látek v sušině, (11) obsah škrobu v sušině, (12) odolnost k padlí (*Erysiphe pisi* f.sp. *pisi*), (13) odolnost k viru PEMV (Pea Enation Mosaic Virus) bylo prováděno během vegetace na základě Klasifikátoru rodu *Pisum* (Pavelková et al. 1986) v letech 2019 a 2020 na lokalitách Šumperk, Olomouc a Smržice a po sklizni měřením či vážením (morfologie rostlin, výnos lusků/semen, barva a tvar semen, HTS, analýzy obsahových látek – obsah N-látek a škrobu v sušině). Chemické analýzy byly prováděny dle ČSN či interních metodik společnosti Agritec.

GWAS analýza: Výsledky genotypového a fenotypového hodnocení byly použity pro celogenomovou asociační analýzu. GWAS analýza SNP genotypových a fenotypových dat byla provedena dvěma statistickými modely MLM (Mixed Linear Model) (Yu et al. 2006) a BLINK (Bayesian-information and Linkage-disequilibrium Iteratively Nested Keyway) zabudovaného v softwaru GAPIT v3 (Tang et al. 2016). Výběr statisticky významných SNP markerů pro vybrané znaky byl určen dle asociace vyjádřené P hodnotou menší než <0,05 korigovanou na mnohonásobné testování FDR (false-discovery rate) metodou Benjamini-Hochberg.

Výsledky a diskuze

Ve dvouletém pokusu na třech lokalitách v ČR bylo fenotypově hodnoceno 564 genotypů rodu *Pisum* na vybrané agronomicky významné znaky. Pro všechny genotypy byla získána DArTseq analýzou celogenomová genotypová data SNP polymorfismů. Následnou asociační analýzou (GWAS) byly nalezené SNP markery přiřazeny ke konkrétním znakům a lokalizovány na jednotlivých chromozomech hrachu, včetně pozice na chromozomu. Celkem bylo získáno 376 SNP markerů pro 13 znaků, jejichž stručný přehled je uveden v Tab.1. Vzhledem k omezenému rozsahu příspěvku se dále zaměříme na znak rezistence k viru PEMV, u něhož byla zjištěna významná asociace s jedním lokusem na prvním chromozomu.

Virus výrůstkové mozaiky hrachu (PEMV - *Pea enation mosaic virus*) je celosvětově označován za nejnebezpečnější a ekonomicky nejzávažnější. Je přenosný mšicemi a k přenosu dochází již po krátké době sání. Mezi typické a nezaměnitelné projevy na rostlinách hrachu, kromě výrůstků, patří i mozaika přecházející v typické „dvůrky“. Později vznikají deformace lusků, snižuje se HTS (Hull 1981). Dědičnost rezistence proti viróze PEMV zajišťuje dominantní gen *En* (Schroeder a Barton 1959), dle literatury lokalizovaný ve třetí vazebné skupině LGIII (Marx et al. 1985, Yu et al. 1995, Randhawa a Weeden 2009). Virus může způsobovat významné výnosové ztráty od 10 až do 100 % (Hull 1981, Jain et al. 2013).

Tabulka 1. Počet identifikovaných SNP markerů asociovaných s vybranými znaky a jejich lokalizace na chromozomech hrachu. Červeně vyznačeny významné asociace.

Znak	Počet identifikovaných SNP markerů	Chromozom
Barva osemení: hnědá-černá	31	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
Barva osemení: žlutá-zelená	11	1, 2, 4, 5, 7
Barva osemení: žlutá-vosková	7	1, 2, 3, 4, 5, 6
Semeno-povrch	1	3
Typ listu - afila	3	2, 6, 7
Délka rostliny	15	1, 2, 4, 5, 6
Počet větví	2	4, 5
N-látky v sušině	2	5, 7
Škrob v sušině	2	1, 3
Odolnost k padlí	8	1, 2, 4, 5
Odolnost k PEMV	6	1, 7
Počet semen na rostlinu	77	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
Hmotnost semen na rostlinu	131	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7
HTS	80	1, 2, 3, 4, 5, 6, 7

V polních podmínkách na lokalitách Šumperk, Olomouc a Smržice byl hodnocen soubor polního a dřeňového hrachu na odolnost k výrůstkové mozaice hrachu (PEMV). U polního hrachu na lokalitě v Šumperku byla zjištěna odolnost u 74 genotypů. Šlechtitelské linie polního hrachu označené AGT 218_16, AGT 218_23, AGT 218_35, AGT 218_37 a AGT 218_40 se vyznačovaly rezistencí k PEMV (gen *En-1*) a také rezistencí k padlí (gen *er-1*). Tyto linie měly dobrou odolnost k poléhání a vysoký výnos. Podobně u dřeňového hrachu na lokalitách Olomouc a Smržice byla zjištěna odolnost u 15 genotypů. Rezistencí k PEMV i padlí se vyznačovaly linie SM 684/09, SMn1, SMn2, SMn9 a SMn24. Uvedené linie budou zařazeny do kolekce genových zdrojů a využity pro výzkumné účely a tvorbu nových odrůd. Soubor linií bude uplatněn jako funkční vzorek (Tab. 2).

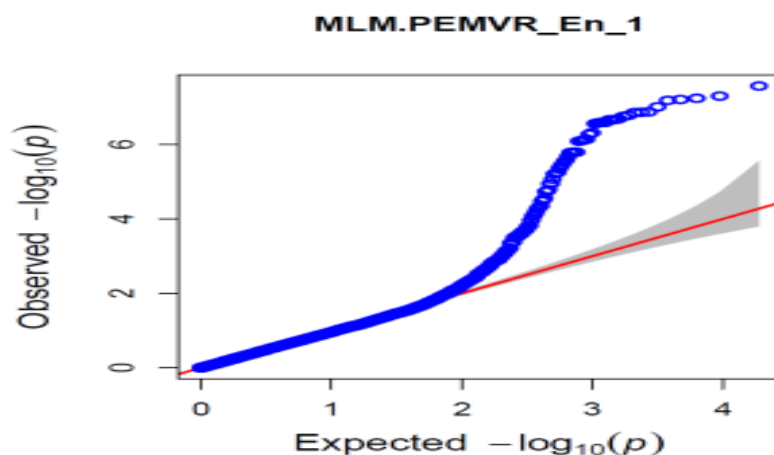
Výsledky asociační analýzy dosahují vysoké statistické průkaznosti (Obr.1). Vysoké pozorované hodnoty úrovně asociace výrazně převyšují výsledky očekávané v odpovídající distribuci dat. Obě metody MLM (Obr.2A) i BLINK (Obr. 2B) mapují shodně hlavní oblast asociace na okraj 1. chromozomu v pozici přibližně 348 Mbp od počátku. Tato oblast je v případě MLM modelu výrazně podpořena všemi blízkými SNP, které jsou ve zřejmé vazbě na znak rezistence k PEMV. V případě modelu BLINK je z těchto SNP v silné genetické vazbě vybráno SNP, které nejlépe reprezentuje tento asociovaný lokus, tudíž je nejvíce vhodné k vytvoření markeru rezistence k PEMV pro markery asistovanou selekci. I když je největší část variability rezistence položek vysvětlena skrze tento lokus, z výsledků lze vyčíst i nezanedbatelný vliv některých dalších lokusů, zejména dalších čtyř lokusů na chromozomu 1 (Obr. 2B).

Tabulka 2. Šlechtitelské linie polního (AGT) a dřevného hrachu (SM) s odolností (R) k PEMV a padlí, vykazující významnou asociaci s SNP lokusy identifikovanými na prvním chromozomu. Linie budou uplatněny jako funkční vzorek.

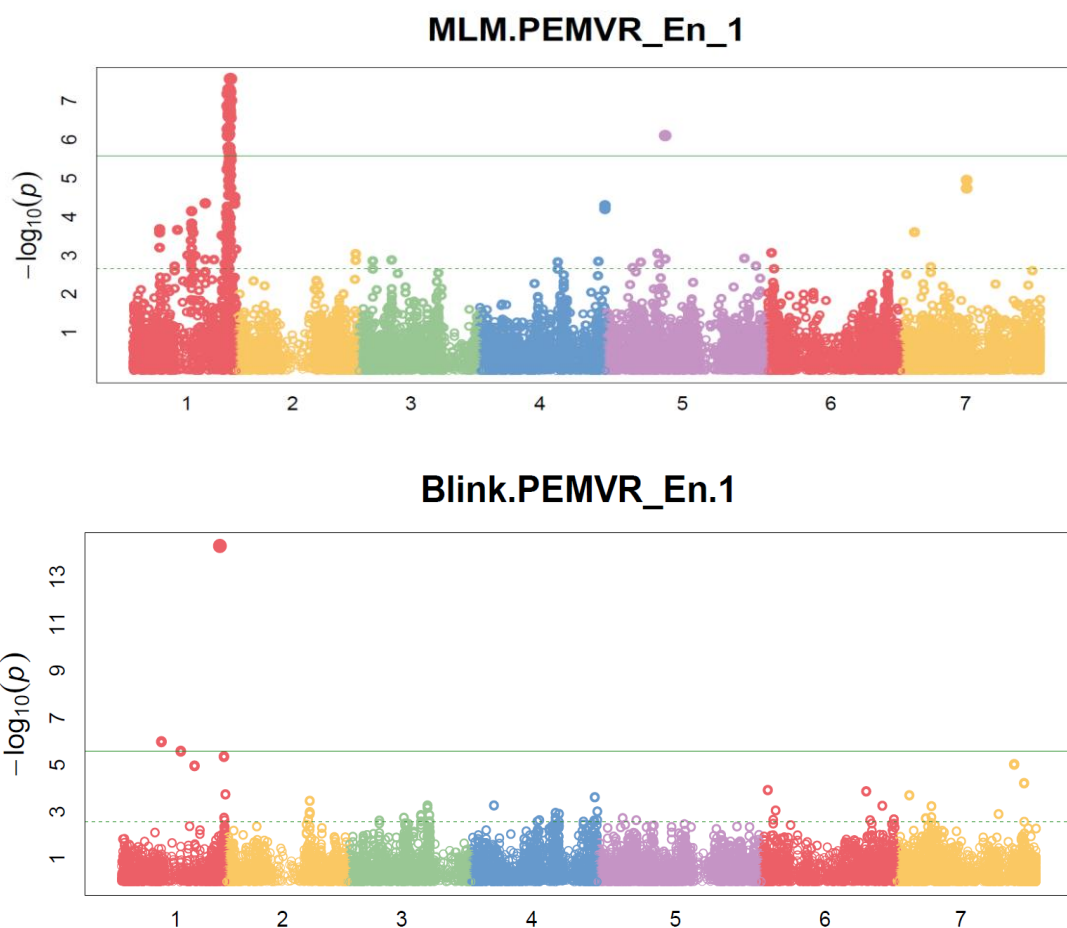
Označení linie	Původ	Růstový typ	Barva semene	Povrch a tvar semene	Padlí	PEMV
AGT2018_37	Tudor x B99-118	semi-leafless (SF)	světležlutá	hladký, semeno kulovité	R	R
AGT2018_35	Salamanca x (LU 1977 x Franklin)	semi-leafless (SF)	tmavozelená	hladký, semeno kulovité	R	R
AGT2018_23	Starter x AGT210.8	semi-leafless (SF)	světležlutá	hladký, semeno kulovité	R	R
AGT2018_16	LU 1977 x Franklin	semi-leafless (SF)	světležlutá	hladký, semeno kulovité	R	R
AGT2018_40	Eso x (LU 1977 x Franklin)	semi-leafless (SF)	světležlutá	hladký, semeno kulovité	R	R
SM 684/09	(SM 509/03 x Oskar)	leafless (L)	střednězelená	svrasklý	R	R
SMn1	SM 457/02 x SM 224/00	semi-leafless (SF)	střednězelená	svrasklý	R	R
SMn2	SM 462/02 x SM 777/14	semi-leafless (SF)	střednězelená	svrasklý	R	R
SMn9	SM 764/14 x SM 749/12	semi-leafless (SF)	střednězelená	svrasklý	R	R
SMn24	SM 767/14 x SM 749/12	semi-leafless (SF)	střednězelená	svrasklý	R	R

Společně s markerem v hlavním lokusu rezistence by se i tyto lokusy měly sledovat při snaze o exaktní šlechtění. Zakomponování benefitních alel všech asociovaných lokusů při šlechtění podpoří u šlechtěných jedinců nejvyšší možnou úroveň rezistence. Navíc pyramidování benefitních alel genů rezistence k PEMV může zvýšit odolnost ke vzniku nových kmenů viru PEMV, které překonávají rezistenci hrachu získanou díky hlavnímu lokusu.

V dřívějších studiích byl lokus rezistence *En* k PEMV mapován na vazebnou skupinu LGIII, jež v referenční sekvenci odpovídá chromozomu 5 (Marx et al. 1985, Randhawa a Weeden 2009, Jain et al. 2013). Mapování využívající porovnání genu rezistence *En* dvou rodičů rezistentní odrůdy Lifter a náchylné odrůdy Radley (Jain et al. 2013) pomocí genotypování SSR markerů u RILs mapovací populace poskytuje markery pro šlechtění za předpokladu, že šlechtitel užije tento konkrétní gen rezistence *En*. Avšak s využitím GWAS mapovací populace u souboru jedinců s širokou genetickou základnou je zřejmé, že hlavní variabilita rezistence k PEMV v námi analyzované populaci hrachu je zprostředkována skrze geny na chromozomu 1. Výhodou dosažených výsledků GWAS studie je, že lze jako donora genů rezistence využít vyšší počet původů hrachu a případně lze do šlechtitelského záměru zahrnout a vzájemně kombinovat i vyšší počet lokusů s nižším efektem na znak rezistence k PEMV. V porovnání s dostupnými studiemi (Marx et al. 1985, Jain et al. 2013) naše výsledky hlavní lokus rezistence mapují na chromozom 1 (vazebná skupina LGVI), rozdílné výsledky mapování mohou být dány odlišným genetickým mechanismem rezistence k PEMV v mapovacích populacích obou studií nebo i odlišnými kmeny viru PEMV využitými k infekci v provedených testech.



Obrázek 1. Quantile-Quantile graf získaných a očekávaných hodnot výsledků $\log_{10} P$ hodnoty v modelu MLM.



(A)

(B)

Obrázek 2. Manhattan graf asociace PEMV rezistence s využitím MLM modelu. Plná zelená čára značí úroveň FDR upravené P hodnoty asociace 0,01, přerušovaná zelená čára značí úroveň FDR upravené P hodnoty asociace 0,05. Sedm chromozomů hrachu setého je odlišeno barevně. Úroveň asociace každého SNP v podobě P hodnoty je transformována dekadickým logaritmem a vynesena vzhledem ke své pozici v genomu hrachu setého.

Tabulka 3. Identifikované SNP lokusy vykazující významnou asociaci s rezistencí hrachu vůči PEMV.

SNP ID	Chromozom	Pozice na chromozomu	FDR adjusted p-value	Alely (referenční/alternativní)	Pozice SNP	Přilehlá sekvence
3541931 F 0-16:G>A-16:G>A	1	347726949	0,0000	G/A	16	TGCAGGATTGTATACTG ATCCTTTCCTGTATAAT TTACAGATCGGAAGAGC GGTTCAGCAGGAATGCC
3544005 F 0-42:G>T-42:G>T	1	140960206	0,0100	G/T	42	TGCAGGCATCTTATTTAT GTTCTGTTCTGTGGTGTA ATCTTTGTATCTTTAGGC ATTGCTTATGCCTTG
41124245 F 0-5:A>C-5:A>C	1	209396847	0,0169	A/C	5	TGCAGAAAATTGTGTGTG GAATGTTATGGTTGCTG ATTCAGTTTATGTTTTAT GTCAATTCAATATGATT
3549708 F 0-34:T>C-34:T>C	1	362126959	0,0216	T/C	34	TGCAGCACCGACACCTA TGAAAAATGTGTGTCGG TGTAATGTCTGAAAGT GACACCGAAGTTTGTGA T
5916488 F 0-45:T>A-45:T>A	7	413460604	0,0357	T/A	45	TGCAGTAAAATGGACGG AAAGCAGGAGATTTCCC AAAAAATAAAATAGACA CTCAAAATTTCTCCGATC
19221983 F 0-23:C>T-23:C>T	1	258079738	0,0357	C/T	23	TGCAGATACATTGCTTC AATGCACGCGGTACTTA TTTATTTTGCTTCAAATT TTTTGCCCTTGCACTCT

Závěr

V práci jsme realizovali celogenomovou GWAS analýzu hrachu s cílem detekovat oblasti genomu kontrolující vybrané znaky s využitím 376 SNP markerů u 564 genotypů rodu *Pisum* pokrývajících variabilitu vybraných agronomických znaků a kvalitativních znaků semen. Identifikované SNP markery byly lokalizovány na jednotlivých chromozomech. Významné asociace byly zjištěny u znaků barva semen, typ olistění, délka rostliny, N-látky v sušině, škrob v sušině, odolnost vůči padlí, odolnost vůči PEMV. Genotypová data získaná DArTseq analýzou mohou být využita pro detekci lokusů u dalších hospodářsky významných znaků. Identifikované SNP lokusy budou sloužit k navržení PCR markerů pro markerově asistovanou selekci k zefektivnění a urychlení šlechtitelského procesu a tvorbu kvalitativně nových, konkurenceschopných odrůd polního a dřeňového hrachu.

Použitá literatura

- Blixt S (1972) Mutation genetics in *Pisum*. *Agr. Hort. Genet.* 30: 1 – 293.
- Gali KK, Sackville A, Tafesse, Reddy Lachagari VB, PcPhee K, Hybl M, Mikič A, Smykal P, McGee R, Burstín J, Domoney C, Ellis THN, Tar'an B, Warkentin T (2019) Genome-Wide-Association Mapping for agronomic and seed quality traits of field pea (*Pisum sativum* L.). *Front. Plant Sci.* 10:1538.
- Hull R (1981) Pea enation mosaic virus. In: Kurstak, E. (ed): *Handbook of Plant Virus Infections and Comparative Diagnosis*, Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Pp 239–256.
- Jain S, Weeden FN, Porter LD, Eigenbrode SD, McPhee K (2013) Finding linked markers to *En* for efficient selection of Pea Enation Mosaic Virus in pea. *Crop Sci.* 53: 1-8.
- Jaranowski J (1976) Gamma-ray induced mutations in *Pisum arvense* L. s. l. *Genet. Polonica* 17: 479 – 495.

- Jones AL, Johansen IE, Bean SJ, Bach I, Maule AJ (1998) Specificity of resistance to pea seed-borne mosaic potyvirus in transgenic peas expressing the viral replicase (*Nib*) gene. *J. Gen. Virology* 79: 3129-3137.
- Klein A et al. (2020) Meta-analysis of QTL reveals the genetic control of yield-related traits and seed protein content in pea. *Sci. Reports* 10: 15925
- Kreplak J et al. (2019) A reference genome for pea provides insight into legume genome evolution. *Nature Genetics* 51: 1411–22.
- Marx GA, Weeden NF, Provvidenti R (1985) Linkage relationships among markers in chromosome 3 and *En*, a gene conferring virus resistance. *Pisum Newsl.* 17: 57-60.
- Pavelková, A., Moravec, J., Hájek, D., Bareš, I. a Sehnalová, J. (1986): Klasifikační systém rodu *Pisum* L. Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha – Ruzyně. *Genové zdroje* 3: Pp 39.
- Randhawa H, Weeden NF (2009) Refinement of the position of *En* on LGIII and identification of closely linked DNA markers. *Pisum Genet.* 41: 33-35.
- Schroeder HE, Gollasch S, Moore A, Tabe LM, Craig S, Hardie DC, Chrispeels MJ, Spencer D, Higgins TJV (1995) Bean alpha-amylase inhibitor confers resistance to the pea weevil (*Bruchus pisorum*) in transgenic peas (*Pisum sativum*). *Plant Physiol.* 107, 1233-1239.
- Schroeder WT, Barton DW (1959) The nature and inheritance of resistance to the Pea Enation Mosaic Virus in garden pea, *Pisum sativum* L. *Phytopathology* 48: 628-632.
- Tang Y et al. (2016) GAPIT Version 2: An enhanced integrated tool for genomic association and prediction. *Plant J.* 9.
- Weeden FN, Provvidenti R (1988) A marker locus, *Adh-1*, for resistance to pea enation mosaic virus in *Pisum sativum* L. *J. Hered.* 79: 128-130.
- Yu J, Gu WK, Provvidenti R, Weeden NF (1995) Identifying and mapping two DNA markers linked to the gene conferring resistance to Pea Enation Mosaic Virus. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 120: 730–733.
- Yu JM et al. (2006) A unified mixed-model method for association mapping that accounts for multiple levels of relatedness. *Nat. Genet.* 38: 203–208.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora projektu č. MZE-RO1018 a č. MZE-RO0418 a projektu TAČR č. TN01000062/05.

Kontaktní adresa:

RNDr. Miroslav Griga, CSc.
Agritec Plant Research s.r.o.
Zemědělská 2520/16, 787 01 Šumperk
e-mail: griga@agritec.cz
tel. +420 724 184 326

POLYMORFISMUS AVENINŮ U ODRŮD OVSA RŮZNÉHO GEOGRAFICKÉHO PŮVODU

Avenin polymorphism in oat varieties with different origin

Dostalíková L., Hlásná Čepková P., Dvořáček V., Viehmannová I.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha
ČZU v Praze

Abstrakt

Bílkovinná frakce aveninů byla hodnocena u 60 odrůd ovsa setého různého geografického původu v podmínkách SDS-PAGE. Celkem bylo hodnoceno 26 peptidů aveninového spektra nacházejících se v rozmezí molekulové hmotnosti od 18 do 35 kDa. U testovaných odrůd byl zjištěn celkový počet 457 peptidů, u jednotlivých odrůd byl detekován počet peptidů od 5 do 10. Více jak polovina vzorků měla ve svém spektru peptid 8 a 11, naopak peptidy 1⁺ a 12* se u odrůd tohoto souboru vyskytovaly minimálně. Mezi odrůdami byla zjištěna významná variabilita aveninů, na základě spektra aveninů nebylo možné rozlišit samostatné odrůdy ani odrůdy se stejnou zemí původu.

Klíčová slova: *Avena sativa*, diverzita, původ, zásobní bílkoviny, směsné vzorky

Abstract

The protein fraction of avenins was evaluated in 60 varieties of oats of various origin under SDS-PAGE conditions. A total of 26 avenine peptides ranging in molecular weight from 18 to 35 kDa were evaluated. In the tested varieties a total of 457 peptides were found. In individual varieties the number of peptides was detected from 5 to 10. More than half of the samples had peptides 8 and 11 in their spectrum, on the contrary peptides 1⁺ and 12 * were minimal in the varieties of this group. Significant variability of avenins was found among the varieties, based on the spectrum of avenins. It was not possible to distinguish individual varieties or varieties with the same country of origin.

Keywords: *Avena sativa*, bulked samples, diversity, origin, seed storage protein

Úvod

Oves setý (*Avena sativa* L.) je jednoděložná, samosprašná plodina z čeledi Poaceae, která se pěstuje v různých klimatických oblastech světa (FAO 2004). Oves patří mezi nemladší obilniny a jeho domestikace začala podstatně později než u pšenice a ječmene (Murphy & Hoffman 1992), pravděpodobně ne dříve než před 4000 lety (Zohary & Hopf 1988). V poslední době se konzumace ovsa a ovesných produktů v lidské výživě zvýšila, nicméně stále převažuje pěstování za účelem získání krmiva (Ahmad et al. 2010). Mezi největší producenty patří země mírného podnebného pásu, jako jsou Rusko, Kanada, Polsko, Austrálie a Čína. V Evropě byla v roce 2017 dosažena produkce ovsa na úrovni 13,5 miliónů t (FAO 2018).

Z nutričního pohledu je to plodina bohatá na bílkoviny a na rozdíl od ostatních obsahuje nenasycené mastné kyseliny (Lásztity 1998). Dále jsou v zrně obsaženy látky, které se vyznačují antioxidační aktivitou např. avenantramidy (Jágr et al. 2020), tokoferoly a další fenolické látky, kyselina fytová a steroly (Peterson 2001). Neméně významnou látkou jsou také β-glukany, které redukují krevní tlak (Maki et al. 2007), obsah cholesterolu v krvi (Kapur et al. 2008; Ruxton & Derbyshire 2008; Othman et al. 2011) a podporují správnou funkci střev (Malkki & Virtanen 2001; Vasiljevic et al. 2007). Zrna ovsa obsahují frakci bílkovin tzv. aveniny (Lásztity 1998), které jsou zastoupené v rozmezí 4–15 % v bílkovinách semene a jsou

bohaté na prolin a glutamin (Klose & Arendt, 2012; Kosova et al., 2020). Aveniny jsou spojovány s vyvoláním alergické reakce u jedinců trpících celiakií (Armstrong et al. 2012), ale v porovnání s pšenicí, žitem a ječmenem je obsah prolinu a glutaminu poměrně nízký (Comino et al. 2011). Aveniny se vyznačují vysokým polymorfismem při elektroforetické separaci a vyskytují se především ve spektru od 20 do 36 kDa (Dvořáček et al. 2003). Molekulární hmotnost aveninů je odlišná v závislosti na použité metodě a analyzovaných odrůdách.

V této studii bylo hodnoceno spektrum aveninů u 60 odrůd ovsa setého původem z různých geografických oblastí. Cílem výzkumu bylo stanovení stupně variability aveninů mezi hodnocenými materiály a posouzení, zda je tato metoda dostatečně citlivý nástroj k rozlišení odrůd různého původu.

Materiál a Metody

Celkově bylo hodnoceno 60 odrůd ovsa setého původem z různých geografických lokalit. Semena odrůd poskytla šlechtitelská firma Selgen a.s. a Genová banky, VÚRV Praha. Soubor zahrnoval 12 odrůdy původem z České republiky, 12 odrůd z Německa, 12 odrůd bylo původem ze severských zemí Evropy (6 z Finska, 3 ze Švédska, 2 z Estonska a 1 z Norska), severoamerickou skupinu představovalo 6 amerických a 6 kanadských odrůd. Poslední skupinu 12 odrůd tvořily odrůdy původem z tropických a subtropických oblastí (3 z Indie, 2 z Austrálie, 3 z Argentiny, 1 z Maroka, Alžíru a Jihoafrické republiky).

Pro analýzu aveninů byl použit směsný vzorek od každé odrůdy, který byl připraven z 20 náhodně vybraných semen, která byla namleta a ze směsi bylo poté odváženo cca 0.25 mg vzorku ve čtyřech opakováních. Pro extrakci aveninů byl použit roztok 25 % (v/v) 2-chlorethanolu, 2 % (w/v) SDS a 0.05 % (w/v) pyroninu Y, extrakce probíhala 4 hodiny při pokojové teplotě. Aveniny byly elektroforeticky separovány na 12 % (w/v) polyacrylamidovém gelu v SDS-PAGE (Laemmli 1970). Pozice peptidů byly oskórovány jako přítomnost či nepřítomnost daného peptidu a byla vytvořena binární matice. Byly použity dva interní markery odrůdy Poncho a Ranch a dva komerční markery – Low Range BioRad marker a Wide Range Sigma marker.

Získaná data byla vyhodnocena za použití softwaru Darwin 5 verze 5.0.158, metoda Neighbour Joining (NJ) byla použita pro konstrukci dendrogramu.

Výsledky a Diskuse

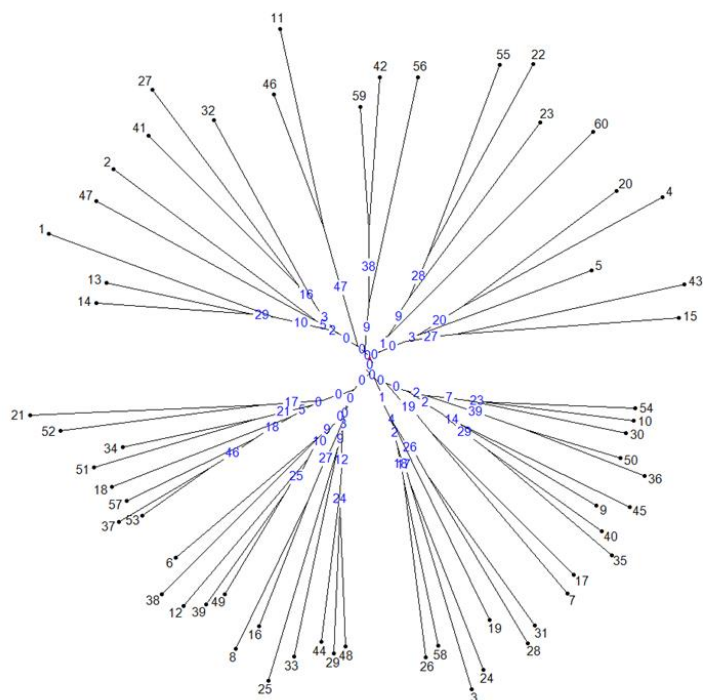
Pomocí SDS-PAGE analýzy bylo detekováno 26 aveninových peptidů o molekulární hmotnosti v rozmezí od 18 do 35 kDa. Peptidy s nejčastější frekvencí výskytu byly označeny čísly 8 (23,5 kDa) a 11 (19,2 kDa), peptidy 1+ (30,5 kDa) a 12* (18,5 kDa) se u odrůd vyskytovaly minimálně (Tabulka 1). Celkové množství aveninových peptidů u jednotlivých odrůd se pohybovalo v rozmezí od pěti do deseti peptidů.

Tabulka 1. Frekvence aveninových peptidů u analyzovaných genotypů ovsa

Označení peptidu	Frekvence výskytu (%)	Molekulová hmotnost (kDa)
1 ⁺	2	30,5
1	28	30,2
1*	38	30,0
2	40	29,5
2*	5	29,7
3	47	29,0
3*	28	28,5
4	33	28,0
4*	17	27,5
5	40	26,5
5*	13	26,0
6	40	25,5
6*	8	25,0
7	47	24,5
7*	32	24,0
8	60	23,5
8*	17	23,0
9	48	22,0
9*	8	21,0
10	30	20,5
10*	38	20,0
11 ⁺	33	19,8
11	53	19,2
11*	17	19,0
12	35	18,8
12*	3	18,5

Spektra aveninů byla následně analyzována pomocí softwaru Darwin 5, který rozdělil odrůdy do čtyř rozdílných klastrů (Obrázek 1). Výsledky potvrdily vysoký aveninový polymorfismus, protože nebyl zaznamenán shodný aveninový profil u žádného z analyzovaných vzorků.

S ohledem na geografický původ odrůd nelze prokázat, že odrůdy mající stejné místo původu (vyšlechtění), mají také podobný aveninový profil, neboť odrůdy, jejichž země původu je shodná, jsou rozmístěny více či méně rovnoměrně po celém spektru dendrogramu bez specifického shlukování v jednotlivých klastrech (Obrázek 1). Tento výsledek odporuje předpokladu, že geografický původ dané odrůdy může značit vyšší podobnost na aveninové nebo genetické úrovni z důvodu používání stejných odrůd (předků) pro vyšlechtění různých genotypů v dané oblasti (Portyanko et al. 1998).



Obrázek 3. Dendrogram souboru 60 odrůd ovsa s označeným geografickým původem

Jednotlivé klastry vykazovaly poměrně vysokou variabilitu, až na klast 4, ve kterém se v pěti případech shodovaly aveninové alely z více než 50 %, navzdory poměrně různorodému geografickému původu (Tabulka 2). Tyto peptidy nesou označení 6, 7, 8, 10* a 11 a jsou to zároveň peptidy, které byly v celém souboru vzorků detekovány jako nejfrekventovanější (Tabulka 1).

Tabulka 2. Schématické vyobrazení klastru 4 se shodnými alelami mezi danými odrůdami, které jsou vyznačeny černou barvou.

	1	1*	2	3	4	4*	5	6	7	8	9	10*	11	12
Klein 69 B (ARG)														
NP1 (IND)														
Polaris (ARG)														
Gregor (CZE)														
Norbert (CZE)														
Tibor (CZE)														
Buggy (GER)														
Canyon (GER)														
Flämingsprofi (GER)														
Salomon (GER)														
Classic (USA)														
CDC Boyer (CAN)														
Milton (USA)														
Otee (USA)														
Walderm (CAN)														
Belinda (FIN)														
Aarre (FIN)														
Sang (SWE)														
Veli (FIN)														
Yty (FIN)														
Celkový počet alel	8	6	10	8	6	4	10	17	13	16	6	11	15	4

ARG–Argentina, CAN–Kanada, CZE–Česká republika, FIN–Finsko, GER–Německo, IND–Indie, SWE–Švédsko, USA–Spojené státy americké

Dle dostupné literatury je pohled na spektrum aveninů a jejich hodnocení poměrně odlišný. Některé zdroje uvádí oblast výskytu aveninů v širokém rozmezí od cca 8 do 45 kDa (Dumlupinar et al. 2011; Gregova et al. 2015), nicméně jiní autoři specifikují poměrně užší rozmezí (Mickowska et al. 2015). Naopak Dvořáček et al. (2003) a Benoit et al. (2017) došli k podobnému rozmezí molekulární hmotnosti aveninů, které bylo v tomto případě od 18 do 35 kDa. Taktéž množství detekovaných peptidů se liší v závislosti na jednotlivých autorech, metodice výzkumu či samotném množství analyzovaného materiálu, nicméně podobných výsledků dosáhla například Portyanko et al. (1998) nebo Jusilla et al. (1992).

Obecně lze říci, že polymorfismus aveninů je dostatečně heterogenní na to, aby jej šlo snadno využít jako nástroj pro identifikaci odrůd (Gregova et al. 1996; Dvořáček et al. 2003). Jeho potenciál spočívá také ve využití při šlechtění nových odrůd ovsa s lepšími vlastnostmi (Achleitner et al. 2008), nebo s nižším obsahem proteinů, které mohou být škodlivé pro pacienty s celiakií (Ahokas et al. 2005).

Závěr

Pomocí použité metody elektroforetické separace bílkovin byla detekována vysoká míra polymorfismu na úrovni aveninů, nicméně jeví se jako málo citlivá pro identifikaci jednotlivých odrůd a jejich původů. Hodnocení alelické variability u různorodé skupiny odrůd ovsa může poskytovat užitečné informace pro využití ve šlechtění a tvorbě nových odrůd.

Použitá literatura

- Ahmad A, Anjum FM, Zahoor T, Nawaz H, Ahmed Z. 2010. Extraction and characterization of β -glucan from oat for industrial utilization. *International Journal of Biological Macromolecules* 46:304–309.
- Achleitner A, Tinker NA, Zechner E, Buerstmayr H. 2008. Genetic diversity among oat varieties of worldwide origin and associations of AFLP markers with quantitative. *Theoretical and Applied Genetics* 117:1041–1053.
- Ahokas H, Manninen ML. 2000. Retrospecting genetic variation of Finnish oat (*Avena sativa* L.) landraces and observation on revived lines grown prior to 1957. *Genetic Resources and Crop Evolution* 47:345–352.
- Benoit L, Masiri J, del Blanco IA, Meshgi M, Gendel SM, Samadpour M. 2017. Assessment of avenins from different oat varieties using R5-bBased sandwich ELISA. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 65:1467–1472.
- Comino I, Real A, de Lorenzo L, Cornell H, Lopez-Casado MA, Barro F, Sousa C. 2011. Diversity in oat potential immunogenicity: Basis for the selection of oat varieties with no toxicity in coeliac disease. *Gut* 60: 915–922.
- Dumlupinar Z, Dokuyucu T, Akkaya A. 2011. Identification of Turkish oat landraces (*Avena sativa* L.) based on avenin proteins by SDS-PAGE technique. *Turkish Journal of Field Crops* 16:76–83.
- Dvořáček V, Čurn V, Moudrý J. 2003. Suitability of oat-seed storage-protein markers for identification of cultivars in grain and mixed flour samples. *Plant Soil Environment* 11:486–491.
- FAO. 2004. Fodder oats: a world overview. Suttie JM, Reynolds SG, editor. Food Agricultural Organisation, Rome.
- FAO. 2018. FAOSTAT: Oats Production Quantity by Country. <http://faostat.fao.org/>
- Gregova E, Šliková S, Hozlár P. 2015. Seed protein electrophoresis for identification of oat registered cultivars. *Potravinársto* 9:411–416.
- Jagr M, Dvoracek V, Hlasna Cepkova P, Dolezalova J. 2020. Comprehensive analysis of oat avenanthramides using hybrid quadrupole-Orbitrap mass spectrometry: Possible detection of new compounds. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 34: e8718.
- Jussila M, Sontag-Strohm T, Ulvinen O. 2015. The identification of Finnish oat cultivars (*Avena sativa* L.) by the use of SDS-PAGE of the avenins in 60 homogeneous and gradient. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science* 42:106–110.

- Kapur NK, Ashen D, Blumenthal RS. 2008. High density lipoprotein cholesterol: an evolving target of therapy in the management of cardiovascular disease. *Vascular Health and Risk Management* 4:39–57.
- Klose C, Arendt EK. 2012. Proteins in oats; their synthesis and changes during germination: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 52:629–639.
- Kosova K, Leisova-Svobodova L, Dvoracek V. 2020. Oats as a Safe Alternative to Triticeae Cereals for People Suffering from Celiac Disease? A Review. *Plant Foods for Human Nutrition* 75: 131-141.
- Lásztity R. 1998. Oat grain – a wonderful reservoir of natural nutrients and biologically active substances. *Food reviews International* 14:99–119.
- Maki KC, Galant R, Samuel P, Tesser J, Witchger MS, Ribaya-Mercado JD, Blumberg JB, Geohas J. 2007. Effects of consuming foods containing oat beta-glucan on blood pressure, carbohydrate metabolism and biomarkers of oxidative stress in men and women with elevated blood pressure. *European Journal of Clinical Nutrition* 61:786–795.
- Malkki Y, Virtanen E. 2001. Gastrointestinal effects of oat bran and oat gum – A review. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 34:337–347.
- Mickowska B, Litwinek D, Gambus H. 2016. Oat raw materials and bakery products – amino acid composition and celiac immunoreactivity. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria* 15:89–97.
- Murphy JP, Hoffman LA. 1992. The origin, history and production of oats. Pages 1 – 28 in Marshall HG, Sorrells ME editors. *Oat Science and Technology*. American Society of Agronomy and Crop Science Society of America, Madison.
- Othman RA, Moghadasian MH, Jones PJH. 2011. Cholesterol-lowering effects of oat beta-glucan. *Nutrition Reviews* 69:299–309.
- Peterson DM. 2001. Oat antioxidants. *Journal of Cereal Science* 33:115–129.
- Portyanko VA, Sharopova NR, Sozinov AA. 1998. Characterisation of European oat germ plasm: allelic variation at complex avenin loci detected by acid polyacrylamide gel electrophoresis. *Euphytica* 102:15–27.
- Ruxton CHS, Derbyshire E. 2008. A systematic review of the association between cardiovascular risk factors and regular consumption of oats. *British Food Journal* 110:1119–1127
- Zohary D, Hopf M. 1988. Domestication of plants in old World. The origin and spread of cultivated plants in West Asia, Europe and Nile Valley. Oxford Science Publications, Oxford.
- Vasiljevic T, Kealy T, Mishra VK. 2007. Effects of beta-glucan addition to a probiotic containing yogurt. *Journal of Food Science* 72: C405–C411.

Poděkování

Tato práce byla finančně podpořena projektem NAZV QK1810102 Národní Agentury pro Zemědělský výzkum MZe ČR, dále výzkumným záměrem MZe ČR RO0418 a Národním programem pro konzervaci a využití genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity 6.2.5/51834/2017-MZE-17253).

Kontaktní adresa

Ing. Petra Hlásná Čepková, Ph.D., Genová banka
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i.
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně
email: hlasna@vurv.cz

VLIV DEHYDRATACE NA OBSAH VODY A TERMICKÉ VLASTNOSTI PYLU CHMELE A BRAMBORU

Effect of dehydration on water content and thermal properties of hops and potatoes pollen

Faltus M.¹, Svoboda P.², Domkářová J.³, Bilavčík A.¹, Zámečník J.¹

¹Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i.

²Chmelařský institut, s.r.o.

³Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

Abstrakt

Tato práce byla zaměřena na hodnocení termických charakteristik pylu v souvislosti s jeho hydratací u šestnácti vzorků chmele a bramboru. Byl stanoven obsah vody a následující charakteristiky související s chováním vody v biologickém materiálu při působení ultranízkých teplot: podíl obsahu zmrzlé vody, teplota tání a teplota skelného přechodu. Bylo zjištěno, že výsledné termické vlastnosti má zásadní vliv obsah vody, a naopak vliv odrůdy i druhu rostliny nebyl významný; závislost sledovaných parametrů byla funkcí obsahu vody bez ohledu na testovaný genotyp. Bylo zjištěno, že při poklesu obsahu vody pod 0,27 g vody na g sušiny nedocházelo ke krystalizaci vody a zároveň byla vždy prokázána přítomnost skelného přechodu. Při silné dehydrataci pylu na 0,1 g vody na g sušiny došlo ke zvýšení teploty skelného přechodu až na teplotu -5 °C, čímž došlo k významnému zvýšení bezpečné skladovací teploty pylu.

Klíčová slova: Diferenční skenovací kalorimetrie, kryoprezervace, *Humulus lupulus* L., skelný přechod, *Solanum tuberosum* L., termická analýza

Abstract

This work was focused on the evaluation of the thermal characteristics of pollen with respect to its hydration in sixteen samples of hops and potatoes. The water content and the following characteristics related to the behaviour of water in the biological material under ultra-low temperatures were determined: the proportion of frozen water content, melting point and glass transition temperatures. It was found that the resulting thermal properties were influenced mostly by water content and, conversely, the effect of variety and plant species was not significant; the dependence of the studied parameters was a function of the water content regardless of the tested genotype. It was found that when the water content falls below 0.27 g of water per g of dry matter, water does not crystallize and at the same time, the presence of a glass transition has always been demonstrated. With strong dehydration of pollen to 0.1 g of water per g of dry matter, the glass transition temperature increased to -5 °C, which represents increase in the safe storage temperature of pollen as well.

Key words: Cryopreservation, differential scanning calorimetry, glass transition, *Humulus lupulus* L., *Solanum tuberosum* L., thermal analysis

Úvod

Dlouhodobé uchování pylu zlepšuje možnosti a efektivitu použití vhodných kombinací rodičovských rostlin při šlechtitelském procesu. Úspěšnost dlouhodobého uchování pylu je závislé na obsahu vody v pylu a teplotě skladování. Obsah vody v pylu je závislý na podmínkách při jeho sklizni a skladování a také na genotypu. Sklizený pyl je běžně skladován po odběru v lednici při teplotách nad bodem mrazu, popřípadě v mrazáku. Takový způsob

skladování však neumožňuje dlouhodobě spolehlivé skladování pylu při zachování jeho životnosti a schopnosti opylení. Takovou možnost však nabízí metoda kryoprezervace.

Kryoprezervace je metodou, která umožňuje dlouhodobé uchování živých organismů nebo jejich částí při ultranízké teplotě (obvykle při teplotě bodu varu kapalného dusíku, -196°). Při této teplotě dochází k úplnému zastavení všech biochemických procesů a k praktickému zastavení jakýchkoliv změn. Proto tato metoda umožňuje dlouhodobé uchování života v podmínkách „umělé hibernace“. Principem dlouhodobého uchování živých organismů v podmínkách kryoprezervace je přechod živého organismu z převažujícího kapalného skupenství hmoty do skupenství pevného. V důsledku snížení teploty dochází ke zvýšení dynamické viskozity kapaliny přes 10^{12} Pas, která je uznávanou hranicí pro změnu skupenství z kapalného do pevného. Pokud při poklesu teploty nedojde k tvorbě krystalů, zůstává zachována původní struktura hmoty v takzvaném skelném stavu. Tento skelný stav hmoty je podstatou zachování života při vystavení organismů extrémně nízkým teplotám. Nejčastějším problémem pro dosažení úspěšné kryoprezervace je vysoký obsah vody v živých organismech, která při poklesu teploty pod bod mrazu obvykle zmrzne do ledových krystalů a způsobuje poškození tkání či pletiv.

Všechny metody kryoprezervace jsou založeny na postupu, který mrznutí vody omezuje nebo alespoň modifikuje. V rostlinné říši se při vývoji kryoprotokolů obvykle používají postupy, které vedou k poklesu obsahu vody v uchovávaných pletivech. Tato dehydratace má své limity, dané odolností jednotlivých genotypů vůči dehydrataci a také částí rostliny či orgánem, které chceme uchovat. Proto lze s úspěchem kryoprezervovat genotypy, které odolávají dehydrataci, tak i části rostlin, u kterých dochází během jejich ontogenetického vývoje k významnému poklesu obsahu vody, jako jsou ortodoxní semena či pyl. Avšak i u takového rostlinného materiálu je třeba definovat obsah vody, který umožňuje jeho přežití při působení ultranízkých teplot.

Jedna z metod termické analýzy, diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) měří změny entalpie (vnitřní energie) při změně teploty, přičemž může identifikovat přítomnost a velikost fázových přechodů, charakterizované změnou měrné tepelné kapacity (množstvím energie potřebné pro zvýšení teploty jednotky látky o jeden teplotní stupeň) či uvolněním/dodáním skupenského tepla (energie spojená s fázovým přechodem). Pomocí této metody lze přesně stanovit chování biologických materiálů, a zejména vody v nich obsažených, při působení nízkých a ultranízkých teplot. Lze zjistit, zda během poklesu chlazení, popř. i při ohřevu, dochází ke krystalizaci vody, při jaké teplotě a v jakém objemu, popřípadě lze identifikovat přítomnost skelného přechodu (Hammond *et al.* 2019).

Cílem této práce bylo, pomocí termické analýzy, identifikovat rozsah dehydratace pylu bramboru a chmele, při kterém již nedochází ke krystalizaci vody a umožňuje jeho bezpečné uchování pomocí metody kryoprezervace.

Materiál a Metody

Vzorky pylu byly odebrány z rostlin na pracovištích Výzkumného ústavu bramborářského Havlíčkův Brod, s.r.o. a Chmelařského institutu, s.r.o. v Žatci. U chmele byly odebrány samčí květenství z vybraných genotypů samčích rostlin chmele a u bramboru byly vybrány odrůdy s různou dobou kvetení a s různou výtěžností pylu. Ve Výzkumném ústavu bramborářském Havlíčkův Brod byly vybrány odrůdy Bohemia, Jasmína, Jindra, Magda, Nancy, Nautilus, Red Anna a Vlasta, a v Chmelařském institutu Žatec dva genotypy chmele s označením 15_1 a 86/4 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 poklesem jehlou na jednotlivé prašníky. Pyl byl následně sesypán do plastových zkumavek a uložen v chladu (4 °C). Metoda diferenční skenovací kalorimetrie byla využita ke stanovení teploty fázových přechodů a hodnoty entalpie tání. Byl použit diferenční skenovací kalorimetr Q2000 s RCS (TA Instruments, USA) v rozsahu -90 až +20 °C, při rychlosti chlazení i ohřevu 10 °C/min., s využitím hliníkových, hermeticky uzavřených, pánviček. Při ohřevu byla stanovena teplota skelného přechodu, teplota tání vyjádřená jako tzv. onset píku, množství skupenského tepla tání a vypočítáno množství zmrzlé vody ve vzorku, které bylo vyjádřeno jako procentní podíl z celkové hmotnosti vzorku. Celkový obsah vody ve vzorku byl stanoven gravimetricky z rozdílu čerstvé hmotnosti a hmotnosti sušiny po vysušení vzorku do konstantní hmotnosti v horkovzdušné sušárně při teplotě 105 °C.

Výsledky a diskuze

Celkem byly odebrány dva genotypy chmele a osm genotypů bramboru, které byl odebrány až ve třech různých termínech (Tab. 1).

Tabulka 1. Výsledky termické analýzy u odebraných vzorků pylu chmele a bramboru. Byla stanovena teplota skelného přechodu (Tg), teplota tání (Tm) a podíl krystalické fáze v % čerstvé hmoty (krystalizace). Hodnoty jsou průměrem tří opakování, chyba představuje standardní chybu průměru.

Plodina	genotyp	Tg	chyba	Tm	chyba	krystalizace	chyba
chmel	15_1	-34,1	0,42				
chmel	86_4	-25,0	0,19				
brambor	Bohemia			-28,9	0,34	3,8	1,55
brambor	Bohemia II			-28,1	0,20	1,0	0,06
brambor	Jasmína			-28,0	0,82	1,7	0,24
brambor	Jasmína II			-28,8	0,27	1,2	0,13
brambor	Jasmína III	-49,3	1,05				
brambor	Jindra	-65,9	0,25	-23,0	0,35	0,1	0,03
brambor	Jindra II	-17,8	1,82				
brambor	Magda I			-22,0	0,38	14,3	0,06
brambor	Magda II			-26,0	1,01	7,9	0,45
brambor	Nancy	-66,4	0,16	-23,8	0,10	0,3	0,01
brambor	Nancy II	-64,0	0,51				
brambor	Nautilus	-5,2	0,88				
brambor	Red Anna	-42,5	0,30				
brambor	Vlasta	-27,8	0,35				
brambor	Vlasta II			-27,7	0,11	0,9	0,14

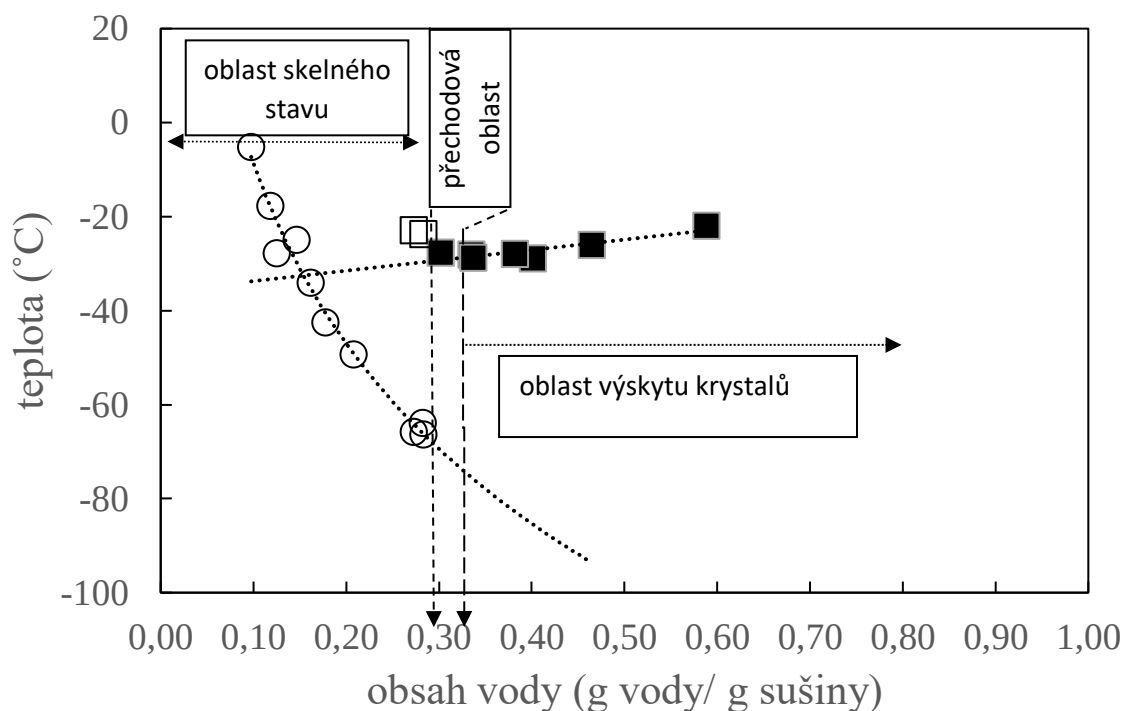
Porovnáním dosažených výsledků termické analýzy s celkovým obsahem vody ve vzorcích byla zjištěna závislost měřených parametrů na celkovém obsahu vody bez ohledu na genotyp (Obr. 1). Hodnoty teplot skelného přechodu se pohybovali od -66,4 °C do -5,2 °C v oblasti skelného stavu charakterizovaného obsahem vody od 0,28 do 0,1 g vody na g sušiny. Endotermické efekty charakterizující tání krystalů, se pohybovaly v rozmezí teplot od -28,4 °C do -21,4 °C v oblasti charakteristické výskytem krystalů při obsahu vody 0,27 až 0,59 g vody na g sušiny.

Podíl krystalické vody klesal ve vzorcích pylu současně s poklesem celkového obsahu vody (Obr. 2). Nejvyšší podíl krystalické vody (14 %) byl zjištěn u vzorku pylu odrůdy bramboru

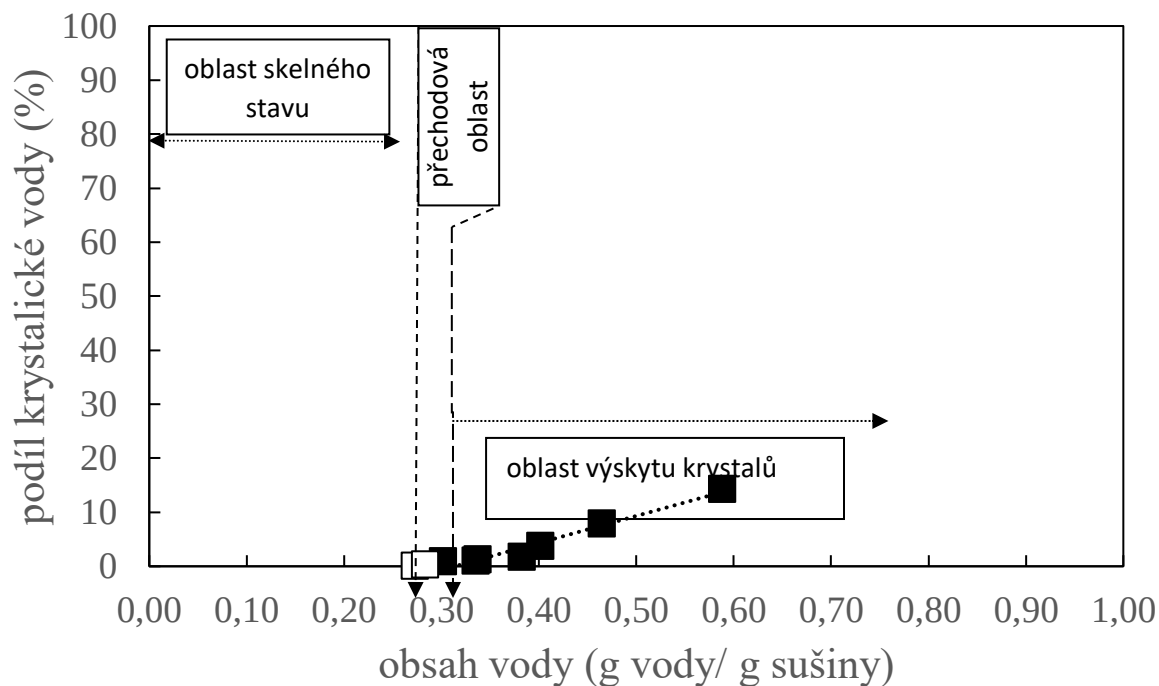
Magda (Obr. 3) s obsahem vody 0,59 g vody na g sušiny (Obr. 2) a klesal až na 0,9 % při obsahu vody 0,3 g vody na g sušiny (Obr. 2) u vzorku pylu odrůdy bramboru Vlasta (Obr. 4). Při dalším poklesu obsahu vody na 0,27 až 0,28 g vody na g sušiny byl zjištěn velice nízký podíl zmrzlé vody 0,1 až 0,3 %, při současném výskytu skelného přechodu (Obr. 4).

Z těchto výsledků vyplývá, že bezpečná oblast pro uchování pylu bez poškození mrznoucí vodou je při obsahu vody v pylu nižší než 0,27 g vody na g sušiny (tj. 22 % vody v čerstvé hmotě), přičemž prezentované výsledky toto prokazují při hodnotách nižších než 0,21 g vody na g sušiny (tj. 17 % vody v čerstvé hmotě) (Obr. 2) u odrůdy bramboru Jasmína (Obr. 6). Nejnižší hodnoty obsahu vody ve vzorcích byl zjištěn u odrůdy bramboru Nautilus (Obr. 7) a to 0,1 g vody na gram sušiny (tj. méně než 8 % vody v čerstvé hmotě).

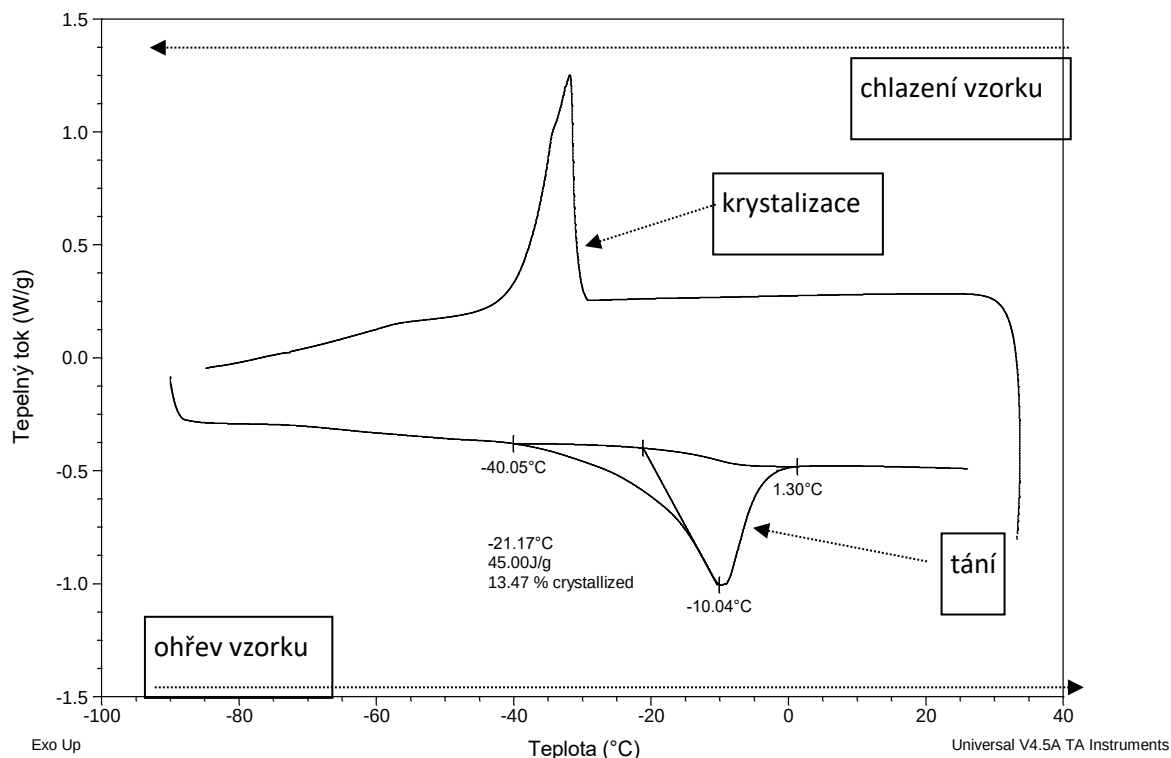
Výsledky prokázaly, že se vzrůstající dehydratací pylu klesá riziko poškození vzorků krystalizací ledu a zároveň stoupá bezpečná skladovací teplota vzorků až o desítky stupňů Celsia, přičemž tato teplota musí být vždy nižší než teplota skelného přechodu kryoprezervovaného materiálu. Závislost mezi obsahem vody a termickými charakteristikami pylu se jeví nezávislá na genotypu, protože závislost těchto parametrů byla shodná u obou hodnocených plodin a všech genotypů.



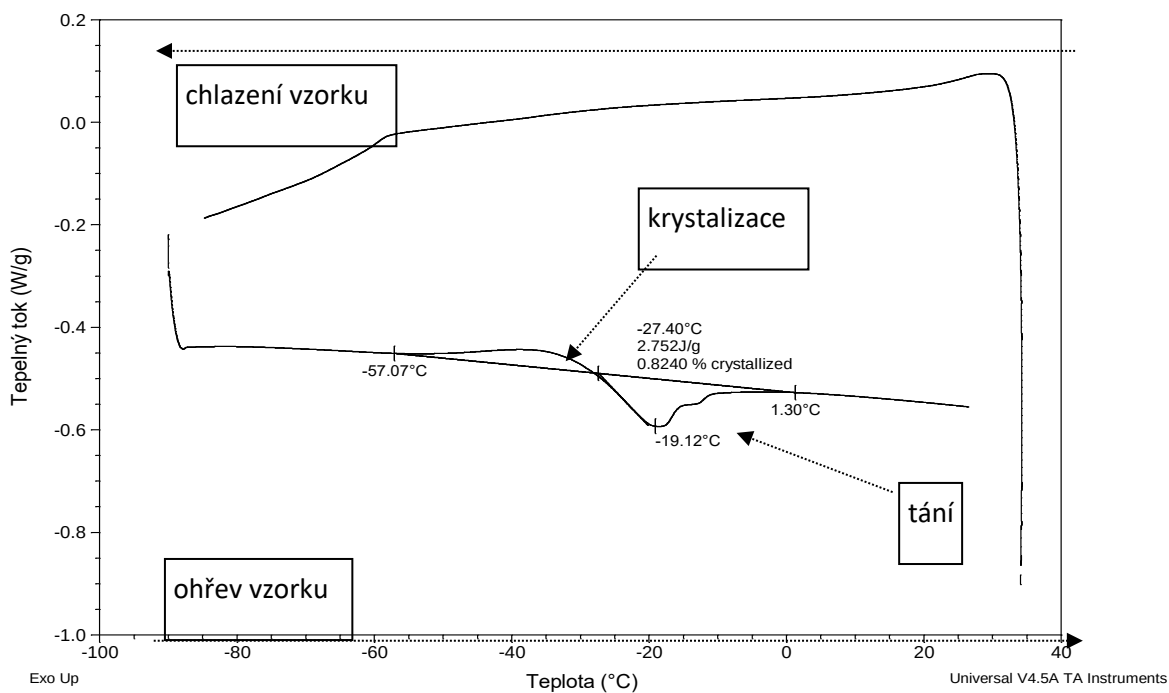
Obrázek 1. Závislost teploty skelného přechodu ($\circ$) a teploty tání ($\blacksquare$) na celkovém obsahu vody ve vzorcích pylu bramboru a chmele. Při vyšším obsahu vody v pylu byla zjištěna přítomnost zmrzlé vody ($\blacksquare$) bez přítomnosti skelného stavu ($\circ$). Při středním obsahu vody byla zjištěna přítomnost skelného přechodu ($\circ$) i velmi malého obsahu zmrzlé vody ($\square$).



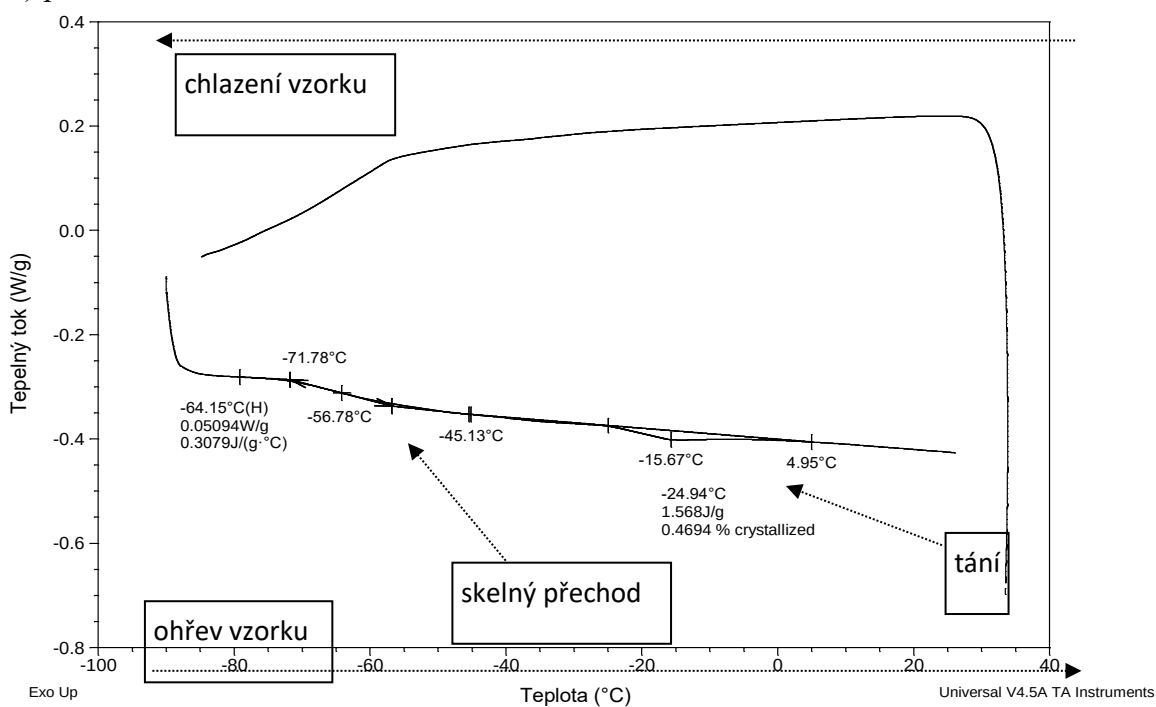
Obrázek 2. Závislost podílu krystalické vody v čerstvé hmotě (■□) na celkovém obsahu vody v pylu bramboru. Při vyšším obsahu vody v pylu byla zjištěna přítomnost zmrzlé vody (■) bez přítomnosti skelného stavu. Při středním obsahu vody byla zjištěna přítomnost velmi malého obsahu zmrzlé vody (□) při současné přítomnosti skelného přechodu.



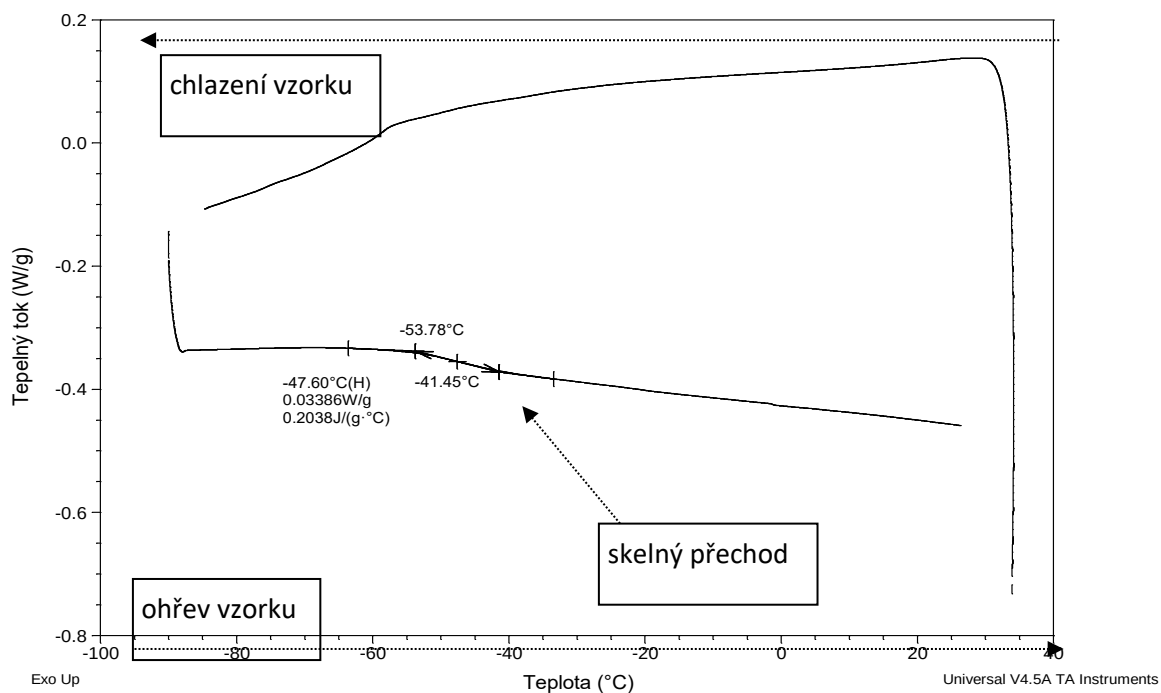
Obrázek 3. Termogram pylu bramboru odrůdy Magda. Standardní hodnocení píku endotermie (tání) při ohřevu vzorku.



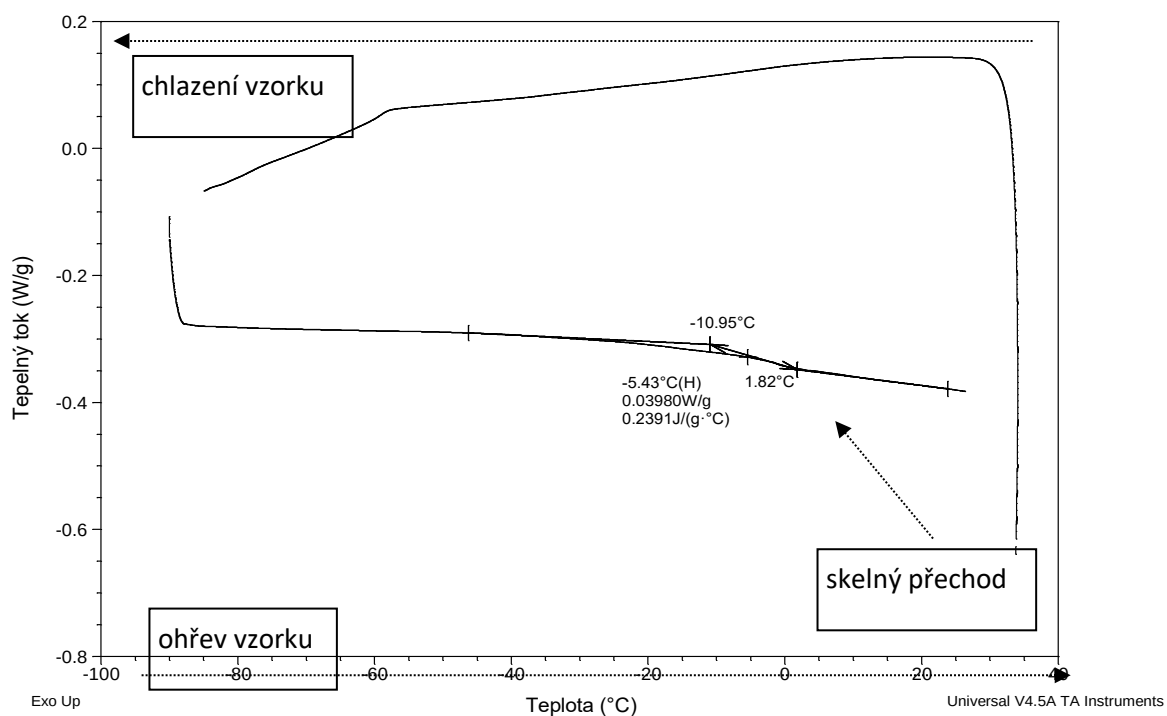
Obrázek 4. Termogram pylu bramboru odrůdy Vlasta. Standardní hodnocení píku endotermie (tání) při ohřevu vzorku.



Obrázek 5. Termogram pylu bramboru odrůdy Nancy. Standardní hodnocení píku endotermie (tání) a skelného přechodu při ohřevu vzorku.



Obrázek 6. Termogram pylu bramboru odrůdy Jasmína. Standardní hodnocení skelného přechodu při ohřevu vzorku.



Obrázek 7. Termogram pylu bramboru odrůdy Nautilus. Standardní hodnocení skelného přechodu při ohřevu vzorku.

Závěr

U celkem šestnácti vzorků pylu chmele a bramboru byla provedena termická analýza s cílem ověřit vhodnost hodnocených vzorků pro kryoprezervaci z hlediska jejich hydratace. Byla stanovena přítomnost a teplota skelného přechodu, teplota tání ledu a podíl krystalické vody (ledu) ve vzorcích. Tyto hodnoty byly porovnávány s celkovým obsahem vody ve vzorcích pylu. Bylo potvrzeno, že s poklesem obsahu vody dochází také poklesu podílu zmrzlé vody ve vzorcích. Při obsahu vody vyšší než 0,3 g vody na g sušiny vždy docházelo k tvorbě ledových krystalů a nebyla zároveň detekována přítomnost skelného přechodu. Při obsahu mezi 0,27 a 0,28 g vody na gram sušiny byla detekována přítomnost velice malého podílu zmrzlé vody a zároveň přítomnost skelného přechodu. Při dalším poklesu obsahu vody již nebyla detekována žádná zmrzlá voda, ale naopak byl vždy prokázán skelný stav ve vzorcích pylu. Tato práce prokázala, že pro bezpečné skladování pylu pomocí metody kryoprezervace musí být obsah vody nižší než 0,27 g vody na g sušiny (22 % vody v čerstvé hmotě). Snížení obsahu vody vedlo zároveň ke zvýšení teploty skelného přechodu, což má poměrně velký praktický dopad pro využití metody kryoprezervace pylu z důvodu dosažení vyšší bezpečné skladovací teploty pylu.

Dedikace

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

Použitá literatura

Stacy D. Hammond, Miloš Faltus and Jiří Zámečník (October 24th 2019). Methods of Thermal Analysis as a Tool to Develop Cryopreservation Protocols of Vegetatively Propagated Crops, Cryopreservation - Current Advances and Evaluations, Marian Quain, IntechOpen, DOI: 10.5772/intechopen.89723.

Kontaktní adresa:

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

ODLIŠOVÁNÍ ODRŮD MÁKU SETÉHO (*PAPAVER SOMNIFERUM* L.) S VYUŽITÍM METODY IRAP

Distinguishing poppy (*Papaver somniferum* L.) varieties using the IRAP method

Horáček J.1, Ludvíková M. 1, Rychlá A.2

¹Agritec Plant Research, s.r.o., Šumperk

²OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Opava

Abstrakt

Cílem práce bylo hodnocení genetické diverzity části genových zdrojů máku setého (*Papaver somniferum* L.) s využitím metody IRAP. Vzorky listů byly odebrány na poli, po izolaci genomové DNA byla provedena molekulární PCR analýza metodou IRAP. Kombinací vybraných primerů IRAP se podařilo odlišit všech 48 testovaných odrůd máku.

Klíčová slova: *Papaver somniferum* L., diverzita, molekulární markery, IRAP

Abstract

The aim of the work was to evaluate the genetic diversity of part of the genetic resources of poppy (*Papaver somniferum* L.) using the IRAP method. Leaf samples were taken directly in the field, and molecular PCR analysis was performed after genomic DNA isolation. The combination of selected IRAP primers succeeded in distinguishing all 48 tested poppy varieties.

Key words: *Papaver somniferum* L., diversity, molecular markers, IRAP

Úvod

Mák setý je po řepce naší nejdůležitější olejinou. Česká republika je největším producentem a určujícím nositelem evropských i světových cen semen máku. Pro efektivní výběr vhodných genotypů jako výchozích genetických zdrojů při šlechtění máku je účelné zavést postupy molekulární genetiky. V naší práci jsme vycházeli z obsáhlé kolekce genetických zdrojů (GZ) máku z Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity. Ta zahrnuje jak materiály historické, tak moderní. Dostatečná diverzita je dána původem vzorků (domácí, evropské a zahraniční), odlišností v kvalitativním složení nebo výrazně rozdílnou morfologií GZ. Předností je jistě množství shromážděných popisných dat, obsahujících jak údaje o biologických vlastnostech, tak porovnání kvalitativních parametrů, případně reakce materiálů na různé druhy stresu. Jistým nedostatkem je nehomogennost nejstarších vzorků, která vychází historicky z technických možností šlechtitelů a kurátorů kolekce. S tímto faktem je třeba počítat a v naší práci jsme jej zohlednili. V případě genomicky málo prostudovaných organismů s minimem dostupných sekvencí, jako je právě i mák setý, je dosud možno využít jen univerzálních, sekvencně nespecifických technologií. Pro hodnocení genetické diverzity máku jsme se zaměřili na vývoj a využití metody IRAP (Inter-Retroelement Amplified Polymorphism). Ta funguje v případě vysoce abundantních elementů, kdy je oblast mezi dvěma elementy možno amplifikovat pomocí PCR a detekovat ve formě DNA fragmentů (Kalendar *et al.*, 2010). Metoda IRAP byla již v minulosti využita pro studium biodiverzity a fylogeneze u rodů *Brassica* (Tatout *et al.*, 1999), *Oryza* (Iwamoto *et al.*, 1999, Branco *et al.*, 2007), *Spartina* (Baumel *et al.*, 2002) či *Pisum* (Smýkal, 2006). Pomocí metody IRAP byla také úspěšně zmapována genetická diverzita lnu setého (*Linum usitatissimum* L.) (Smýkal *et al.*, 2011).

Materiál a Metody

Vývoj metody IRAP.

Pro vývoj metody bylo použito 16 geograficky a pasportně vzdálených odrůd máku. Listy mladých rostlin byly homogenizovány v kapalném dusíku a pomocí komerční soupravy (INVITEK) z nich byla izolována genomová DNA. Pomocí sady 82 univerzálních primerů (Kalendar *et al.*, 1999), nasedajících na konzervativní oblasti retrotranspozonových elementů, byl na tomto souboru sledován polymorfismus amplifikovaných fragmentů DNA. Fragmenty s největším stupněm polymorfismu byly pomocí CloneJet kitu (Fermentas, Litva) naklonovány do bakterií *E. coli* kmene JM107 (Fermentas, Litva). Jednotlivé bakteriální kolonie byly testovány metodou PCR. Vybrané kolonie obsahující různé dlouhé klonované inzerty byly přeočkovány do tekutého LB média a po jejich namnožení byla plazmidová DNA izolována a sekvenována. Bylo získáno celkem 66 sekvencí, ve kterých byly následně vyhledávány oblasti LTR (Long Terminal Repeats). Na základě získaných sekvencí bylo nově navrženo 45 IRAP primerů, ohraničujících LTR oblasti retrotransposonů máku. Pomocí těchto nově navržených primerových sekvencí byl celý soubor 16 vybraných odrůd máku znovu analyzován. Primery byly testovány jednotlivě i v kombinacích. IRAP primery s nejvyšším stupněm polymorfismu byly dále využity při hodnocení genetické diverzity celé kolekce máku. Metoda byla publikována formou recenzovaného článku (Pavelková *et al.* 2012) a dále formou certifikované metodiky (Horáček, Pavelková 2014).

Odlišování odrůd máku metodou IRAP

Cílem naší práce byla molekulární charakterizace a hodnocení genetické diverzity genových zdrojů máku. Na poli byly odebrány vzorky listů 48 genotypů máku. Pro izolaci kvalitní genomové DNA máku byly využity čerstvé, nepoškozené a zdravé listy máku. Při sběru byly vytvářeny směsné (průměrné) vzorky, vzorek jedné položky byl tvořen z listů 10 různých rostlin, kdy z každé rostliny byl odebrán jeden mladý zdravý list. Vzorky po sběru byly uloženy do chladicího boxu a po převozu do laboratoře byly zamraženy při – 80°C.

Genomová DNA pro molekulární analýzy byla izolována pomocí komerční soupravy ISOLATE II Plant DNA Kit (Bioline). Pro jednu izolaci bylo z každého listu jednoho genotypu odebráno 10 mg, celková navážka činila 100 mg. Vzorky byly homogenizovány mechanicky v mikrozkuřkách pomocí jednorázového plastového homogenizátoru. Izolovaná DNA byla uchovávána při – 20°C.

PCR probíhala v termocykleru BIO-RAD C1000. Pro přípravu reakční směsi byla použita polymeráza Dream Taq DNA Polymerase 5U/μl (Thermo Scientific), reakční pufr 10x Dream Taq Green Buffer (Thermo Scientific) a směs nukleotidů sNTPs (Thermo Scientific). Primery byly připraveny na zakázku (Generi Biotech). Rozpis pro přípravu reakční směsi je uveden v tabulce č. 1. Teplotní program PCR je uveden v tabulce č. 2. Po ukončení PCR následovalo elektroforetické dělení fragmentů na 1,5 % agarozovém gelu v TBE pufru. Barvení bylo provedeno pomocí ethidiumbromidu.

Tabulka 1: Příprava reakční směsi (master-mixu)

Chemikálie	1 reakce	10 reakcí	18 reakcí	36 reakcí
sterilní H ₂ O	9,6 µl	96 µl	173 µl	346 µl
10xPCR pufr	1,5 µl	15 µl	27 µl	54 µl
směs dNTPs (10 mM)	0,3 µl	3 µl	5,4 µl	10,8 µl
primer 1 (5 mM)	0,15 µl	1,5 µl	2,7 µl	5,4 µl
primer 2 (5mM)	0,15 µl	1,5 µl	2,7 µl	5,4 µl
DNA polymeráza (5 U/µl)	0,1 µl	1 µl	1,5 µl	3 µl

Tabulka 2: Teplotní program PCR-IRAP

Krok	Počet cyklů	Teplota	Čas
Denaturace DNA	1x	95 °C	5 min
Denaturace DNA	35x	95 °C	35 s
Nasednutí primerů		50 °C	45 s
Elongace DNA		72 °C	180 s
Elongace DNA	1x	72 °C	5 min

Pro vlastní molekulární analýzy IRAP bylo použito 10 kombinací primerů. Sekvence primerů jsou uvedeny v tabulce č. 3. Genomová DNA každé položky máku byla postupně analyzována všemi deseti kombinacemi IRAP primerů. Byla provedena binarizace dat z analýz IRAP (odečítání přítomnosti proužků v elektroforeogramech. Hodnota 1 je přiřazována, pokud je proužek přítomen, hodnota 0 v případě absence). Seznam vyhodnocovaných proužků je uveden v tabulce č. 4. Binarizovaná data byla zpracována pomocí software SplitsTree.

Tabulka 3: Sekvence primerů IRAP pro PCR

Primer	Sekvence
IRAP 3	CCG TCA AAA TCC GAG TTT GTA CG
IRAP 5	GAT TCA GCG TCG TAG ACG CAC C
IRAP 9	ATA GAA GCC AGG TCA ACC CGC AC
IRAP 16	GTA GCC ACC GTC GGC CAA CTT CC
IRAP 18	GGA TGC ATT TTG GGG AAA GCT A
IRAP 19	AGC TGA AAG TCC TGA TTT CCC CT
IRAP 21	CCT GTA AAG AGC ACA AAG ACG T
IRAP a5-2	CCA ACC ACT GCC GAA TAT CG
IRAP a5-5	CGC AGT GGC TAA GTG GGG AC
IRAP a14-4	ATG AGT GGA GCG ACC CTT CCA
IRAP d10-2	TGG TTT GTG ATA CAG ACT CAC CT

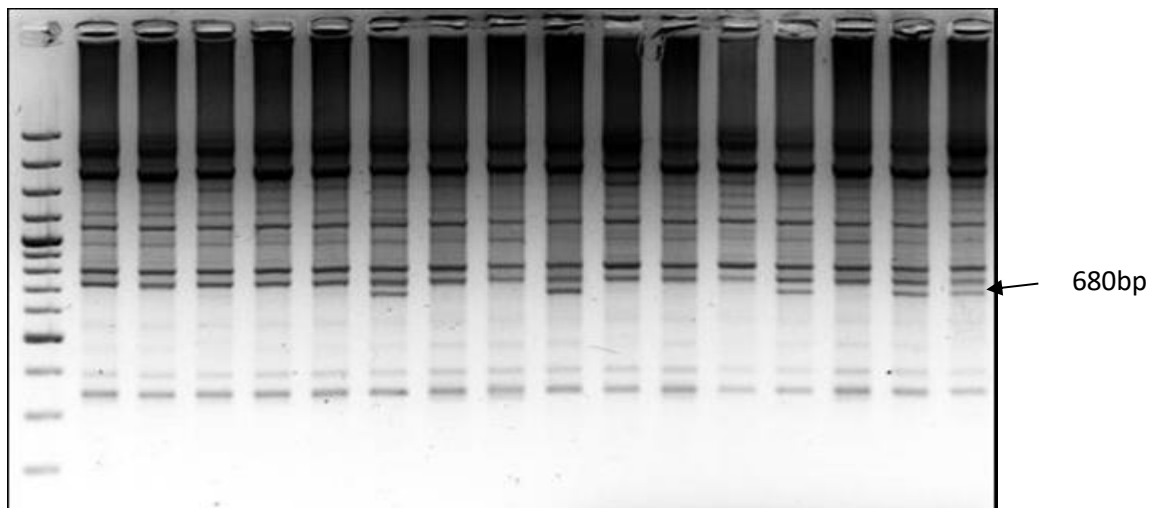
Tabulka 4: Vyhodnocované fragmenty analýzy IRAP

Primer	Velikosti fragmentů
IRAP 3	680bp
IRAP a5-2	550bp
IRAP a5-5	1170bp
IRAP a14-4	600bp
IRAP d10-2	1250bp
IRAP 18	550bp, 700bp, 1150bp
IRAP 3 + IRAP 9	1080bp
IRAP 5 + IRAP 9	1020bp, 1130bp
IRAP 16 + IRAP21	650bp
IRAP 19 + IRAP 21	800bp, 1060bp

Výsledky a diskuze

Seznam testovaných odrůd máku setého je uveden v tabulce č. 4. Na základě analýzy binarizovaných dat byl vytvořen dendrogram genetických vzdáleností testovaných odrůd. Všechny položky z vybraného souboru odrůd máku setého se podařilo jednoznačně odlišit. Zajímavostí je seskupení vysokomorfinových odrůd (č. 15, 20, 32 a 42) – viz obrázek č. 2.

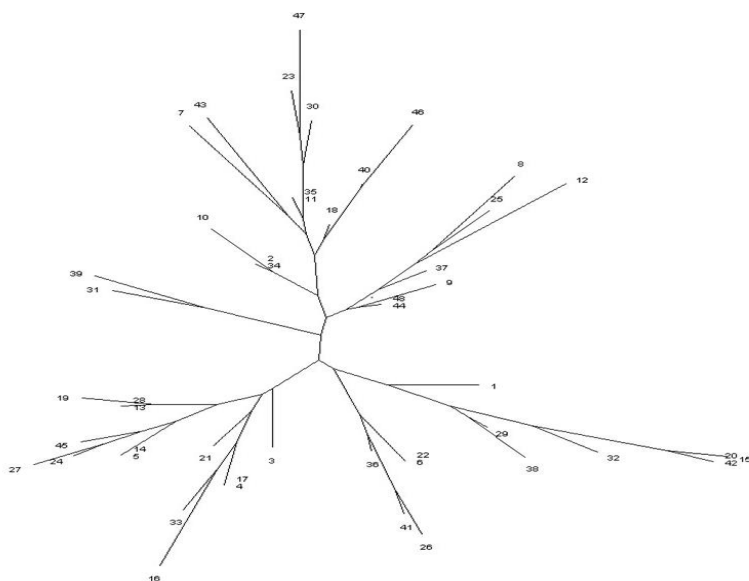
Obrázek 1: Příklad elektroforetického gelu analýzy markeru IRAP 3. Vyhodnocován byl proužek o velikosti 680 bp.



Tabulka 4: Seznam testovaných odrůd máku setého

Číslo	Název	Číslo	Název
1	Opal	25	Lazur Ihar
2	Úvalno 483/1	26	Prejmer bílý
3	Extaz	27	Strube
4	Florian	28	Hunbal 09/06
5	Orel	29	Viktor 502
6	Skorý sivý	30	Major
7	Zehnálkův strakatý	31	Akvarel
8	Hunzal 10/59	32	Botond
9	Boehmův bělosemenný	33	Hen and Chickens
10	Pap.somn.var albiflora	34	Ametiszt
11	Bílý vanilkový	35	Gerlach
12	Lazur	36	Červený Šitbořice
13	Hunpan 09/36	37	Morfeus
14	Rusky obri	38	Modrý Valašsko
15	Postomi	39	Orbis
16	Rubin	40	Orfeus
17	Cluj A	41	Yonne
18	Maraton	42	Buddha
19	Solivarsky	43	Bergam
20	Tebona	44	P360
21	Racek	45	Stakonický červený
22	Redy	46	Soma
23	Ruzbarsky	47	Sarissky
24	Malsar	48	Pap.somn z Laosu

Obrázek 2: Dendrogram genetických vzdáleností odrůd máku setého



Závěr

Metoda IRAP je dobře využitelná pro hodnocení genetické diverzity genomicky málo prostudovaných organismů s minimem dostupných sekvencí, jako je mák setý. Kombinací 10 primerů IRAP se podařilo odlišit všech 48 testovaných odrůd máku setého.

Použitá literatura

- Baumel, A., Ainouche, M., Kalendar, R., Schulman, A.H., (2002). Inter-retrotransposon amplified polymorphism (IRAP), and retrotransposon-microsatellite amplified polymorphism (REMAP) in populations of the young allopolyploid species *Spartina angelica* Hubbard (*Poaceae*). *Mol Biol Evol* 19: 1218–1227.
- Branco, C.J., Vieira, E.A., Malone, G., Kopp, M.M., Malone, E., Bernardes, A., Mistura, C.C., Carvalho, F.I., Oliveira, C.A., (2007). IRAP and REMAP assessments of genetic similarity in rice. *J Appl Genet* 48: 107–113.
- Horáček J., Pavelková M. (2014): Metodika využití molekulárních markerů IRAP pro popis genových zdrojů máku setého (*Papaver somniferum* L.). Uplatněná certifikovaná metodika (UKZUZ 054949/2014)
- Iwamoto, M., Nagashima, H., Nagamine, T., Higo, T., Higo, K., (1999). p-SINE-like intron of the Cat A catalase homologs and phylogenetic relationships among *Aegilops*, *Oryza* and related species. *Theor Appl Genet* 98: 853–861.
- Kalendar R., Antonius K., Smýkal P., Schulman A. (2010): iPBS: a universal method for DNA fingerprinting and retrotransposon isolation, *Theor Appl Genetics*, 121:1419-30
- Kalendar, R., Grob, T., Regina, M., Suoniemi, A., Schulman, A., (1999). IRAP and REMAP: two new retrotransposon-based DNA fingerprinting techniques. *Theoretical and Applied Genetics* 98: 704–711.
- Pavelková M., Horáček J., Smýkal P., Kalendar R.: Vývoj a optimalizace metody iPBS / IRAP pro hodnocení genetické diverzity máku. *Úroda* 9, 2012, vědecká příloha, s. 247-251. ISSN: 0139-6013

- Smýkal, P., (2006). Development of an efficient retrotransposon-based fingerprinting method for rapid pea variety identification. J Appl Genet 47: 221–230.
- Smýkal, P., Bačová-Kerteszová, N., Kalendar, R., Corander, J., Schulman, A.H., Pavelek, M., (2011). Genetic diversity of cultivated flax (*Linum usitatissimum* L.) germplasm assessed by retrotransposon-based markers. Theor Appl Genetics 122: 1385–1397.
- Tatout, C., Warwick, S., Lenoir, A., Deragon, J.M., (1999). SINE insertions as clade markers for wild crucifer species. Mol Biol Evol 16: 1614–1621.

Dedikace

Práce vznikla za finanční podpory MZe ČR, číslo projektu QK1810391.

Kontaktní adresa:

Mgr. Jiří Horáček, Ph.D.
Agritec Plant Research, s.r.o.
Zemědělská 2520/16
78701 Šumperk
Email: horacek@agritec.cz

HODNOCENÍ GENETICKÉ DIVERZITY GENETICKÝCH ZDROJŮ HOŘČICE POMOCÍ MIKROSATELITOVÝCH MARKERŮ

Evaluation of genetic diversity of mustard gene resources using microsatellite markers

Jozová E., Čurn V.

Zemědělská fakulta JČU v Českých Budějovicích

Abstrakt

Hořčice patří mezi významné olejninu pěstované v České republice. Vyhledávaná je nejen kvůli pěstování pro potravinářské využití, ale také jako důležitá meziplodina pro zelené hnojení. Velkým problémem intenzivního šlechtění je u všech šlechtěných plodin snižování genetické diverzity. Nové odrůdy jsou šlechtěny pouze na konkrétní vlastnosti, dochází k zužování genetické diverzity, problematickému odlišování genotypů pouze na základě morfologických dat a i ke ztrátě mnohých cenných genotypů. Molekulární markery mohou pomoci odlišit i fenotypově podobné odrůdy a vybrat tak vhodné rodiče ke křížení či velmi odlišné odrůdy se zajímavými znaky. Jedním z velmi často používaných markerů pro účely hodnocení genetické diverzity u rostliny jsou mikrosatelity. Tato metoda má rozlišovací schopnost nejen na úrovni druhů, ale také na úrovni jednotlivých odrůd. Cílem této studie bylo zhodnotit míru genetické diverzity u 90 vybraných odrůd druhů *Sinapis alba*, *Brassica nigra* a *Brassica juncea* pomocí 12 mikrosatelitových markerů a rozlišit nejen jednotlivé druhy, ale zejména šlechtitelský materiál a odrůdy hořčic dostupné pro pěstování v České republice.

Klíčová slova: *Brassicaceae*, molekulární markery, SSR, šlechtění

Abstract

Mustard is one of the important oilseeds grown in the Czech Republic. It is cultivated not only for growing for food use, but also as an important intermediate crop for green manure. A major problem in intensive breeding is the reduction of genetic diversity in all bred crops. New varieties are selected only for specific characteristics and thus the problematic differentiation genotypes only on the basis of morphological traits can occur as well as the loss of a valuable gene pool. Molecular markers can help to distinguish phenotypically similar varieties and thus select suitable parents for crossing or genetically distant varieties manifesting interesting traits. Microsatellites are one of the most frequently used markers for the purpose of assessing genetic diversity in plants. This method has a distinguishing ability not only at the level of species but also at the level of individual varieties. The aim of this study was to evaluate the degree of genetic diversity in 90 selected varieties of *Sinapis alba*, *Brassica nigra* and *Brassica juncea* using 12 microsatellite markers and to distinguish not only individual species, but especially mustard varieties available for cultivation in the Czech Republic.

Key words: *Brassicaceae*, molecular markers, SSR, breeding

Úvod

Hořčice je druhou nejvýznamnější brukvovitou olejninou pěstovanou v České republice. Společně s řepkou, slunečnicí a mákem patří k nosným olejninám českého zemědělství. Nejčastěji pěstovanou hořčicí je v našich podmínkách hořčice bílá (*Sinapis alba* L.), která patří mezi tradiční české olejninu. Je šlechtěna zejména k produkci semene využívaného pro potravinářské využití na výrobu hořčic nebo jako koření při konzervaci zelenin (Baranyk, 2010). Dále je hořčice využívána jako meziplodina pro zelené hnojení a na píci, pro zakládání vymrzajícího mulče pro výsev kukuřice nebo slunečnice a také pro zelené hnojení

s antinematodním účinkem proti háďátku řepnému (SDO, 2020). Osevní plochy mají v posledních letech spíše kolísající charakter. Za posledních 10 let byla největší osevní plocha v roce 2009 s rozlohou přes 40 tis. ha, nejnižší hodnota byla zaznamenána v roce 2017 s rozlohou cca 10 tis. ha. V menší míře se v České republice ještě pěstuje hořčice černá (*Brassica nigra* L.) a hořčice sarepská (*Brassica juncea* L.).

Ačkoliv hořčice nedosahuje tak významného pokrytí osevních ploch jako ostatní olejnin, je třeba věnovat jejímu šlechtění pozornost i pro její široké využití v zemědělství a potravinářství. Pro úspěšné vyšlechtění nových odrůd je třeba křížit kvalitní rodiče. Proto je třeba znát jejich vlastnosti, nejen morfologické ale i z hlediska genetiky. Molekulární markery mohou být vhodným nástrojem, jak odhalit geneticky velmi podobné rodiče a zamezit tak zužování genetické diverzity. Jedním z nejpoužívanějších markerů, které dokáží detekovat vzdálenost či podobnost na úrovni genotypu jsou mikrosatelity (Havlíčková, 2014). Využití mikrosatelitů u hořčic je výhodné i kvůli dobré znalosti celého genomu a velkému množství známých specifických SSR primerů pro rod *Brassica* (Čurn et al., 2012), či použití cross-species mikrosatelitových primerů odvozených např. od druhu *Arabidopsis* (Bell a Ecker, 1994).

Cílem této studie bylo zjistit variabilitu v rámci širokého souboru odrůd a šlechtitelských materiálů všech třech druhů hořčic. Tento soubor reprezentuje materiály různého původu šlechtitelského i geografického, odlišného stáří a získané výsledky mohou napomoci šlechtitelům při výběru nejvzdálenějších genotypů jako vhodných rodičů ve šlechtitelských programech hořčic.

Materiál a metody

Pro hodnocení genetické diverzity bylo celkem vybráno 90 genotypů hořčic, z toho 38 položek náleželo druhu *S. alba*, 18 *B. nigra* a 34 *B. juncea*. Všechny analyzované druhy zahrnují jak odrůdy, tak i šlechtitelský materiál. Odrůdy pocházejí z několika zemí světa. Všechny jsou jarního typu a různých barev semene. Jsou zde obsaženy jak odrůdy starší, tak i nově registrované odrůdy. Materiál ve formě semen byl dopěstován v substrátu do velikosti děložních lístků vždy minimálně 36 semen od jedné položky. Děložní lístky byly odebrány a vysušeny šetrným způsobem v silicagelu. Vysušený materiál byl zhomogenizován pomocí skleněných kuliček a homogenizátoru. DNA byla extrahována modifikovanou metodou CTAB PVP (Doyle, 1991), které je sice časově náročnější, ale získaná DNA je velmi čistá a vysoce koncentrovaná.

Soubor genotypů byl analyzován pomocí mikrosatelitových markerů. Celkem bylo použito 12 mikrosatelitových markerů. V každé reakci byly použity vždy tři primery, jeden univerzální značený primer (Ba08 6-FAM), forward primer prodloužený o sekvenci značeného primeru a reverse primer. PCR reakce probíhala v objemu 10 µl, v 1x reakčním pufru (75 mM Tris-HCl, pH=8,8, 20 mM (NH₄)₂SO₄, 0,01% Tween 20, 2,5 mM MgCl₂, 200 µM dNTPs), 10 pmol každého primeru (tabulka 1), 0,5 U Taq Purple DNA polymerázy (PPP Master Mix, Top-Bio, CZ), 2x BSA a 50 ng templátové DNA. Amplifikace proběhla na termocycleru Biometra TProfessional při následujícím teplotním profilu: počáteční denaturace 5 min při 94°C, 31 cyklů v profilu 1 min 95°C, 1 min 52-59°C (dle použitého primeru), 1 min 72°C a konečná elongace 5 min 72°C.

Výsledky mikrosatelitové analýzy byly vyhodnocovány pomocí fragmentační analýzy na genetickém analyzátoru ABI 3500 (Applied Biosystems).

Výsledky a diskuze

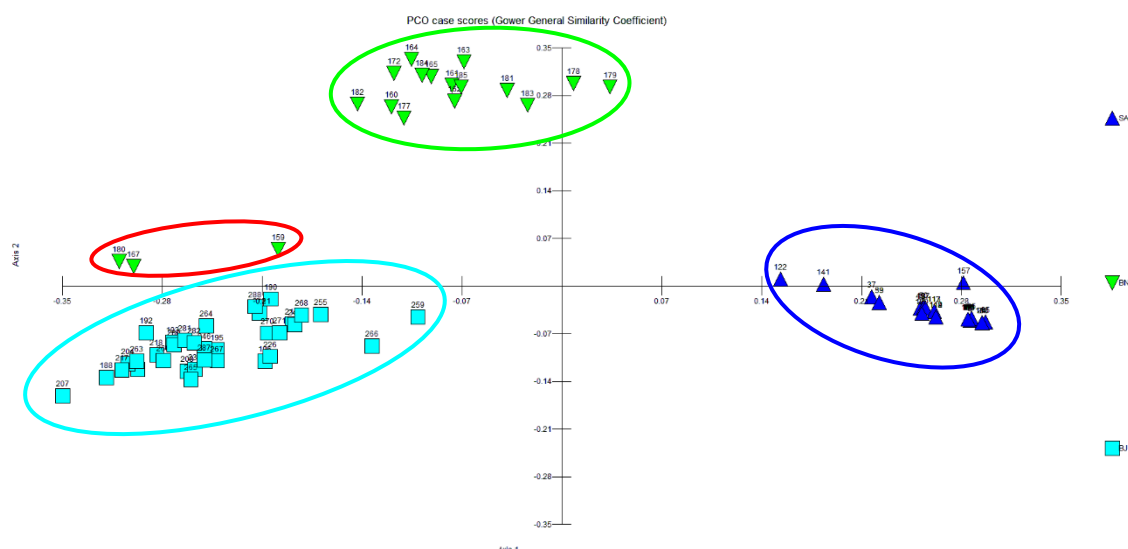
Výsledky z PCR analýzy byly zobrazeny pomocí fragmentační analýzy, proto bylo potřeba použít značený primer. Pro minimalizaci nákladů byl používán systém s jedním univerzálním značeným primerem a modifikovaným forward primerem (Rehner and Buckley, 2003) Celkem

bylo pomocí sledovaných 12 mikrosatelitových markerů amplifikováno 98 alel. Počty alel se u jednotlivých markerů velmi lišily, pohybovaly se od 1 do 16. Všechny markery dokázaly rozlišit vzorky na úrovni druhové a celkem 11 z 12 použitých markerů dokázalo vzorky rozlišit i na úrovni odrůdové. U všech použitých markerů však ne vždy došlo k amplifikaci alel v rámci druhů. Nejméně markerů bylo získáno u druhu *Sinapis alba*, což by se dalo i očekávat, jelikož použité primery byly navrženy pro rod *Brassica*. Nízký počet amplifikovaných alel znamená ovšem i nižší množství dat. Větší množství dat by se dalo získat použitím např. AFLP nebo ISSR markerů, které nejsou oproti mikrosatelitům vázány na znalost genomu, ale jejich použití je více univerzální. Tyto markery již byly využívány v předchozích studiích (Havlíčková, 2014) a prokázaly se jako vhodné nástroje při hodnocení genetické diverzity. Výsledky amplifikace pro jednotlivé primery jsou uvedeny v Tabulce 1.

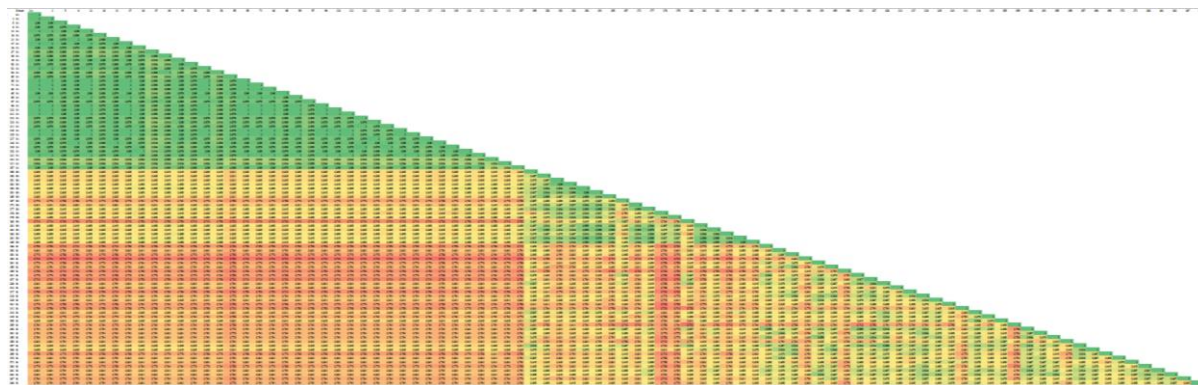
Tab. 1: Výsledky amplifikace pro všechny použité mikrosatelitové primery

Primer	T _A	Amplifikace			Polymorfismus		počet alel	velikost (bp)
		BJ	BN	SA	druhový	odrůdový		
BoREM1b	59°C	A	N	A	A	A	7	173-190
BoIAB19TF	59°C	A	A	N	A	A	6	313-318
BoPC34	59°C	A	A	A	A	A	4	143-151
P381	52°C	A	N	N	A	N	1	229
D3	52°C	A	A	A	A	A	13	158-198
D11	52°C	A	N	N	A	A	16	168-336
D12	52°C	A	N	N	A	A	12	338-374
P17	52°C	A	A	N	A	A	5	100-150
P7	52°C	A	A	N	A	A	4	146-162
P9	52°C	A	A	A	A	A	9	125-151
P30	56°C	A	A	N	A	A	6	166-174
P35	52°C	A	N	N	A	A	16	145-199
celkem							98	

Na základě výsledků z fragmentační analýzy byla sestavena binární matice, kde nepřítomnost produktu byla označena jako “0” a přítomnost fragmentu jako “1”. Takto sestavená matice byla převedena do programu MVSP, kde byla data vyhodnocena pomocí PCO analýzy (Obrázek 1) a byla sestavena matice genetické podobnosti (Obrázek 2).

Obr. 4: Vyhodnocení binární matice pomocí PCO analýzy

Na základě výsledků z PCO analýzy lze jednoznačně vidět rozdělení analyzovaných vzorků do tří velkých skupin, které zařazením přesně odpovídají jednotlivým druhům. Nejvíce dochází ke shlukování u druhu *Sinapis alba* (tmavě modrá), to znamená, že variabilita u tohoto druhu není tak vysoká. Nemusí to být ovšem způsobené nízkou variabilitou odrůd, ale pravděpodobně nedostatečným množstvím amplifikovaných fragmentů a tedy nižší vypovídací schopností. U druhů *Brassica juncea* (světle modrá) a *Brassica nigra* (zelená) již dochází k rozlišení jednotlivých odrůd. Čeho si lze v grafu povšimnout jsou tři odrůdy zařazené mezi druhy *B. nigra*, které se ovšem více přibližují druhu *B. juncea*. Podle informací šlechtitelů mohou být právě tyto odrůdy problematické, jelikož na poli se projevují jako směs právě těchto dvou druhů. Jelikož se analýzy provádí ze směsného vzorku několika semen od každé odrůdy, mohou se při analýze amplifikovat alely pro oba druhy. Pokud bychom chtěli dosáhnout čistoty těchto odrůd, bylo by vhodné analyzovat pomocí těchto markerů každé semeno zvlášť a do dalšího šlechtění použít pouze požadované vzorky.

Obr. 5: Znázornění matice podobnosti analyzovaných odrůd

Stejně jako u PCO analýzy je rozdělení do tří skupin zřetelné i u matice podobnosti. Zde dochází k barevnému rozlišení shody mezi odrůdami, kdy zelená jsou si velmi příbuzné odrůdy a červená jsou naopak vzorky vzdálené. Horní část, tedy odrůdy velmi podobné patří všechny mezi druh *S. alba*, střední část (převážně žlutá) jsou vzorky druhu *B. nigra*, mezi nimiž jsou i červené řádky, která označují právě ty odrůdy, které se vyskytují mezi oběma druhy rodu

Brassica. Třetí část matice podobnosti (převážně červené řádky) obsahuje pouze odrůdy druhu *B.juncea*, tzn. tyto odrůdy jsou mezi sebou geneticky nejvíce odlišné.

Následující matice podobnosti (Obrázek 3-5) jsou detailnější výsledky pro jednotlivé druhy hořčic.

Obr. 6: Matice podobnosti pouze pro *Sinapis alba*

1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156	157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196	197	198	199	200
1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	5																																																																																																																																																			

Matice podobnosti pro *Sinapis alba* zahrnuje celkem 38 položek. Minimální shoda mezi položkami byla 91,8%, a maximální 100%. V tomto případě nedošlo k vzájemnému odlišení všech hodnocených vzorků. Tato vysoká podobnost je pravděpodobně způsobena nízkým počtem amplifikovaných alel. I přesto jsou v matici výraznější dvě položky, které nevykazují tak vysokou shodu vůči ostatním odrůdám. Jedná se o odrůdy č.122 (47-635-YE 13) a č.141 (Octopus). Tyto dvě odrůdy mají na rozdíl od ostatních odrůd druhu *Sinapis alba* černou barvu semen, proto mohou být některé alely vázány právě s tímto znakem.

Obrázek 7 Matice podobnosti pouze pro *Brassica nigra*

	159	160	161	162	163	164	165	167	172	177	178	179	180	181	182	183	184	185
159 BN	1																	
160 BN	0,897	1																
161 BN	0,876	0,897	1															
162 BN	0,887	0,907	0,99	1														
163 BN	0,897	0,938	0,938	0,948	1													
164 BN	0,907	0,948	0,948	0,959	0,99	1												
165 BN	0,897	0,959	0,897	0,907	0,959	0,948	1											
167 BN	0,897	0,856	0,856	0,866	0,876	0,887	0,856	1										
172 BN	0,876	0,918	0,897	0,907	0,938	0,948	0,918	0,835	1									
177 BN	0,918	0,938	0,938	0,948	0,959	0,969	0,938	0,876	0,959	1								
178 BN	0,814	0,876	0,918	0,907	0,918	0,907	0,876	0,794	0,856	0,876	1							
179 BN	0,856	0,876	0,918	0,928	0,938	0,928	0,897	0,814	0,876	0,897	0,918	1						
180 BN	0,887	0,825	0,825	0,835	0,845	0,856	0,845	0,907	0,804	0,845	0,784	0,784	1					
181 BN	0,897	0,918	0,897	0,907	0,959	0,948	0,938	0,835	0,918	0,938	0,897	0,918	0,825	1				
182 BN	0,897	0,959	0,918	0,928	0,959	0,969	0,959	0,876	0,959	0,979	0,876	0,897	0,845	0,938	1			
183 BN	0,876	0,897	0,876	0,887	0,918	0,928	0,897	0,814	0,918	0,938	0,897	0,918	0,804	0,938	0,938	1		
184 BN	0,907	0,948	0,928	0,938	0,969	0,979	0,948	0,866	0,948	0,969	0,907	0,907	0,856	0,969	0,969	0,948	1	
185 BN	0,918	0,938	0,918	0,928	0,959	0,969	0,938	0,856	0,938	0,959	0,897	0,918	0,845	0,979	0,959	0,959	0,99	1

Na obrázku č. 4 je výpočet matice podobnosti pro druh *Brassica nigra*. Tato matice obsahuje celkem 18 položek tohoto druhu. Minimální hodnota podobnosti je 78%, maximální pak 99%. Tzn., že pomocí mikrosatelitových markerů došlo k vzájemnému rozlišení všech analyzovaných vzorků. Nejvýraznější v této matici jsou tři položky, č. 159 (Alsaska), č.167 (BRSCHW 22537) a č. 180 (RCAT 040347). Jsou to právě ty vzorky, které se ve výsledcích PCO analýzy nacházejí mezi druhy *Brassica nigra* a *Brassica juncea*.

Obr. 8: Matice podobnosti pouze pro *Brassica juncea*

	188	190	192	193	194	195	196	204	207	208	212	217	218	226	234	241	243	246	255	259	263	264	265	266	267	268	269	270	271	280	281	282	287	288
188 R _i	1																																	
190 R _i	0.828	1																																
192 R _i	0.854	0.887	1																															
193 R _i	0.864	0.779	0.864	1																														
194 R _i	0.897	0.825	0.876	0.845	1																													
195 R _i	0.854	0.887	0.919	0.794	0.876	1																												
196 R _i	0.854	0.784	0.814	0.845	0.814	0.794	1																											
204 R _i	0.919	0.845	0.876	0.864	0.897	0.876	0.794	1																										
207 R _i	0.887	0.835	0.907	0.834	0.928	0.887	0.804	0.907	1																									
208 R _i	0.907	0.876	0.887	0.855	0.907	0.887	0.845	0.928	0.938	1																								
212 R _i	0.864	0.854	0.845	0.779	0.825	0.845	0.794	0.864	0.824	0.876	1																							
217 R _i	0.854	0.864	0.897	0.864	0.854	0.876	0.794	0.876	0.907	0.864	0.825	1																						
218 R _i	0.876	0.887	0.918	0.825	0.918	0.918	0.794	0.897	0.928	0.887	0.864	0.918	1																					
226 R _i	0.895	0.845	0.854	0.845	0.818	0.876	0.887	0.876	0.887	0.887	0.845	0.854	0.854	0.918	1																			
234 R _i	0.864	0.825	0.854	0.784	0.876	0.855	0.814	0.876	0.864	0.864	0.845	0.854	0.854	0.876	0.876	1																		
241 R _i	0.825	0.814	0.784	0.779	0.804	0.784	0.784	0.804	0.794	0.794	0.794	0.804	0.825	0.825	0.825	1																		
243 R _i	0.864	0.854	0.887	0.825	0.907	0.854	0.845	0.907	0.876	0.918	0.876	0.845	0.887	0.887	0.854	0.854	1																	
246 R _i	0.864	0.854	0.845	0.815	0.845	0.845	0.825	0.864	0.854	0.918	0.876	0.864	0.864	0.887	0.845	0.794	0.876	1																
255 R _i	0.825	0.854	0.845	0.814	0.864	0.845	0.825	0.845	0.833	0.897	0.876	0.845	0.864	0.887	0.845	0.835	0.918	0.876	1															
259 R _i	0.784	0.794	0.784	0.794	0.784	0.784	0.845	0.784	0.794	0.794	0.779	0.784	0.784	0.845	0.784	0.815	0.835	0.784	0.854	1														
263 R _i	0.919	0.864	0.897	0.825	0.918	0.897	0.814	0.918	0.928	0.948	0.887	0.897	0.918	0.876	0.876	0.854	0.907	0.907	0.864	0.784	1													
264 R _i	0.854	0.825	0.876	0.794	0.876	0.876	0.779	0.876	0.887	0.864	0.845	0.876	0.918	0.876	0.854	0.845	0.864	0.845	0.845	0.784	0.887	1												
265 R _i	0.918	0.845	0.854	0.825	0.918	0.854	0.814	0.918	0.928	0.928	0.825	0.854	0.897	0.918	0.876	0.845	0.907	0.907	0.864	0.784	0.887	0.854	1											
266 R _i	0.864	0.784	0.784	0.779	0.825	0.845	0.784	0.804	0.794	0.835	0.814	0.825	0.825	0.864	0.825	0.835	0.876	0.835	0.897	0.814	0.825	0.804	0.845	1										
267 R _i	0.907	0.887	0.928	0.824	0.887	0.907	0.864	0.928	0.918	0.918	0.897	0.907	0.907	0.887	0.887	0.794	0.918	0.918	0.887	0.784	0.948	0.887	0.907	0.835	1									
268 R _i	0.864	0.825	0.918	0.864	0.864	0.918	0.814	0.876	0.864	0.907	0.887	0.876	0.918	0.876	0.864	0.864	0.887	0.887	0.887	0.804	0.897	0.897	0.854	0.845	0.918	1								
269 R _i	0.845	0.876	0.928	0.794	0.864	0.887	0.804	0.864	0.887	0.876	0.854	0.907	0.845	0.845	0.779	0.876	0.835	0.835	0.784	0.887	0.864	0.845	0.779	0.918	0.887	0.854	1							
270 R _i	0.845	0.918	0.864	0.794	0.845	0.864	0.815	0.864	0.825	0.897	0.854	0.825	0.864	0.845	0.845	0.794	0.876	0.854	0.854	0.784	0.887	0.907	0.845	0.784	0.918	0.887	0.854	1						
271 R _i	0.864	0.864	0.825	0.814	0.864	0.825	0.784	0.864	0.835	0.854	0.854	0.825	0.864	0.887	0.887	0.876	0.876	0.854	0.854	0.784	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	1						
280 R _i	0.876	0.864	0.876	0.784	0.876	0.897	0.779	0.876	0.845	0.864	0.845	0.864	0.864	0.887	0.887	0.845	0.864	0.845	0.845	0.784	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	1					
281 R _i	0.907	0.876	0.887	0.835	0.907	0.887	0.854	0.907	0.876	0.897	0.897	0.907	0.928	0.887	0.907	0.814	0.887	0.918	0.876	0.784	0.948	0.907	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	1				
282 R _i	0.887	0.864	0.864	0.825	0.948	0.887	0.825	0.887	0.887	0.887	0.854	0.864	0.928	0.825	0.887	0.825	0.918	0.876	0.887	0.784	0.907	0.907	0.948	0.876	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	0.887	1			
287 R _i	0.845	0.876	0.887	0.784	0.845	0.907	0.804	0.864	0.854	0.876	0.887	0.887	0.864	0.864	0.794	0.854	0.876	0.779	0.887	0.864	0.845	0.854	0.918	0.887	0.854	0.854	0.835	0.907	0.887	0.887	1			
288 R _i	0.835	0.864	0.854	0.804	0.876	0.897	0.779	0.835	0.845	0.864	0.864	0.835	0.876	0.854	0.876	0.825	0.887	0.845	0.864	0.845	0.854	0.876	0.854	0.864	0.864	0.864	0.864	0.864	0.864	0.864	0.864	0.864	1	

Poslední matice podobnosti byla vypočtena pro druh *B. juncea*. Celkem obsahuje porovnání pro 34 položek tohoto druhu. Maximální shoda podobnosti 96% a minimální 74%. Také u tohoto druhu došlo k rozlišením všech hodnocených vzorků. Nejzajímavější odrůdy tohoto hodnocení jsou č. 193 (Gai-cai-tai), č. 196 (Hei-ye-mi-tou-gai), č. 241 (Mike Giant), č. 259 (Varuna) a č. 266 (Pusa Bahar). Tyto odrůdy vykazují oproti ostatním položkám nižší procento podobnosti a může to být způsobeno jejich původem. Odrůdy č. 193 a 196 pocházejí z Číny, odrůda č. 241 pochází z Japonska a č. 259 a 266 jsou indické odrůdy.

Závěr

Do hodnocení genetické variability bylo celkem zahrnuto 90 genotypů tří druhů hořčic pěstovaných v České republice. Celkem bylo použito 12 mikrosatelitových primerů, na základě kterých bylo celkem amplifikováno 98 alel. Výsledky amplifikace byly zobrazeny pomocí fragmentační analýzy. Na základě PCO analýzy došlo jednoznačnému rozlišení jednotlivých genotypů jak na druhové, tak i odrůdové úrovni. Díky provedeným analýzám mikrosatelitových markerů byly odhaleny i odrůdy, které nejsou jednoznačně druhově zařazené, ve svém profilu nesou markery typické pro dva druhy a pravděpodobně se jedná o příměsi. Tyto položky budou detailně studované jak z pohledu molekulárních, tak i morfologických charakteristik. Pro druh *S. alba* budou ještě použity další molekulární markery tak, aby došlo ke zpřesnění hodnocení genetické diversity.

Opět se nám tedy potvrdilo, že mikrosatelitové markery jsou vhodným nástrojem nejen pro určování genetické vzdálenosti v rámci druhů a odrůd, ale mohou také sloužit při kontrole čistoty osiva a revizi položek zařazených např. v genových bankách.

Použitá literatura

- Baranyk, P. a kol., 2020. Seznam doporučených odrůd, Svaz pěstitelů a zpracovatelů olejnin, Praha. ISBN 978-80-7401-180-1
- Baranyk, P., 2010. Olejnin. Profi press. Praha, s. 206, ISBN 978-80-8672-638-0
- Bell, C. J., Ecker, J. R., 1994. Assignment of 30 microsatellite loci to the linkage map of *Arabidopsis*, Genomics, 19: 137-144
- Cui, X., Dong, Y., Hou, X., Cheng, Y., Zhang, J., Jin, M. 2008. Development and Characterization of Microsatellite Markers in *Brassica rapa* ssp. *chinensis* and Transferability Among Related Species. *Agricultural Sciences in China*, 7(1): 19-31
- Čurn, V., Havlíčková, L., Vondrášková, E., Kučera, V., Vyvadilová, M., Klíma, M., 2012. Metodika izolace DNA a analýzy molekulárních markerů pro účely popisu genetických

- zdrojů řepky (*Brassica napus* L.) a hodnocení jejich diverzity, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice.
- Doyle J. (1991) DNA Protocols for Plants. In: Hewitt G.M., Johnston A.W.B., Young J.P.W. (eds) Molecular Techniques in Taxonomy. NATO ASI Series (Series H: Cell Biology), vol 57. Springer, Berlin, Heidelberg
- Havlíčková, L., Jozová, E., Rychlá, A., Klíma, M., Kučera, V., Čurn, V., 2014. Genetic diversity assesment in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) collection using AFLP, ISSR and SSR markers, Czech Journal of Genetics and Plant Breeding, 50: (3): 216-225
- Louarn, S., Torp, A.M., Holme, I.B., Andersen, S.B, Jensen, B.D., 2007. Database derived microsatellite markers (SSRs) for cultivar differentiation in *Brassica oleracea*. Genetic Resources and Crop Evolution, 54: 1717-1725
- Rehner, S. A., Buckley, E. P., 2003. Isolation and characterization of microsatellite loci from the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). Molecular Ecology Notes. 3: 409-411

Dedikace

Tato studie byla vytvořena díky podpoře projektu NAZV QK1910225.

Další poděkování patří Ing. Andree Rychlé z OSAVA PRO s.r.o Opava, za poskytnutý materiál.

Kontaktní adresa:

Ing. Eva Jozová, Ph.D.
Studentská 1668, 370 05,
České Budějovice
vondre01@zf.jcu.cz, 387772937

VLIV POLYPLOIDIZACE NA OBSAH SILICE U TYMIÁNU (*THYMUS VULGARIS* 'VARICO 3')

Influence of polyploidization on essential oil content of thyme (*Thymus vulgaris* 'Varico 3')

Kaffková K.¹, Navrátilová B.², Cavar Zeljković S.¹, Smékalová K.¹, Pavela R.¹

¹Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

²Univerzita Palackého v Olomouci

Abstrakt

Polyploidizace tymiánu 'Varico 3' měla významnější vliv na obsah silice než na její složení. V případě klonu 15 měly tetraploidní subklony ve srovnání s diploidní kontrolou obsah silice nižší. V případě klonu 8 nebyl účinek tak jednoznačný, jeden tetraploidní subklon měl ve srovnání s diploidní kontrolou obsah silice vyšší, zatímco další čtyři subklony nižší. Při porovnání složení silice kontrolních a tetraploidních rostlin klonu 8 byl zjištěn statisticky významný rozdíl v obsahu thymolu, ale vliv sezóny byl signifikantnější než vliv ploidity. U diploidů a tetraploidů klonu 15 nebyl v obsahu thymolu zjištěn žádný statisticky významný rozdíl.

Klíčová slova: polyploidizace, tymián, obsah silice, thymol, p-cymen

Abstract

Polyploidization of thyme 'Varico 3' had more significant influence on content of essential oil (EO) than its composition. In case of clone 15, tetraploid subclones had lower EO content in compare with diploid control. In case of clone 8, effect was not that unambiguous, one subclone had higher EO content, but other four had lower content compared to diploid control. When comparing essential oil of diploid and tetraploid plants of clone 8, there was a statistically significant difference in thymol content, but the effect of season was higher than the effect of ploidity level. In case of clone 15, no statistically significant difference in thymol content was found between diploid and tetraploid plants.

Keywords: polyploidization, thyme, essential oil content, thymol, para cymene

Úvod

Mateřídouška (*Thymus*) je taxonomicky bohatý rod z čeledi Lamiaceae. Ekonomicky nejvýznamnějším zástupcem tohoto rodu je tymián obecný (*Thymus vulgaris*), který je známou léčivou a aromatickou rostlinou. Díky obsahu silice a flavonoidů má výrazné antioxidační a antimikrobiální účinky (Almanea a kol., 2019), kterých se využívá v medicíně (jak tradiční, tak moderní), farmaceutickém i potravinářském průmyslu (Nieto, 2017). Používá se jako ochucovací složka (Stahl-Biskup a Saez, 2002), jako antioxidant (Jorge a kol., 2015), i při výrobě kosmetiky (Damianova a kol., 2008). Celá silice i majoritní složka (thymol) se také používají ve veterinární medicíně, například na léčení kokcidiózy u holubů (Arafa a kol., 2020). Thymol příznivě účinkuje také na mastitidu (Anderson a Rings, 2008) a slibné se zdá jeho využití proti parazitickým houbám rodu *Nosema* i při léčbě včel (Costa a kol., 2012). Další oblastí, kde je možno tymiánovou silici nebo thymol využít, je ochrana rostlin. Jejich insekticidní účinky byly úspěšně testovány např. proti škůdci *Pochazia shantungensis*, který poškozuje mnoho ovocných dřevin (jabloně, broskve, borůvky) (Park a kol., 2017). Přírodní

rostlinné silice jsou cennou komoditou, a proto jsou pro pěstování žádány genotypy s jejich vysokým obsahem nebo určitým složením. I šlechtění siličnatých rostlin je zaměřeno na zlepšení jejich žádoucích vlastností, tedy buď zvýšení obsahu silice, nebo změnou jejího složení ve prospěch požadované látky. Jednou z možností, jak tohoto cíle dosáhnout, je polyploidizace, tzn. navýšení počtu chromozomů, které má za následek změny v enzymatické aktivitě a může vést ke zvýšení produkce metabolitů (Yemets a Blume, 2008). Polyploidie už byla úspěšně uměle indukována u mnoha ekonomicky důležitých plodin a polyploidní rostliny lze vnímat jako nový genotyp, který lze dále použít ve šlechtitelských programech (Manzoor a kol., 2019).

O častém použití polyploidizace svědčí mnoho studií zabývajících se jejím vlivem na různé druhy a jejich vlastnosti. Podle výsledků se dají tyto studie rozdělit do dvou skupin. První skupinu tvoří studie, v kterých polyploidizace pozitivně ovlivnila jak kvantitu, tak kvalitu silice. Např. Dijkstra a Speckmann (1980) prokázali, že polyploidizace v případě kmínu kořeného (*Carum carvi*) vedla ke zvýšení obsahu silice i jeho hlavní složky – karvonu. Talebi a kol. (2006) zaznamenali vyšší obsah silice i vyšší obsah methylchavikolu u tetraploidních rostlin agastache anýzové (*Agastache foeniculum*). Druhou skupinu tvoří případy, kdy se úspěšně podařilo ovlivnit jen jeden z těchto znaků. Yavari a kol. (2005) testovali polyploidizaci na včelníku moldavském (*Dracocephalum moldavicum*) a obsah silice se u tetraploidních rostlin zvýšil o 27,5%, zatímco její složení zůstalo podobné jako u diploidů. U řimbaby obecné (*Tanacetum parthenium*) měly tetraploidní rostliny v porovnání s rodičovskými diploidy také vyšší obsah silice, ale složení silice zůstalo podobné (Saharkhiz, 2006), zatímco když Trojak-Goluch a Skomra (2013) porovnávali množství a kvalitu silic diplo- a tetraploidních rostlin chmele otáčivého (*Humulus lupulus*), zjistili, že ačkoli obsah silic se polyploidizací snížil, došlo k výraznému zvýšení podílu humulenu a limonenu.

V odborné literatuře už byla publikována i úspěšná polyploidizace mateřídoušky, konkrétně druhů *Thymus persicus* (Tavan a kol., 2015) a *T. vulgaris* (Homaidan Shmeit a kol., 2020). Protože u *T. persicus* se ale jednalo o endemický druh z Iránu, a vlastnosti tetraploidních rostlin tymiánu obecného (*T. vulgaris*) byly testovány pouze při jejich pěstování ve skleníku, tak ověření vlivu polyploidizace na ekonomicky významném druhu, pěstovaném v polních podmínkách, stále chyběla. Z předchozích experimentů (Pavela a kol., 2017) bylo zjištěno, že v půdních a klimatických podmínkách ČR dosahuje dobrých výsledků moderní švýcarská odrůda tymiánu obecného 'Varico 3', doporučená pro pěstování ve střední Evropě (Carlen a kol., 2010). Jako výchozí materiál byla tedy pro hodnocení vlivu polyploidizace u tymiánu, s cílem získat jedince s vysokým obsahem silice i thymolu a vhodné k pěstování v ČR, právě tato odrůda zvolena.

Materiál a metody

Rostlinný materiál: Ze zakoupeného osiva tymiánu obecného, odrůdy 'Varico 3', bylo odebráno 231 semen. Klíčivost osiva byla ale nízká a vyklíčilo jen 47 semen (20,35 %), v semenáčcích se navíc vyskytovala vnitřní kontaminace. Pro mikropropagaci byly vybrány pouze vitální semenáčky (20 ks) a postupně byly získány soubory uniformních *in vitro* odvozených klonů (1 semenáček = 1 klon). Pro experimenty polyploidizace byly vybrány 2 nejlépe rostoucí a množící se klony, tj. č. 8 a 15.

In vitro polyploidizace: Pomocí sulfonamidu oryzalinu byla provedena *in vitro* polyploidizace následujícími způsoby:

1) metoda kultivace na médiu s oryzalinem

Nodální segmenty prýtů s 1 párem listů, kdy jeden list z páru byl odstraněn, byly kultivovány v Erlenmayerových baňkách (cca 15 segmentů v baňce) na pevném médiu MS doplněném

o oryzalin v koncentracích roztoku 0 (kontrola), 5 a 10 μM po dobu 14 dnů. Poté byly báze odřezány, segmenty přeneseny na kultivační médium a opakovaně pasážovány po 4 týdnech.

2) metoda přelití roztokem oryzalinu

Nodální segmenty prýtů s 1 párem listů, kdy jeden list z páru byl odstraněn, byly přeneseny na pevné médium MS v Erlenmayerových baňkách (cca 15 segmentů v baňce) a přelity roztokem oryzalinu (5, 10, 15 a 20 μM) po dobu 24 hodin, poté opláchnuty vodou a přeneseny na kultivační médium, dále jako v metodě 1).

Kultivace a regenerace ovlivněných rostlin: Zelené ovlivněné segmenty byly kultivovány na médiu v plastových zkumavkách (1 segment/zkumavka) a umístěny v kultivační místnosti, nekrotické segmenty byly postupně likvidovány. Každý prýt prorůstající z úžlabního pupenu byl namnožen a veden jako subklon. Ploidie každého subklonu byla zjišťována flowcytometrem Partec CyFlow ML (Partec GmbH, Münster, Germany).

In vitro kořenění a aklimatizace: Rostliny dlouhé 4–5 cm byly kultivovány v Erlenmayerových baňkách na MS médiu bez hormonů. Rostliny již s kořínky byly před převodem překryty potravinářskou fólií a po týdnu, po důkladném promytí kořínků, byly přesazeny do jiffy potů (rašelinových sadbovačů), umístěny do plastového minipařeniště a do skleníku. Rostoucí subklony rostlin byly předány k vysazení a dalšímu hodnocení v polních podmínkách.

Polní výsadba: Získané polyploidy a kontrolní diploidní rostliny byly v roce 2017 vysazeny na pole. Rostliny byly vysazeny na netkanou textilií do parcelek se sponem 40 x 40 cm v počtu 15 rostlin od každého genotypu. Následně byla nainstalována svrchní závlaha a ochranná plastová síť proti poškození rostlin ptactvem. Rostliny byly zavlažovány pouze v prvním roce po výsadbě, pak byly, závlaha i ochranná síť, odstraněny. V roce 2019 a 2020 bylo z každé parcelky v období plného kvetení odebráno cca 500 g čerstvé natě, která byla následně usušena ve skříňové sušičce při teplotě do 35 °C. Po usušení byly vzorky skladovány ve tmě, suchu a laboratorní teplotě až do stanovení obsahu silice.

Stanovení obsahu silice: Bylo naváženo 30g usušené natě vzorků každého tetraploidního subklonu i obou diploidních kontrol a následně byl stanoven obsah silice pomocí destilace vodní parou. Obsah silice byl u všech analyzovaných vzorků odečítán po 1,5 hodině, každý vzorek byl analyzován duplicitně. Vzorky silice byly převedeny do vialek a skladovány při 4°C do další analýzy.

Hodnocení kvality silice: Z každého vzorku silice bylo odebráno 10 μl , které byly následně rozpuštěny v 1 ml *n*-hexanu s obsahem 0,01 % *n*-tridecanu jako interního standardu. Takto připravené vzorky byly ihned analyzovány pomocí GC-MS. Stanovení obsahu silice, stejně jako hodnocení její kvality a identifikace jednotlivých složek, byly provedeny podle Čavar Zeljković a kol. (2020).

Výsledky a diskuze

U obou klonů (č. 8 a 15) byla výrazně efektivnější metoda polyploidizace 1 (kultivace nodálních segmentů na médiu). U klonu č. 15 docházelo při použití metody 2 (přelití roztokem oryzalinu) k nekrotizaci pletiv, u klonu č. 8 byl u této metody počet nově získaných rostlin ve srovnání s metodou 1 (kultivace na médiu s oryzalinem) více než 2x nižší. Celkem se oběma metodami podařilo dopěstovat 7 subklonů klonu č. 8 a 3 subklony klonu č. 15.

Obsah silice byl v letech 2019 a 2020 stanoven v rozmezí 0,36 – 2,43 % (**Tab 1**). V roce 2019 měl nejnižší průměrný obsah tetraploidní subklon č. 15/21 (0,47 %) a nejvyšší průměrný obsah

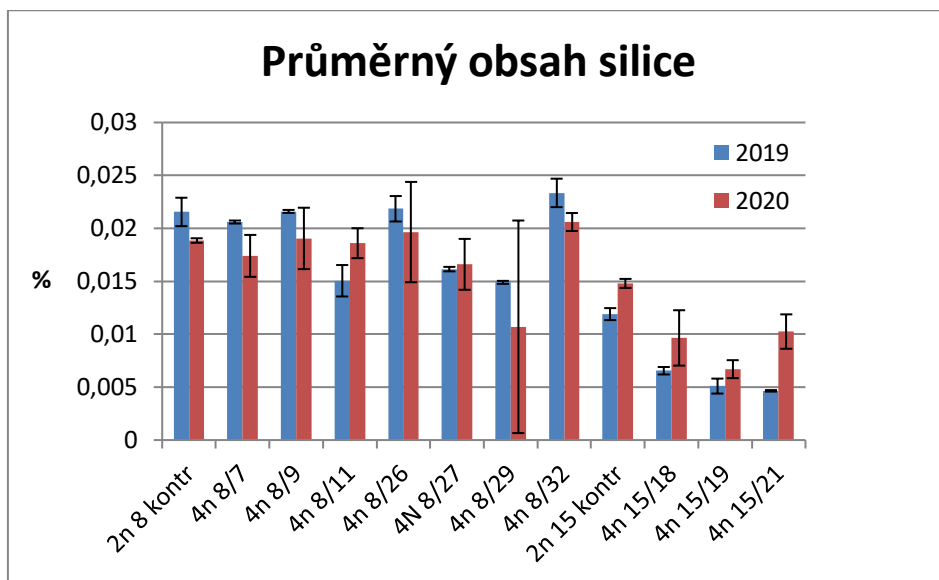
tetraploidní subklon č. 8/32 (2,34 %). V roce 2020 byl obsah silice celkově nižší, nejnižší průměrný obsah byl zjištěn u tetraploidního subklonu č. 15/19 (0,67 %) a nejvyšší u tetraploidního subklonu č. 8/32 (2,06 %) (**Graf 1**).

Klon č. 8 měl v porovnání s klonem č. 15 celkově vyšší obsah silice, byl prokázán statisticky významný rozdíl na hladině významnosti $p < 0,01$. U všech tetraploidních subklonů klonu č. 15 byl v porovnání s diploidní kontrolou zjištěn statisticky průkazně ($p < 0,01$) nižší obsah silice, v roce 2019 byl tento pokles v rozmezí 45 – 60 %, v roce 2020 pak 30 – 50 %. U klonu č. 8 byl také zjištěn statisticky významný rozdíl ($p < 0,01$), ale změna nebyla tak jednoznačná jako u klonu č. 15. Dva tetraploidní subklony (č. 8/9 a 8/26) měly obsah silice podobný diploidní kontrole, zatímco jeden subklon (8/32) měl obsah silice o 4 až 5 % vyšší a u čtyř subklonů (8/7, 8/11, 8/27 a 8/29) byl zaznamenán obsah silice nižší. Nejhlubší propad byl v obou letech u subklonu č. 8/29 (v 2019 o 30 % a v roce 2020 o 43 % v porovnání s kontrolou) (**Tab 1**). Pavela a kol. (2017) uvádí obsah silice u kultivaru 'Varico 3', pěstovaného v podmínkách ČR, přibližně 3 % – u obou diploidních klonů z této studie byl obsah silice nižší. Kolísání obsahu silice v různých sezónách je však vlivem mnoha faktorů (např. teplot) obvyklé (Seidler-Lozykowska, 2007).

Tab. 1: Obsah silice [%] u diploidních (2n) a tetraploidních (4n) subklonů tymiánu obecného 'Varico 3' v letech 2019 a 2020

Vzorek	2019		2020	
2n 8 kontrola	2,25	2,06	1,87	1,90
4n 8/7	2,07	2,05	1,88	1,60
4n 8/9	2,17	2,15	1,70	2,11
4n 8/11	1,40	1,61	1,76	1,96
4n 8/26	2,27	2,10	1,63	2,30
4n 8/27	1,63	1,60	1,83	1,49
4n 8/29	1,50	1,48	1,78	0,36
4n 8/32	2,43	2,24	2,12	2,00
2n 15 kontrola	1,15	1,23	1,45	1,51
4n 15/18	0,68	0,63	1,15	0,78
4n 15/19	0,46	0,56	0,73	0,61
4n 15/21	0,46	0,47	1,14	0,91

Graf 1: Průměrný obsah silice [%] u diploidních (2n) a tetraploidních (4n) subklonů tymiánu obecného 'Varico 3' v letech 2019 a 2020



Při hodnocení kvality silice bylo celkově identifikováno 29 složek, které tvořily téměř 99 % silice. Majoritní složkou všech vzorků byl zjištěn thymol (49,09 – 65,13 %) a p-cymen (10,41 – 28,10 %) (**Tab 2**).

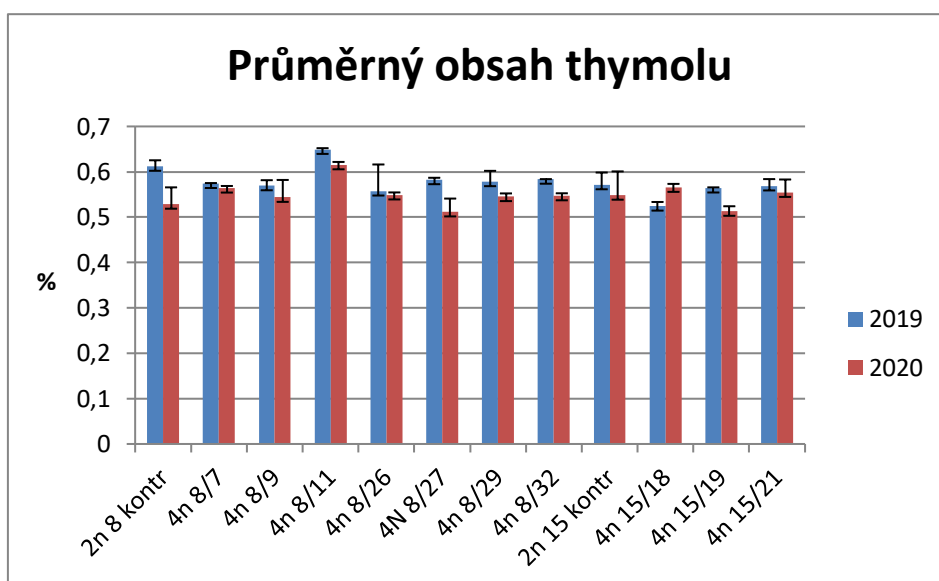
Průměrný obsah thymolu byl v silici obou diploidních subklonů (č. 8 a 15) velmi podobný a nebyl mezi nimi zjištěn statisticky průkazný rozdíl (**Graf 2**). V roce 2019 měl nejnižší průměrný obsah thymolu tetraploidní subklon č. 15/18 (52,4 %) a nejvyšší průměrný obsah č. 8/11 (64,9 %). V roce 2020 měl nejnižší průměrný obsah tetraploidní subklon č. 8/27 (51,2 %) a nejvyšší č. 8/11 (61,6 %). Při porovnání silic kontrolních a tetraploidních rostlin klonu č. 8 byl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p < 0,01$) v obsahu thymolu, avšak ještě vyšší, než vliv ploidity, byl zjištěn vliv sezóny. Mezi diploidním a tetraploidními subklony klonu č. 15, nebyl v obsahu thymolu zjištěn žádný statisticky významný rozdíl ($p > 0,05$).

Průměrný obsah p-cymenu byl u diploidní kontroly klonu č. 15 vyšší (16,9 – 24,5 %) než u diploidní kontroly klonu č. 8 (13,5 – 16,5 %), a stejný trend byl pozorován i u jejich tetraploidních subklonů (16,5 – 27,1 % u č. 15 oproti 10,4 – 18,8 % u č. 8). U klonu č. 15 nebyl mezi diploidní kontrolou a tetraploidními subklony zjištěn v obsahu p-cymenu žádný statisticky významný rozdíl, zatímco u klonu č. 8 ano ($p < 0,01$) – vliv ploidity byl však i v tomto případě menší, než vliv sezóny. Zjištěné údaje potvrdily, že polyploidizace ne vždy nutně vede u složení silice ke změnám, což dokládá i studie Wohlmuth a kol. (2006), kde se silice tetraploidních rostlin zázvoru lékařského (*Zingiber officinale*) oproti diploidnímu kultivaru 'Queensland', ze kterého byly odvozeny, také nezměnila.

Tab 2: Složení silice diploidních (2n) a tetraploidních (4n) subklonů tymiánu obecného 'Varico 3' v letech 2019 a 2020 – obsah thymolu a p-cymenu

Vzorek	Thymol [%]				Cymene<para>[%]			
	2019		2020		2019		2020	
2n 8 kontrola	62,15	60,29	50,24	55,48	16,52	16,55	14,27	12,71
4n 8/7	57,49	57,36	56,10	56,74	19,11	18,39	12,63	11,38
4n 8/9	56,06	57,79	51,66	57,08	18,28	17,84	15,37	13,21
4n 8/11	64,75	65,13	61,99	61,11	12,35	13,32	10,46	10,41
4n 8/26	59,90	51,64	54,52	55,29	13,75	15,12	13,85	14,08
4n 8/27	58,56	57,98	53,24	49,09	16,81	16,25	16,80	18,44
4n 8/29	59,51	56,15	55,03	54,05	17,40	18,86	16,11	16,15
4n 8/32	58,37	58,38	54,33	55,10	17,57	17,45	14,91	12,59
2n 15 kontrola	55,24	59,05	51,15	58,55	26,12	22,79	18,31	15,51
4n 15/18	51,81	53,08	57,11	56,04	28,10	26,00	16,44	16,53
4n 15/19	56,35	56,53	52,08	50,52	22,82	21,64	19,13	20,09
4n 15/21	55,83	57,95	53,46	57,47	25,99	23,80	18,54	16,03

Graf 2: Průměrný obsah [%] thymolu u diploidních (2n) a tetraploidních (4n) subklonů tymiánu obecného 'Varico 3' v letech 2019 a 2020



Závěr

Polyploidizace měla u tymiánu obecného, odrůdy 'Varico 3' větší vliv na obsah silice, než na její kvalitu, tedy obsah thymolu. Klony č. 8 a 15 nereagovaly na navýšení počtu chromozomů stejně. Zatímco u všech tetraploidních subklonů klonu č. 15 došlo v porovnání s diploidní kontrolou k poklesu obsahu silice, u klonu č. 8 reagovaly stejným způsobem jen některé subklony. U jednoho z tetraploidních subklonů klonu č. 8 se však obsah silice vlivem polyploidizace dokonce zvýšil. Při porovnání kvality silice diplo- a tetraploidních rostlin klonu č. 8 byl zjištěn statisticky vysoce průkazný rozdíl ($p < 0,01$) v obsahu thymolu, ale vliv sezóny

byl i tak vyšší, než vliv ploidity. U diplo- a tetraploidních subklonů klonu č. 15 nebyl v obsahu thymolu zjištěn statisticky průkazný rozdíl žádný.

Použitá literatura

- ALMANEA, A., G. S. A. EL-AZIZ a M. M. M. AHMED. The potential gastrointestinal health benefits of *Thymus vulgaris* essential oil: A review. *Biomedical and Pharmacology Journal*. 2019, **12**(04), 1793-1799. DOI: 10.13005/bpj/1810. ISSN 09746242. Dostupné také z: <http://biomedpharmajournal.org/vol12no4/the-potential-gastrointestinal-health-benefits-of-thymus-vulgaris-essential-oil-a-review/>
- ANDERSON, D. E. a M. RINGS. *Current Veterinary Therapy - E-Book: Food Animal Practice*. x: Elsevier Health Sciences, 2008. ISBN 9781416069331.
- ARAF, W. M., S. M. ABOLHADID, A. MOAWAD, A. S. ABDELATY, U. K. MOAWAD, K. A. M. SHOKIER, O. SHEHATA a S. M. GADELHAQ. Thymol efficacy against coccidiosis in pigeon (*Columba livia domestica*). *Preventive Veterinary Medicine*. 2020, **176**(-), x-x. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2020.104914. ISSN 01675877. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167587719306452>
- CARLEN, C., M. SCHALLER, C. A. CARRON, J. F. VOUELLAMOZ a C. A. BAROFFIO. The new *Thymus vulgaris* L. hybrid cultivar 'Varico 3' compared to five established cultivars from Germany, France and Switzerland. *Acta Horticulturae*. 2010, **x**(860), 161-166. DOI: 10.17660/ActaHortic.2010.860.23. ISSN 0567-7572. Dostupné také z: https://www.actahort.org/books/860/860_23.htm
- ČAVAR ZELJKOVIĆ, S., K. KOMŽÁKOVÁ, J. ŠIŠKOVÁ, E. KARALIJA, K. SMÉKALOVÁ a P. TARKOWSKI. Phytochemical variability of selected basil genotypes. *Industrial Crops and Products*. 2020, **157**(-), x-x. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2020.112910
- COSTA, C., M. LODESANI a L. MAISTRELLO. Effect of thymol and resveratrol administered with candy or syrup on the development of *Nosema ceranae* and on the longevity of honeybees (*Apis mellifera* L.) in laboratory conditions. *Apidologie*. 2010, **41**(2), 141-150. DOI: 10.1051/apido/2009070. ISSN 0044-8435. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1051/apido/2009070>
- DAMIANOVA, S., S. TASHEVA, A. STOYANOVA a D. DAMIANOV. Investigation of extracts from thyme (*Thymus vulgaris* L.) for application in cosmetics. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2008, **11**(5), 443-450. DOI: 10.1080/0972060X.2008.10643652. ISSN 0972-060X. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2008.10643652>
- DIJKSTRA, H. a G. J. SPECKMANN. Autotetraploidy in caraway (*Carum carvi* L.) for the increase of the aetheric oil content of the seed. *Euphytica*. 1980, **29**(1), 89-96. DOI: 10.1007/BF00037252. ISSN 0014-2336. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00037252>
- HOMAIKAN SHMEIT, Y., E. FERNANDEZ, P. NOVY, P. KLOUCEK, M. OROSZ a L. KOKOSKA. Autopolyploidy effect on morphological variation and essential oil content in *Thymus vulgaris* L. *Scientia Horticulturae*. 2020, **263**(x), x-y. DOI: 10.1016/j.scienta.2019.109095. ISSN 03044238. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304423819309811>
- JORGE, N., C. M. VERONEZI a P. V. DEL RÊ. Antioxidant effect of thyme (*Thymus vulgaris* L.) and Oregano (*Origanum vulgare* L.) extracts in soybean oil under thermoxidation. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2015, **39**(6), 1399-1406. DOI: 10.1111/jfpp.12358. ISSN 01458892. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/jfpp.12358>
- MANZOOR, A., T. AHMAD, M. BASHIR, I. HAFIZ a C. SILVESTRI. Studies on colchicine induced chromosome doubling for enhancement of quality traits in ornamental plants. *Plants*. 2019, **8**(7), 2-16. ISSN 2223-7747. Dostupné z: doi:10.3390/plants8070194
- NIETO, G. Biological activities of three essential oils of the Lamiaceae family. *Medicines*. 2017, **4**(3), 63. DOI: 10.3390/medicines4030063. ISSN 2305-6320. Dostupné také z: <http://www.mdpi.com/2305-6320/4/3/63>
- PARK, J. H., Y. J. JEON, C. H. LEE, N. CHUNG a H. S. LEE. Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou & Lu., newly recorded pest. *Scientific Reports*. 2017, **7**(1), 1-7. DOI: 10.1038/srep40902. ISSN 2045-2322. Dostupné také z: <http://www.nature.com/articles/srep40902>

- PAVELA, R., M. ŽABKA, K. KAFFKOVÁ a K. SMÉKALOVÁ. Vliv listové výživy na obsah silice v tymiánu (*Thymus vulgaris* L.). *Úroda*. 2017, **65**(12), 575-578.
- SAHARKHIZ, M. J. *The effects of some environmental factors and ploidy level on morphological and physiological characteristics of feverfew (Tanacetum parthenium L.)*. Iran, 2006. Disertační práce. Tarbiat Modares University. Vedoucí práce Ghasem Karimzadeh.
- SEIDLER-LOZYKOWSKA, K. The effect of weather conditions on essential oil content in thyme (*Thymus vulgaris* L.) and marjoram (*Origanum majorana* L.). *Roczniki Akademii Rolniczej w Poznaniu: Ogrodnictwo*. 2007, **383**(41), 605-608. ISSN 0137-1738.
- STAHL-BISKUP, E. a F. SAEZ, ed. *Thyme: the genus Thymus*. x: CRC Press, 2002. ISBN 9780203216859
- TALEBI, S. F., M. J. SAHARKHIZ, M. J. KERMANI, Y. SHARAFI a F. R. FARD. Effect of Ploidy Level on the Nuclear Genome Content and Essential Oil Composition of Anise Hyssop (*Agastache foeniculum* [Pursh.] Kuntze). *Analytical Chemistry Letters*. 2016, **6**(5), 678-687. DOI: 10.1080/22297928.2016.1257953. ISSN 2229-7928. Dostupné také z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/22297928.2016.1257953>
- TAVAN, M., M. H. MIRJALILI a G. KARIMZADEH. In vitro polyploidy induction: changes in morphological, anatomical and phytochemical characteristics of *Thymus persicus* (Lamiaceae). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2015, **122**(3), 573-583. DOI: 10.1007/s11240-015-0789-0. ISSN 0167-6857. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11240-015-0789-0>
- TROJAK-GOLUCH, A. a U. SKOMRA. Artificially induced polyploidization in *Humulus lupulus* L. and its effect on morphological and chemical traits. *Breeding Science*. 2013, **63**(4), 393-399. DOI: 10.1270/jsbbs.63.393. ISSN 1344-7610.
- WOHLMUTH, H., M. K. SMITH, L. O. BROOKS, S. P. MYERS a D. N. LEACH. Essential oil composition of diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) grown in Australia. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006, **54**(4), 1414-1419. ISSN 0021-8561.
- YAVARI, S., R. OMIDBAIGI a M.E. HASSANI. The effects of induction of autotetraploidy on the essential oil content and compositions of Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 2011, **14**(4), 484-489. DOI: 10.1080/0972060X.2011.10643605. ISSN 0972-060X. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/0972060X.2011.10643605>
- YEMETS, A. I. a Y. B. BLUME. Progress in plant polyploidization based on antimicrotubular Drugs. *The Open Horticulture Journal*. 2008, **1**(1), 15-20. DOI: 10.2174/1874840600801010015. ISSN 18748406. Dostupné také z: <http://benthamopen.com/ABSTRACT/TOHORTJ-1-15>

Poděkování

Tato studie byla podpořena projektem č. QK1910103 a projektem institucionální podpory MZE-RO0418.

Kontaktní adresa:

Ing. Katarína Kaffková, Ph.D.
Šlechtitelů 29, Olomouc
kaffkova@genobanka.cz

POROVNÁNÍ VÝKONNOSTI ČESKÉ ODRŮDY VOJTĚŠKY SETÉ NIVA S NĚKTERÝMI FRANCOUZSKÝMI ODRŮDAMI

Comparison of yields of Czech alfalfa variety Niva with some French varieties

Knotová D.¹, Pelikán J.²

¹Zemědělský výzkum, spol. s r.o.

²Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o.

Abstrakt

V letech 2019-2020 byly v polních podmínkách hodnoceny výnosové charakteristiky české odrůdy a některých francouzských odrůd vojtěšky seté. V užitkových letech byly prováděny na porostech vážené seče. Mezi odrůdami byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v prvním užitkovém roce (2019). Ve druhém užitkovém (2020) roce statisticky průkazné rozdíly zjištěny nebyly.

Klíčová slova: vojtěška setá, výnosy, české odrůdy, francouzské odrůdy

Abstract

In the years 2019-2020 the yield characteristics of Czech and French varieties of alfalfa were evaluated in field conditions. In the utility years the yields of green mass and the hay were weighed in the individually cuts. There were statistically significant differences between the varieties in the first crop year (2019). No statistically significant differences were found in the second year (2020).

Key words: alfalfa, yields, Czech varieties, French varieties

Úvod

Vojtěška setá patří mezi nejstarší pícniny na světě. Pochází ze Střední Asie odkud se její pěstování postupně rozšířilo do dalších zemí (Summers a Putnam, 2008). Na území České republiky se dostala v 17. století, ale k rozvoji pěstování dochází až ve 20. století (Velich, 1991). Vojtěška setá je stěžejní pícninou v kukuřičném výrobním typu převážně v oblasti Jižní Moravy (Šantrůček a kol., 2001). Optimální teplota pro intenzivní růst je v našich podmínkách 25-30 °C, nižší teploty nejsou pro její pěstování limitujícím faktorem, ale projeví se na nižších výnosech (Velich, 1991). Dalším ekologickým faktorem pro její dobrý růst jsou půdní charakteristiky. Kořeny se nejlépe vyvíjejí na hlubokých a kyprých půdách a nesnáší nadměrné zamokření (Šantrůček a Svobodová, 1998). Výnosová úroveň registrovaných odrůd je všeobecně vysoká, k poklesům v praxi dochází díky snižování vstupů do půdy, to může být důvodem až o 10 % nižších výnosů (Fadrný, Holubář a Říha, 1998). Obecně se produkce a vytrvalost také snižuje se vzrůstajícím počtem sečí, ale vzrůstá kvalita píce (Římovský, 1988). Vojtěška setá se převážně využívá na zelené krmení, výrobu sena, siláže, senáže a krmných mouček. Zkouší se také jako zdroj bílkovin na výrobu bílkovinných extraktů pro potravinářské využití (Hojilla-Evangelista et al., 2016).

Materiál a metody

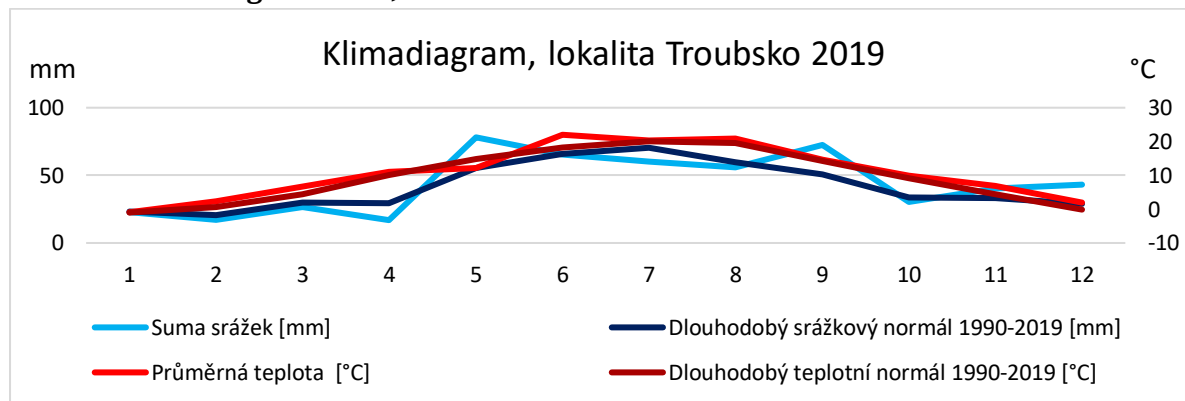
V roce 2018 byl založen polní pokus s osmi francouzskými odrůdami vojtěšky seté (Milky Max, Dorine, Luzelle, Galaxie, Sanditi, Mezzo, Timballe a Flamande) pro srovnání jejich výkonnosti s českou odrůdou Niva. Pokus byl založen metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních při velikosti parcel 10 m² na lokalitě Troubsko. Pokusná lokalita Troubsko se

nachází v řepářské výrobní oblasti. Půda v místě pokusů je klasifikována jako luvizem modální, zrnitostním složením hlinitá až jílovitohlinitá s půdní reakcí neutrální. Dlouhodobý průměr ročního úhrnu srážek (1990-2019) je 500,9 mm, z toho ve vegetačním období (březen – říjen) 394,8 mm, dlouhodobá průměrná roční teplota 9,5 °C, ve vegetačním období (březen – říjen) 13,79 °C. Průměrná zásoba P střední, zásoba K dobrá, zásoba Mg vysoká, dlouhodobý obsah humusu 1,61 % tzn. obsah nízký, půdy jsou tedy mírně humózní.

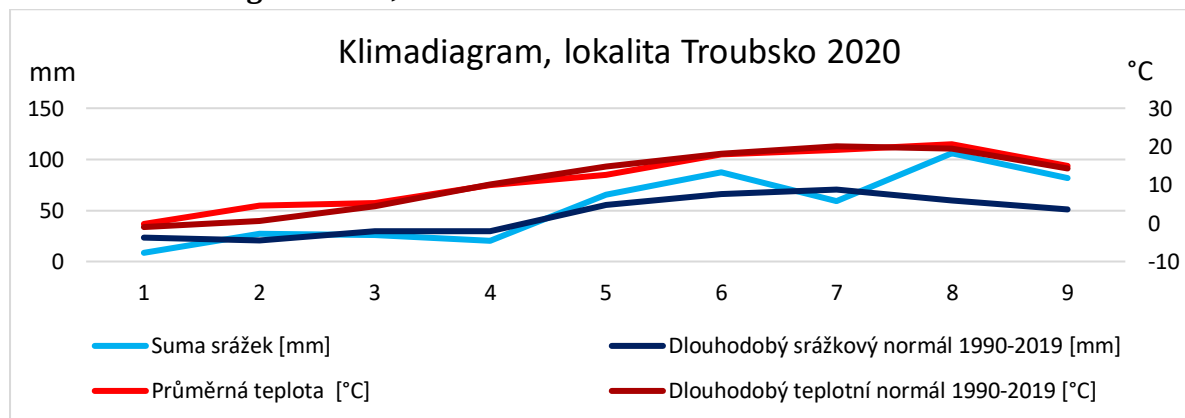
Hodnocení výnosů zelené hmoty a sena se uskutečnilo v letech 2019 a 2020. Výsledky byly zpracovány metodou analýzy rozptylu užitím statistického softwaru Statistica 12 a následným testováním statistické významnosti rozdílů středních hodnot pomocí Tukeyova testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Vegetační rok 2019 byl teplotně nadnormální a srážkově podnormální. Rychlý nástup jara a dostatečná vlhkost půdy působily příznivě pro rychlý vývoj rostlin. V květnu byl zaznamenán vysoký úhrn srážek (78,1 mm = 141,23 % dlouhodobého normálu). Ostatní měsíce během vegetačního období byly mírně pod normálem, ale produkce biomasy vojtěšky byla pozitivně ovlivněna pravidelným rozložením srážek. Vyšší srážkový úhrn oproti dlouhodobému normálu byl dále zaznamenán v měsíci září, listopad a prosinec. V roce 2019 bylo provedeno pět vážených sečí.

Graf 1: Klimadiagram 2019, lokalita Troubsko



Graf 2: Klimadiagram 2020, lokalita Troubsko



Vegetační rok 2020 lze charakterizovat jako mírně teplotně nadnormální. Jak ukazuje graf 2, měsíční úhrny srážek byly v měsících leden, březen, duben a červenec pod dlouhodobým normálem, zatímco v měsících únor, květen a červen nad dlouhodobým normálem. Zima byla velmi mírná a sněhová pokrývka se vyskytovala jen ojediněle, což je na klimatické podmínky netypické této lokality netypické. V měsíci leden byla nesouvislá sněhová pokrývka pouze 5 dní a v měsíci únoru nasněžilo 1 cm sněhu ve dvou dnech. Počátek vegetace byl ovlivněn nedostatkem srážek což se mohlo projevit na nižší rychlosti růstu rostlin v první seči, neboť

první větší déšť přišel až téměř před sečí ve druhé polovině května. V průběhu jara nebylo zaznamenáno poškození porostu mrazem, neboť teploty téměř neklesly do záporných hodnot. V roce 2020 byly provedeny čtyři vážené seče.

Výsledky

V 1. seči prvního užitkového roku (2019) se průměrné výnosy zelené hmoty souboru pohybovaly od 33,20 do 43,82 t.ha⁻¹, ve druhém užitkovém roce (2020) od 27,24 do 32,07 t.ha⁻¹ (tab.1). V obou letech byl zaznamenán nejvyšší výnos u domácí odrůdy Niva. Tato odrůda v prvním užitkovém roce statisticky průkazně překonala ostatní zkoušené odrůdy. Ve druhém roce nebyl mezi zkoušenými odrůdami zjištěn statistický rozdíl. V celkové roční produkci zelené hmoty se v roce 2019 pohybovaly průměrné výnosy od 91,95 do 106,27 t.ha⁻¹, v roce 2020 pak od 70,93 do 78,08 t.ha⁻¹. V roce 2019 byla nejvyšší produkce dosažena českou odrůdou Niva, která statisticky průkazně překonala pouze odrůdu Milky Max. Ve druhém užitkovém roce byl dosažen nejvyšší výnos sena odrůdou Flamande, odrůda Niva se umístila na druhém místě a mezi všemi zkoušenými odrůdami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl.

Tab. 1: Průměrné výnosy zelené hmoty v t.ha⁻¹ s vyznačením statistické průkaznosti Tukey HSD testem (P≤0,05)

	2019						2020					
	1. seč			celkem			1. seč			celkem		
	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.
Niva	43,82 ^a	100,0	1	106,27 ^a	100,0	1	32,07 ^a	100,0	1	77,73 ^a	100,0	2
Milky Max	36,65 ^{bc}	83,6	7	91,95 ^b	86,5	9	28,68 ^a	89,4	7	73,13 ^a	94,1	6
Dorine	36,07 ^{bc}	82,3	8	97,02 ^{ab}	91,3	7	28,57 ^a	89,1	8	71,63 ^a	92,2	8
Luzelle	33,20 ^c	75,8	9	93,42 ^{ab}	87,9	8	27,24 ^a	85,0	9	70,93 ^a	91,3	9
Galaxie	37,00 ^{bc}	84,4	6	98,79 ^{ab}	93,0	6	30,23 ^a	94,3	6	72,55 ^a	93,3	7
Sanditi	38,46 ^b	87,8	3	101,01 ^{ab}	95,1	4	30,23 ^a	94,3	5	75,61 ^a	97,3	4
Mezzo	38,25 ^b	87,3	4	101,82 ^{ab}	95,8	2	31,79 ^a	99,1	2	75,66 ^a	97,3	3
Timballe	38,93 ^b	88,8	2	101,66 ^{ab}	95,7	3	30,49 ^a	95,1	4	73,57 ^a	94,7	5
Flamande	37,64 ^b	85,9	5	98,91 ^{ab}	93,1	5	31,40 ^a	97,9	3	78,08 ^a	100,4	1
D _T (0,05)	4,09			13,30			5,57			12,95		
D _T (0,01)	6,08			16,43			8,26			19,22		

Průměrné výnosy sena se v 1. seči prvního užitkového roku pohybovaly od 6,02 do 7,50 t.ha⁻¹, ve druhém užitkovém roce od 5,87 do 6,99 t.ha⁻¹. V prvním roce byl zaznamenán nejvyšší průměrný výnos u francouzské odrůdy Mezzo, která statisticky průkazně překonala odrůdy Luzelle a Galaxie. Mezi výnosy ostatních odrůd, včetně odrůdy Niva, nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. V roce 2020 byl nejvyšší výnos v první seči zjištěn u odrůdy Timbale a mezi zkoušenými odrůdami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. V celkové roční produkci sena se v roce 2019 pohybovaly průměrné výnosy od 19,83 do 22,50 t.ha⁻¹, v roce 2020 pak od 14,57 do 16,51 t.ha⁻¹. V roce 2019 byla nejvyšší produkce dosažena odrůdou Sanditi, která překonala odrůdu Niva o 13,5 %. Přesto, že se odrůda Niva v tomto roce umístila na posledním místě, nebyl mezi výnosy zkoušených odrůd zjištěn statisticky průkazný rozdíl. V celkové produkci sena v roce 2020 byl dosažen nejvyšší výnos odrůdou Flamande, následována odrůdami Timbale a Niva. Také v tomto roce nebyl mezi zkoušenými odrůdami zjištěn statisticky průkazný rozdíl.

Tab.2: Průměrné výnosy sena v t.ha⁻¹ s vyznačením statistické průkaznosti Tukey HSD testem (P≤0,05)

	2019						2020					
	1. seč			celkem			1. seč			celkem		
	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.
Niva	7,12 ^{abc}	100,0	4	19,83 ^a	100,0	9	6,39 ^a	100,0	7	15,95 ^a	100,0	3
Milky Max	7,24 ^{ab}	101,7	3	20,63 ^a	104,0	5	6,45 ^a	100,9	5	15,61 ^a	97,9	4
Dorine	6,32 ^{abc}	88,8	7	20,19 ^a	101,8	7	5,87 ^a	91,9	9	14,57 ^a	91,4	9
Luzelle	6,02 ^c	84,6	9	20,25 ^a	102,1	6	5,89 ^a	92,2	8	14,82 ^a	92,9	7
Galaxie	6,27 ^{bc}	88,1	8	21,12 ^a	106,5	4	6,71 ^a	105,0	3	15,38 ^a	96,4	6
Sanditi	7,40 ^a	103,9	2	22,50 ^a	113,5	1	6,41 ^a	100,3	6	15,59 ^a	97,7	5
Mezzo	7,50 ^a	105,3	1	22,25 ^a	112,2	2	6,67 ^a	104,5	4	14,75 ^a	92,5	8
Timballe	6,66 ^{abc}	93,5	5	21,41 ^a	108,0	3	6,99 ^a	109,5	1	16,48 ^a	103,3	2
Flamande	6,33 ^{abc}	88,9	6	19,93 ^a	100,5	8	6,91 ^a	108,1	2	16,51 ^a	103,5	1
D _T (0,05)	1,18			3,12			1,18			2,82		
D _T (0,01)	1,75			4,63			1,75			4,18		

Závěr

Zahraniční odrůdy jsou jedním ze zdrojů výchozího materiálu při šlechtění vojtešky seté. Z tohoto důvodu je jejich zkoušení jak z hlediska tvorby biomasy, tak i faktorů spolupůsobících při její tvorbě velice důležité. Ve světě je této problematice věnována mimořádná pozornost. Problematika je řešena na pracovišti Výzkumný ústav pícninářský v Troubsku více jak 60 roků a výsledky jsou průběžně publikovány.

Dosažené výsledky ukazují na velmi dobrou výnosovou úroveň francouzských odrůd v našich podmínkách. Všeobecně nejlepších výsledků ve výnosech sena dosáhla v prvním užitkovém roce odrůda Sanditi, ve druhém užitkovém roce byla jak ve výnosech zelené hmoty, tak sena nejlepší odrůda Flamande. Česká odrůda Niva poskytla nejvyšší výnos zelené hmoty v prvním užitkovém roce a ve druhém užitkovém roce stála ve výnosech zelené hmoty hned za francouzskou odrůdou Flamande.

Použitá literatura

- Fadrný, M., Holubář, J., Říha, P. 1998: Nová kvalita v odrůdové skladbě pícnin. Úroda 3, ročník 1998, str.8-9, ISSN 0139-6013.
- Hojilla-Evangelista, M.P., Selling, G. W., Hatfield, R., Digman, M. 2016: Extraction, composition, and functional properties of dried alfalfa (*Medicago sativa* L.) leaf protein. J Sci Food Agric. 2017 Feb;97(3):882-888. doi: 10.1002/jsfa.7810.
- Římovský, K. 1989: Pícninářství-Polní pícniny. Vysoká škola zemědělská, Brno. 165 s. ISBN 80-7157-038-9
- Summers, C., Putnam, D. 2008: Irrigated Alfalfa Management for Mediterranean and Desert Zones. University of California Agriculture and Natural Resources, 373 s. ISBN 978-1-60107-608-3.
- Šantrůček, J. a kol. 2001: Základy pícninářství. Česká zemědělská univerzita, Praha. 146 s. ISBN 80-213-0764-1.
- Šantrůček, J., Svobodová, M. 1998: Porosty vojtešky a půdní podmínky (1.část). Úroda 3, ročník 1998, str.11-13, ISSN 0139-6013.
- Velich, J. a kol. 1991: Pícninářství. Vysoká škola zemědělská, Praha. 204 s. ISBN 80-213-0106-6.

Poděkování

Príspevek 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-RO1720, financovaného Ministerstvem zemědělství.

Kontaktní adresa:

Ing. Daniela Knotová, Ph.D.m Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1, 66441 Troubsko, email: knotova@vupt.cz

POROVNÁNÍ VÝKONNOSTI NĚKTERÝCH EVROPSKÝCH ODRŮD VOJTĚŠKY SETÉ S ČESKOU ODRŮDOU TEREZA

Comparison of yields of some European varieties of alfalfa with Czech variety Tereza

Knotová D.¹, Pelikán J.²

¹Zemědělský výzkum, spol. s r.o.

²Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o.

Abstrakt

V letech 2019-2020 byly v polních podmínkách hodnoceny výnosové charakteristiky české odrůdy Tereza a některých evropských odrůd vojtěšky seté. V užitkových letech byly prováděny na porostech vážené seče. Mezi odrůdami byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly v prvním i druhém užitkovém roce.

Klíčová slova: vojtěška setá, výnosy, české odrůdy, evropské odrůdy

Abstract

In the years 2019-2020, the yield characteristics of the Czech variety Tereza and some European varieties of alfalfa were evaluated in field conditions. In years 2019 and 2020 the yields of green matter and hay were evaluated. There were statistically significant differences between the varieties in the first and second year of use.

Key words: alfalfa, yields, Czech varieties, European varieties

Úvod

Vojtěška setá je jednou z nejdůležitějších pícnin na světě nejen pro vysoké výnosy zelené píce a sena, ale také pro vysokou nutriční hodnotu ve výživě přežvýkavců. Hodnota výnosů závisí na genotypu odrůd, ekologických podmínkách a biologických faktorech. Odrůdy, které jsou vyšlechtěny pro konkrétní ekologické podmínky, dávají na těchto lokalitách vyšší výnosy (Julier, 1996). Odrůdy, ze vzdálených regionů jsou méně adaptovatelné a dosahují nižších výnosů (Katić et al., 2004). Výnos píce je ovlivňován nejenom agrotechnickými zásahy a ekologickými podmínkami, ale závisí také na biologických vlastnostech a morfologických charakteristikách odrůd (Vágnerová, 1972).

Materiál a metody

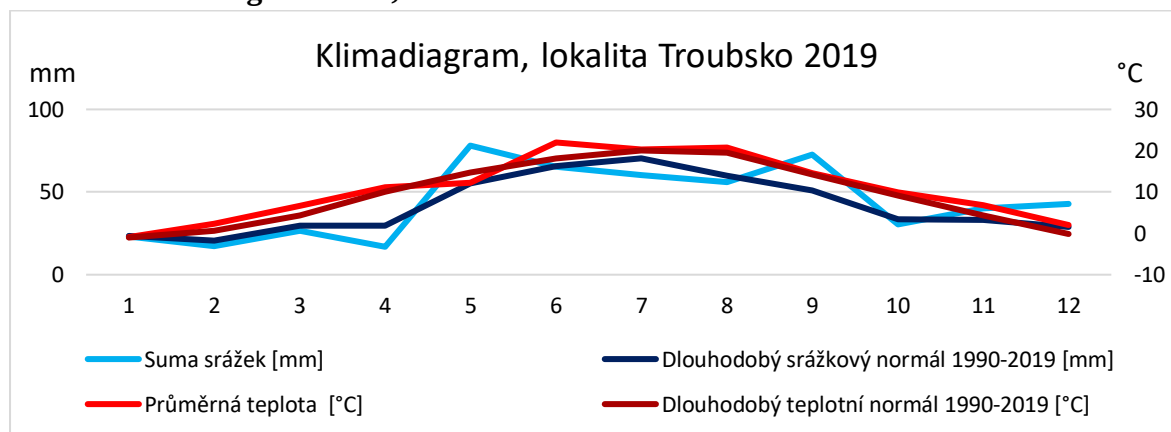
V roce 2018 byl založen polní pokus s šesti evropskými odrůdami vojtěšky seté (Creno, K22, K28, Banat VS, Lesina a SW Nexus) pro srovnání jejich výkonnosti s českou odrůdou Tereza. Pokus byl založen metodou znárodněných bloků ve třech opakováních při velikosti parcel 10 m² v lokalitě Troubsko. Pokusná lokalita Troubsko se nachází v řepařské výrobní oblasti. Půda v místě pokusů je klasifikována jako luvizem modální, zrnitostním složením hlinitá až jílovitohlinitá s půdní reakcí neutrální. Dlouhodobý průměr ročního úhrnu srážek (1990-2019) je 500,9 mm, z toho ve vegetačním období (březen – říjen) 394,8 mm, dlouhodobá průměrná roční teplota 9,5 °C, ve vegetačním období (březen – říjen) 13,79 °C. Průměrná zásoba P střední, zásoba K dobrá, zásoba Mg vysoká, dlouhodobý obsah humusu 1,61 % tzn. obsah nízký, půdy jsou tedy mírně humózní.

Hodnocení výnosů zelené hmoty a sena se uskutečnilo v letech 2019 a 2020. Výsledky byly zpracovány metodou analýzy rozptylu užitím statistického softwaru Statistica 12 a následným testováním statistické významnosti rozdílů středních hodnot pomocí Tukeyova testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

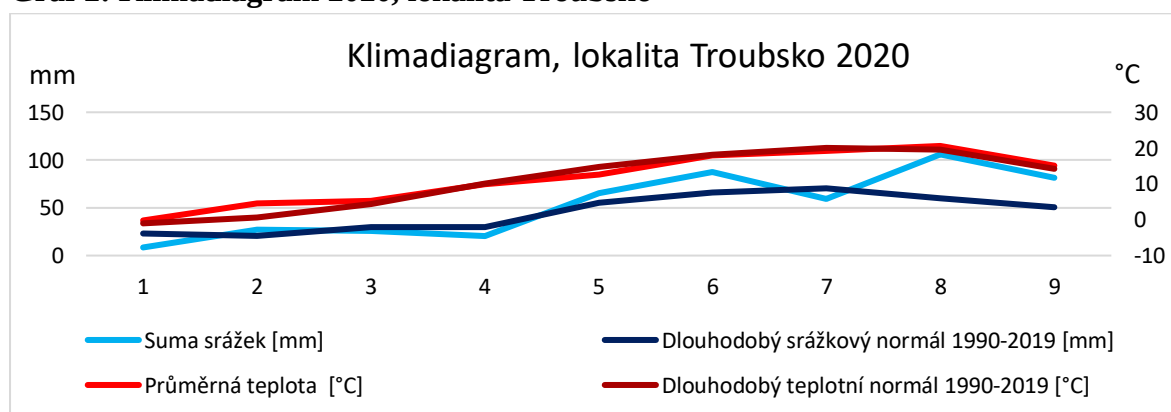
Vegetační rok 2019 byl teplotně nadnormální a srážkově podnormální. Rychlý nástup jara a dostatečná vlhkost půdy působily příznivě pro rychlý vývoj rostlin. V květnu byl zaznamenán vysoký úhrn srážek (78,1 mm = 141,23 % dlouhodobého normálu). Ostatní měsíce během vegetačního období byly mírně pod normálem, ale produkce biomasy vojtěšky byla pozitivně ovlivněna pravidelným rozložením srážek. Vyšší srážkový úhrn oproti dlouhodobému normálu byl dále zaznamenán v měsíci září, listopad a prosinec. V roce 2019 bylo provedeno pět vážených sečí.

Vegetační rok 2020 lze charakterizovat jako mírně teplotně nadnormální. Jak ukazuje graf 2, měsíční úhrny srážek byly v měsících leden, březen, duben a červenec pod dlouhodobým normálem, zatímco v měsících únor, květen a červen nad dlouhodobým normálem. Zima byla velmi mírná a sněhová pokrývka se vyskytovala jen ojediněle, což je na klimatické podmínky této lokality netypické. V měsíci leden byla nesouvislá sněhová pokrývka pouze 5 dní a v měsíci únoru nasněžilo 1 cm sněhu ve dvou dnech. Počátek vegetace byl ovlivněn nedostatkem srážek což se mohlo projevit na nižší rychlosti růstu rostlin v první seči, neboť první větší déšť přišel až téměř před sečí ve druhé polovině května. V průběhu jara nebylo zaznamenáno poškození porostu mrazem, neboť teploty téměř neklesly do záporných hodnot. V roce 2020 byly provedeny čtyři vážené seče.

Graf 1: Klimadiagram 2019, lokalita Troubsko



Graf 2: Klimadiagram 2020, lokalita Troubsko



Výsledky

V 1. seči prvního užitkového roku (2019) se průměrné výnosy zelené hmoty pohybovaly od 36,43 do 40,88 t.ha⁻¹, ve druhém užitkovém roce (2020) od 29,21 do 36,43 t.ha⁻¹ (tab.1). V prvním roce byl zaznamenán nejvyšší výnos u švédské odrůdy Lesina, která překonala odrůdu Tereza o 8,3 %. Mezi zkoušenými odrůdami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl s výjimkou dánské odrůdy Creno, která byla statisticky průkazně překonána odrůdou Lesina.

Ve druhém roce byl nejvyšší průměrný výnos 1. seče dosažen odrůdou Tereza. Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn mezi odrůdami Lesina x Tereza, Creno, K22, SW Nexus. V celkové roční produkci zelené hmoty se v roce 2019 pohybovaly průměrné výnosy od 95,04 do 106,60 t.ha⁻¹, v roce 2020 pak od 70,56 do 85,33 t.ha⁻¹. V roce 2019 byla nejvyšší průměrná produkce dosažena švédskou odrůdou SW Nexus, která statisticky průkazně překonala ostatní zkoušené odrůdy s výjimkou odrůd Tereza, Banat VS a Lesina. V roce 2020 byl nejvyšší průměrný celkový výnos zelené hmoty dosažen srbskou odrůdou Banat VS a mezi zkoušenými odrůdami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly s výjimkou švédské odrůdy Lesina.

Tab. 1: Průměrné výnosy zelené hmoty v t.ha⁻¹ s vyznačením statistické průkaznosti Tukey HSD testem (P≤0,05)

		2019						2020					
		1. seč			celkem			1. seč			celkem		
		t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.
Tereza	CZE	37,74 ^{ab}	100,0	6	104,16 ^{ab}	100,0	2	36,43 ^a	100,0	1	81,92 ^a	100,0	4
Creno	DNK	36,43 ^b	96,5	7	95,81 ^c	92,0	6	33,58 ^a	92,2	4	79,91 ^{ab}	97,5	5
K22	SRB	39,01 ^{ab}	103,4	5	98,58 ^{bc}	94,6	5	34,04 ^a	93,4	3	83,74 ^a	102,2	2
K28	SRB	39,03 ^{ab}	103,4	4	95,04 ^c	91,2	7	32,63 ^{ab}	89,6	6	76,70 ^{ab}	93,6	6
Banat VS	SRB	39,25 ^{ab}	104,0	3	102,27 ^{abc}	98,2	3	33,22 ^{ab}	91,2	5	85,33 ^a	104,2	1
Lesina	SWE	40,88 ^a	108,3	1	100,79 ^{abc}	96,8	4	29,21 ^b	80,2	7	70,56 ^b	86,1	7
SW Nexus	SWE	40,06 ^{ab}	106,2	2	106,60 ^a	102,3	1	35,76 ^a	98,2	2	82,82 ^a	101,1	3
DT (0,05)		3,85			7,73			4,04			9,35		
DT (0,01)		5,83			11,71			6,12			14,16		

Průměrné výnosy sena (tab.2) se v 1. seči prvního užitkového roku pohybovaly od 6,19 do 7,43 t.ha⁻¹, ve druhém užitkovém roce od 6,25 do 8,07 t.ha⁻¹. V prvním roce byl zaznamenán nejvyšší výnos u srbské odrůdy Banat VS, který statisticky průkazně překonal českou odrůdu Tereza. Naopak ve druhém roce zkoušení dosáhla odrůda Tereza nejvyšší výnos sena v první seči a statisticky průkazně překonala odrůdy Creno (DNK), K 28 (SRB) a Lesina (SWE). V celkové průměrné roční produkci sena se v roce 2019 pohybovaly výnosy od 19,83 do 22,06 t.ha⁻¹, v roce 2020 pak od 14,25 do 17,65 t.ha⁻¹. V roce 2019 byla nejvyšší produkce dosažena švédskou odrůdou SW Nexus a mezi výnosy zkoušených odrůd nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly. V roce 2020 česká odrůda Tereza statisticky průkazně překonala srbskou odrůdu K28 a švédskou odrůdu Lesina.

Tab.2: Průměrné výnosy sena v t.ha⁻¹ s vyznačením statistické průkaznosti Tukey HSD testem (P≤0,05)

		2019						2020					
		1. seč			celkem			1. seč			celkem		
		t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.	t.ha ⁻¹	% K	Poř.
Tereza		6,19 ^b	100,0	7	21,15 ^a	100,0	4	8,07 ^a	100,0	1	17,54 ^a	100,0	2
Creno		6,90 ^{ab}	111,4	2	20,68 ^a	97,8	5	6,70 ^{bcd}	83,1	5	15,96 ^{ab}	91,0	5
K22		6,85 ^{ab}	110,6	3	20,62 ^a	97,5	6	7,41 ^{ab}	91,8	3	17,65 ^a	100,6	1
K28		6,32 ^{ab}	102,1	6	21,44 ^a	101,4	3	6,50 ^{cd}	80,6	6	14,69 ^b	83,7	6
Banat VS		7,43 ^a	119,9	1	22,04 ^a	104,2	2	7,27 ^{abc}	90,2	4	16,27 ^{ab}	92,7	4
Lesina		6,50 ^{ab}	105,0	5	19,83 ^a	93,8	7	6,25 ^d	77,5	7	14,25 ^b	81,2	7
SW Nexus		6,82 ^{ab}	110,1	4	22,06 ^a	104,3	1	7,87 ^a	97,5	2	17,21 ^a	98,1	3
DT (0,05)		1,11			2,44			0,85			2,23		
DT (0,01)		1,68			3,70			1,28			3,38		

Závěr

Největších průměrných výnosů zelené hmoty a sena v celkové roční produkci dosáhla v prvním užitkovém roce (2019) švédská odrůda SW Nexus. Ve druhém užitkovém roce byla v produkci zelené hmoty nejvýnosnější srbská odrůda Banat VS a v produkci sena srbská K22. Česká odrůda Tereza statisticky průkazně překonala v celkové produkci zelené píče v roce 2019 odrůdy Creno a K28. Ve druhém užitkovém roce byla Tereza statisticky průkazně lepší v produkci zelené hmoty a sena než švédská odrůda Lesina. V roce 2019 nebyla v celkové produkci sena zjištěna mezi odrůdami statistická průkaznost. V roce 2020 česká odrůda Tereza statisticky průkazně překonala srbskou odrůdu K28 a švédskou odrůdu Lesina a švédská odrůda SW Nexus byla průkazně lepší oproti odrůdám Lesina a K28. Pro dosažení vysokých výnosů píče je důležitý výběr co nejvhodnější odrůdy do daných podmínek.

Použitá literatura

- Avci A. A., Ozkose A., Tamkoc A., 2013: Determination of yield and quality characteristics of alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties grown in different locations. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 12, (4): 487-490.
- Bláha L. et al., 2003: Rostlina a stres. VÚRV, Praha, 156 s.
- JULIER B., 1996: Traditional seed maintenance and origins of the French lucerne landraces. *Euphitica*, 92: 353-357.
- Katić S., Mihailović V., Milić D., Karagić E., Pataki I., 2004: Variability in dry matter yield and morphological characteristic of Lucerne cultivars depending on geographic origin. *Grassland Science in Europe*, 9: 407-409.
- Lamb J. F. S., Sheaffer S. C., Samac D. A., 2003: Population density and harvest maturity effects on leaf and stem yield in Alfalfa. *Agron. J.*, 95: 635-641.
- Procházka S., Macháček I., Krekule J., Šebánek J. et al., 1998: Fyziologie rostlin. Academia, 484 s.
- Vágnerová, V., 1972: Šlechtění polních plodin III. Vytrvalé pícniny. Vysoká škola zemědělská v Brně, 75 s.

Poděkování

Príspevek 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-RO1720, financovaného Ministerstvem zemědělství.

Kontaktní adresa:

Ing. Daniela Knotová, Ph.D.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1, 66441 Troubsko,
email: knotova@vupt.cz

PŘÍPADOVÁ STUDIE EKONOMICKO – ENVIRONMENTÁLNÍHO HODNOCENÍ NOVÝCH TECHNIK ŠLECHTĚNÍ

Economical and environment evaluation of a new breeding technigue – case study approach

Nedělník J.¹, Kubáňková, M.¹ Hyršlová, J.² Jakešová, H.³ Řepková, J.⁴, Trněný, O.¹,
Novotný, P.⁵

¹*Zemědělský výzkum, spol. s.r.o. Troubsko*

²*Aktivita pro výzkumné organizace, o. p. s*

³*Hana Jakešová, CSc. Šlechtění trav a jetelů*

⁴*Masarykova Universita Brno*

⁵*ESSENCE LINE, s.r.o.*

Abstrakt

Růst celosvětové populace vytváří obrovský tlak na biologické zdroje, které jsou využívány na hranici únosnosti. Evropské zemědělství je vystaveno celé řadě faktorů, především politických, které směřují na snižování negativních dopadů zemědělské činnosti na životní prostředí. V souladu s platnou evropskou legislativou zůstávají náhodné procesy mutagenese a metody založené na analýze stávající genetické variability jedinými dostupnými nástroji pro zemědělskou praxi, neustálý rozvoj těchto nástrojů lze identifikovat jako jeden z klíčových faktorů zemědělství. Cílem příspěvku je s využitím případové studie nových technik šlechtění demonstrovat přínosy tohoto přístupu, a to v ekonomické, environmentální a sociální perspektivě.

Klíčová slova: hodnocení, bioekonomie, nové technologie šlechtění, čip

Abstract

The growth of the world's population is putting an enormous pressure on biological resources that are being exploited at the limit of their carrying capacity. European agriculture is exposed to a few factors, particularly the need to reducing negative environmental impact of agricultural activity is a current crucial challenge. In line with the European legislation, random mutagenesis processes and methods based on the analysis of existing genetic variability remain the only tools available for agricultural practice. The continuous development of these tools can be identified as one of the key factors in agriculture research and development. The aim of the paper is to use a case study of a new breeding tool to demonstrate the benefits of this approach, in economic, environmental and social perspectives.

Key words: evaluation, bioeconomy, new technologies of breeding, chip

Úvod

Růst celosvětové populace vytváří obrovský tlak na biologické zdroje (Bracco et al., 2018), které jsou využívány dle některých autorů na hranici únosnosti (Egenolf a Bringež, 2019). Rok 2020 měl být „super rokem“ udržitelnosti, rokem posílení globálních opatření vedoucích k urychlení potřebných transformací k dosažení agendy 2030 (OSN, 2020). Evropská strategie růstu „Zelená dohoda“ (EU, 2019) si klade za cíl přeměnit EU na spravedlivou a prosperující společnost s moderní, konkurenceschopnou ekonomikou účinně využívající zdroje. Tato strategie je také stále více diskutována jako cesta pro ekonomicky restart po celosvětové pandemii COVID-19. Evropské zemědělství je vystaveno celé řadě faktorů, na které musí reagovat (Plieninger et al., 2016), a to zejména s ohledem na snižování negativních dopadů zemědělské činnosti na životní prostředí. Dne 20. května 2020 zveřejnila Evropská komise

novou strategii udržitelné zemědělské produkce “Od vidlí po vidličku” (Farm2Fork), orientovanou na alternativní biotechnologie kombinované s precizním zemědělstvím a bioekonomikou.

Nové šlechtitelské technologie jsou nezbytné pro udržitelnost produkce biomasy, potravinovou soběstačnost a pro rozvoj bioekonomiky (Malyska a Jakobi, 2018). Zemědělský a potravinářský průmysl hrají významnou roli pro potravinovou soběstačnost, jsou zdrojem energie a jejich role je klíčová pro fungování ekosystémů. Šlechtění rostlin ze své podstaty těží z nárůstu znalostí a metod, které se v poslední době objevily v oblasti molekulární biologie, genetiky a analýzy bioinformatiky. Tradiční proces šlechtění rostlin je založen na opakované fenotypové selekci, šlechtění jedné odrůdy je velmi dlouhý proces, který může trvat i 20 let. Využití nové progresivní molekulárně genetické analýzy může podstatně urychlit proces a je možné získat nové materiály pro šlechtění rostlin se specifickými vlastnostmi požadovanými praxí za podstatně kratší dobu. Tlak na přesouvání výroby a snižování negativních dopadů na životní prostředí vyžaduje nová řešení a nástroje, které může zemědělská praxe implementovat, proto je nová progresivní molekulárně genetická analýza perspektivní a nezbytná. Je třeba také poukázat na to, že zemědělský výzkum a inovace vytváří pro šlechtitele a zemědělce nové metody, postupy a nástroje, které podporují dlouhodobou udržitelnost; nové evropské strategie nejen, že transformaci na dlouhodobě udržitelný rozvoj vyžadují, ale zemědělství je chápáno jako vstupní článek bioekonomiky. Udržitelně produkované potraviny, krmiva a zdroje pro další průmyslová odvětví nebude bez nových šlechtitelských technologií myslitelné.

Cílem příspěvku je diskutovat o ekonomických, environmentálních a sociálních výhodách intenzivnějšího zapojení uživatelů s využitím případová studie projektu zaměřeného na nové šlechtitelské techniky, zejména nového populačních čipu pro šlechtění nových odrůd jetelů.

Materiál a Metody

Stávající politika a legislativa zakazují použití genetických modifikací a cílené genetické úpravy. Proto náhodné procesy mutagenese a metody založené na analýze stávající genetické variability zůstávají jedinými dostupnými nástroji pro šlechtitele. Neustálý rozvoj těchto nástrojů lze identifikovat jako jeden z klíčových faktorů zemědělství (Plieninger a kol., 2016), protože by měly podporovat šlechtitele a zemědělské postupy při řešení problémů spojených se změnou klimatu, civilizačními chorobami a výzvami oběhového hospodářství a biohospodářství.

Intenzivnější zapojení uživatelů – stakeholderů, tzv. “multi actor approach”, umožňuje aktivní participaci více stakeholderů, proto, aby výsledkem výzkumu a vývoje (dále jen “VaV”) bylo nejlepší řešení. Intenzivnější zapojení uživatelů využívá komplexních a doplňujících se znalostí jak výzkumných pracovníků, tak zástupců praxe, kteří spojí síly při realizaci projektu od začátku do konce. Na rozdíl od transferu technologií, což je spíše lineární proces, kdy jsou výsledky VaV transferovány konečným uživatelům (Ingram et al., 2018). Čím jsou uživatelé intenzivněji zapojeni a mobilizováni po celou dobu průběhu VaV projektů (Berthet et al., 2016, Ingram et al., 2018), plynule komunikují a soustavně spolupracují (Bielak et al., 2008; Prost et al., 2017), tím rychleji pak celý inovační proces probíhá s úspěšnou koncovkou aplikace výsledků VaV do praxe.

Případová studie umožňuje využít přístup aplikované teorie založené na důkladných znalostech praxe, popisu chování konkrétního prostředí (Argyris & Schon, 1974), projektu a umožňuje zkoumat vzájemné vztahy a souvislosti (Zeithaml et al., 2020). Výhodou tohoto přístupu je aktivní účast výzkumných pracovníků, která odpovídá aktivní participaci uživatelů, proto byl tento přístup pro řešení použit.

Jetel společně s vojtěškou jsou nejpěstovanějšími a nejvýnosnějšími druhy píce, které produkují až 2,3 tuny bílkovin na hektar (Huyghe & Peyraud 2015). Tyto dva druhy mají vhodné agroekologické vlastnosti, vojtěška je odolnější vůči suchu než jetel, zatímco jetel je tolerantnější k mírně kyselým půdám. Krmné leguminozy se v Evropě široce pěstují (2,5 milionu hektarů v Evropě), převážně vojtěška a jetel červený (Annicchiarico et al., 2015). Jetel je spolu s vojtěškou jednou ze dvou hlavních píce, které jsou důležitým zdrojem bílkovin v krmivech pro hospodářská zvířata. V současné době je pro potřeby pěstitele v Evropské unii k dispozici 237 odrůd jetelů lučních podle Společného katalogu odrůd, které ve větší či menší míře splňují požadované požadavky pěstitele na povahu plodiny. Některé odrůdy byly zařazeny do katalogu po celá desetiletí, proto nemohou uspokojit vznikající potřeby zemědělské praxe a reagovat na měnící se klima.

Nově dostupné nástroje pro genotypizaci tak mohou významně zlepšit agronomicky významné vlastnosti jetelů, zejména výnos, odolnost vůči biotickému a abiotickému stresu. Tyto nástroje mohou poskytovat větší odolnost vůči patogenním činitelům. Tyto techniky ale také umožňují šlechtění odrůd s vyšší aktivitou polyfenol oxidáz; odrůdy, jejichž proteiny jsou chráněny proti degradaci během silážování a před zkrmením; odrůdy s nižším obsahem fytoestrogenů, zejména isoflavonoidů, které příznivěji ovlivňují hormonální biologický rytmus krmených zvířat a pomáhají předcházet snížené plodnosti nebo snížené produkci mléka. Významná je také možnost šlechtění na zvýšenou úroveň fixace vzdušného dusíku. Ověření a identifikace odrůd je také velkým potenciálem pro využití genotypizace, protože odrůdy jsou stále částečně variabilní, což znamená, že je také jejich skutečná identita a genetická úroveň deklarovaná součtem přítomných alel. Ve srovnání s konvenčním šlechtěním je možné nejen dobu šlechtění nové odrůdy výrazně zkrátit, ale zejména lze významně dosáhnout vyšší kvality výsledku. Časový faktor není možno definovat vzhledem k současné změně klimatu a nepředvídatelnému globálnímu vývoji.

Výsledky a diskuze

Vybraný projekt je zaměřen na nové šlechtitelské techniky, zejména molekulární markery a jejich využití při koncipování čipu pro šlechtění nových odrůd jetelů. Projekt odráží potřeby šlechtitelů, neboť přináší moderní nástroje v podobě sady molekulárních markerů asociovaných s vybranými znaky. Projekt začal výběrem genotypů jetelů diploidního a tetraploidního charakteru, byl použit šlechtitelský materiál od české šlechtitelské firmy. Z vybraných rostlin byly odebrány vzorky pro izolaci DNA a zpracovány hromadně, byly připraveny knihovny genomu a výsledky sekvenování zpracovány s využitím bioinformatiky. Na fenotypová a genotypová data byla použita genomová asociační studie (GWAS).

Naše pozorování ukázalo, že v diskusích na setkáních projektového týmu nedominovali ani výzkumníci, ani podnikatelé. Diskuse se týkaly sběru fenotypových dat, dodatečného hodnocení (především základních měření a morfologického popisu). Znalosti byly plynule sdíleny mezi všemi členy týmu, a to jak vertikálně (koncoví uživatelé - výzkumní pracovníci; výzkumní pracovníci - koncoví uživatelé), tak horizontálně (senior - junior a junior - senior). Proces rozhodování byl založen na konsensu. Výsledek projektu odpovídá poptávce koncového uživatele při řešení alternativních šlechtitelských přístupů a poskytuje moderní sadu nástrojů v podobě sady molekulárních markerů urychlujících šlechtění rostlin na 5 až 8 let. V souladu s hlavním cílem tohoto příspěvku byl projektu vyhodnocen z hlediska ekonomických, environmentálních a sociálních výhod, které případový projekt přináší zúčastněným stranám identifikovaným, přičemž byla použita typologie zúčastněných stran v souladu s Ackermann a Eden (2011).

Projekt přináší vysoce inovativní nástroje pro tvorbu nových materiálů pro šlechtění rostlin, které zlepšují kvalitu a umožňují vyšlechtit nové odrůdy v kratším čase, proces lze snížit přibližně o 8 let, ušetřit náklady a také urychlit komercializaci. Nová odrůda bude odolnější vůči různým stresům, a proto by měla vyžadovat méně nebiologických vstupů, což z dlouhodobého hlediska zlepšuje dopad zemědělství na životní prostředí. Aktivní diskuse se šlechtiteli, potažmo se zemědělci je nezbytná pro jejich akceptaci nových nástrojů a šlechtitelských materiálů. Účast na vytváření znalostí, sdílení znalostí a forem spolupráce při řešení problémů jsou skvělou příležitostí pro účastníky projektu získat nové znalosti a rozvíjet nové dovednosti. Vědecké publikace, které shrnují získané poznatky, mohou inspirovat další výzkumné týmy k dalšímu vývoji nových šlechtitelských technik nebo zkoumat další vlastnosti jetele. Výsledky projektu tímto podporují inovace, vytváření nových znalostí, které lze v budoucnu komercializovat. Ministerstvo zemědělství může do koncepce strategického výzkumu zařadit další výzkumné projekty zaměřené na moderní molekulární postupy. Ministerstvo životního prostředí může sledovat snižování negativních dopadů na životní prostředí a přírodní kapitál (zejména půdu). Výhody pro jednotlivé skupiny stakeholderů jsou shrnuty v tabulce č. 1.

Tab. 1: Stakeholders' benefits

Stakeholder	Ekonomická	Environmentální	Socialní
Členové týmu	Příjmy z licencí		Znalosti a zkušenosti
Výzkumníci	Nová inspirace pro projekty		
Šlechtitelé		Nová odrůda	
Zemědělci	Vyšší produkce	Nová odrůda	Znalosti a zkušenosti s novými technikami šlechtění
Innovation brokers	Rozšíření poradenské činnosti		
Agrární komora	Rozšíření poradenské činnosti	Enviromentálně příznivý způsob šlechtění a zemědělské činnosti	
Genové banky		Nová položka kolekce	
Ministerstvo zemědělství	Podklad pro koncepci zemědělského výzkumu		
Ministerstvo životního prostředí		Podklad pro sledování snižování negativních dopadů na životní prostředí na přírodní kapitál (zejména půdu)	

Zdroj: Autoři

Závěr

Rostoucí počet lidí na celém světě potřebuje stabilní potravinovou základnu, což je problém, který musí zemědělství řešit. Zemědělství a potravinářský průmysl hrají klíčovou roli jak v zásobování potravinami, tak v řízení krajiny; současné výzvy v oblasti změny klimatu a nových

patogenních činitelů je třeba řešit okamžitě. Bude nutné transformovat zemědělskou produkci na dlouhodobě udržitelné zemědělství, které šetří půdu, vodu a genetické zdroje a je ekologicky vhodné, ekonomicky životaschopné a sociálně přijatelné. V posledním desetiletí byly vyvinuty metody genotypování celého genomu, není třeba sledovat jeden nebo více genů z desítek tisíc. Konvenční metody selekce podle fenotypu lze rozšířit výběrem pro genetické markery spojené s agronomicky významnými znaky. Přesnější metody genotypování celého genomu a zdokonalení šlechtitelského procesu umožní rychlejší aplikaci. Pro úspěšný inovační proces je nezbytná úzká spolupráce výzkumných pracovníků a koncových uživatelů; ve srovnání s konvenčním šlechtěním lze celkovou dobu potřebnou ke šlechtění nové odrůdy významně snížit s vyšší kvalitou výsledku. Faktor času je stále důležitější vzhledem k aktuální změně klimatu nebo nepředvídatelnému globálnímu vývoji. Intenzivnější zapojení stakeholderů je přístupem, jak využít vědu při spoluvytváření udržitelnějšího světa a zemědělství, protože přináší ekonomické, environmentální a sociální výhody zúčastněným stranám, které jsou zapojeny do celého života projektu.

Použitá literatura

- Ackermann, F., & Eden, C. (2011): Strategic Management of Stakeholders: Theory and Practice. *Long Range Planning*, 44, 179-196.
- Berthet, E., Barnaud, C., Girard, N., Labatut, J., & Martin, G. (2016): How to foster agroecological innovations? A comparison of participatory design methods. *Journal of Environmental Planning and Management*, 59(2), 280-301.
- Bracco, S., Calicioglu, O., San Juan, M., & Flammini, A. (2018): Assessing the contribution of bio-economy to the total economy: A review of national frameworks. *Sustainability*, 10, 467-474.
- Egenolf, V., & Bringezu, S. (2019). Conceptualization of an indicator system for assessing the sustainability of the bio-economy. *Sustainability*, 11, 443-450.
- European Commission. (2015): *Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions: Closing the loop – An EU action plan for the Circular Economy*. EUR-Lex. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A52015DC0614>
- European Commission. (2020): *Farm to Fork Strategy: For a fair, healthy and environmentally-friendly food system*. European Commission. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/f2f_action-plan_2020_strategy-info_en.pdf
- Floress, K., Reimer, A., Thomsson, A., Burbach, M., Knutson, C., Prokopy, L., Rimbado, M., & Ulrich-Schad, J. (2018): Measuring farmers conservation behaviors: Challenges and best practices. *Land Use Policy*, 70, 414-418.
- Ingram, J., Dwyer, J., Gaskell, P., Mills, J., & de Woud, P. (2018): Reconceptualising translation in agricultural innovation: A co-translation approach to bring research knowledge and practice closer together. *Land Use Policy*, 70, 38-51.
- Malyska, A., & Jakobi, J. (2018): Plant breeding as the cornerstone of a sustainable bio-economy. *New Biotechnology*, 40, 78-92.
- Plieninger, T., Draux, H., Fagerholm, N., Bieling, C., Burgundský, M., Kizos, T., Kummerle, T., Primdal, J., & Verburg, P.H. (2016): The driving forces of landscape change in Europe: A systematic review of the evidence. *Land Use Policy*, 57, 204-214.
- Prost, L., Berthet, E.T.A., Cerf, M., Jeuffroy, M., Labatut, J., & Meynard, J. (2017): Innovative design for agriculture in the move towards sustainability: scientific challenges. *Research in Engineering Design*, 28, 119-129.
- Project Everyone. (2020): *The 17 goals*. The Global Goals: For Sustainable Development. Retrieved April 15, 2020, from <https://www.globalgoals.org>

Zeithaml, V. A., Jaworski, B. J., Kohli, A. K., Tuli, K. R., Ulaga, W., & Zaltman, G. (2020): A theories-in-use approach to building marketing theory. *Journal of Marketing*, 84, 32-51.

Dedikace

Publikace vznikla s podporou projektu TA ČR TH02010351.

Kontaktní adresa:

RNDr. Jan Nedělník, PhD.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
664 41 Troubsko, Zahradní 1
e-mail: nedelnik@vupt.cz

VYUŽITÍ GENETICKÝCH MARKERŮ PRO OVĚŘENÍ ODRŮDOVÉ IDENTITY MERUNĚK

Application of genetic markers for identity verification of apricots

Nekvindová, V., Žďárská, I., Čmejlová, J.

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.

Abstrakt

Meruňka obecná (*Prunus armeniaca* L.) patří mezi jeden z nejoblíbenějších ovocných druhů. Ve světě tudíž existují stovky odrůd, každý rok jsou registrovány nově vyšlechtěné odrůdy, a navíc jsou množeny a distribuovány desítky tisíc kusů stromů, jejichž pravost je třeba ověřovat. Klasický způsob ověření pravosti odrůdy založený na několikaletém fenologickém hodnocení může být značně zjednodušen a urychlen využitím molekulárních metod. V současné době jsou nejpožívanějšími markery pro genotypizaci tzv. SSR markery, fungující na principu délkové odlišnosti těchto sekvencí mezi jednotlivými odrůdami. Jelikož neexistuje standardizovaná identifikační sada genetických markerů, zaměřili jsme se v naší práci na vývoj sady SSR markerů pro spolehlivou identifikaci existujících odrůd meruněk. Pro první kolo selekce bylo z literatury vybráno 48 SSR markerů, jejichž rozlišovací schopnost byla testována fragmentační analýzou na kapilárním genetickém analyzátoru na 24 odrůdách. Na základě počtu alel, frekvence jejich výskytu, očekávané heterozygosity, pozorované heterozygosity a dalších parametrů, bylo pro druhé kolo analýz vybráno 24 SSR markerů. Fragmentační analýzy byly tentokrát provedeny na celkem 53 odrůdách meruněk. Na základě výše uvedených parametrů bylo vybráno 16 nejheterogennějších SSR markerů rovnoměrně zastoupených na všech chromozómech. Pravděpodobnost identity mezi dvěma nepříbuznými jedinci byla pouze $6,45 \times 10^{-20}$, rozlišovací schopnost vybrané sady SSR markerů je tedy velmi dobrá. Vybraná sada SSR markerů je tak vhodná pro rutinní a velmi rychlou identifikaci odrůd meruňky obecné.

Klíčová slova: *Prunus armeniaca* L., odrůda, SSR markery, genotypizace

Abstract

Apricot (*Prunus armeniaca* L.) is one of the most popular fruit species. Thus hundreds of cultivars exist worldwide. Each year new bred cultivars are registered and tens of thousands of trees are propagated and distributed. The classical method of cultivar control based on several years of phenological evaluation can be well simplified using molecular methods. Currently, the most used markers for genotyping are so called SSR markers, operating on principle related to the length differences of these sequences between cultivars. Since no standardized identification set of genetic markers is available, we focused our work on the development of SSR markers sets enabling reliable identification of existing apricot varieties. In the first round of SSR marker selection, we selected 48 markers and tested their efficacy on 24 cultivars by fragment analysis on capillary genetic analyzer. Based on the number of alleles, the frequency of their occurrence, the expected heterozygosity, the observed heterozygosity and others, 24 SSR markers were selected for the second round of analyses. Fragment analyses were performed on 53 apricot cultivars in this case. Based on the above parameters, the 16 most heterogeneous SSR markers evenly distributed throughout all chromosomes were selected. The probability of identity between two unrelated individuals is only 6.45×10^{-20} , so the resolution of the selected set of SSR markers is very good. The selected set of SSR markers is thus suitable for routine and very fast identification of apricot cultivars.

Key words: *Prunus armeniaca* L., cultivar, SSR markers, genotyping

Úvod

Meruňka obecná (*Prunus armeniaca* L.) je jedním z nejoblíbenějších druhů peckového ovoce. Na světě existuje přibližně 800 odrůd meruněk. Z toho v České republice bylo v roce 2020 zaregistrováno pro uznávání a uvádění do oběhu 35 odrůd (Buchtová, 2019). Tyto odrůdy se liší mnoha vlastnostmi, ať již se jedná o odolnost vůči chorobám, vhodnost pěstování v různých lokalitách, cizosprašnost/samosprašnost, vlastnosti plodů nejen z hlediska zpracování a další charakteristiky. Z tohoto důvodu pěstitelé věnují pečlivou pozornost výběru odrůdy, kterou chtějí vysadit ve svých zahradách či sadech, a právem vyžadují při nákupu nových stromků deklaraci odrůdové pravosti a odrůdové čistoty, která je zárukou požadovaných hospodářských vlastností. Identita vegetativně množeného materiálu je důležitá zejména v ovocnářství, jelikož se jedná o takzvané trvalé kultury. Metody identifikace a vzájemného rozlišování odrůd významných zemědělských plodin se v posledních letech vyvíjejí v rychlém tempu (Hu et al., 2018; Li et al., 2018). Souvisí to s obchodními aktivitami specializovaných firem, prodejem množeného materiálu i se šlechtitelskou praxí. S obchodováním jsou vždy spojeny problémy související s právní a obchodní ochranou zboží. Ochrana práv, která se váže na určitý rostlinný genotyp, resp. odrůdu, se na různých úrovních týká ochrany autorských práv jak samotného majitele odrůdy, tak i dalších, kteří s odrůdou manipulují, např. na základě licence. Identifikační systémy jsou nezbytné i pro producenty stromků (školkaře) a majitele sadů a vymezují odpovědnost dodavatelů v různých fázích dodavatelského řetězce. Jen v tuzemském ovocnářství jsou ročně vyprodukovány a prodány desítky tisíc kusů stromků a v letech 2012 až 2018 se v průměru každoročně sklídilo téměř 7000 tun plodů (Buchtová, 2019).

Podmínkami pro registraci nové odrůdy je zjištění, že je odlišná od dříve registrovaných odrůd, vykazuje uniformní a stálé znaky, nese název vyhovující požadavkům dle zákona č. 408/2000 Sb., o ochraně práv k odrůdám rostlin a zákona č. 92/1996 Sb. o odrůdách, osivu a sadbě pěstovaných rostlin, ve znění pozdějších předpisů a má zajištěné udržovací šlechtění. Pro registraci nové odrůdy ovoce se proto provádí takzvané zkoušky odlišnosti, uniformity a stálosti (DUS testy). Pouze při splnění všech výše uvedených požadavků je nová odrůda registrována a jsou uvedeny její vlastnosti na základě kterých může být identifikována. Tento klasický způsob ověření pravosti odrůdy je založený na několikaletém fenologickém subjektivním hodnocení s pomocí schválených deskriptorů pro konkrétní ovocný druh. Toto hodnocení však může být ovlivněné např. různorodými povětrnostními podmínkami, lidským faktorem nebo škůdci. Odlišnost odrůd je zpravidla posuzována vzhledem ke kolekci standardních odrůd v odrůdové zkušebně. Udržování této kolekce je však značně prostorově, materiálně i personálně náročné. Kolekce také nemusí obsahovat všechny známé odrůdy. Mnohem rychlejší určení identity jednotlivých odrůd mohou nabídnout molekulárně genetické analýzy. U řady rostlinných i živočišných druhů se spolehlivým a dostupným způsobem identifikace pro svoji početnost a variabilitu v genetické informaci ukázaly ideální SSR markery (simple sequence repeat). Ty jsou tvořeny krátkými tandemově se opakujícími sekvencemi lišícími se svojí délkou mezi jednotlivými odrůdami (Schlötterer, 2004). Kombinací délek několika SSR markerů pak vzniká genetický profil unikátní pro určitý genotyp. Čím více analyzovaných lokusů a čím variabilnější SSR markery jsou, tím je jedinečnější výsledný profil SSR markerů a menší pravděpodobnost náhodné shody dvou organismů. Mezi důležité znaky SSR markerů pro genotypizaci patří přiměřený délkový polymorfismus, výskyt markeru v jediném lokusu genomu, v ideálním případě nevyskytující se tzv. nulové alely, které se používanými primery neamplifikují, a v kontextu více markerů je důležitá i jejich pozice v genomu, aby dva používané SSR markery nebyly ve vazbě (Saito et al., 2004). SSR markery je třeba hodnotit v kombinaci s dalšími SSR markery, hlavním požadavkem je pak minimalizace pravděpodobnosti shody profilu mezi nepříbuznými organismy. Pro srovnatelnost mezi jednotlivými pracovišti jsou pro identifikaci nejen rostlinného materiálu vytvářeny

standardizované protokoly. Tyto protokoly definují profily doporučených genotypizačních SSR markerů u odrůd, jejichž pravost byla deklarovaná pomocí klasických metod.

Cílem naší práce bylo vytvoření sady SSR markerů pro spolehlivou identifikaci existujících odrůd meruněk, a to zejména těch pěstovaných v České republice. Celá práce je koncipována v několika krocích zahrnujících (1) literární rešerši SSR markerů meruňky obecné (*Prunus armeniaca* L.), meruňky japonské (*Prunus mume* (Siebold) Siebold & Zucc.) a broskvoně obecné (*Prunus persica* (L.) Batsch) coby blízkých příbuzných meruňky obecné, (2) ověření identity a výběr těch nejvíce heterogenních SSR markerů pro vývoj identifikační sady na vybraném souboru odrůd, (3) vytvoření multipexů z vybraných SSR markerů a (4) ověření vybrané sady SSR markerů na 258 odrůdách meruňky obecné. Tento článek popisuje provedení prvních dvou kroků, kdy byl dokončen výběr SSR markerů pro identifikaci odrůdové pravosti meruněk.

Materiál a metody

Pro uskutečnění genetické analýzy bylo z více než 30 publikací získáno 236 SSR markerů meruňky obecné, meruňky japonské a broskvoně obecné (viz použitá literatura). Z identifikovaných SSR markerů bylo na základě počtu alel a publikované pozorované heterozygocity vybráno 6 markerů z různých oblastí každého z 8 chromozomů meruňky, tedy celkem 48 různých SSR markerů.

V průběhu roku 2019 byly zajištěny vzorky rostlinného materiálu (mladé listy) 258 odrůd meruněk v duplikátech a byla vytvořena banka DNA. Pro první kolo analýz bylo z této banky genotypů vybráno 24 různých odrůd pocházejících z různých eko-geografických skupin. Evropské odrůdy tvořily nejpočetnější skupinu výběru, protože je primárním cílem práce rozlišení odrůd meruněk pěstovaných na našem území. Byly však zastoupeny i asijské a severoamerické genotypy. Byly vybrány co nejméně příbuzné odrůdy pro co nejlepší charakterizaci SSR markerů a co nejvyšší počet získaných alel. Druhé kolo analýz bylo prováděno na 53 odrůdách, které zastoupení odrůd ze všech eko-geografických skupin rozšiřuje.

Celková genomická DNA byla extrahována dle návodu Exgene Plant SV mini kit (GeneAll). Přibližně 100 mg mladých listů, mražených suchým ledem, bylo homogenizováno pomocí oscilačního mlýnu MM 400 (Fisher Scientific). Po odstranění kovových kuliček se již postupovalo dle návodu extrakčního kitu. Koncentrace vyjádřená v [ng/μL] a čistota vzorku jako poměr naměřených hodnot při vlnových délkách 260/280 nm byly měřeny spektrofotometricky (NanoDrop Lite, ThermoFisher Scientific). Koncentrace byla upravena na 10 ng/μL. Eluovaná DNA byla uchována pro další použití při -18 °C.

Ověření přítomnosti SSR markeru a jeho zamapování byly provedeny amplifikací genomické DNA za použití publikovaných primerů a osekvenováním vzniklých fragmentů. Amplifikace izolované genomické DNA byla provedena polymerázovou řetězovou reakcí (polymerase chain reaction, PCR) za použití 48 párů primerů (EastPort) vybraných SSR markerů. PCR reakce byla realizována v objemu 20 μl a reakční směs obsahovala 10 μl Phusion Flash High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific), 0,5 μM každého primeru, vodu a 10 ng genomické DNA. Výchozí teplotní podmínky PCR reakce byly následující: počáteční denaturace 5 min při 98 °C následovaná 40 amplifikačními cykly (denaturace 10 s při 98 °C, hybridizace primerů 10 s při 52 °C, elongace 10 s při 72 °C) a závěrečnou polymerací 10 s při 72 °C. Pro většinu markerů musely být podmínky PCR reakce specificky optimalizovány např. snížením či zvýšením teploty nasedání primerů. Amplifikace lokusů všech vybraných 48 markerů a následná optimalizace reakce byly prováděny na termocykleru T100TM (Bio-Rad).

Analýza amplifikovaných PCR produktů byla prováděna elektroforeticky v 3 % agarózovém gelu. K potvrzení amplifikace lokusu daného SSR markeru byly PCR produkty z gelu purifikovány pomocí izolačního kitu ExpinTM Combo GP podle návodu výrobce (GeneAll). Eluovaná DNA byla sekvenována kitem BigDyeTM Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific) dle návodu výrobce na genetickém analyzátoru ABI PRISM 3500 (Thermo Fisher Scientific). V sekvencích byla vyhledána repetitivní oblast a čitelné části sekvence byly následně ověřeny v databázi NCBI a zamapovány. Vzhledem k tomu, že kompletní genom meruňky nebyl v roce 2019 v databázi NCBI přístupný, byl pro mapování použit genom blízce příbuzné meruňky japonské (*Prunus mume*). Správné zamapování sekvenované sekvence bylo ověřeno u všech analyzovaných markerů. Téměř všechny markery se podařilo zamapovat na konkrétní místo tohoto genomu a toto umístění bylo shodné s předpokládanou pozicí podle literatury.

První kolo selekce SSR markerů bylo prováděno fragmentační analýzou na vzorcích DNA izolované z 24 odrůd s použitím všech 48 párů specifických primerů, přičemž forwardový primer byl FAM fluorescenčně značený (EastPort). Amplifikační reakce byla přizpůsobena na míru každému markeru pro dosažení, co možno nejlépe interpretovatelných výsledků fragmentační analýzy (teplota nasedání primerů byla nastavena na 52 °C, počet cyklů amplifikace se u jednotlivých markerů lišil od 20 do 25, u špatně se amplifikujících markerů byla nastavena teplota nasedání primeru 50 °C a provedeno 28 cyklů amplifikace). Poté bylo k 1 µl PCR produktu přidáno 0,5 µl GeneScanTM 600 LIZTM dye Size Standard v2.0 a 15 µl Hi-DiTM formamid (obojí Thermo Fisher Scientific). Takto připravené vzorky byly denaturovány 2 min při 95 °C a analyzovány na genetickém analyzátoru ABI PRISM 3500. Fragmentační analýzy byly hodnoceny pomocí softwaru GeneMapper v5.0 (Thermo Fisher Scientific).

U SSR markerů byly hodnoceny délka jednotlivých alel, frekvence jejich výskytu v analyzovaném souboru odrůd, počet heterozygotů, byla vypočítána pozorovaná heterozygocita (H_o -observed) a očekávaná heterozygocita (H_e -expected, dle vzorce $H_e = 1 - \sum p_i^2$, kde p_i je frekvence výskytu jednotlivých alel daného markeru). Dalším posuzovaným parametrem byl rozdíl mezi heterozygocitou očekávanou (H_e) a heterozygocitou pozorovanou (H_o). Dále byla stanovena pravděpodobnost výskytu nulových alel vypočtená podle vzorce $(H_e - H_o)/(1 + H_e)$.

Výsledky a diskuze

Na základě výsledků úvodních fragmentačních analýz byly z dalšího testování vyřazeny tři markery. U zbylých 45 SSR bylo identifikováno 448 alel. Maximální počet alel u jednoho SSR markeru byl 16, minimální 4 a průměrný 10. Nejnížší očekávaná heterozygocita u SSR markeru byla 0,602, nejvyšší 0,923. Nejnížší pozorovaná heterozygocita u SSR markeru byla 0,292, nejvyšší 0,917. Výsledky jsou uvedeny v Tabulce 1. Příliš nízká pozorovaná heterozygocita oproti očekávané může nasvědčovat tomu, že se u daného markeru při fragmentační analýze vyskytují tzv. nulové alely způsobené mutací v místě nasedání primeru, kdy nedochází k amplifikaci této alely. Vzorek je pak nesprávně vyhodnocen jako homozygotní v tomto markeru, popřípadě u něj není amplifikována žádná alela. Významný rozdíl byl nalezen u 5 markerů a byl potvrzen hodnotami pravděpodobnosti výskytu nulových alel. Případný výskyt mutací v místě nasedání primerů není příliš překvapivý, neboť část primerů pro amplifikaci SSR markerů byla převzata z jiných rodů druhu *Prunus* a buď nebyla na meruňkách dosud použita, nebo byla použita pouze na malém souboru odrůd meruňky obecné.

Tabulka 1 Vyhodnocení vybraných SSR markerů na souboru 24 odrůd

SSR marker	Chromozom	Počet alel	H-observed	H-expected	SSR marker	Chromozom	Počet alel	H-observed	H-expected
96P10_SP6*	1	13	0,917	0,858	ssrPaCITA5	1	4	0,833	0,923
AMPA100*	6	9	0,750	0,771	ssrPaCITA7	1	11	0,833	0,826
AMPA101	3	8	0,792	0,763	ssrPaCITA10*	3	13	0,667	0,773
AMPA103	4	10	0,625	0,665	ssrPaCITA16	2	10	0,542	0,763
AMPA105*	5	12	0,750	0,814	ssrPaCITA17	1	9	0,917	0,826
AMPA114	7	10	0,917	0,807	ssrPaCITA19*	2	11	0,708	0,733
Aprigms19	8	13	0,833	0,745	ssrPaCITA21	5	10	0,583	0,623
BPPCT017	5	9	0,708	0,673	ssrPaCITA23	3	10	0,833	0,837
BPPCT038	6	13	0,833	0,851	ssrPaCITA27	2	9	0,500	0,798
BPPCT039*	3	11	0,792	0,794	UDAp-401	8	7	0,500	0,757
CPDCT028*	5	5	0,833	0,734	UDAp-404	4	7	0,292	0,839
CPPCT006*	8	11	0,792	0,842	UDAp-407*	7	8	0,833	0,793
CPPCT022*	7	16	0,875	0,898	UDAp-410*	1	9	0,833	0,832
CPPCT033	7	10	0,667	0,785	UDAp-414	1	10	0,708	0,783
CPSCT021*	2	10	0,708	0,734	UDAp-420	6	9	0,625	0,732
CPSCT039*	4	11	0,708	0,837	UDAP446	3	13	0,917	0,820
CPSCT042	7	10	0,708	0,786	UDAp-470	8	10	0,875	0,786
PacA33*	8	9	0,667	0,745	UDP97-401	5	6	0,625	0,661
PacC3	7	9	0,833	0,826	UDP97-402*	4	10	0,708	0,781
Pchcms5*	6	11	0,708	0,809	UDP98-409	8	12	0,833	0,878
Pchgms2	4	11	0,792	0,779	UDP98-411	2	9	0,667	0,665
ssrPaCITA2	4	11	0,750	0,777	UDP98-412	6	10	0,750	0,835
ssrPaCITA4	3	9	0,500	0,602					

*vybraná sada SSR markerů pro genotypizaci meruněk

Zároveň jsme kriticky zhodnotili i grafické výstupy fragmentačních analýz a jejich hodnotitelnost. Na jejich základě byly vyřazeny některé problematické SSR markery, tj. markery s několika alelami lišícími se o 1 nukleotid, což není pro rutinní hodnocení příliš vhodné, respektive SSR markery s problematickým tzv. stutterem, kdy je přesná délka alely obtížně vyhodnotitelná z důvodu mnoha vrcholů s přibližně stejnou výškou signálu a existuje zde riziko možného překryvu alel. Některé SSR markery byly vyhodnoceny jako potenciálně problematické, jelikož jedna, případně dvě alely poskytovaly jen velmi nízký signál v porovnání s ostatními alelami daného markeru. To může rovněž poukazovat na mutaci v místě nasedání primeru, stejně jako dříve zmiňovaná pravděpodobnost výskytu nulových alel. V případě nižší výšky signálu dané alely však případná mutace alespoň částečně zachovává amplifikovatelnost této alely při PCR. Po vytvoření multiplexů SSR markerů však hrozí, že se výška signálu těchto alel sníží na velmi nízkou až nedetekovatelnou úroveň. Z obou výše uvedených důvodů byla u potenciálně problematických markerů sekvenována místa nasedání primerů. Výskyt mutací v těchto oblastech byl v řadě případů potvrzen. Dle zjištěné sekvence byl navržen nový primer a celý proces hodnocení se opakoval.

Na základě výsledků fragmentačních analýz a hodnocení uvedeného výše bylo po analýze 24 odrůd vyřazeno 13 SSR markerů. Ze zbylých 35 SSR markerů bylo vybráno 3-6 markerů z jednotlivých chromozómů pro druhé kolo fragmentačních analýz, kdy byl počet analyzovaných odrůd rozšířen na 53. Opět byly zařazeny odrůdy pocházející z celého světa s převahou evropských odrůd a vybrány co nejméně příbuzné odrůdy. S původními, respektive upravenými primery byly provedeny fragmentační analýzy a jejich vyhodnocení proběhlo stejně jako v případě prvního kola analýz. Na základě výše uvedených parametrů byly vybrány

vždy dva nejheterogennější SSR markery z každého chromozómu, tj. celkem 16 SSR markerů, které v analyzovaném souboru odrůd vykázaly pravděpodobnost shody mezi nepříbuznými organismy $6,45 \times 10^{-20}$. Tyto markery budou zmultiplexovány do 4 multiplexů po 4 markerech, v případě výrazných délkových odlišností lze spojit více markerů do jedné reakce.

Identifikace rostlinného i živočišného materiálu pomocí molekulárních markerů se stala v minulých letech standardem. Zejména z důvodu ceny, snadné mezilaboratorní přenositelnosti metodiky a použití obvykle běžného laboratorního vybavení jsou hojně využívány SSR markery. Nejen pro ovocné plodiny jsou ověřené markery pro genotypizaci doporučeny mezinárodní skupinou ECPGR (The European Cooperative Programme for Plant Genetic Resources) zabývající se rostlinnými genetickými zdroji. Pro meruňky však sada SSR markerů doporučená ECPGR neexistuje. Několik sad SSR markerů bylo sice v minulosti publikováno, ovšem v žádné z těchto studií nebyl kladen dostatečný důraz na výběr SSR markerů, či sada nebyla ověřena na výběru odrůd napříč eko-geografickými skupinami. Například systém popsáný v Gurcan et al. (2015) za účelem hodnocení tureckého meruňkového genofondu využívá 18 SSR markerů, kdy však bylo jedenáct z nich umístěno pouze na prvním chromozomu v blízkosti lokusu resistance viru šarky švestek (PPV). Navíc při vývoji tohoto systému byly využity genetické zdroje pouze turecké, pákistánské a okrajově evropské. Dalším příkladem může být publikace Khadivi-Khub et al. (2015), kdy v práci zabývající se mimo jiné stanovením genetické příbuznosti mezi kultivary bylo testováno 13 broskvoňových a mandloňových SSR markerů na 37 tradičních iránských odrůdách. V této práci bylo identifikováno pouze 60 alel. Opět se tedy jednalo o omezené spektrum odrůd z hlediska původu a ani popisované SSR markery nebyly příliš heterogenní.

V tomto článku byl popsán postup výběru SSR markerů pro identifikaci odrůd meruněk. Pro vytvoření našeho detekčního systému byly využity SSR markery meruňky obecné, meruňky japonské a broskvoně obecné. Přenositelnost primerů SSR markerů mezi různými druhy byla ověřena v práci Dirlewanger et al. (2002), kde byla úspěšně otestována amplifikace vybraných markerů broskvoně u třešně ptačí, višně obecné, slivoně švestky, mandloně obecné, meruňky obecné a slivoně myrobalán. I podle našich zkušeností je možné primery pro amplifikaci SSR markerů přejmout z jiných druhů, je však třeba věnovat velkou pozornost tomu, zda amplifikují všechny alely se stejnou účinností, popřípadě se zde nevyskytují nulové alely. V závěru roku 2019 byl publikován genom meruňky obecné (Jiang et al., 2019), který je velkým přínosem pro ověřování sekvencí přejímaných primerů. Avšak ani po kontrole sekvence primerů v genomu meruňky nelze vyloučit, že se u některých odrůd budou vyskytovat v sekvenci, na kterou nasedá primer, polymorfizmy bránící úspěšné amplifikaci dané alely. Proto je třeba věnovat velkou pozornost hodnocení parametru pravděpodobnost výskytu nulových alel, respektive výšce signálu jednotlivých alel při fragmentační analýze a případně místo nasedání primerů u různých odrůd osekvenovat.

Pro genetickou analýzu identity jsou výhodné SSR markery s vysokou mírou polymorfizmu, je však třeba je hodnotit i v kombinaci s dalšími SSR markery. Pozornost je třeba věnovat tomu, aby analyzované markery nebyly ve vazbě, tj. aby se určitá alela jednoho markeru nevyskytovala vždy s určitou alelou druhého markeru. Z tohoto důvodu je vhodné používané markery rovnoměrně vybrat z celého genomu. V našem případě jsme do finální genotypizační sady vybrali vždy dva SSR markery z každého z osmi chromozómů meruňky obecné. Hlavním požadavkem na používanou sadu genotypizačních SSR markerů je pak minimalizace pravděpodobnosti shody profilu mezi nepříbuznými organismy. Čím více analyzovaných lokusů a čím variabilnější SSR markery jsou, tím jedinečnější je výsledný profil SSR markerů a menší pravděpodobnost náhodné shody různých odrůd. Při analýze 53 odrůd meruněk s minimální příbuzností a různým geografickým původem jsme při použití 16 SSR markerů

dosáhli pravděpodobnosti shody mezi nepříbuznými organizmy $6,45 \times 10^{-20}$. V případě zařazení dalších dvou velmi kvalitních SSR markerů je možné v našem případě snížit tuto pravděpodobnost až na $2,18 \times 10^{-22}$. Tato čísla jsou srovnatelná se systémem, který byl použit například pro identifikaci jabloní, kde bylo dosaženo pravděpodobnosti této shody $1,3 \times 10^{-22}$ (Urrestarazu et al. 2016). Zároveň je to mnohem nižší pravděpodobnost shody ve srovnání s původně FBI používaným systémem CODIS 13 pro identifikaci lidí ve forenzní genetice, kde tato pravděpodobnost byla u 13 použitých SSR markerů pouze $1,7 \times 10^{-15}$. Tento systém byl přesto ve své době považován za dostačující pro spolehlivou identifikaci lidského jedince (Reilly, 2001). V dnešní době používané systémy pro identifikaci osob jsou z pochopitelných důvodů nejdokonalejšími nástroji genotypizace genetického materiálu a v nejnověji vyvinutých komerčně dostupných soupravách pro identifikaci osob, například GlobalFiler™ od firmy Thermo Fisher Scientific využívající 24 amplifikovaných lokusů (<https://www.thermofisher.com/>) a PowerPlex FUSION 6C System™ od firmy Promega využívající 27 amplifikovaných lokusů (<https://worldwide.promega.com/>), byla snížena pravděpodobnost shody dokonce na $7,73 \times 10^{-28}$, respektive $2,30 \times 10^{-32}$. V případě osob je však třeba identifikovat člověka v rámci celosvětové populace čítající více jak 7 miliard jedinců. V případě ovocných plodin je to pouze několik tisíc, popřípadě několika málo desítek tisíc odrůd. Proto je dosahovaná pravděpodobnost shody mezi různými odrůdami u ovocných plodin považována za zcela dostačující, Urrestarazu et al. (2016) vyhodnotili hodnotu tohoto parametru $1,3 \times 10^{-22}$ dokonce jako vynikající.

V kontextu výše uvedených čísel se námi vybraná sada SSR markerů jeví jako velmi kvalitní a použitelná pro genotypizaci meruňky obecné. Vybraná sada SSR markerů tak přináší možnost přesné a rychlé detekce odrůd meruněk, která umožňuje značné zlepšení procesu ověřování a registrace odrůd.

Závěr

Vybrané molekulární markery lze efektivně použít k vytvoření detekčního systému pro ověření odrůdové identity meruněk. Vytvořením identifikační sady genetických markerů se známým profilem u pravých odrůd může být uvedena do praxe snadno přenositelná metodika sloužící ke spolehlivému a rychlému ověření prodáváného či množeného materiálu.

Použitá literatura

- Buchtová, I. (2019): Situační a výhledová zpráva. Ovoce. 91 stran. ISBN 978-80-7434-526-5. Dostupné online: http://eagri.cz/public/web/file/643716/SVZ_Ovoce_12_2019.pdf
- Dirlewanger, E., Cosson, P., Tavaud, M., Aranza, M. J., Poizat, C., Zanetto, A., Arús, P., Laigret, F. (2002): Development of microsatellite markers in peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] and their use in genetic diversity analysis in peach and sweet cherry (*Prunus avium* L.). Theoretical and Applied Genetics 105: 127-138.
- Gurcan, K., Onal, N., Yilmaz, K. U., Ullah, S., Erdogan, A., Zengin, Y. (2015): Evaluation of Turkish apricot germplasm using SSR markers: Genetic diversity assessment and search for *Plum pox virus* resistance alleles. Scientia Horticulturae 193: 155 – 164.
- Hu, X., Zheng, P., Ni, B., Miao, X., Zhao, Z., Li, M. (2018): Population genetic diversity and structure analysis of wild apricot (*Prunus armeniaca* L.) revealed by SSR markers in the Tien-Shan mountains of China. Pakistan Journal of Botany 50(2): 609-615.
- Jiang F, Zhang J, Wang S, Yang L, Luo Y, Gao S, Zhang M, Wu S, Hu S, Sun H, Wang Y. (2019): The apricot (*Prunus armeniaca* L.) genome elucidates Rosaceae evolution and beta-carotenoid synthesis. Horticulture research. 6:128.

- Khadivi-Khub, A., Yarahmadi, M., Jannatizadeh, A., Ebrahimi, A. (2015): Genetic relationships and diversity of common apricot (*Prunus armeniaca* L.) based on simple sequence repeat (SSR) markers. *Biochemical Systematics and Ecology*. 6: 366-371.
- Li, M., Zheng, P., Ni, B., Hu, X., Miao, X., Zhao, Z. (2018): Genetic diversity analysis of apricot cultivars grown in China based on SSR markers. *Eur J Hort Sci*, 83(1): 18-27.
- Reilly, P. (2001) Legal and public policy issues in DNA forensics. *Nature Reviews Genetics* 2, 313–317.
- Saito, M., Konda, M., Vrinten, P., Nakamura, K., Nakamura, T. (2004): Molecular comparison of waxy null alleles in common wheat and identification of a unique null allele. *Theoretical and Applied Genetics*, 108 (7): 1205-1211.
- Schlötterer, C. (2004): The evolution of molecular markers – just a matter of fashion? *Nature Reviews Genetics* 5(1): 63-69.
- Urrestarazu J., Denancé C., Ravon E. et al. (2016): Analysis of the genetic diversity and structure across a wide range of germplasm reveals prominent gene flow in apple at the European level. *BMC Plant Biology* 16(1):130.

Dedikace

Článek vznikl za podpory projektu TJ02000071 – Využití genetických markerů pro ověření odrůdové identity meruněk. Při řešení byla využita infrastruktura projektu LO1608.

Kontaktní adresa:

Ing. Veronika Nekvindová, Ph.D.
Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský holovousy s. r. o
Holovousy 129, Hořice 508 01
e-mail: nekvindova@vsuo.cz

ODOLNOST VYBRANÝCH GENOTYPŮ ŘEDKVIČKY VŮČI NÁDOROVITOSTI KOŘENŮ BRUKVOVITÝCH

Evaluation of resistance of selected radish genotypes to clubroot

Kopecký P.¹, Hýbl M.¹, Petrželová I.¹, Duchoslav M.²

¹ Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., Praha

² Univerzita Palackého Olomouc

Abstrakt

V kontrolovaných podmínkách bylo testováno 70 genotypů (odrůd) ředkvičky (*Raphanus sativus* L.) na odolnost vůči nádorovitosti kořenů brukvovitých. Testované genotypy vykazovaly vysoký stupeň rezistence k *Plasmodiophora brassicae*. Index napadení (DI) se pohyboval v rozmezí od 0,0 do 47,6 a procento rostlin ve stupních napadení 0 a 1 (RES) pak od 42,9 do 100,0 %. Nejodolnějšími testovanými genotypy bez jakýchkoliv příznaků napadení *P. brassicae* byly odrůdy Helios, Kader, Karissima GS, Korai Piros a Rotondo Rosso Quarantine. Naopak nejméně odolné byly odrůdy Modra (DI=47,6; RES=42,9 %) a Slavia (DI=28,5; RES=65,6 %).

Klíčová slova: *Raphanus sativus* L., *Plasmodiophora brassicae* Wor., index napadení

Abstract

A set of 70 genotypes (cultivars) of radish (*Raphanus sativus* L.) was tested for resistance to clubroot under controlled conditions. Tested genotypes expressed high resistance to *Plasmodiophora brassicae*. Disease index (DI) varied from 0.0 to 47.6 and percentage of plants in infection degrees 0 and 1 (RES) varied from 42.9 to 100.0 %. Among the most resistant genotypes without any visible symptoms of infection were cultivars Helios, Kader, Karissima GS, Korai Piros a Rotondo Rosso Quarantine. The most susceptible cultivars were Modra (DI=47.6; RES=42.9%) and Slavia (DI=28.5; RES=65.6%).

Keywords: *Raphanus sativus* L., *Plasmodiophora brassicae* Wor., disease index

Úvod

Ředkvička (*Raphanus sativus* L.) je kořenová zelenina, která se pěstuje především pro své bulvičky, které jsou zdužnatělým hypokotylem a mohou nabývat kulovitého, oválného nebo protáhlého tvaru a bílé, žluté, červené nebo fialové barvy s především bílou dužninou. Ředkvička obsahuje především sacharidy, vlákninu, bílkoviny, tuky, dále pak ve vodě rozpustné vitaminy (B₁, B₂, B₃, B₅, B₆, B₉, C) a minerály (vápník, železo, hořčík, mangan, zinek, sodík a fosfor; Khattak, 2011), ale také bioaktivní látky, především glukosinoláty (glukorafenin, glukonapin, glukobrassicinapin, glukorucic, glukorafasatin, progoitrin, 4-hydroxyglukobrassicin a 4-methoxyglukobrassicin) a jejich hydrolyzáty isothiokyanáty (Yi et al., 2015). Byla prokázána souvislost mezi těmito látkami a indukcí apoptózy rakovinných buněk prsu, mozku, krve, kostí, tlustého střeva, žaludku, jater, plic, slinivky a prostaty (shrnutí v Soundararajan a Kim, 2018). U ředkve byla prokázána také antidiabetická aktivita (Banihani, 2017).

V České republice je ředkvička stále populárnější zeleninou, o čemž svědčí nárůst osevních ploch ze 156 ha v roce 2013 na 350 ha v roce 2020 (tj. o téměř 225 %), a sklizňové plochy ze 176 ha v roce 2013 na 356 ha v roce 2018 (tj. o více než 200 %). Ještě markantnější je nárůst celkové sklizně ředkvičky v tunách, kdy v roce 2013 bylo sklizeno 605, zatímco v roce 2018 dokonce 5 054 t (tj. nárůst o více než 835 %). To je dáno především nárůstem výnosu z ha,

který v těchto letech vzrostl z 3,44 t/ha na 14,2 t/ha (Buchtová, 2019). Výhodou ředkvičky je možnost jejího pěstování i v druhém sledu.

Původce nádorovitosti kořenů brukvovitých (*Plasmodiophora brassicae* Woronin 1877) je znám již téměř 150 let. Předpokládá se, že všichni zástupci čeledi Brassicaceae mohou být potenciálními hostiteli a také, že především kulturní plodiny jsou k tomuto patogenu vnímavé (Diederichsen et al., 2009; Dixon, 2009). Projevem napadení rostlin jsou především typické malformace kořene, ale také reverzibilní vadnutí listů a jejich následné červenání, chloróza a nekróza. Rostliny v důsledku napadení podzemních částí krní a dochází také k urychlení kvetení. Výnos, kvalita, chuť a skladovatelnost produktů je tak negativně ovlivněná a dochází k významným ekonomickým ztrátám (Dixon, 2009). *P. brassicae* se vyskytuje po celém světě, všude tam, kde se pěstují brukvovité plodiny. S intenzifikací pěstování těchto plodin a zvyšování frekvence jejich zařazení do osevního postupu dochází k zvyšování infestace půdy. Česká republika vykazuje vysoký podíl zemědělských půd zamořených *P. brassicae* především v souvislosti se zvětšováním ploch osévaných ozimou řepkou (Řiřáková et al., 2009).

Bylo zkoušeno mnoho způsobů, jak zabránit šíření *P. brassicae*, ať už to byly systémy rotace plodin, vápnění půdy za účelem úpravy pH, fumigace nebo solarizace půdy, použití pesticidů či biologická ochrana za použití antagonistických bakterií nebo hub (Nott et al., 1994). Protože ale původce nádorovitosti je schopen přežívat v půdě po dlouhou dobu ve formě odolných trvalých spor, nebyly tyto způsoby příliš účinné. Jako nejefektivnější způsob se jeví selekce odolných materiálů a šlechtění na rezistenci vůči *P. brassicae* (Nott et al., 1994; Diederichsen et al., 2009). Cílem této práce bylo otestovat genotypy ředkvičky dostupné v Genové bance VÚRV, v.v.i. na odolnost vůči *P. brassicae* a doporučit odolné materiály vhodné pro pěstování.

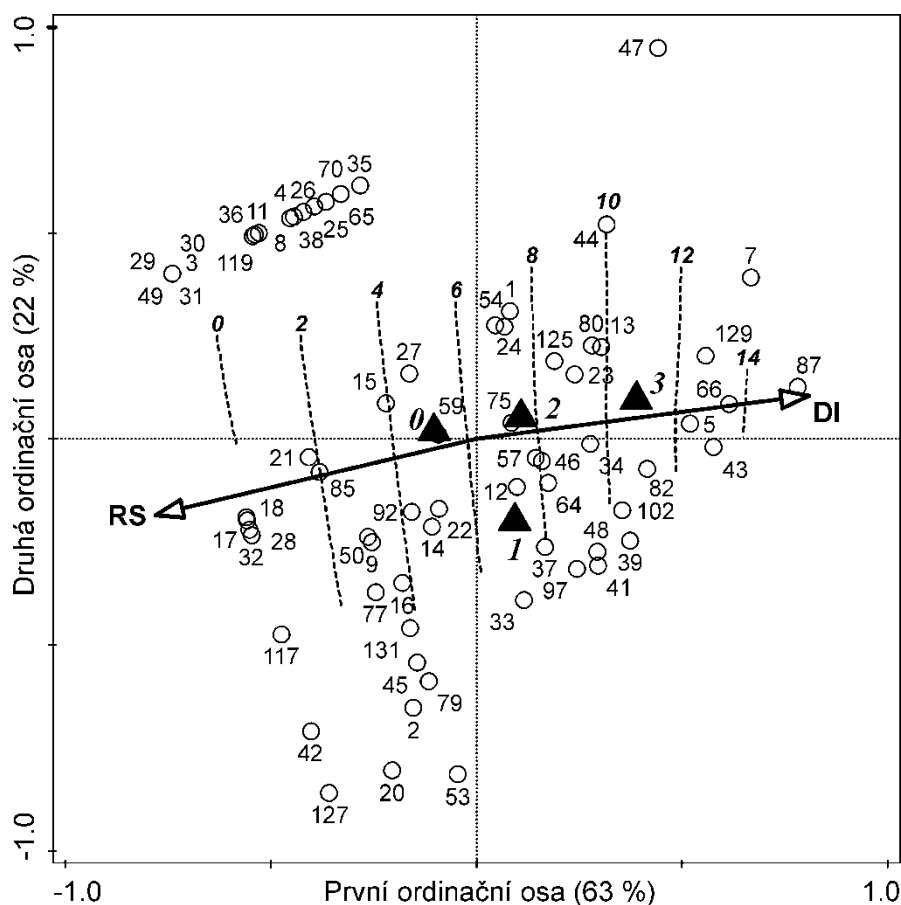
Materiál a Metody

Pro rezistenční testy byly použity genotypy (odrůdy) ředkvičky (*Raphanus sativus* L.) z kolekce genetických zdrojů brukvovitých zelenin uchovávaných v Genové bance Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v rámci Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity v ČR (<https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>). Celkem bylo testováno 70 genotypů převážně neznámého původu, 9 vzorků bylo českého původu, 4 z Německa a 1 vzorek z Velké Británie. Jako kontrola byla použita univerzální vnímavá odrůda pekingského zelí (*Brassica rapa* var. *pekinensis*) Granaat (ECD 05 dle Buczacki et al., 1975). Od každého genotypu bylo vyséváno 72 rostlin ve třech opakováních, celkem tedy 216 rostlin/genotyp. Průměrná klíčivost testovaných materiálů byla 44,7 % ($\pm$ SD=10,9), takže počty reálně testovaných rostlin se pohybovaly v rozmezí 55 až 175 rostlin/genotyp. Pro inokulaci byla použita tzv. metoda „spodem“ dle Chytilové a Duška (2007). Osivo jednotlivých genotypů bylo vyseto do agroperlitu (Profi-Grow, Česká republika) a ihned po zasetí bylo zalito inokulem (tj. suspenzí trvalých spor *P. brassicae*), připraveným z nádorů odebraných z rostlin na infekčním poli se směsnou populací patogena (ECD 16/31/31, ECD 16/22/12 dle Buczacki et al., 1975), o koncentraci 10^7 spor.ml⁻¹ a celkovém množství 60 ml na genotyp a opakování. Inkubace probíhala v kontrolovaných podmínkách fytofonu (PSI Instruments, Česká republika) při teplotě 23 °C den/15 °C noc, fotoperiodě 16 h den/8 hod noc a intenzitě osvitů 82 μ E.m⁻².s⁻¹. Naklíčené rostliny byly pravidelně zalévány roztokem hnojiva Kristalon Start (AGRO CS, Česká republika) v koncentraci 1 g.l⁻¹ vody. Osmý týden po inokulaci byl hodnocen stupeň napadení kořenového systému rostlin pomocí stupnice 0–3 (Buczacki et al., 1975; Chytilová a Dušek, 2007), kde stupeň 0 byl použit pro rostliny bez příznaků napadení a stupeň 3 pro rostliny se zcela deformovanou kořenovou soustavou. Odolnost jednotlivých genotypů byla vyjádřena pomocí indexu napadení (DI, Tabulka 1), což je průměrný výsledek intenzity napadení pro populaci rostlin vyjádřený jako procento možného maxima (Chytilová a Dušek, 2007), a pomocí procenta rostlin ve stupních napadení 0 a 1 (RES, Tabulka 2). Jako rezistentní je podle Liu et al. (2018) možné hodnotit genotypy s DI v rozmezí

0 až 10, jako středně náchylné genotypy s DI 10 až 20 a jako náchylné genotypy s $DI > 20$. Souhrnná data ze tří opakování byla dále analyzována korespondenční analýzou (CA; Legendre a Legendre, 1998) v programu CANOCO 5 (ter Braak a Šmilauer, 2012). Tato technika byla zvolena z důvodu velkého zastoupení (25%) nulových hodnot v datech. V CA byly analyzovány čtyři stupně napadení, které byly před analýzou transformovány $\log(x+1)$ transformací. Indexy DI a RES byly v CA použity jako dodatečné proměnné.

Výsledky a diskuze

Testované genotypy (odrůdy) ředkvičky vykazovaly vysoký stupeň rezistence k *P. brassicae* (Tabulky 1 a 2). Hodnoty DI se pohybovaly v rozmezí od 0 do 47,6 a hodnoty RES od 42,9 do 100 %, přičemž $DI < 10$ vykazovalo 82,9 % genotypů a $RES \geq 90$ % celkem 81,4 % genotypů. Celkem pět odrůd (Helios: ECN, tj. evidenční číslo v kolekci 09H7400003; Kader: 09H7400029; Karissima GS: 09H7400030; Korai Piros: 09H7400031; Rotondo Rosso Quarantine: 09H7400049) nevykazovalo žádné příznaky napadení. Naopak nejméně odolné byly odrůdy Modra (09H7400087; $DI=47,6$; $RES=42,9$ %) a Slavia (09H7400007; $DI=28,5$; $RES=65,6$ %). Variabilita v odolnosti jednotlivých genotypů je souhrnně vizualizována v Obrázku 1. Genotypy jsou podél první ordinační osy umístěny podle klesající odolnosti k *P. brassicae*, což dokumentují i gradienty hodnot obou indexů (DI, RES), silně korelující s první ordinační osou. Genotypy jsou diferencovány podél druhé ordinační osy podle klesajícího zastoupení kategorie napadení 1.



Obr. 1. První dvě ordinační osy korespondenční analýzy souhrnných dat čtyřech stupňů napadení odrůd ředkvičky. Genotypy jsou reprezentovány prázdnými kroužky, stupně napadení (0, 1, 2, 3) plnými trojúhelníky. Pro zjednodušení jsou jednotlivé genotypy kódovány pouze koncovými

dvěma (třemi) čísly kódu ECN. Indexy DI a RES byly v analýze použity jako dodatečné proměnné a jejich vektory ukazují na směr jejich změny v ordinačním prostoru. Gradient hodnot indexu DI v prostoru ordinačního diagramu byl modelován lokální regresí ($r^2 = 68\%$) a je vizualizován v diagramu pomocí čárkovaných čar. Číselné hodnoty v závorce u popisků os udávají procento celkové variability v datech, vysvětlené příslušnou ordinační osou.

Získané výsledky korespondují s dřívějšími studiemi (shrnutí v Diederichsen et al., 2009), které prokázaly vysokou odolnost *R. sativus* vůči *P. brassicae*. V Japonsku bývá *R. sativus* dokonce používána jako „vychytávací plodina“ na pozemcích zamořených *P. brassicae*, neboť bylo prokázáno, že pěstování ředkvi snižuje množství trvalých spor *P. brassicae* v půdě (Murakami et al., 2000). Druh *R. sativus*, do určité míry křížitelný s druhy rodu *Brassica*, představuje významný potenciální zdroj rezistence pro šlechtění vůči *P. brassicae*. Dosud se podařilo odvodit fertillní mezidruhovité hybridy mezi *R. sativus* a *B. alboglabra* („*Brassicoraphanus*“), *Brassica napus* L. a některými dalšími druhy rodu *Brassica* (Chen a Wu, 2008; Zhan et al., 2017). Vzniklé kříženci přitom rovněž vykazují vysokou odolnost vůči nádorovitosti (Zhan et al., 2017). Genetické studie odhalily, že rezistence *R. sativus* k nádorovitosti je řízena převážně jedním dominantním genem označeným *Crs1* se sekvencí homologickou k dominantnímu genu rezistence vůči nádorovitosti *Crr3* u *Brassica rapa* L. a k části chromozómu 3 u *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Akaba et al., 2009; Kamei et al., 2010). Recentně bylo u *R. sativus* detekováno pět QTL (*RsCr1*, *RsCr2*, *RsCr3*, *RsCr4* a *RsCr5*) zapojených do mechanismu rezistence k *P. brassicae* (Gan et al., 2019). Ukazuje se ale, že v oblastech intenzivního pěstování ředkvi dochází dříve či později k překonání rezistence a ke zvýšenému výskytu nádorovitosti (Dixon, 2009). Materiály uložené v genových bankách představují v řadě případů staré, často krajové odrůdy, které mohou být nositeli vlastností a genů zajímavých z hlediska současného šlechtění, včetně šlechtění na rezistenci k chorobám. Tato práce zaměřená na hledání rezistence vůči *P. brassicae* u položek genetických zdrojů ředkvičky přináší informace, které mohou být relevantní nejen pro pěstitele, ale i pro rezistenční šlechtění.

Tabulka 1: Index napadení (DI) hodnocených genotypů ředkvičky

DI	Počet genotypů	Stupeň odolnosti / náchylnosti genotypů (Liu et al., 2018)
0,0	5	vysoce odolné
0,1-9,9	53	odolné
10,0-19,9	8	středně náchylné
20,0-50,0	4	náchylné
50,1-100,0	0	vysoce náchylné
celkem	70	

Tabulka 2: Zastoupení rezistentních genotypů v souboru testovaných ředkviček

RES (%)	Počet genotypů
100,0	12
90,0-99,9	45
80,0-89,9	8
70,0-79,9	3
0,0-69,9	2
celkem	70

Závěr

Jako nejvhodnější pro pěstování v oblastech s výskytem nádorovitosti byly vyhodnoceny odrůdy Helios, Kader, Karissima GS, Korai Piros a Rotondo Rosso Quarantine, které v testech nevykazovaly žádné příznaky napadení *P. brassicae*. Naopak jako nevhodné se jeví odrůdy Modra a Slavia. Výsledky získané z experimentů v kontrolovaných podmínkách budou verifikovány v polních podmínkách na infekčním poli.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory projektů MZE-RO0418, QK1910070 a institucionální podpory Univerzity Palackého.

Použitá literatura

- Akaba, M., Kaneko, Y., Hatakeyama, K., Ishida, M., Bang, S. W., Matsuzawa, Y., 2009. Identification and evaluation of clubroot resistance of radish chromosome using a *Brassica napus*–*Raphanus sativus* monosomic addition line. *Breeding Science*, 59: 203–206.
- Banihani, S. A., 2017. Radish (*Raphanus sativus*) and diabetes. *Nutrients* 9: 1014.
- Buchtová, I., 2019. Situační a výhledová zpráva zelenina [online]. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha. [2020-10-13]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/644345/SVZ_Zelenina_12_2019.pdf
- 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: 295–303.
- Chen, H. G., Wu, J. S., 2008. Characterization of fertile amphidiploid between *Raphanus sativus* and *Brassica alboglabra* and the crossability with *Brassica* species. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55: 143–150.
- Chytilová, V., Dušek, K., 2007. Metodika testování odolnosti brukvovitých plodin k nádorovitosti. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
- Diederichsen, E., Frauen, M., Linders, E. G. A., Hatakeyama, K., Hirai, M., 2009. Status and perspectives of clubroot resistance breeding in crucifer crops. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28: 265–281.
- Dixon, G. R., 2009. The occurrence and economic impact of *Plasmodiophora brassicae* and clubroot disease. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28: 194–202.
- Gan, C., Deng, X., Cui, L., Yu, X., Yuan, W., Dai, Z., Yao, M., Pang, W., Ma, Y., Yu, X., Choi, S. R., Legendre, P., Legendre, L., 1998. Numerical ecology. 2nd English Edition. Elsevier, Amsterdam.
- Lim, Y. P., Piao, Z., 2019. Construction of a high-density genetic linkage map and identification of quantitative trait loci associated with clubroot resistance in radish (*Raphanus sativus* L.). *Molecular Breeding*, 39: 116.
- Kamei, A., Tsuro, M., Kubo, N., Hayashi, T., Wang, N., Fujimura, T., Hirai, M., 2010. QTL mapping of clubroot resistance in radish (*Raphanus sativus* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 120: 1021–1027.
- Khattak, K. F., 2011. Nutrient composition, phenolic content and free radical scavenging activity of some uncommon vegetables of Pakistan. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 24: 277–283.
- Liu, Y., Xu, A., Liang, F., Yao, X., Wang, Y., Liu, X., Zhang, Y., Delelhan, J., Zhang, B., Qin, M., Huang, Z., Shaolin, L., 2018. Screening of clubroot-resistant varieties and transfer of clubroot resistance genes. *Breeding Science*, 68: 258–267.

- Murakami, H., Tsushima, S., Akimoto, T., Murakami, K., Goto, I., Shishido, Y., (2000). Effects of growing leafy daikon (*Raphanus sativus*) on populations of *Plasmodiophora brassicae* (clubroot). Plant Pathology, 49: 584–589.
- Nott, H. M., Falloon, R. E., Gowers, S., 1994. Clubroot of vegetable brassicas: a review. A report prepared for The Fresh Vegetable Research & Development Committee, Vegetable & Potato Growers' Federation Inc. CropInfo Confidential Report No. 14.
- Řičařová, V., Kazda, J., Singh, K., Ryšánek, P., 2009. Clubroot caused by *Plasmodiophora brassicae* Wor.: a review of emerging serious disease of oilseed rape in the Czech Republic. Plant Protection Science, 52: 71–86.
- Soundararajan, P., Kim, J., 2018. Anti-carcinogenic glucosinolates in cruciferous vegetables and their antagonistic effects on prevention of cancer. Molecules, 23: 2983.
- ter Braak, C. J. F., Šmilauer, P., 2002. CANOCO reference manual and CanoDraw for Windows User's guide: software for canonical community ordination (version 4.5). Microcomputer Power, Ithaca.
- Yi, G., Lim, S., Chae, W. B., Park, J. E., Park, H. R., Lee, E. J., Huh, J. H., 2015. Root glucosinolate profiles for screening of radish (*Raphanus sativus* L.) genetic resources. Agricultural and Food Chemistry, 64: 61–70.
- Zhan, Z., Nwafor, C. C., Hou, Z., Gong, J., Zhu, B., Jiang, Y., Zhou, Y., Wu, J., Piao, Z., Tong, Y., Liu, C., Zhang, C., 2017. Cytological and morphological analysis of hybrids between *Brassicoraphanus*, and *Brassica napus* for introgression of clubroot resistant trait into *Brassica napus* L. PLoS ONE, 12: e0177470.

Kontaktní adresa:

Mgr. Pavel Kopecký
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Šlechtitelů 29
783 71 Olomouc
Email: kopecky@genobanka.cz, +420 585 208 964

JE UKOČENÍ FYZIKÁLNÍ DORMANCE SEMEN *MEDICAGO TRUNCATULA* A *PISUM SATIVUM* SUBSP. *ELATIUS* TESTOVANÝCH V PŮDNÍCH PODMÍNKÁCH ADAPTIVNÍ PLASTICITOU NEBO BET-HEDGING STRATEGIÍ?

Does physical seed dormancy release in soil condition of *Medicago truncatula* and *Pisum sativum* subsp. *elatius* respond to adaptive plasticity or bet-hedging strategy?

Kopecký P.¹, Renzi J. P.², Brus J.³, Duchoslav M.³, Smýkal P.³

¹ Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

² Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina

³ Univerzita Palackého Olomouc

Abstrakt

Ustanovení trvání dormance semen, a naopak načasování klíčení jsou základní vlastnosti pro život rostlin. Celkem u 112 položek tolíce (*Medicago truncatula*) a 46 položek planého hrachu (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) byl hodnocen vliv podmínek půdní semenné banky na dormanci semen po dobu 3 měsíců v rozmezí tří po sobě následujících let (2017-2019) na třech lokalitách odlišujících se klimatickými podmínkami (Maďarsko, Španělsko a Řecko). Ukončení fyzikální dormance semen po exhumaci z půdy a hodnocení v laboratorních podmínkách (25/15°C, 21 dní) byly dány do souvislosti s podmínkami semenné banky a makro-environmentálními proměnnými areálu původu jednotlivých položek. Adaptivní strategie byla u daných druhů odlišná. V půdních podmínkách vykazoval planý hrách vyšší fenotypovou plasticitu než tolíce, zatímco tolíce měla vyšší bet-hedging. V suchých půdních podmínkách vykazovaly oba druhy bet-hedging strategii.

Klíčová slova: klíčení, *Medicago*, hrách, plasticita, dormance semen, půdní semenná banka, bet-hedging

Abstract

Establishment and duration of seed dormancy and conversely timing of germination are traits crucial for plant life. We used *Medicago truncatula* (medic) and *Pisum sativum* subsp. *elatius* (wild pea) accessions originating from variable environmental conditions of Mediterranean basin to study physical seed dormancy release in seeds bank soil. The effect of soil environment on the physical seed dormancy release over period of 3 months in three localities (Hungary, Spain and Greece) during three years (2017-to-2019) was tested on 112 acc. in medic and 46 acc. in wild pea. Physical seed dormancy release after soil exhumation and testing under laboratory condition (25/15°C 21 days) were related to seed bank conditions and macro-environmental variables of the site of accession's origin. The adaptive strategy was different between two legume species. In soil conditions, wild pea showed higher phenotypic plasticity than barrel medic, while this last had higher bet-hedging within-season. When the soil conditions were dry, both species showed bet-hedging among-season.

Keywords: germination; *Medicago*; pea; plasticity; seed dormancy; soil seed bank, bet-hedging

Úvod

Ustanovení a trvání dormance semen a naopak načasování klíčení jsou klíčové vlastnosti pro život rostlin. Vzházení rostlin je obzvláště zranitelné období ovlivňující populační a komunitní

dynamiku (Larson et al. 2020). Regulace vegetačního klidu semen je proto nezbytná pro ochranu embrya před vyklíčením do často nepředvídatelného prostředí. K řízení tohoto procesu se vyvinuly různé mechanismy inhibice klíčení semen ve vztahu k rozmanitosti stanovišť a klimatických podmínek (Baskin a Baskin 2014). V sezónním podnebí dochází ke klíčení a růstu rostlin především v ročním období s dostatečným množstvím srážek, a naopak k šíření semen v době nevhodné pro klíčení. Rozdílnost prostředí má předvídatelné i nepředvídatelné proměnné (Simons 2014). Fenotypová plasticita, např. schopnost genotypu měnit svůj fenotyp v reakci na proměnlivost prostředí je spolu s přirozeným výběrem působícím na genotypy stejně důležitým způsobem adaptace. Dvě hlavní úrovně adaptace na změnu prostředí s cílem maximalizovat fitness v každém prostředí jsou *adaptivní fenotypová plasticita* a *bet-hedging* (Sultan 2000, Venable 2007).

Tolice (*Medicago truncatula*) je zástupcem druhů přizpůsobených typickému středomořskému podnebí, které se vyznačuje silnou sezónností s horkými a suchými léty, často s velkými denními teplotními amplitudami, následované srážkami v období podzim a zima. Podobně planý hrách (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) se svým širokým původním rozšířením od západního Středomoří, přes jihovýchodní Evropu na Střední východ (Smýkal et al. 2017) poskytuje vynikající model pro studium fyzikální dormance semen luskovin v ekologickém kontextu (Hradilová et al. 2019). Vzhledem k omezeným znalostem regulace dormance luskovin (Smýkal et al. 2017) se tato studie zabývala asociací mezi dormancí a faktory prostředí, a to jak v místě původu, tak v těch, které se vyskytly v reálném čase.

Materiál a Metody

Semena 112 vybraných položek *Medicago truncatula* pocházejících z INRA Montpellier (<http://www1.montpellier.inra.fr>) a z University of Minnesota, USA (<http://www.medicago-hapmap.org>) odpovídají studii Renzi et al. (2020). Rostliny byly pěstovány ve sklenících na Katedře botaniky Univerzity Palackého v Olomouci v období od září do května (2017, 2018, 2019). Pro pokrytí geografického rozsahu druhů a různých ekologických podmínek bylo vybráno 46 planých hrachů (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) (dle Smýkal et al. 2017, Hradilová et al. 2019). Rostliny byly pěstovány v nádobách o objemu 3 litry (směs 1:9 písku a rašeliny (Florcom Profi, BB Com Ltd., Česko). Pro prodloužení fotoperiody na 14 hodin bylo přisvětlováno (Hortilux Schreder, Holland, Sylvania GroLux 600 W). Zralé lusky byly sklizeny do papírových sáčků, vysoušeny při pokojové teplotě a následně manuálně vyčištěny. Poté byla semena (100 u tolíce resp. 50 ks u hrachu) zabalena do propustných nylonových sáčků a během 2 až 3 týdnů od sklizně odeslána na příslušné lokality. Stejně množství semen bylo testováno v laboratorních podmínkách (Hradilová et al. 2019, Renzi et al. 2020). Sáčky se semeny byly uloženy do hloubky 5 cm na otevřeném místě chráněné drátěnou klecí tak, aby bylo zabráněno predaci. Tato semena byla vystavena vlivům prostředí od 15. června do konce září v letech 2017, 2018 a 2019. Údaje o průběhu počasí v jednotlivých letech byly zaznamenávány na nedaleké meteorologické stanici. Testování probíhalo na třech lokalitách: Cordoba, jižní Španělsko (SPN, 37,858933° s. š., -4,800390° v. d., 180 m n. m.), Panormo, Kréta, Řecko (GRC, 35,4174721° s. š., 24,6829471° v. d., 132 m n. m.) a Villany, jižní Maďarsko (HUN, 45,8652763° s. š., 18,4455547° v. d., 133 m n. m.). Dvě lokality odpovídají letnímu aridnímu půdnímu typu prostředí (SPN a GRC) a jedna humidním půdním podmínkám (HUN). Následně byly sáčky vykopány a během 2 dnů odeslány do laboratoře (UP, Olomouc), kde byla semena klasifikována na klíčivé, bobtnající a dormantní. Semena, u kterých došlo k ukončení dormance (vyklíčené + nabobtnalé) byla nazvána mírou ukončení fyzikální dormance semen během půdního hodnocení „PY release soil“. Druhá skupina semen byla položena na vlhký filtrační papír v Petriho misce a ponechána pro naklíčení při teplotě 25 °C. Pro zabránění růstu plísní (sterilizace by změnila vlastnosti osemení) byl

aplikován fungicid (Maxim XL 035 FS; obsahující metalaxyl 10 g a fludioxonil 25 g). Semena byla monitorována ve 24 hodinových intervalech po dobu 21 dní (Hradilová et al. 2019, Renzi et al. 2020). Vyklíčená a nabobtnalá semena během půdního a následného laboratorního testování byla nazvána (PY release_{soil + testing}).

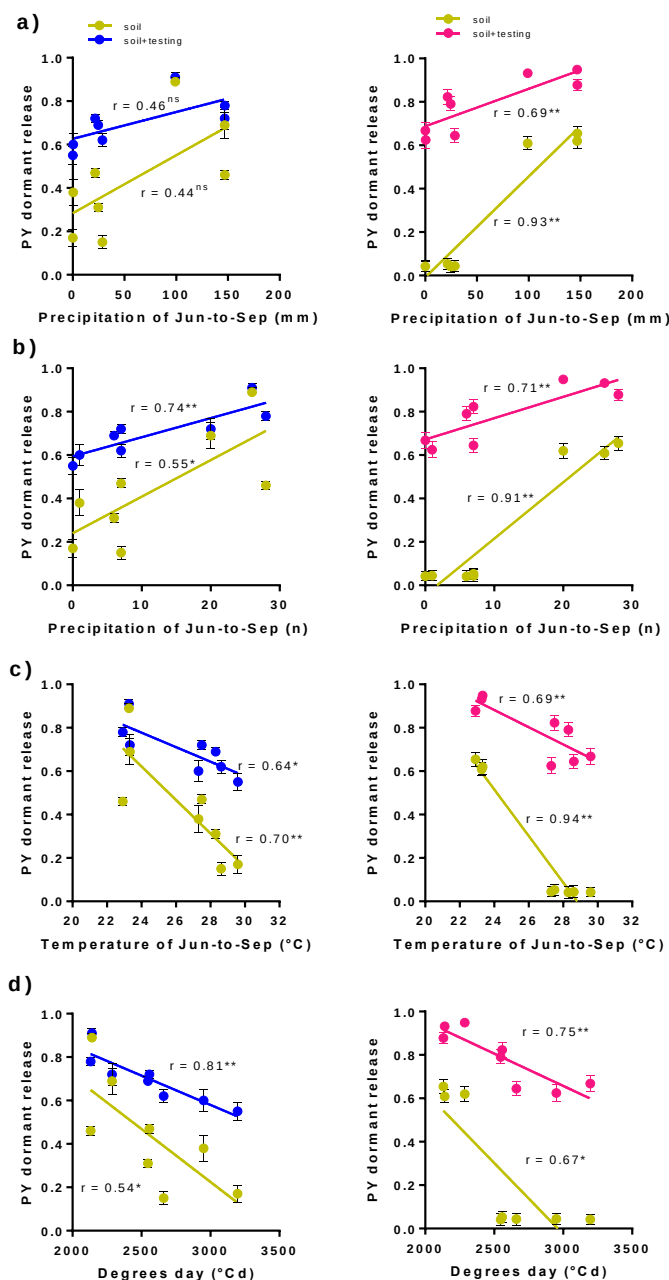
K získání informací o klimatu (období 1970–2000) byla použita databáze WorldClim (<http://worldclim.org>) verze 2.0. Data byla extrahována pomocí softwaru DIVA-GIS z ESRI mřížek s prostorovým rozlišením 30 obloukových sekund (~ 1 km) ve WGS-84 (EPSG: 4326) a následně analyzována pomocí Pearsonova korelačního koeficientu. Jedna z dvojice proměnných korelovaných nad 0,7 byla odstraněna. Bioklimatické proměnné byly vybrány tak, aby reprezentovaly letní a zimní trendy a extrémní teplotní a srážkové podmínky. Analýzou hlavních komponent (PCA) byla softwarem InfoStat (2019) vyjádřena matice redukované sady proměnných WorldClim; nejvyšší teplota nejteplejšího měsíce (BIO5), průměrná teplota nejteplejšího čtvrtletí (BIO10), roční srážky (BIO12), srážky nejdeštivějšího čtvrtletí (BIO16) a srážky nejteplejšího čtvrtletí (BIO18). Položky byly seskupeny do čtyř makroklimatických klastrů na základě euklidovské vzdálenosti environmentálních proměnných použitých pro výpočty PCA. Shlukování bylo provedeno pomocí Wardova algoritmu minimálních odchylek. Výsledné čtyři environmentální klastry jsou: i) *Sucho-sucho* (červený) suché oblasti (vysoká teplota a nízké srážky) jak během období konce dormance (léto), tak i vegetačního růstu (podzim-zima), ii) *sucho-vlhko* (zelený) suché podmínky (vysoká teplota a nízké srážky) během období konce dormance, ale vlhké podmínky během vegetačního období, iii) *vlhko-sucho* (žlutý) vlhké podmínky (střední teplota a vysoké srážky) během období konce dormance, ale suché podmínky během vegetačního období a iv) *vlhko-vlhko* (modrý) vlhké podmínky (střední teplota a vysoké srážky) jak během období konce dormance, tak i během vegetačního období. Reakční normy pro každý makroklimatický klastř byly odhadnuty takto: každá lineární regrese představuje data pro jiný klastř a účinek půdní vlhkosti (počet událostí a celkové srážky) zvlášť pro každou míru ukončení dormance (půdní i laboratorní, Valladares et al., 2006). Pro posouzení změny hodnoceného znaku v reakci na suché nebo vlhké půdní podmínky, byly průměrné hodnoty míry ukončení dormance v rámci i mezi jednotlivými shluky analyzovány pomocí ANOVA a porovnány Fisherovým testem.

Výsledky a diskuze

U tolíce i planého hrachu byl pozorován významný rozdíl v míře ukončení dormance jak půdního, tak i následného laboratorního testování v kontrolovaných podmínkách. Míra ukončení dormance v půdních podmínkách se u tolíce mezi jednotlivými položkami pohybovala od 16 do 79 % s průměrem 44 % (SD = 27) a od 7 do 96 % s průměrem 26 % (SD = 34) u planého hrachu. Po testování v kontrolovaných podmínkách se průměrná míra ukončení dormance zvýšila na 72 % (SD = 20) u tolíce a na 79 % (SD = 23) u planého hrachu.

U obou druhů vykazala lokalita Maďarsko (HUN) trend vyšší míry ukončení dormance v půdních podmínkách, což souviselo s vyšší vlhkostí a nižší teplotou oproti lokalitám SPN a GRC. U tolíce byla frekvence srážek asociována více než s celkovým úhrnem (mm), na rozdíl od planého hrachu, který vykazoval signifikantní pozitivní regresi v obou parametrech prostředí (obr. 1).

Obr. 9: Regrese mezi a) frekvencí srážek b) teplotou c) stupňo-dny d) během období pohřbívání a proporcí ukončení dormance semen u tolíce (vlevo) a planého hrachu (vpravo).

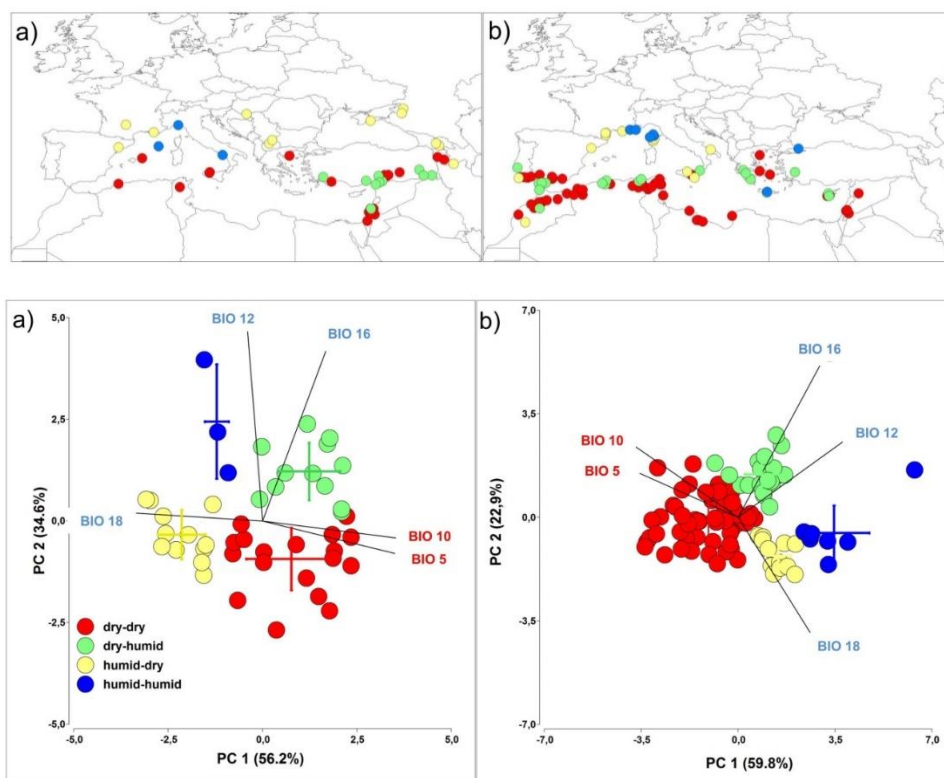


PCA redukovaného datového souboru Wordclim (obr. 2) znázorňuje čtyři shluky ve vztahu k makroklimatickým podmínkám původu, převážně se lišící letními a podzimně-zimními podmínkami. PC1 vysvětluje 56,2 % (tolice) a 59,8 % (planý hrach) z celkové variace a lze jej interpretovat jako gradient letní aridity. PC2 představuje 34,6 % (tolice) a 22,9 % (planý hrach) z celkové variace a lze jej interpretovat jako gradient zimní aridity. Letní sucho omezuje růst a je hlavní příčinou mortality sazenic, zatímco sucho v období podzim-zima omezuje vegetativní růst. Shluk *sucho-sucho* odpovídá nejméně příznivým podmínkám k přežití a růstu rostlin. Tento klastř obsahuje největší počet položek s 54 % tolíce a 41 % planého hrachu (obr. 2). Byly

pozorovány rozdíly v odezvě dormance ve vztahu k půdnímu prostředí, makroklimatu místa původu položky i mezi oběma rostlinnými druhy.

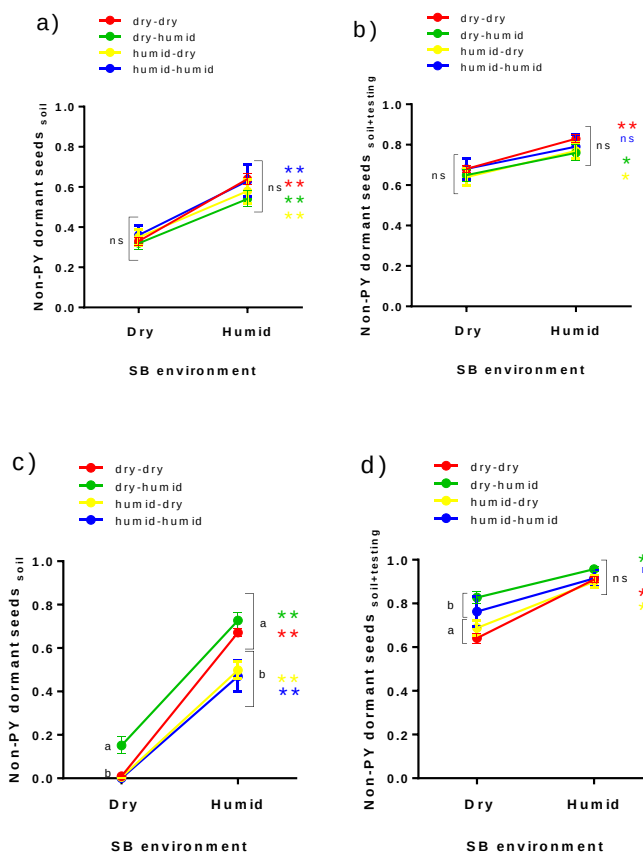
Humidní podmínky (Maďarsko) zvýšily u obou druhů podíl míry ukončení dormance semen v půdních podmínkách (více potenciálního klíčení) ve vztahu k suché půdě. Rozsah změny míry ukončení dormance v reakci na půdní podmínky ukázal adaptivní fenotypovou plasticitu, která byla vyšší u planého hrachu ve srovnání s tolicí. Na druhou stranu reziduální rozptyl lineární regrese v případě planého hrachu byl nižší než u tolice. Vysoká odchylka v ročním období u míry ukončení dormance semen v půdních podmínkách by mohla být způsobena reakcí bet-hedging strategie na nepředvídatelnost prostředí (Simons 2014). Adaptivní plasticita a bet-hedging reakce na míru ukončení dormance jak v půdních podmínkách, tak i během následného testování v laboratorních podmínkách byla u obou druhů nižší než míra ukončení dormance pouze v půdních podmínkách (obr. 2). Vzhledem k makroklimatickým podmínkám se míra dormance u vzorků pocházejících ze shluku *vlhko-vlhko* u obou druhů v reakci na půdní podmínky (obr. 2) obvykle významně nezměnila ($r > 0,10$).

Obr. 10: Analýza hlavních komponent (PCA) vybraných bioklimatických dat planého hrachu (a) a tolice (b). Vysoká míra ukončení dormance semen a následné potenciální klíčení odpovídá vysoké hodnotě BIO 18 (srážky nejteplejšího čtvrtletí) a nízkému BIO 5 a 10 (maximální teplota nejteplejšího měsíce a průměrná teplota nejteplejšího čtvrtletí). Vhodné podmínky pro růst rostlin byly spojeny s vysokým BIO12 a 16 (roční srážky a srážky nejvlhčího čtvrtletí).



U tolice se neprokázal významný rozdíl v uvolňování semen z fyzikální dormance ve vztahu k environmentálním klastrům a půdním podmínkám (obr. 4a). U planého hrachu byla v podmínkách *sucho-vlhko* vyšší míra semen s ukončenou dormancí než u ostatních klastrů se suchou půdou (obr. 4b). Kromě toho makroklima *sucho-sucho* a *sucho-vlhko* vykazovalo vyšší míru ukončení dormance semen (připravené ke klíčení) ve vlhkých půdních podmínkách (obr. 4b).

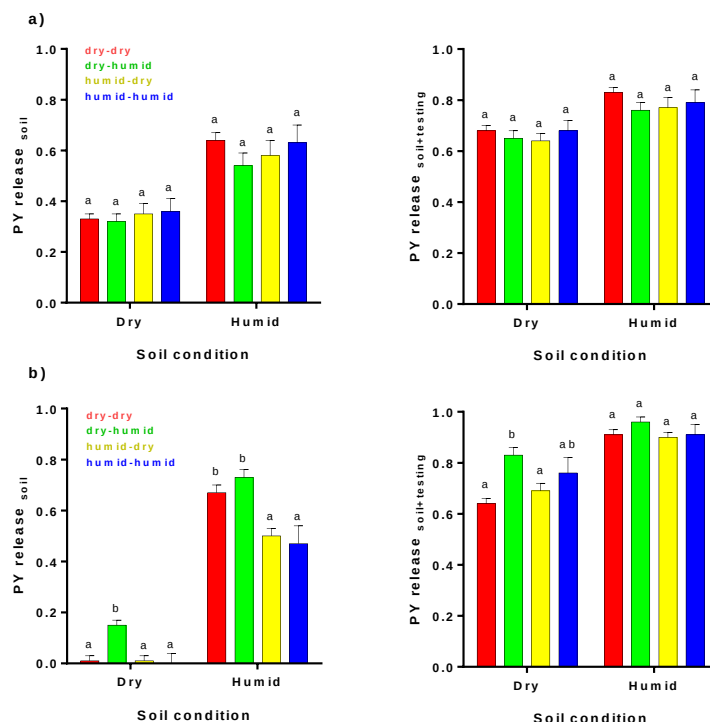
Obr. 11: Míra dormance semen tolíce (a, b) a planého hrachu (c, d) po exhumaci z půdy a následném testování v kontrolovaných podmínkách (vlhko při 25 °C) v reakci na prostředí půdní semenné banky (sucho na lokalitách SPN a GRC, vlhko na lokalitě HUN v letech 2017 až 2019).



Červené, zelené, žluté a modré linie odpovídají makroenvironmentálním klastrům sucho-sucho, sucho-vlhko, vlhko-sucho a vlhko-vlhko. Písmena označují signifikantně odlišná makroprostředí a barevné hvězdy označují signifikantně odlišné prostředí půdní semenné banky (LSD test). Svislé úsečky označují $\pm$ střední chybu průměru. „***“ označují významnost při $p < 0,01$, při $p < 0,05$ a „ns“ statisticky neprůkazný rozdíl ($p > 0,05$).

Předpokládá se, že kolísání teploty (Baskin a Baskin, 2014) je jednou z hlavních příčin ukončení fyzikální dormance, což bylo experimentálně potvrzeno u několika druhů luskovin, včetně hrachu a tolíce (Hradilová et al., 2019; Renzi et al. 2020). Oscilace půdní vlhkosti však byla studována mnohem méně kvůli problémům s jejím řízením a manipulací a nejsou plně ověřena v laboratorních experimentech. Tato studie ukazuje ukončení vegetačního klidu u dvou druhů v přirozených podmínkách půdní semenné banky a efekt dostupnosti vody v přirozeném prostředí. Předchozí práce analyzovala pouze dormanci v kontrolovaných laboratorních podmínkách v prostředí nasyceném vodou a nebylo manipulováno s vodním potenciálem (Hradilová et al. 2019; Renzi et al. 2020). V této studii byla k minimalizaci vlivu mateřského prostředí použita plně zralá suchá semena získaná z rostlin pěstovaných ve skleníku během tří roků (2017 až 2019).

Obr. 12: Ukončení dormance semen po exhumaci z půdy (vlevo) a po testování (vpravo) v reakci na půdní podmínky prostředí (suché a vlhké) u tolíce (a) a planého hrachu (b) seskupeném dle makroklimatických podmínek



Svislé úsečky označují $\pm$ střední chybu průměru. Malá písmena označují významně odlišné prostředky s ohledem na makroklimatické podmínky pro každou půdní podmínku a velká písmena mezi půdními podmínkami (Fisherův LSD test, $\alpha = 0,05$)

Riziko neúspěšného vzcházení rostlin se zvyšuje, pokud jsou srážky spouštějící klíčení doprovázeny prodlouženým suchem během vegetačního období podzim-zima (Larson et al. 2020). Investice do dormance je tedy strategií k zajištění vytrvalosti. Fyzikální dormance byla vyšší v suchých půdních podmínkách než ve vlhkých (81 vs. 38 %; $p < 0,01$), ale lišila se mezi druhy v závislosti na vlhkostních podmínkách půdy a dostupnosti vody v laboratoři (obr. 3). V suchých podmínkách (suchá půda a okamžitě exhumovaná semena) byla dormance vyšší u planého hrachu než u tolíce (96 vs. 68 %, $p < 0,01$), ale ve vlhkých podmínkách (vlhká půda a vodní nasycenost v laboratoři) byla dormance vyšší u tolíce než u planého hrachu (20 vs 8 %, $p < 0,01$). Kapacita bet-hedgingu mezi ročními obdobími by tedy závisela na půdních podmínkách a plasticitě druhu modifikující jejich reakci.

Tato studie podporuje hypotézu, že v některých případech je dormance spojena s environmentálními faktory v místě jejich vzniku (makroklimatické), a je tedy adaptivní. Vyšší podíl semen s dormancí se očekává na místech s nižšími srážkami (Hudson et al. 2015), což bylo skutečně pozorováno u planého hrachu, ne však u tolíce. U tolíce se mezi jednotlivými shluky neprojevil signifikantní rozdíl v ukončení dormance (obr. 8a), zatímco planý hrach ve shluku *sucho-vlhko* vykazoval vyšší míru ukončení fyzikální dormance u semen v suchých půdních podmínkách. Toto lze považovat za vysoce adaptivní strategii, která je výsledkem silného selekčního tlaku na výběr prostředí v průběhu času. Na druhou stranu méně předvídatelnější suché letní prostředí (shluky *sucho-sucho* a *sucho-vlhko*) může vyselektovat dříve v průběhu ročního období fenologii klíčení (nižší dormanci).

Adaptivní fenotypová plasticita a bet-hedging v ročním období i mezi jednotlivými ročními obdobími by mohly zlepšit fitness v rámci variací prostředí. Vztah mezi těmito dvěma způsoby

reakce by mohl být strategií, která chrání druhy proti nepředvídatelnosti lokálního prostředí. Ukončení dormance semen je ideální pro studium takového vztahu, protože vykazuje plasticitu ve vztahu k environmentálním faktorům (světlo, teplota, voda, atd.), odchylky v potenciálním klíčení během ročního období (bet-hedging v rámci sezóny) a různá úroveň dormance semen mezi vegetačními obdobími (mezisezónní bet-hedging).

Závěr

Adaptivní strategie byla u dvou studovaných druhů luskovin odlišná. V přirozených půdních podmínkách vykazoval planý hrách vyšší adaptivní fenotypovou plasticitu než tollice, zatímco tollice měla vyšší bet-hedging během ročního období. V suchých půdních podmínkách vykazovaly oba druhy bet-hedging strategii. Naopak, s vyšší dostupností vody se zvýšil potenciál ukončení dormance. Naše zjištění naznačují, že adaptivní plasticita a bet-hedging jsou důležitou součástí mechanismu ukončení dormance a klíčení.

Dedikace

Práce byla podpořena granty GAČR 16-21053S a Grantovou agenturou UP (IGA 2019_001, 2020_003).

Použitá literatura

- Baskin J.M.; Baskin, C.C. *Seeds: Ecology, Biogeography and Evolution of Dormancy and Germination*, 2nd ed.; Academic Press: Amsterdam, The Netherlands, 2014.
- Hradilová I.; Duchoslav M.; Brus J.; et al. Variation in wild pea (*Pisum sativum* subsp. *elatius*) seed dormancy and its relationship to the environment and seed coat traits. *PeerJ* 2019, 7, e6263.
- Hudson, A.R.; Ayre, D.J.; Ooi, M.K.J. Physical dormancy in a changing climate. *Seed Science Research* 2015, 25, 66–81.
- Larson J.E.; Anacker B.L.; Wanous S.; Funk, J.L. Ecological strategies begin at germination: Traits, plasticity, and survival in the first four days of plant life. *Funct. Ecol.* 2020. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13543>.
- Renzi J.P.; Duchoslav M.; Brus J.; Hradilová I.; Pechanec V.; Václavek T.; Machalová J.; Hron K.; Verdier J.; Smýkal P. Physical Dormancy Release in *Medicago truncatula* Seeds Is Related to Environmental Variations. *Plants* 2020, 9, 503.
- Simons A.M. Playing smart vs. playing safe: The joint expression of phenotypic plasticity and potential bet hedging across and within thermal environments. *J. Evol. Biol.* 2014, 27, 1047–1056.
- Smýkal P.; Hradilová I.; Trněný O. et al. Genomic diversity and macroecology of the crop wild relatives of domesticated pea. *Sci. Rep.* 2017, 7, 17384.
- Sultan S.E. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci* 2000, 5, 537–542.
- Valladares F.; Sanchez-Gomez D.; Zavala M.A. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: Bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J. Ecol.* 2006, 94, 1103–1116.
- Venable D.L. Bet hedging in a guild of desert annuals. *Ecology* 2007, 88, 1086–1090.

Kontaktní adresa:

Doc. Ing. Petr Smýkal, Ph.D.
Katedra botaniky, PřF, Univerzita Palackého
Šlechtitelů 27, 783 21 Olomouc
Email: petr.smykal@upol.cz; Tel.: +420 585 634 827

HODNOCENÍ ODOLNOSTI SOUBORU JARNÍCH JEČMENŮ (*HORDEUM VULGARE* L.) VŮČI SUCHU

Evaluation of drought response in a set of spring barley genotypes (*HORDEUM VULGARE*)

Kosová K., Vítámvás P., Ovesná J., Nesvadba Z., Prášil I. T.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

Abstrakt

Sucho patří celosvětově mezi nejvýznamnější environmentální stresové faktory snižující výnos a kvalitu rostlinné produkce. Porozumění klíčovým fyziologickým mechanismům podmiňujícím zvýšenou odolnost (toleranci) vůči suchu představuje základ pro šlechtění nových genotypů se zvýšenou odolností k suchu. Cílem naší studie bylo fenotypování odezvy na postupně se zvyšující stres sucha u souboru 22 genotypů jarních ječmenů na základě relativně rychlých stanovení růstových charakteristik (hmotnost nadzemní biomasy), obsahu vody v listových pletivech (poměr čerstvé a suché hmotnosti 2. listu), osmotického potenciálu a fluorescence chlorofylu - parametru maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm jako nepřímého ukazatele stavu fotosyntetického aparátu. Získaná data ukázala odlišnou odezvu různých genotypů na aplikované sucho na úrovni Fv/Fm, osmotického potenciálu, hmotnosti nadzemní biomasy i obsahu vody v listech. Klastrová analýza Z-skore transformovaných dat z poměrů suchých variant ke kontrolním rozdělila soubor 22 genotypů na čtyři skupiny s rozdílnou odezvou na sucho. Hodnocení fyziologických charakteristik s následnou mnohorozměrnou statistickou analýzou lze tedy využít jako vhodný nástroj pro rozlišení různých typů stresové odezvy obilnin.

Klíčová slova: sucho; ječmen setý; růstové charakteristiky; Fv/Fm; osmotický potenciál; klastrová analýza

Abstract

Drought represents globally probably the most important environmental stress factor adversely affecting crop yield and quality. Understanding the key physiological mechanisms underlying enhanced drought tolerance represents the basis for breeding novel varieties with improved drought tolerance. The aim of our study lies in phenotyping responses to increasing drought levels in a set of 22 spring barley genotypes based on the assessment of growth-related characteristics (total shoot biomass weight), water content in leaf tissues (a ratio between drought and fresh weight of 2nd leaf), osmotic potential and chlorophyll fluorescence parameter maximum quantum yield of photosystem II photochemistry Fv/Fm. Cluster analysis of Z-score transformed data of the ratios of drought-treated variants to control ones distinguished the genotypes into four groups revealing differential kind of drought response. Assessment of basic growth and physiological characteristics followed by multidimensional statistical analysis can be utilized as a useful tool for distinguishing differential types of stress responses in cereals.

Key words: drought; barley; growth-related characteristics; Fv/Fm; osmotic potential; cluster analysis

Úvod

Sucho představuje celosvětově nejvýznamnější stresový faktor snižující výnos a kvalitu rostlinné produkce. Sucho je komplexní fenomén z hlediska různých vědních disciplín, z hlediska rostlinné fyziologie a agronomie jsou klíčové definice tzv. fyziologického sucha jako stavu, kdy výdej vody rostlinou (prýtem) převyšuje její příjem kořeny, a agronomického sucha,

kteřé představuje stav, kdy nedostatek vody vede k min. 10% snížení výnosu oproti optimální závlivce. Sucho má specifické dopady na různé fyziologické procesy (vodní režim, fotosyntéza) a různá vývojová stadia rostlin (vegetativní vs. reprodukční stadium; blíže viz Kosová et al. 2014).

Naprostá většina zemědělských plodin patří mezi tzv. homoiohydričné rostliny, tj. rostliny, které jsou citlivé k buněčné dehydrataci. Rostlina se snaží i za sníženého příjmu vody udržet homeostazi, tj. relativně nezměněný obsah vody v rostlinných pletivech. Jelikož se však příjem i výdej vody z rostlinných pletiv řídí gradientem vodního potenciálu, v systému půda → rostlina → vzduch, za podmínek sníženého obsahu vody v půdě lze udržet příjem vody z půdy do buněk jedině díky zvýšené akumulaci tzv. osmoticky aktivních látek, což vede k tzv. osmotickému přizpůsobení, tj. snížení osmotického potenciálu jako hlavní složky vodního potenciálu (Serraj a Sinclair 2002).

Fotosyntéza představuje klíčový metabolický proces z hlediska odezvy na sucho. U C3 rostlin, k nimž patří obilniny ze skupiny Triticeae včetně ječmene setého, vede zavření průduchů v důsledku sníženého obsahu vody současně i k sníženému příjmu CO₂ a ke snížení rychlosti tzv. sekundárních fotosyntetických procesů spojených s asimilací CO₂. Primární fotosyntetické procesy spojené s absorpcí světelného záření a aktivací tzv. fotosyntetického elektrontransportního řetězce však závisí na jiných faktorech (ozáření), takže za sucha dochází k diskrepancím mezi primárními a sekundárními fotosyntetickými procesy a v důsledku toho k nárůstu procesů spojených s disipací absorbované energie, a to buď termální disipací, vyjádřenou pomocí tzv. nefotochemického zhášení fluorescence, anebo tzv. fluorescencí chlorofylu a v reakčním centru fotosystému II. Fluorescenční parametr zvaný maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm se používá jako nepřímý ukazatel stresu; jeho hodnoty se u různých rostlin za optimálních podmínek pohybují kolem 0.82, a za stresu klesají (Krause a Weis 1991; Rizza et al. 2001).

Cílem naší studie bylo provést fenotypování sady 22 jarních ječmenů z hlediska jejich odezvy na sucho na základě stanovení základních charakteristik spojených s růstem a vývojem rostlin (počet listů, délka a šířka 2. listu), obsahem vody v listových pletivech (poměr čerstvá hmotnost/suchá hmotnost), osmotický potenciál, a fluorescenční parametr Fv/Fm jako nepřímý indikátor stavu fotosyntetického aparátu (aktivity fotosystému II).

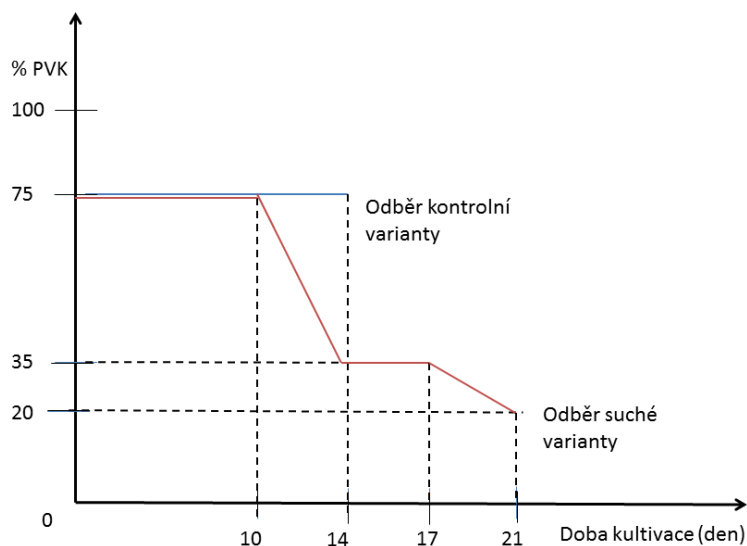
Materiál a metodika

Byl hodnocen soubor 22 genotypů jarního ječmene, skládající se z 5 odrůd registrovaných v ČR (Sebastian, Laudis 550, Petrus, Spitfire, Aligator), 2 odrůd (Atlas 68, Tadmor) pocházejících ze suchého prostředí (Sýrie, USA) a použitých jako standardy, a z 15 šlechtitelských linií, které byly získány z Výzkumného centra SELTON, s.r.o., ŠS Stupice. Osivo bylo před nakličováním promyto postupně studenou, teplou vodou, 1 % dezinfekčním roztokem chlornanu sodného (SAVO), studenou a destilovanou vodou a bylo nakličováno za střídavého působení optimální teploty (20 °C) a chladu (5 °C) celkem po dobu 5 dnů (1 den při 20 °C následovaný 3 dny při 5 °C a 1 dnem při 20 °C), aby byla zajištěna co nejvyšší homogenita klíčení.

Organizace experimentů: Naklíčené osivo bylo vyseto po 8 zrnech do květináčů naplněných 200 g zahradnického substrátu B, překryto 60 g substrátu a zalito na 75% půdní vodní kapacity (PVK; zhruba 70 ml vody; výsledná hmotnost květináče zhruba 350 g) jako optimální závlivka. Každý genotyp byl vyset po 8 zrnech do tří květináčů sloužících jako kontrolní varianta a tři květináčů určených pro suchou variantu. Po dobu prvních 10 dnů od výsevu byly obě varianty zalévány gravimetricky na 75 % PVK, poté byla u suché varianty závlivka snížena na 35 % PVK. Poslední 4 dny před odběrem nebyly suché varianty zalévány, čímž obsah vody v půdě v době odběru klesl až na cca 20 % PVK (Obr. 1). Po 14 dnech od výsevu při stálé závlivce na 75 % PVK byly provedeny fyziologické analýzy odebraných kontrolních rostlin a po 21 dnech od

výsevu byly provedeny fyziologické analýzy rostlin ze suché varianty, tj. rostlin pěstovaných prvních 10 dnů od výsevu při 75 % PVK, dalších 7 dnů pěstovaných pod sníženou závlahou 35 % PVK a následně 4 dny vystavených vysychání na 15-20 % PVK. Pěstování probíhalo v kontrolovaných podmínkách klimaboxu (typ Tyler T-64, Budapešť, Maďarsko) při teplotě 18 °C, iradianci 350 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ a dlouhodobým režimem (16 h světlo/ 8 h tma). V jednom klimaboxu bylo současně kultivováno 20 genotypů plus 2 genotypy Atlas 68 a Tadmor používané jako standardy pro porovnání testovaných parametrů.

V době odběru byly stanoveny následující charakteristiky: Počet vzešlých rostlin v květináči, hmotnost celkové nadzemní biomasy v květináči, čerstvá a suchá hmotnost 2. listu, délka a šířka 2. listu ze 4 rostlin (plocha 2. listu), fluorescenční parametr maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm, osmotický potenciál šťávy vymačkané z 2. listu. Hmotnost nadzemní biomasy, čerstvá a suchá hmotnost byly stanoveny gravimetricky (analytické váhy Sartorius), délka a šířka 2. listu byly stanoveny měřením, fluorescenční parametr Fv/Fm byl stanoven u temnotně adaptovaných rostlin (min. 30 min. ve tmě) pomocí ručního fluorometru FluorPen FP100 (PSI, Drásov, Brno, ČR), osmotický potenciál byl stanoven jako osmolarita pomocí osmometru VAPRO (Wescor, Utah, USA). Všechna data byla stanovena jako minimálně 4 biologická opakování. Jednotlivé charakteristiky (kontrolní i suché varianty všech genotypů jako jeden soubor dat) byly vyhodnoceny pomocí analýzy rozptylu (ANOVA), signifikantní rozdíly na hladině 0,05 byly stanoveny pomocí Duncanova testu rozpětí (DMRT) v programu STATISTICA verze 13 (TIBCO Inc.). Klastrová analýza Z-skore transformovaných poměrů suché a kontrolní varianty (S/K) z jednotlivých charakteristik (fluorescenční parametr maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm, osmotický potenciál, hmotnost nadzemní biomasy, poměr suché a čerstvé hmotnosti 2. listu (%), plocha 2. listu) byla provedena v softwaru Permutmatrix verze 1.9.3 (Caraux a Pinloche 2005) za užití Euklideánských vzdáleností a Wardových minimálních kritérií.



Obr. 1. Schéma uspořádání experimentu. Prvních 10 dnů od vysazení naklíčených semen byly všechny rostliny (kontrolní i suchá varianta) zalévány na 75% půdní vodní kapacity (PVK). Následně byly na 75 % PVK zalévány pouze kontrolní rostliny až do doby odběru, tj. 14 dnů od vysazení rostlin, zatímco u suché varianty byla nejprve dalších 7 dnů závlaha snížena na 35% PVK, a následně byly další 4 dny až do odběru ponechány zcela bez závlahy, čímž se obsah vody v půdě (zahradnický substrát) snížil až na zhruba 20% PVK v době odběru. Suché varianty byly odebrány 21 dnů od vysazení rostlin.

Výsledky a diskuse

Bylo provedeno hodnocení odolnosti souboru 20 genotypů jarních ječmenů vůči suchu (deficitu vody). Jednalo se o nádobový pokus, rostliny byly pěstovány v klimaboxu ($t = 18\text{ }^{\circ}\text{C}$, 16 h fotoperioda) v květináčích naplněných zahradnickým substrátem, u něhož byly stanoveny mezní hodnoty půdní vodní kapacity (PVK; 0% = vysušení v sušárně při $60\text{ }^{\circ}\text{C}$; 100% nasycení vodou). Rostliny byly pěstovány do stadia 3 listů a následně byl odebrán 2. list plně vyvinutý pro analýzu biomasy, poměru čerstvé hmotnosti a sušiny, stanovení fluorescence chlorofylu a parametr maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm a stanovení osmotického potenciálu. Kontrolní rostliny byly po celou dobu pěstování (14 dnů) zalévány na 75% PVK; rostliny vystavené suchu byly prvních 10 dnů (vzcházení rostlin až vytvoření plně vyvinutého 1. listu) zalévány na 75%, následně byly dalších 7 dnů (vytvoření 2. a 3. listu) zalévány na 35% PVK a poté byly před odběrem ponechány 4 dny bez závlivky, čímž došlo k poklesu na cca 20% PVK. Tento způsob pěstování a o 7 dnů pozdější doba odběru suchých variant byly zvoleny proto, aby obě varianty byly v době odběru ve stejné fenologické fázi vývoje (plně vyvinutý 2. list a již vytvořený 3. list), neboť snížená závlivka vede k opoždění vývoje rostlin. U obou variant (kontrola i sucho) byly odebrány 2. listy pro analýzu základních růstových charakteristik (délka a šířka 2. listu), poměr čerstvé hmotnosti a sušiny, stanovení fluorescence chlorofylu a parametr maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm (na intaktních temnotně adaptovaných rostlinách).

Tabulka 1: Hodnoty kontrolních variant u 22 genotypů jarního ječmene u následujících parametrů: fluorescence chlorofylu a parametr maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm u temnotně adaptovaných listů, osmotický potenciál, hmotnost čerstvé nadzemní biomasy, procento poměru suché a čerstvé hmotnosti 2. listu $(\text{DW}/\text{FW}) \cdot 100$ (%). Data představují průměry $\pm$ směrodatné odchylky min. ze 3 měření (biomasa, $(\text{DW}/\text{FW}) \cdot 100$ (%), 4 měření (osmotický potenciál) anebo 6 měření (Fv/Fm), odlišná písmena značí statisticky významný rozdíl na hladině 0,05 stanovený pro jednotlivé charakteristiky pomocí ANOVA, Duncanova testu rozpětí (DMRT) (souhrnné hodnocení pro data v Tabulkách 1 a 2).

Genotyp	Kontrola (75 % PVK)			
	Fv/Fm	Osmotický potenciál (MPa)	Biomasa (g)	$(\text{DW}/\text{FW}) \cdot 100$ (%)
QK 19 ST/1 Sebastian	$0,783 \pm 0,0124$ abcde	$-1,531 \pm 0,008$ de	$6,58 \pm 0,085$ a	$12,932 \pm 0,535$ ab
QK 19 ST/2 Laudis 550	$0,781 \pm 0,015$ abcdef	$-1,611 \pm 0,014$ h	$5,33 \pm 0,252$ ef	$12,468 \pm 1,288$ ab
QK 19 ST/3 Petrus	$0,794 \pm 0,011$ a	$-1,446 \pm 0,018$ c	$6,473 \pm 0,176$ a	$11,85 \pm 0,729$ a
QK 19 ST/4 Spitfire	$0,789 \pm 0,015$ ab	$-1,512 \pm 0,021$ d	$6,027 \pm 0,25$ abcd	$13,442 \pm 0,39$ ab
QK 19 ST/5 Aligator	$0,787 \pm 0,0134$ ab	$-1,508 \pm 0,03$ d	$6,173 \pm 0,186$ ab	$12,351 \pm 0,721$ ab
QK 19 ST/6	$0,792 \pm 0,006$ ab	$-1,375 \pm 0,028$ a	$6,277 \pm 0,21$ ab	$12,47 \pm 0,441$ ab
QK 19 ST/7	$0,795 \pm 0,01$ a	$-1,682 \pm 0,014$ i	$5,2 \pm 0,571$ f	$13,321 \pm 0,718$ ab
QK 19 ST/8	$0,789 \pm 0,0129$ ab	$-1,676 \pm 0,018$ i	$5,3 \pm 0,35$ ef	$13,418 \pm 0,21$ ab
QK 19 ST/9	$0,789 \pm 0,012$ ab	$-1,617 \pm 0,01$ h	$6,133 \pm 0,138$ abc	$12,712 \pm 0,515$ ab

QK 19 ST/10	0,785 ± 0,0096 abcd	-1,44 ± 0,009 c	6,197 ± 0,525 ab	12,403 ± 0,501 ab
QK 19 ST/11	0,785 ± 0,0096 abc	-1,664 ± 0,034 i	5,373 ± 0,359 def	13,785 ± 0,188 b
QK 19 ST/12	0,784 ± 0,0088 abcde	-1,538 ± 0,022 de	5,663 ± 0,317 bcdef	12,885 ± 0,397 ab
QK 19 ST/13	0,783 ± 0,013 abcdee	-1,544 ± 0,011 ef	6,36 ± 0,263 ab	12,966 ± 0,407 ab
QK 19 ST/14	0,778 ± 0,0102 abcdefg	-1,587 ± 0,011 gh	6,173 ± 0,373 ab	13,568 ± 0,913 ab
QK 19 ST/15	0,781 ± 0,0143 abcdef	-1,404 ± 0,012 b	5,863 ± 0,644 abcdef	13,964 ± 1,229 b
QK 19 ST/16	0,784 ± 0,0146 abcde	-1,605 ± 0,009 h	5,983 ± 0,521 abcde	12,947 ± 0,41 ab
QK 19 ST/17	0,786 ± 0,0088 abc	-1,572 ± 0,022 fg	6,15 ± 0,336 abc	14,214 ± 0,65 b
QK 19 ST/18	0,783 ± 0,0109 abcde	-1,521 ± 0,021 de	5,172 ± 0,522 f	13,399 ± 0,473 ab
QK 19 ST/19	0,776 ± 0,0104 abcdefghi	-1,729 ± 0,015 j	6,147 ± 0,321 ab	14,056 ± 0,257 b
QK 19 ST/20	0,778 ± 0,0111 abcdefgh	-1,748 ± 0,009 j	5,46 ± 0,321 cdef	14,169 ± 0,47 b
Atlas 68	0,796 ± 0,0123 a	-1,338 ± 0,19 a	4,894 ± 0,55 f	12,869 ± 0,2264 ab
Tadmor	0,793 ± 0,019 a	-1,346 ± 0,054 a	4,04 ± 0,39 f	12,723 ± 0,3465 ab
Průměr	0,786	-1,545	5,771	13,128

Tabulka 2: Hodnoty suchých variant u 22 genotypů jarního ječmene u následujících parametrů: fluorescence chlorofylu a parametr maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm u temnotně adaptovaných listů, osmotický potenciál, hmotnost čerstvé nadzemní biomasy, procento poměru suché a čerstvé hmotnosti 2. listu (DW/FW)*100 (%). Data představují průměry ± směrodatné odchylky min. ze 3 měření (biomasa, (DW/FW)*100 (%), 4 měření (osmotický potenciál) anebo 6 měření (Fv/Fm), odlišná písmena značí statisticky významný rozdíl na hladině 0,05 stanovený pro jednotlivé charakteristiky pomocí ANOVA, Duncanova testu rozpětí (DMRT) (souhrnné hodnocení pro data v Tabulkách 1 a 2).

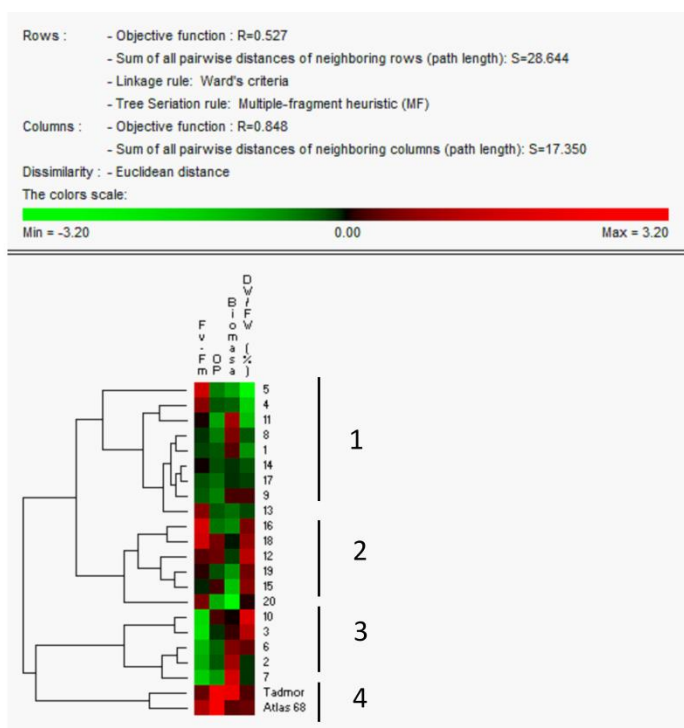
Genotyp	Sucho (35-20 % PVK)			
	Fv/Fm	Osmotický potenciál (MPa)	Biomasa (g)	(DW/FW)*100 (%)
QK 19 ST/1 Sebastian	0,758 ± 0,036 hijkl	-2,908 ± 0,021 qrs	3,237 ± 0,133 g	22,442 ± 0,493 cd
QK 19 ST/2 Laudis 550	0,742 ± 0,0305 lmn	-3,064 ± 0,063 u	2,77 ± 0,095 gh	23,022 ± 2,681 def
QK 19 ST/3 Petrus	0,739 ± 0,0384 mn	-2,852 ± 0,018 o	3,143 ± 0,012 gh	24,613 ± 0,518 fgh
QK 19 ST/4 Spitfire	0,777 ± 0,027 abdefgh	-2,871 ± 0,009 op	2,8 ± 0,057 gh	21,225 ± 0,142 c

QK 19 ST/5 Aligator	0,79 ± 0,0095 ab	-2,706 ± 0,018 l	2,72 ± 0,171 gh	23,608 ± 1,167 defg
QK 19 ST/6	0,75 ± 0,0306 klmn	-2,579 ± 0,01 k	3,17 ± 0,078 gh	23,998 ± 0,809 defg
QK 19 ST/7	0,747 ± 0,066 klmn	-2,858 ± 0,014 o	2,877 ± 0,067 gh	24,599 ± 0,377 fgh
QK 19 ST/8	0,765 ± 0,0478 defghijk	-3,014 ± 0,015 t	2,677 ± 0,103 gh	24,377 ± 0,731 efgh
QK 19 ST/9	0,762 ± 0,0367 fghijk	-2,894 ± 0,023 pq	2,997 ± 0,035 gh	24,143 ± 1,291 defg
QK 19 ST/10	0,733 ± 0,0644 n	-2,994 ± 0,018 t	2,983 ± 0,093 gh	27,216 ± 1,422 j
QK 19 ST/11	0,763 ± 0,028 fghijk	-2,747 ± 0,021 m	2,793 ± 0,186 gh	22,593 ± 0,401 cde
QK 19 ST/12	0,766 ± 0,025 cdefghijk	-3,314 ± 0,008 v	2,69 ± 0,128 gh	26,833 ± 0,704 ij
QK 19 ST/13	0,771 ± 0,023 cdefghij	-2,937 ± 0,016 s	2,943 ± 0,137 gh	23,735 ± 0,414 defg
QK 19 ST/14	0,756 ± 0,0258 ijklm	-3,046 ± 0,012 u	2,943 ± 0,188 gh	24,684 ± 1,027 fgh
QK 19 ST/15	0,758 ± 0,032 hijkl	-2,9 ± 0,021 q	2,48 ± 0,145 hi	27,61 ± 1,821 j
QK 19 ST/16	0,79 ± 0,013 ab	-2,933 ± 0,013 rs	2,717 ± 0,163 gh	25,292 ± 1,155 ghi
QK 19 ST/17	0,76 ± 0,028 hijkl	-2,91 ± 0,025 qr	2,937 ± 0,265 gh	26,112 ± 1,895 hij
QK 19 ST/18	0,786 ± 0,0123 abc	-3,315 ± 0,015 v	2,483 ± 0,131 hi	26,788 ± 1,285 ij
QK 19 ST/19	0,755 ± 0,0367 jklm	-3,314 ± 0,014 v	2,753 ± 0,15 gh	27,317 ± 0,456 j
QK 19 ST/20	0,764 ± 0,0192 efghijk	-2,804 ± 0,008 n	1,937 ± 1,448 i	26,55 ± 1,604 ij
Atlas 68	0,79 ± 0,0085 ab	-4,419 ± 0,015 x	2,4167 ± 0,091 hi	24,922 ± 1,0764 fgh
Tadmor	0,776 ± 0,0347 cdef	-4,086 ± 0,46 x	2,333 ± 0,081 hi	24,246 ± 0,7267 def
Průměr	0,763	-3,112	2,764	24,815

V tabulkách 1 a 2 jsou uvedeny výsledky zjištěné pro jednotlivé stanovené charakteristiky vyhodnocené na základě analýzy rozptylu (ANOVA), Duncanova testu rozpětí na hladině významnosti 0.05 (DMRT 0.05). Z výsledků uvedených v tabulkách 1 a 2 jsou zřejmé statisticky významné rozdíly v jednotlivých charakteristikách (Fv/Fm, OP, biomasa, DW/FW*100) mezi kontrolními a suchými variantami, ale rovněž mezi jednotlivými genotypy, což ukazuje na možnosti jejich rozlišení. Parametru maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm jak mezi kontrolními a suchými variantami, tak především mezi různými genotypy ječmene v odezvě na sucho (35 % PVK). Výsledky tak ukazují dobré uspořádání experimentu umožňující rozlišit genotypy s odlišnou odezvou (tolerancí) k suchu.

Po vyhodnocení jednotlivých charakteristik zvláště jsme provedli mnohorozměrnou statistickou analýzu dat - poměrů hodnot jednotlivých charakteristik u suché vs. kontrolní varianty (S/K) - pomocí klastrové analýzy (**Obrázek 2**).

Jako tolerantní k suchu lze hodnotit genotypy, které mají rel. vysoký poměr (S/K) (v klastrové analýze červená políčka), tj. malý pokles za sucha, u hodnot Fv/Fm a hmotnosti čerstvé nadzemní biomasy, a rel. nízký nárůst suché hmotnosti a poměru suché k čerstvé hmotnosti (DW/FW)*100 (%) za sucha (v klastrové analýze červená políčka). V případě osmotického potenciálu velký pokles za sucha oproti kontrole, tj. nárůst (S/K) (v klastrové analýze červená políčka) může znamenat odolnost (vysoká míra akumulace osmolytů, a tím pokles OP, za sucha) i citlivost (vysoká ztráta vody za sucha) genotypů, proto je vhodné OP hodnotit společně s charakteristikami spojenými s obsahem vody v daném orgánu (2. list), jako jsou např. (DW/FW)*100 (%), vodní sytostní deficit (VSD), relativní obsah vody v listu (RWC), aj. Genotypy Atlas 68 a Tadmor vybrané jako kontrolní, měly všechna políčka červená, tj. vyznačovaly se v daném souboru genotypů rel. vysokou odolností k suchu.



Obr. 2. Klastrová analýza základních růstových a fyziologických parametrů (Fv/Fm, osmotický potenciál, biomasa, poměr suché a čerstvé hmotnosti 2. listu DW/FW (%)) u suchých vs. kontrolních (S/K) variant genotypů 1-20. Klastrová analýza byla provedena u Z-skore transformovaných dat z poměrů (S/K) pomocí softwaru Permutmatrix verze 1.9.3 (Caraux a Pinloche 2005) za užití Euklideánských vzdáleností a Wardových minimálních kritérií pro klastrování dat.

Klastrová analýza (**Obrázek 2**) rozdělila analyzované genotypy do 4 skupin. Skupinu 1 tvoří genotypy 1, 4, 5, 8, 11, 13, 14, 17, které je možno označit za citlivé vůči suchu (zelená políčka), skupinu 2 tvoří genotypy 12, 15, 16, 18, 19, 20, které jsou tolerantní z hlediska fotosyntézy (rel. malý pokles Fv/Fm za sucha), osmotického potenciálu a poměru suché a čerstvé hmotnosti 2. listu u suchých a kontrolních variant, avšak suchu u nich způsobuje významné zpomalení růstu projevující se jako rel. významný pokles čerstvé nadzemní biomasy u suchých variant vzhledem ke kontrolám (zelená políčka). Skupinu 3 tvoří genotypy 2, 3, 6, 7, 10, které jsou odolné k suchu z hlediska růstu a vysychání (OP, biomasa, DW/FW), avšak citlivé z hlediska fotosyntézy

(významný pokles Fv/Fm u suchých variant oproti kontrolám), a konečně skupinu 4 tvoří genotypy Atlas 68 a Tadmor, které byly zvoleny jako kontrolní a které se vyznačují velkou odolností k suchu na úrovni všech sledovaných charakteristik.

Závěr

Klastrová analýza hodnocených dat rozdělila genotypy na několik skupin z hlediska jejich způsobu hospodaření s vodou a vlivu sucha na fotosyntetický aparát nepřímo indikovaný odezvou Fv/Fm. Získané výsledky jsou v souladu s poznatky týkajícími se různých strategií hospodaření s vodou u rostlin s C3 typem fotosyntézy, tj. se strategií tzv. „water-saver“ („šetření vodou“, tj. zavírání průduchů již při mírném vodním deficitu, které zabraňuje dehydrataci prýtu, avšak snižuje dostupnost CO₂ pro fotosyntézu a v důsledku vede ke snížení fotosyntetické asimilace) či se strategií tzv. „water-spender“ (rostliny nechávají průduchy otevřené až do vytvoření významného deficitu vody v pletivech, ztrácejí vodu, ale mají dostatek CO₂ pro fotosyntézu). Obě tyto krajní strategie mohou vést k rel. vyšším výnosům plodin za sucha, záleží na charakteru sucha, resp. souhrnu a rozložení srážek v průběhu vegetační sezóny (blíže viz Kosová et al. 2014).

Dedikace

Prezentované výsledky byly získány v rámci řešení institucionálního projektu MZe ČR RO0418 a projektu MZe ČR QK1910197 a v rámci řešení projektu TA ČR TN0100006203 řešeného v rámci Národního centra kompetence (NCK).

Použitá literatura

- Caraux, G., Pinloche, S., 2005: Permutmatrix: a graphical environment to arrange gene expression profiles in optimal linear order. *Bioinformatics* 21: 1280–1281.
- Kosová, K., Vítámvás, P., Urban, M.O., Kholová, J., Prášil, I.T., 2014: Breeding for enhanced drought resistance in barley and wheat - drought-associated traits, genetic resources and their potential utilization in breeding programmes. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 50: 247–261.
- Krause, G.H., Weis, E., 1991: Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 313–349.
- Rizza, F., Pagani, D., Gut, M., Prášil, I.T., Lago, C., Tondelli, A., et al., 2011: Diversity in the response to low temperature in representative barley genotypes cultivated in Europe. *Crop Sci.* 51: 2759–2779.
- Serraj, R., Sinclair, T.R., 2002: Osmolyte accumulation: can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environment* 25: 333–341.

Kontaktní adresa:

RNDr. Klára Kosová, Ph.D.,

Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i., Drnovská 507, 161 06 Praha.

E-mail: kosova@vurv.cz

POUŽITÍ METODY FLORAL DIP PRO TRANSFORMACI LNU

The use of floral dip method for linseed transformation

Ludvíková M., Griga M., Vrbová M., Smýkalová I.

Agritec Plant Research s.r.o.

Abstrakt

Tato práce je zaměřena na využití metody floral dip jako alternativy pro agrobakteriální transformaci olejného lnu (*Linum usitatissimum* L.). Pro zkušební transformaci metodou floral dip byl použit konstrukt pBIaMT obsahující gen *uidA*, umožňující selekci transformantů na základě histochemického stanovení. Histochemické GUS testování prokázalo úspěšnou transformaci u 28 % získaných semen. Úspěšnost transformace byla ověřena také metodou PCR. Výsledky práce potvrdily, že je metoda floral dip u lnu použitelnou alternativou pro agrobakteriální transformaci kalusů. Transformace metodou floral dip je ve srovnání s jinými metodami transformace poměrně snadná a nenáročná, její provedení je nízkonákladové. Hlavní výhodou je prokázaná vysoká transformační efektivita.

Klíčová slova: len, transformace, *Agrobacterium tumefaciens*, floral dip

Abstract

This work is focused on the use of the floral dip method as an alternative for agrobacterial transformation of linseed (*Linum usitatissimum* L.). For trial floral dip *Agrobacterium* flax transformation the pBIaMT construct containing the *uidA* gene was used, allowing selection of transformants based on histochemical staining. The histochemical GUS testing showed successful transformation in 28 % of the seeds obtained. The success of the transformation was also verified by PCR. The results confirmed that the floral dip method is a useful alternative for agrobacterial transformation of calli for flax. Transformation by the floral dip method is relatively easy and undemanding in comparison with other transformation methods, its implementation is low-cost. The main advantage is the proven high transformation efficiency.

Key words: flax, transformation, *Agrobacterium tumefaciens*, floral dip

Úvod

Len setý (*Linum usitatissimum* L.) je tradiční kulturní plodinou s kultivary pěstovanými na vlákno a olej. V průběhu let byla popsána řada postupů transformace lnu. Nejpoužívanější metodou pro transformaci lnu je (stejně jako u dalších dvouděložných druhů) transformace hypokotylů za pomoci agrobakteria, popsána u lnu již v roce 1983 (Hepburn et al., 1983). Buňky lnu mohou být relativně snadno transformovány pomocí *A. tumefaciens* a snadno pěstovány, pokud je aplikována vhodná inokulační/ selekční/ regenerační metoda (Jordan a McHughen, 1988). Byla učiněna řada pokusů, jak zvýšit efektivitu transformačního procesu včetně prodloužení indukční fáze kalusu, odstranění epidermis a prodloužené kokultivace. Další možností je agrobakteriální transformace kalusů lnu získaných z prašnickové kultury, které jsou kokultivovány s *A. tumefaciens* (Chen a Dribnenki, 2003; Chen et al., 2008; Chen et al., 2015). Popsána byla také transformace lnu s užitím *Agrobacterium rhizogenes*. První zmínka o regeneraci lnu transformovaného *A. rhizogenes* pochází z roku 1988 (Zhan et al.). Úspěšná transformace lnu byla provedena také v protoplastové kultuře (Ling a Binding, 1997). Výsledky nicméně ukázaly, že přímý transfer genů do protoplastů je vhodnou metodou zejména u planých druhů lnu jako je např. snadněji regenerovatelný *Linum suffruticosum*, zatímco u *L. usitatissimum* se zdá být tato technologie méně účinná. Dalším často užívaným přístupem pro transformaci rostlin je biolistická metoda (particle bombardment). Wijayanto a McHughen (1999) dokumentovali úspěšnou biolistickou transformaci a regeneraci transgenního lnu na

standardním selekčním médiu. Poměrně nedávno byla popsána použití metody „floral dip“ pro agrobakteriální transformaci přadného i olejného lnu (Bastaki a Cullis, 2014; 2019). Výhodou metody jsou jednoduchost provedení, nízké náklady a vysoká transformační efektivita. Po další optimalizaci by mohla být využívána ve spojení s progresivními technikami cílené editace genomu (TALENs, CRISPR/Cas) pro modifikaci lnu za účelem potravinářského (modifikace obsahu mastných kyselin) i nepotravinářského (např. fytoimediační technologie) využití.

Materiál a metody

Pro transformaci lnu metodou floral dip byl použit plasmid pBIaMT (Vrbová et al., 2013) vytvořený z plasmidu pBI121 (Clontech). HMT1A značí doménu savčího metalothioneinu 1A obsahující gen *uidA*. Transformace byla provedena dle metodiky Bastaki et al. (2014). *Agrobacterium* bylo přes noc naočkováno do tekutého LB média doplněného příslušnými antibiotiky. Druhý den, po změření optické denzity suspenze ($OD_{600} > 0,5$) byla provedena centrifugace ($5,000 \times g$ při pokojové teplotě). Pelet byl rozpuštěn v infiltračních médiích, tvořených 5% roztokem sacharózy ve vodě a smáčedlem Silwet L-77. Smáčedlo bylo přidáváno do jednotlivých médií v různých koncentracích – podle velikosti pupenů, které byly následně namáčeny, jak je uvedeno v tabulce 1. Po 6 dnech byla transformace opakována. Pro transformaci byl použit genotyp olejného lnu AGT145 ze šlechtitelského programu lnu firmy AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o.

Tab. 1: Velikost pupat a koncentrace smáčedla pro floral dip u lnu

Velikost pupat	Koncentrace Silwet L-77 v médiu(%)	Koncentrace Silwet L-77 opakovaná transformace
poupata do 2 mm	0,003	0,05
poupata do 5 mm	0,05	0,03
poupata do 1 cm	0,03	Opakování neprobíhalo

Nádoba s rostlinami byla položena horizontálně a poupata lnu byla do roztoku namočena na 2 minuty. Následně byly transformované pupeny překryty plastovými pytlíky, které udržují potřebnou vlhkost. Druhý den ráno byla nádoba s rostlinami opět postavena a pytlíky byly odstraněny. Po opakované floral dip transformaci byly rostliny dopěstovány ve skleníku do semen. Rostlin vypěstované z těchto semen posloužily pro izolaci DNA použité následně pro testování přítomnosti transgenů.

Sklizená semena byla naklíčena na navlhčené buničině ve 100ml Erlenmeyerových baňkách. Po sedmi dnech byl proveden u naklíčených semen histochemický GUS test pro ověření účinnosti transformace. Pro lepší zviditelnění modrého zbarvení byly vzorky následně odbarveny pomocí inkubace v 70% etanolu. Roztoky použité pro histochemický GUS test byly připraveny dle Fütterer et al. (1995).

DNA z vybraných vzorků pozitivních při histochemické GUS detekci byla izolována pomocí kitu Invisorb® Spin Plant Mini Kit (STRATEC Molecular, Berlín, Německo). Jako kontrola byly izolovány také dva vzorky GUS negativní. Použity byly primery ohraničující fúzi genů *uidA* a aMT (gen pro savčí metalothionein). Sekvence primerů je uvedena v tabulce 2.

Tab. 2: Primery pro PCR testování lnu transformovaného konstruktem pBIaMT metodou floral dip

Název primeru	Sekvence
MT_Forw	ATGAAGAGCTGCTGCTCCTGCTGC
GUS	TCTGCCAGTTCAGTTCGTTG

Složení reakční směsi bylo: 20 – 50 ng DNA, 1x Dream Taq PCR buffer, 100 μ M každého nukleotidu, 0,4 μ M každého primeru a 1 U Dream Taq polymerázy (Fermentas, Vilnius, Litva). Očekávaná délka amplifikovaného PCR produktu byla 550 bp.

Teplotní profil PCR reakce byl: 95 °C/ 9 min + 40x (95 °C/ 45 s, 60 °C/ 1 min, 72 °C/ 90 s) se závěrečnou elongací 72 °C/ 7 min.

Výsledky a diskuze

Podle velikosti pupenů, které byly transformovány a použitého konstruktu, byly stonky po transformaci označeny příslušnou značkou. Nádob se lny byla položena horizontálně a poupata lnu byla namočena do roztoku agrobakteria. Následně byly transformované pupeny překryty plastovými pytlíky, které udržují vlhkost (Obr. 1 a 2). Po opakované floral dip transformaci byly rostliny dopěstovány do semen, což trvalo zhruba 2 měsíce.



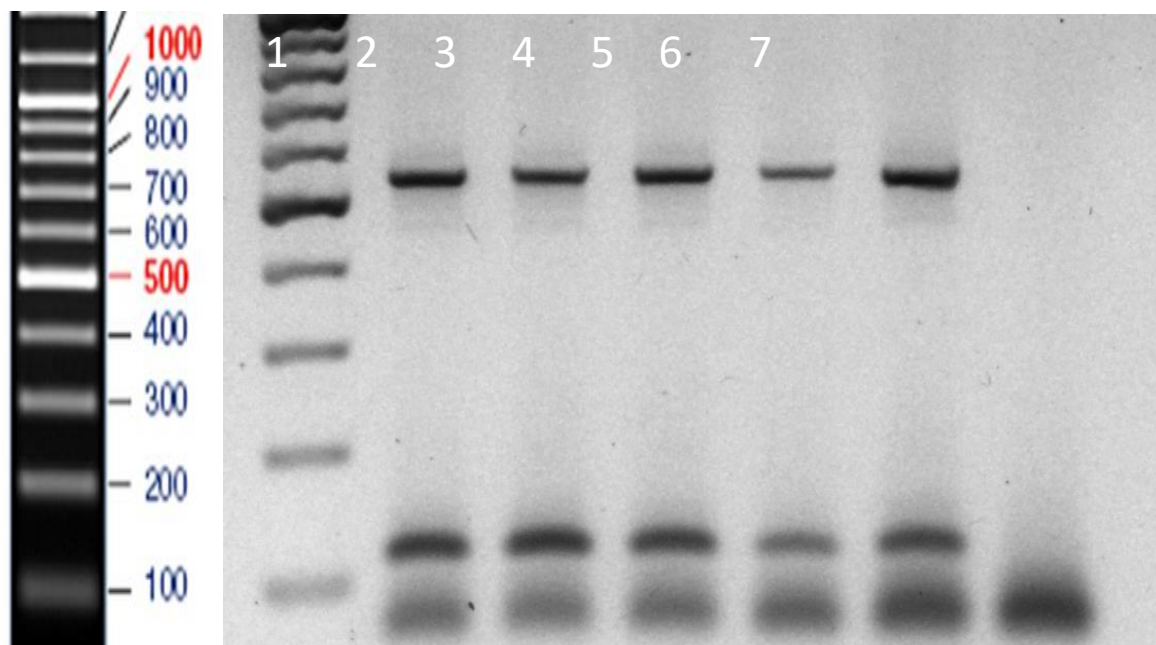
Obr. 1 a 2: Transformace lnu metodou floral dip

Sklizená semena byla naklíčena a byl u nich proveden histochemický GUS test pro ověření účinnosti transformace. Naklíčená semena byla přes noc inkubována při teplotě 37 °C v GUS roztoku obsahujícím barvivo X-gluc, druhý den proběhlo vyhodnocení zbarvení. Modré zbarvení u vysokého procenta naklíčených rostlin potvrdilo úspěšnost transformace (obr. 3).



Obr. 3: Modré zbarvení vzorků – histochemická GUS detekce naklíčených rostlin po kontrolní floral dip transformaci konstruktem pBIaMT

Po izolaci DNA z histochemicky GUS pozitivních vzorků transformovaných konstruktem pBIaMT byla provedena PCR detekce fúze vnášených transgenů. Amplifikována byla oblast genů *uidA* a *aMT* v délce 550 bp. PCR detekce prokázala, že vzorky, které vyšly jako histochemicky GUS pozitivní, obsahují zmíněné geny. Příklad pozitivní PCR detekce fúze transgenů *uidA* a *aMT* je uveden na obr. 4.



Obr. 4: PCR detekce transgenů po floral dip transformaci konstruktem pBIaMT
1. 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Vilnius, Litva), 2.–6. amplifikované fragmenty fúze genů *uidA* a pBIaMT, 7. negativní kontrola.

Transformace lnu metodou floral dip byla provedena dle práce Bastaki et al. (2014). Ve zmíněné publikaci byl použit agrobakteriální kmen LBA4404, pro naši práci byl pro floral dip transformaci použit kmen agrobakterie EHA105, běžně užívaný na pracovišti Agritec pro transformaci hypokotylů lnu. Bastaki et al. (2014) demonstrovali fungování metody floral dip na dvou velmi rozdílných odrůdách lnu. První byl responzivní genotyp přadného lnu nazvaný Stormont Cirrus, druhým pokus byl proveden s odrůdou olejného lnu Bethune (v publikaci popisována jako neresponzivní k transformacím). V rámci naší práce byla metodou floral dip pokusně transformována šlechtitelská linie olejného lnu firmy Agritec nazvaná AGT145.

Bastaki et al. (2014) popisují u odrůdy Stormont Cirrus dosažení překvapivě vysoké transformační efektivity (50 – 60%), což je číslo nesrovnatelně vyšší oproti popsané úspěšnosti floral dip metody u *Arabidopsis thaliana* (získáno max. 1 % transformantů dle publikace Bent et al., 2006), stejně jako s výsledky publikovanými u dalších rostlin (Mu et al., 2012; Yasmeen et al., 2009).

Sklizená semena byla naklíčena a histochemicky testována. Z 250 ks získaných semen se 28 % vzorků (70 ks) jevílo jako GUS pozitivních. Přítomnost genu *uidA* byla ve vzorcích potvrzena také prostřednictvím PCR. Pozorovaná 28% úspěšnost je sice nižší než popisovaná v článku Bastaki et al. (2014), nicméně i tak se jedná o nezvykle vysokou transformační efektivitou.

Je třeba vzít v úvahu, že byl testován jiný kmen agrobakterie a jiná odrůda než v původní publikaci. Je pravděpodobné, že s užitím responzivnějšího genotypu lnu a také při další

optimalizaci metody (např. srovnání různých kmenů agrobakterií, odlišné doby kokultivace) by bylo možno dosáhnout ještě vyšší transformační efektivity.

Závěr

Konstrukt pBIaMT obsahující gen *uidA* byl použit pro zkušební transformaci lnu metodou floral dip. Dle výsledků histochemického testování naklíčených semen získaných po transformaci a PCR detekci genů *uidA* a aMT v transformovaných vzorcích je metoda floral dip použitelnou alternativou pro transformaci lnu.

Výhodou metody floral dip je její jednoduchost, nižší cena a vyšší transformační efektivita. Díky vysokému počtu relativně snadno získaných transformantů by po další optimalizaci mohla nahradit stávající postupy při transformaci lnu.

Použitá literatura

- BASTAKI N. K., CULLIS C. A. (2014): Floral-dip transformation of flax (*Linum usitatissimum*) to generate transgenic progenies with a high transformation rate. *Journal of Visualised Experiments* (94), e52189, doi:10.3791/52189.
- BASTAKI N. K., CULLIS C. A. (2019): Chapter Flax Transformation via FloralDippingPart of the Plant Genetics and Genomics: Crops and Models book series (PGG, volume 23) *Genetics and Genomics of Linum* pp 195-214.
- BENT A. (2006): *Arabidopsis thaliana* floral dip transformation method. *Methods in Molecular Biology*, 343, 87 – 103.
- FÜTTERER J., GISEL A., IGLESIAS V., KLÖTI A., KOST B., MITTELSTENSCHIED O., NEUHAUS G., NEUHAUS-URL G., SCHROTT M., SHILLITO R., SPANGENBERG G., WANG Z.Y. (1995): Standard molecular techniques for the analysis of transgenic plants. In: POTRYKUS I., SPANGENBERG G. *Gene transfer to plants*. Springer-Verlag, Berlin.
- HEPBURN A.G., CLARKE L.E., BLUNDY K.S., WHITE J. (1983): Nopaline Ti-plasmid, pTiT37, T-DNA insertions into a flax genome. *Journal of Molecular and Applied Genetics*; 2: 211 – 24.
- CHEN Y., DRIBNENKI P. (2003): Doubled haploid production and genetic transformation. International patent applications WO 03/041491 A2.
- CHEN Y., SINGH S., RASHID K.Y., DRIBNENKI P., GREEN A. (2008): Pyramiding of alleles with different rust resistance specificities in *Linum usitatissimum* L. *Molecular Breeding*, 21: 419–430.
- CHEN Y., ZHOU X.R., ZHANG, Z.J., DRIBNENKI P., SINGH S., GREEN A. (2015): Development of high oleic oil crop platform in flax through RNAi-mediated multiple FAD2 gene silencing. *Plant Cell Reports* 34: 643–653.
- JORDAN M.C., MCHUGHEN A. (1988): Glyphosate tolerant flax plants from *Agrobacterium* mediated gene transfer. *Plant Cell Reports*, 7: 281 – 284.
- MU G., CHANG N., XIANG K., SHENG Y., ZHANG Z., PAN G.(2012): Genetic transformation of maize female inflorescence following floral dip method mediated by agrobacterium. *Biotechnology*. 11 (3): 178 – 183.
- THOLE V, WORLAND B, SNAPE JW, VAIN P (2007): The pCLEAN dual binary vector system for *Agrobacterium*-mediated plant transformation. *Plant Physiol* 145: 1211–1219.
- VRBOVÁ M., KOTRBA P., HORÁČEK J., SMÝKAL P., ŠVÁBOVÁ L., VĚTROVCOVÁ M., SMÝKALOVÁ I., GRIGA M. (2013) Enhanced accumulation of cadmium in *Linum usitatissimum* L. plants due to overproduction of metallothionein α -domain as a fusion to β -glucuronidase protein. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 112: 321 – 330.

- WIJAYANTO T., MCHUGHEN A. (1999): Genetic transformation of *Linum* by particle bombardment. In *In Vitro Cellular and Development Biology*, 6: 456 – 465.
- YASMEEN A., MIRZA B., INAYATULLAH S., SAFDAR N., JAMIL M., ALI S., CHOUDHRY M. F. (2009): In Planta transformation of tomato. *Plant Molecular Biology Reporter*. 27, 20 – 28.
- ZHAN X.C., JONES D.A., KERR A. (1988): Regeneration of flax plants transformed by *Agrobacterium rhizogenes*. *Plant Molecular Biology*, 11: 551 – 9.

Dedikace

Príspevek byl napsán za institucionální podpory DKRVO MZE-RO1018.

Kontaktní adresa:

Ing. Michaela Ludvíková, Ph.D.,
Agritec Plant Research s.r.o.,
Zemědělská 16, 78701 Šumperk,
Email: ludvikova@agritec.cz

MRAZUVZDORNOST PŠENICE PODLE RŮSTOVÉHO TYPU A GEOGRAFICKÉHO PŮVODU

Frost tolerance of wheat according to growth habit and geographical origin

Prášil I.T.¹, Musilová J.¹, Veškrna O.², Ježek S.², Kosová K.¹, Vítámvás P.¹

¹Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i. v Praze

²Selgen a.s., Šlechtitelská stanice ve Stupicích

Abstrakt

Stupeň mrazuvzdornosti 378 genotypů pšenice ve stupnici 0 až 9 (9 = nejvyšší mrazuvzdornost) byl vypočten jako průměr hodnot ze tří nezávislých testů mrazuvzdornosti (laboratorního, kombinovaného a bedýnkového). Stupeň mrazuvzdornosti se pohyboval od 0 do 1,8 u vzorků jarní pšenice a od 0,8 do 9 u ozimé pšenice. Průměr stupňů mrazuvzdornosti počítaný pro skupinu genotypů pšenice původem ze zemí severovýchodní Evropy se pohyboval kolem 7, u pšenice ze střední Evropy kolem 5 a nejnižší, kolem 3 u genotypů původem ze západní Evropy. **Klíčová slova:** mrazuvzdornost, genotypy, pšenice, testy

Abstract

The degree of frost tolerance of 378 wheat genotypes on a scale from 0 to 9 (9 = highest frost resistance) was calculated as the average of the values obtained from three independent frost tolerance tests (laboratory, combined and wooden-box). The degree of frost tolerance ranged from 0 to 1.8 for spring wheats and from 0.8 to 9 for winter wheats. The average degrees of frost tolerance calculated for a group of genotypes of wheat originating from North-eastern Europe was around 7, for wheat from Central Europe around 5 and the lowest, around 3 for genotypes originating from Western Europe.

Key words: frost tolerance, genotypes, wheat, tests

Úvod

I přes postupné oteplování patří mrazuvzdornost pšenice k důležitým znakům sledovaným na našem území. Mrazuvzdornost odrůd pšenice je geneticky založena a její indukce je ovlivněna řadou vnějších a vnitřních faktorů (Kosová and Prášil 2011). I když byly popsány u pšenice dva geny mrazuvzdornosti (Fr1 a Fr2), závislost indukce mrazuvzdornosti na dalších genech, spojených zejména s růstovým typem a vývojem rostlin je předmětem intenzivního studia (Tchagang et al. 2017). V rámci projektu NAZV QK1710302 „Zvýšení odolnosti pšenice vůči suchu, mrazu, padlí a fuzariózám klasu pomocí metod genomiky a proteomiky“ byla vytvořena kolekce odrůd a linií pšenice vhodných pro asociační mapování vybraných znaků. V tomto příspěvku přinášíme první výsledky získané z hodnocení mrazuvzdornosti shromážděné kolekce vzorků pšenice.

Materiál a Metody

Celkem bylo vybráno 485 genotypových linií pšenice (*Triticum aestivum* L.). Zdrojem osiva souboru odrůd a linií byly Genové banka VÚRV, ÚKZÚZ a šlechtitelé. Vzorky byly jednotně množeny na stanicích Selgenu. Pro hodnocení mrazuvzdornosti pšenice byly použity tři přímé testy:

Laboratorní test (Stupice), kdy vzorky pšenice byly zasety do agropertlitu v řízených podmínkách skleníku a později v růstových komorách s regulovanou závlahou a umělým osvětlením. Po období otužování (+5 °C) byly rostliny vystaveny zášahovým teplotám -11 °C, -13 °C a -15 °C v mrazových komorách po dobu 24 hodin. Po regeneraci v podmínkách

skleníku byl hodnocen podíl přežitých rostlin z jednotlivých zásahových teplot a výsledná mrazuvzdornost byla vyjádřena ve stupnici 0-9 (0=nejnižší; 9=nejvyšší mrazuvzdornost).

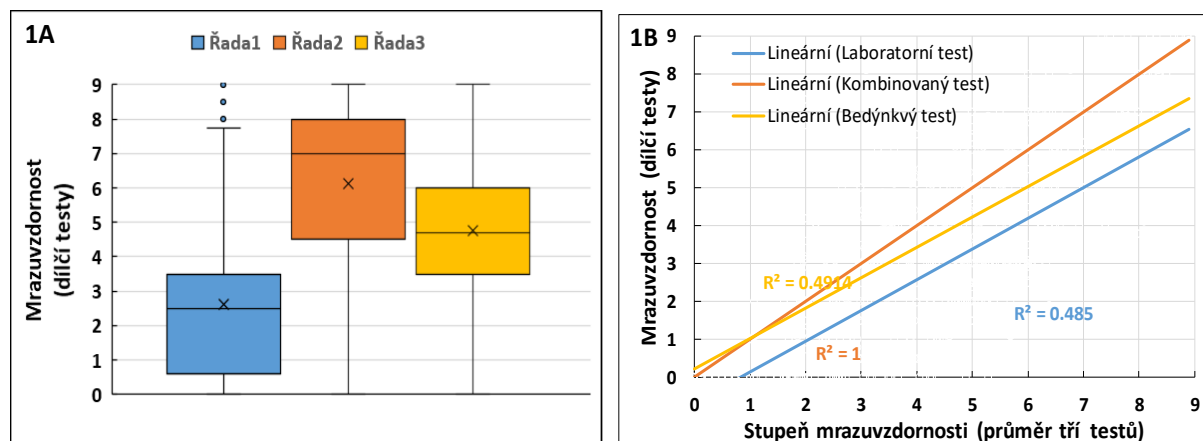
Kombinovaný test (Stupice) využívá otužování rostlin v přirozených podmínkách během zimy a jejich vystavení mrazovým testům v mrazicích komorách. Vzorky pšenice byly na podzim vysety do truhlíků. To umožnilo jejich snadnou manipulaci a relativní nezávislost na promrznutí půdy a sněhové pokrývce. Truhlíky s rostlinami byly v zimě přeneseny do mrazových komor a vystaveny působení zásahových teplot $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-14\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$. Poté byly rostliny regenerovány tři týdny v temperovaném skleníku a hodnocen podíl přežitých rostlin. Výsledná mrazuvzdornost byla opět vyjádřena ve stupnici 0-9.

Provokační bedýnkový test v přirozeném prostředí (VÚRV Praha). Jedná se o každoročně používanou metodu, kdy byly rostliny pšenice pěstovány během zimy v dřevěných bedýnkách umístěných ve dvou výškách nad zemí (5 a 50 cm). Vzorky pšenice byly vysety na podzim do bedýnek naplněných zeminou z pole. Na jaře po přezimování rostlin v bedýnkách byl hodnocen podíl přežitých rostlin jednotlivých vzorků a výsledná odolnost byla vyjádřena ve stupnici 0-9. V bedýnkovém testu se kromě mrazu uplatňují i další abiotické stresy zimy, proto tento test používáme k hodnocení zimovzdornosti odrůd (Prášilová a Prášil 2007).

Vzhledem k dominantnímu vlivu mrazu ve všech třech testech, zpracovali jsme výsledky těchto testů dohromady. Hodnoty získané z jednotlivých testů uvádíme jako dílčí hodnoty mrazuvzdornosti a jejich průměr ze tří testů jako **stupeň mrazuvzdornosti (SM)** vypočítaný pro každý vzorek pšenice.

Hodnocení vzorků pšenice probíhalo tři roky (2018 až 2020) a výsledky byly porovnány pomocí základních statistických metod (MS Excel a Statistica v. 13.3).

Výsledky a diskuze



Obr. 1: Porovnání mrazuvzdornosti vzorků pšenice získaných ze tří testů, laboratorního (barva modrá), kombinovaného (oranžová) a bedýnkového (žlutá). A-krabicový graf, B-lineární trendy, blíže viz text.

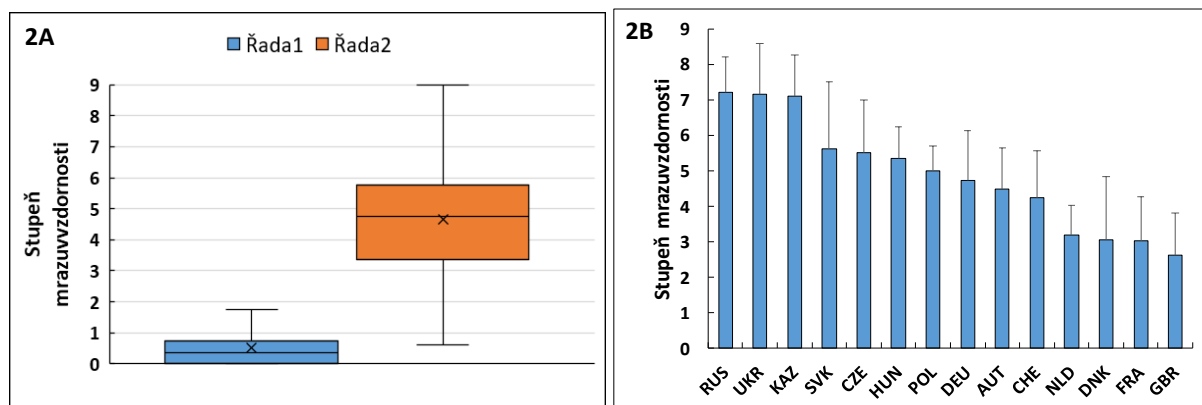
Do srpna 2020 bylo společně vyhodnoceno na mrazuvzdornost celkem 378 vzorků pšenice. Zbývajících 107 vzorků je nutné znovu namnožit kvůli nedostatku osiva, silnému poškození rostlin nebo jejich štěpení během množení. Průměr dílčích hodnot mrazuvzdorností získaný pro uvedenou kolekci genotypů pšenice byl u testu laboratorního 2,6, kombinovaného 6,1 a bedýnkového 4,8. K nejsilnějšímu vymrznutí vzorků došlo u laboratorního testu, oba zbylé dva testy (kombinovaný a bedýnkový) poskytly rozlišení v celé škále odolnosti. Náznorně to ukazuje krabicový graf (obr.1A), kde průměr značí křížek, medián vodorovná čára, horní a spodní hranice krabice (obdélník) označují 3. a 1. kvartil (= 50 % hodnot), antény ukazují přilehlé

body a jsou maximálně 1,5 násobek mezikvartilového rozpětí ($= 1,5 \times$ krabice) a odlehlé body jsou mimo tyto antény. Ty se vyskytují pouze u laboratorního testu. Z grafu vyplývá, že medián má hodnotu 2,5 u laboratorního, 7,0 u kombinovaného a 4,7 u bedýnkového testu. Zároveň je vidět, že 50 % vzorků (dolní a horní strana krabice) mělo dílčí hodnoty mrazuvzdornosti od 0,6 do 3,5 u laboratorního, od 4,5 do 8,0 u kombinovaného a od 3,5 do 6,0 u bedýnkového testu. SM jednotlivých vzorků, vypočítané jako průměr ze všech tří testů, a zobrazené vůči dílčím hodnotám mrazuvzdornosti jednotlivých testů jsou zachyceny na obrázku 1B. Vzhledem k velkému počtu dat jsou zde uvedeny jen lineární trendy pro každý test, které mají vysoké indexy determinace (R^2). Uvedené trendy jsou shodné pro kombinovaný a bedýnkový test a téměř rovnoběžně posunutý je trend pro laboratorní test.

Rovněž vzájemné korelace mezi stupni mrazuvzdornosti jednotlivých testů byly vysoce průkazné ($P = 0,01$), těsnost vztahu byla středně vysoká a korelační koeficienty se pohybovaly od 0,56 do 0,61. To ukazuje na specifika každého testu, která mohou ovlivňovat stanovení mrazuvzdornosti jednotlivých vzorků pšenice a vyplývají z různých postupů; například otužování rostlin probíhalo v přirozeném (kombinovaný a bedýnkový test) či regulovaném prostředí (laboratorní test), použitý byl laboratorního mrazový test (kombinovaný a laboratorní test) nebo střídavé působení mrazu v přirozeném prostředí (bedýnkový test). Pro lepší podchycení co nejvíce jevů, které ovlivňují mrazuvzdornost jednotlivých genotypů pšenice, je tedy lepší použít výsledky všech tří testů dohromady.

Lze shrnout, že všechny tři metody umožnily rozlišit mrazuvzdornost sledované kolekce pšenice. Pro hodnocení a porovnání jednotlivých genotypů pšenice mezi sebou jsme proto pro každý genotyp dále používali SM počítaný jako průměr ze všech tří testů.

V testech bylo 25 vzorků jarních pšeníc a 353 ozimých pšeníc. Průměrný SM jarních pšeníc byl 0,5 a ozimých pšeníc 4,7. Jak ukazuje krabicový graf (obr. 2A) rozsah SM byl u jařin od 0 do 1,8, u ozimů od 0,8 do 9,0. Nepodařilo se nám oddělit přesívky, které mohou být v obou uvedených růstových typech. Původně v našem pěstovaném sortimentu ke konci 19. a v první polovině 20. století přesívky převažovaly (Petr and Hnilička 2002). V současnosti se vyskytují v sortimentu jařin, nejsou však odlišovány.



Obr. 2: Výpočítané průměry stupňů mrazuvzdornosti pro skupinu odrůd jarního (modrá) či ozimého (oranžová) typu (2A) a pro vzorky různého geografického původu (2B). 2A – krabicový graf, 2B – doplněné standardní odchylky.

Z uvedených 378 vzorků převažovaly pšenice českého (76) a německého (76) původu. Větší zastoupení měly odrůdy francouzského (58) šlechtění, dále ruského (18), rakouského (17) a maďarského (12) původu. Dále se jednalo o vzorky slovenského (9), holandského (8), švýcarského (8), kazašského (8), ukrajinského (7), dánského (7) a polského (6) původu. V menším počtu pěti až dvou vzorků se vyskytovaly pšenice původem z Velké Británie, USA, Turecka, Koreji, Švédska, Srbska, Chorvatska, Finska, Bulharska, Belgie, Kanady, Rumunska,

Itálie, Argentiny, Číny a Japonska. Početně převažoval sortiment pšenic evropského původu. U pšenic s větším počtem vzorků byl orientačně stanoven průměrný SM a sestaven byl graf podle původu státu (obr. 2B). Ukázalo se, že průměr SM byl nejvyšší u pšenic původem ze severovýchodu Evropy, dále se snižoval v zemích střední Evropy a nejnižší hodnoty byly zjištěny u pšenic ze států západní Evropy. To bezesporu souvisí s drsností zim, které panují v jednotlivých oblastech Evropy. Podobný závěr, ale u jiného souboru vzorků pšenice testovaných pomocí bedýnkového testu, jsme zjistili u odrůd vyšlechtěných v druhé polovině 20. století (Prášilová a Prášil 2001). Do budoucna bude zajímavé porovnat, nakolik s globálním oteplováním dochází ke změnám SM u pšenic šlechtěných v různém období.

Závěr

Na základě dílčích výsledků tří nezávislých testů mrazuvzdornosti byl spočítán SM 378 genotypů pšenice původem z 29 zemí. SM vyjádřený ve stupnici 0 až 9 (9 = nejvyšší odolnost) vyjadřuje pro každý genotyp potenciální genetickou mrazuvzdornost. Jarní pšenice měly v průměru SM kolem 0,5, zatímco ozimé 4,7. Ozimé pšenice však na rozdíl od jařin pokrývaly celou stupnici od 0,8 až do 9. Vypočtený průměr SM pro genotypy pšenice různého geografického původu byl nejvyšší u vzorků původem z Ruska, Ukrajiny a Kazachstánu, střední hodnoty měl u genotypů ze střední Evropy a nejnižší u pšenic původem z Francie, Velké Británie a Nizozemí. Vypočítané SM budou využity pro asociační mapování genů souvisejících s mrazuvzdorností.

Použitá literatura

- Kosová K, Prášil IT. 2011, Annual field crops. In: Storey K. B., Tanino K. K. (eds.): *Temperature adaptation in a changing climate: Nature at risk*. 186-207. CAB International, Wallingford, the UK (Velká Británie). ISBN: 9781845938222
- Petr J, Hnilička F. 2002, Changes in requirements on vernalization of winter wheat varieties in the Czech Republic in 1950-2000. *Rostl. Výroba* 48, 148 – 153,
- Prášilová P, Prášil IT. 2007. Hodnocení zimovzdornosti obilnin provokační nádobovou metodou. *Metodika pro praxi*. VÚRV, v.v.i. Praha, s. 1 – 14, ISBN: 978-80-87011-37-9
- Prášilová P., Prášil I. 2001. Winter hardiness scale of wheat varieties of different geographical origin. *Icelandic Agricultural Sciences*, 14, 35-39.
- Tchagang AB, Fauteux F, Tulpan D, Pan Y. 2017. Bioinformatics identification of new targets for improving low temperature stress tolerance in spring and winter wheat. *BMC Bioinformatics* 18: 174, DOI 10.1186/s12859-017-1596-x

Dedikace

Príspevek byl napsán za institucionální podpory DKRVO MZE-RO1018.

Kontaktní adresa:

RNDr. Ilja Tom Prášil, CSc.,
Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i.,
Drnovská 507, 161 06 Praha.
E-mail: prasil@vurv.cz

METODICKÉ ASPEKTY AGROBAKTERIÁLNÍ GENETICKÉ TRANSFORMACE LNU

Methodological aspects of agrobacterial genetic transformation of flax

Prokopová M., Smýkalová I., Griga M.

Agritec Plant Research, s.r.o.

Abstrakt

Cílem práce byla možnost zvýšit přirozenou rezistenci lnu vůči těžkým kovům expresí heterologních peptidů a proteinů s vysokou vazebnou schopností pro těžké kovy v transgenních rostlinách lnu. K tomuto účelu bylo potřeba nejprve optimalizovat transformaci lnu. Základem transformačního protokolu je metoda kokultivace hypokotylů klíčnicích rostlin s virulentními kmeny *Agrobacterium tumefaciens* s využitím reportérového genu pro GUS. Produkce heterologních peptidů a proteinů byla v transgenních rostlinách ověřena odpovídajícími molekulárními technikami.

Klíčová slova: těžké kovy, metalothionein, len, agrobakteriální transformace

Abstract

The aim of the work was a possibility to increase the natural resistance of flax to heavy metals by the expression of heterologous peptides and proteins with high binding capacity for heavy metals in transgenic flax plants. For this purposes, it was necessary to optimize the transformation procedure of flax. The basis of the transformation protocol is the method of co-cultivation of hypocotyls of seedlings with virulent strains of *Agrobacterium tumefaciens* using GUS reporter gene. The production of heterologous peptides and proteins in transgenic plants was verified by appropriate molecular techniques.

Keywords: heavy metals, metalothionein, flax, agrobacterial transformation

Úvod

U lnu setého (*Linum usitatissimum* L.) byla již některými autory prokázána schopnost zvýšené akumulace těžkých kovů z půdy (Mankowski et al., 1994; Bjelková, 2011). Jednu z nejdůležitějších rolí hrají při tomto procesu proteiny a peptidy vážící těžké kovy v rostlinné buňce. Jedná se především o fytochelatinu a metalothioneiny. Přirozenou hladinu metalothioneinů by bylo možno zvýšit pomocí genetické transformace, jak již prokázaly pokusy s různými rostlinnými druhy (Misra a Gedamu, 1989; Diopan et al., 2007). U lnu existuje řada prací popisujících úspěšnou transformaci „užitečnými“ geny (Rutkowska-Krause et al., 2003; Musialak et al., 2008) a jeden kultivar byl uplatněn v praxi (McHughen et al., 1997). Dosud však nebyl do lnu vložen gen zvyšující tvorbu metalothioneinů a nebyly zkoumány vlastnosti rostlin s tímto insertovaným genem. Z výše uvedených prací lze odvodit, že len má potenciál pro zvýšení přirozené tolerance ke kadmii vložením genu pro zvýšenou produkci heterologních proteinů vážících kadmium, tj. metalothioneinů. Přestože transformace lnu byla publikována v několika pracích (Dong a McHughen, 1993; Mlynářová et al., 1994; Preťová et al., 2007; Jhala et al., 2009), cílem našich experimentů bylo optimalizovat transformační protokol pro transformaci lnu konstruktem obsahujícím gen pro savčí metalothionein tak, aby účinnost transformace byla téměř nezávislá na genotypu lnu.

Materiál a Metody

Podmínky agrobakteriální transformace:

Sterilizovaná semena lnu byla asepticky naklíčena v kultivační komoře ($19 \pm 2^\circ\text{C}$, 3 dny ve tmě, potom 3 dny při 16-h fotoperiodě) ve 100ml Erlenmeyerových baňkách obsahujících základní MS médium (pH 5,8) s $5,5\text{ g.l}^{-1}$ Bacto agarem (Difco, Detroit, Michigan, USA). Z klíčenců získané segmenty hypokotylů (délka 0,5–1 cm) byly kultivovány 7 dnů na MS médiu s 1 mg.l^{-1} 6-benzylaminopurinu (BAP) a $0,02\text{ mg.l}^{-1}$ kyseliny α -naftyloctové (NAA), některé segmenty hypokotylů byly zbaveny z 50–60 % epidermis. Explantáty hypokotylů byly ponořeny do suspenze agrobaktéria v LB médiu (Langley a Kado, 1972). Byly testovány dvě kokultivační přísady, a to celulóza (SERVA, Feinbiochemica, Heidelberg, Německo) v koncentracích 0, 50, 100, 200 mg.l^{-1} , a acetosyringon (Sigma-Aldrich, Steinheim, Německo) v koncentracích 0, 50, 100, 200 mg.l^{-1} , které byly přidány do kokultivačního média LB. Dále bylo testováno pět intervalů kokultivace (5, 15, 30, 60, 120 min) v tekutém LB médiu. Po kokultivaci byly inokulované explantáty osušeny sterilním filtračním papírem a přeneseny na vrstvu sterilního filtračního papíru pokrývající MS médium bez přídavku antibiotik doplněné 3% (w/v) sacharózou, 0,8% (w/v) agarem, 1 mg.l^{-1} BAP a $0,02\text{ mg.l}^{-1}$ NAA a 7 dní kultivovány v kultivační komoře ($19 \pm 2^\circ\text{C}$, při 16-h fotoperiodě). Poté byly explantáty opláchnuty destilovanou vodou s přídavkem antibiotik (500 mg.l^{-1} kanamycinu, 500 mg.l^{-1} timentinu) a převedeny na selekční médium (MS1) obsahující 150 mg.l^{-1} kanamycinu, 500 mg.l^{-1} timentinu, 200 mg.l^{-1} augmentinu, 1 mg.l^{-1} BAP a $0,02\text{ mg.l}^{-1}$ NAA. Po třech týdnech byly všechny přežívající zelené explantáty pasážovány na čerstvé médium se 150 mg.l^{-1} kanamycinu, 100 mg.l^{-1} augmentinu, 300 mg.l^{-1} timentinu, 1 mg.l^{-1} BAP a $0,02\text{ mg.l}^{-1}$ NAA (MS2). Po dalších třech týdnech byly explantáty pasážovány na čerstvé médium se 150 mg.l^{-1} kanamycinu a 250 mg.l^{-1} timentinu, 1 mg.l^{-1} BAP a $0,02\text{ mg.l}^{-1}$ NAA (MS3).

Hodnocení úspěšnosti transformace:

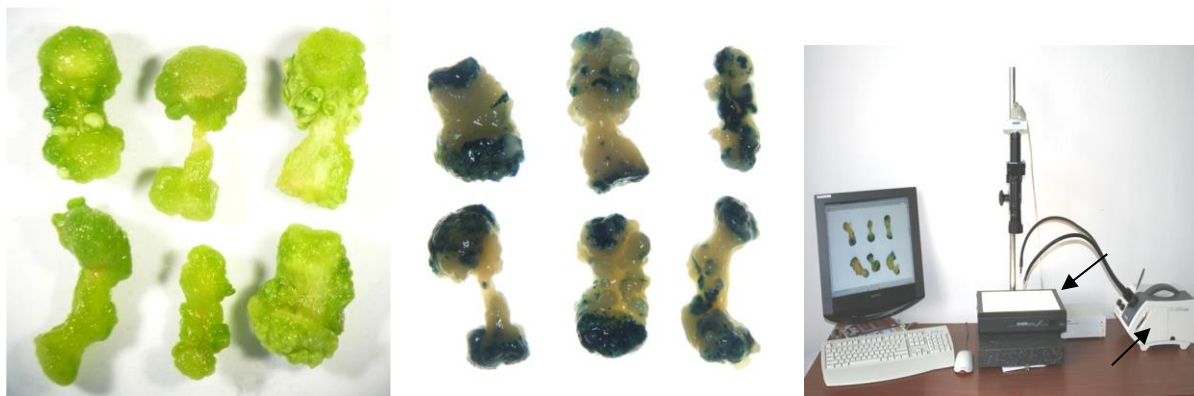
GUS stanovení

Pro optimalizaci transformačního protokolu byly analyzovány explantáty tři týdny po agrobakteriální infekci. Pro histochemické stanovení GUS aktivity byl použit upravený protokol dle Jeffersona et al. (1987). Explantáty byly inkubovány v GUS pufru (10 mM fosfátový pufr [pH 7], 0,5% Triton X-100, 1 mg/ml X-gluc, 2 mM kyanoželezitanu draselného) 1 den při 37°C ve tmě. Explantáty / pupeny / prýty s tmavě modrými skvrnami nebo oblastmi (silná GUS exprese) byly považovány za transformované a následně testovány pomocí PCR na přítomnost transgenu. Silná GUS exprese (zaznamenaná pomocí obrazové analýzy) korelovala s vložením transgenu (PCR) a je považována za měřítko účinnosti transformace (TE) (proporce oblastí modře obarvených pletiv hypokotylu).

Obrazová analýza

Pro hodnocení účinnosti transformace explantátů hypokotylů lnu po agrobakteriální transformaci byla použita analýza obrazu na základě transientní GUS exprese. Data použitá k vyhodnocení byla získána na základě měření objektů prostřednictvím softwaru NIS-ELEMENTS ver. 3.1 (Laboratory Imaging, Praha, ČR). Snímky hypokotylů lnu byly pořízeny prostřednictvím makro objektivu Pentax Cosmicar připojeného k barevnému digitálnímu fotoaparátu Nikon (5 Mpx), osvětleny světlem Kaiser ProLite Basic (Kaiser Fototechnik, Buchen, Německo). Externí osvětlení explantátů při snímání bylo zajištěno tubulárním zdrojem světla (Schott Glass, Mainz, Německo). Kalibrace obrazu byla provedena snímáním objektů-hypokotylů a tyto údaje byly uloženy pro pozdější stanovení plochy (%) GUS pozitivní exprese z celkové plochy explantátu. Digitální obraz byl nejprve převeden do binární formy na objekt a pozadí, upraven v programovém editoru a poté byla měřena procenta plochy transformovaných pletiv (tmavě modrá plocha po histochemickém GUS testu). Získaná data

byla exportována do Excelu a statisticky vyhodnocena (průměr, směrodatná odchylka a plocha v %) (obr. 1).



Obr. 1: Explantáty lnu (segmenty hypokotyů) 3 týdny po kokultivaci s *Agrobacteriem*, na MS médiu (vlevo) před testem GUS, po testu GUS (uprostřed), kvantitativní hodnocení exprese GUS - procento tmavě modré oblasti - pomocí softwaru IA LUCIA G (vpravo).

Statistické zpracování výsledků obrazové analýzy

Pro každou variantu bylo použito minimálně 20 explantátů a experimenty byly opakovány třikrát. Číselné údaje, jakož i přepočítaná rozložení četnosti, zejména při hodnocení kategorií, byly analyzovány pomocí ANOVA a průměry porovnány pomocí Fischerova testu s použitím software LSD Statistica 9 CZ (StatSoft, Tulsa, USA).

TE (účinnost transformace) – stanovení plochy (%) GUS pozitivní exprese z celkové plochy explantátu.

Frekvence transformace (TF) byla hodnocena jako počet transgenních prýtků na inokulovaný hypocotyl $\times 100$ (%).

Výsledky a diskuze

Vliv genotypu na efektivitu agrobakteriální transformace

Bylo testováno 16 odrůd nebo linií novošlechtění lnu (3 přadné a 13 olejních typů) na schopnost agrobakteriální transformace. Byly zjištěny rozdíly mezi jednotlivými genotypy a novošlechtěními, v některých případech jsme opakovaně neobdrželi žádné transformované prýtky. Vyšší frekvence transformace byla pozorována u genotypů olejného lnu. Frekvence transformace (TF) byla hodnocena jako počet transgenních prýtků na inokulovaný hypocotyl $\times 100$ (%). Z testovaných genotypů vykazovalo nejvyšší frekvenci transformace novošlechtění AGT 917 (tab. 1).

Tab. 1: Přehled genotypů transformovaných genem aMT1a::gus

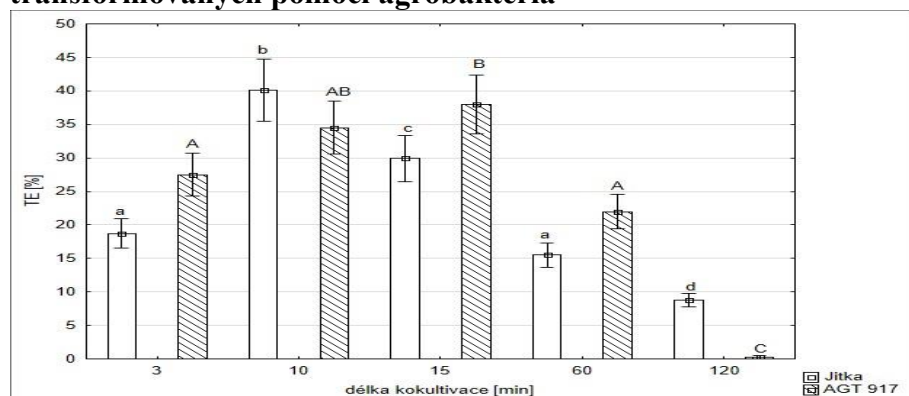
*TF reprezentuje počet explantátů produkujících transformované prýty per počet inokulovaných explantátů hypokotylu x 100 [%]. Transformace byla stanovena 3 týdny po inokulaci na základě silné exprese GUS.

Odrůda / linie	Technologický typ přadný / olejný len	TF (%) [*] Frekvence transformace (%)
AGT 514/03	olejný len	1
AGT 583/05	olejný len	13
AGT 917	olejný len	17
AGT 952/04	olejný len	4
Amon	olejný len	0
Antares	olejný len	1
Atalante	olejný len	10
Bilstar	olejný len	5
Flanders	olejný len	15
Jitka	přadný len	3
Lola	olejný len	1
Norlin	olejný len	6
Oceán	olejný len	4
Recital	olejný len	1
Tábor	přadný len	2
Venica	přadný len	0

Vliv délky kokultivace na účinnost transformace

Pro ověření vlivu doby kokultivace na účinnost transformace bylo navrženo testovat pět rozdílných časů kokultivace explantátů s agrobaktériem v tekutém LB médiu: 3, 10, 15, 60, 120 minut. Ke kokultivaci byly použity hypokotylы o délce 0,5–1 cm, které byly předkultivovány sedm dnů na médiu s přísávkem BAP a NAA (MS médium, 1 mg.l⁻¹ BAP, 0.02 mg.l⁻¹ NAA). Po 7-denní kokultivaci s agrobaktériem a následné eliminaci agrobaktéria destilovanou vodou s přísávkem antibiotik byly explantáty umístěny na selekční médium s přísávkem antibiotik. Podle silné GUS exprese, sledované na explantátech po třech týdnech od inokulace pomocí obrazové analýzy, měla průkazně vyšší transformační efektivitu doba inokulace explantátu 10 a 15 minut, přičemž 10 minut se jeví na základě nejvyšších hodnot TE jako nejvhodnější doba délky kokultivace. Jiné délky kokultivace měly efektivitu nižší (graf 1).

Graf 1: Vliv délky kokultivace (min) na transientní GUS expresi (účinnost transformace, TE%) u hypokotylů přadného lnu (odrůda Jitka) a olejného lnu (linie AGT 917) transformovaných pomocí agrobaktéria

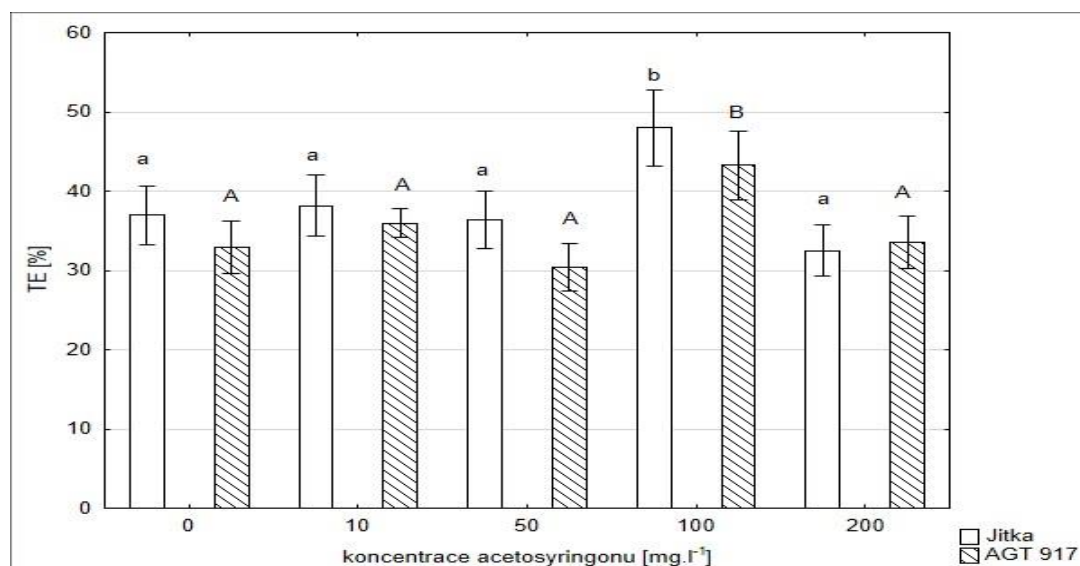


Data reprezentují průměr $\pm$ stř. chybu tří opakování s 30 hypokotyly na každé opakování. Rozdílná písmena znamenají statisticky průkazný rozdíl na úrovni $\alpha = 0.05$.

Vliv kokultivačních látek (acetosyringon, celuláza) na účinnost transformace

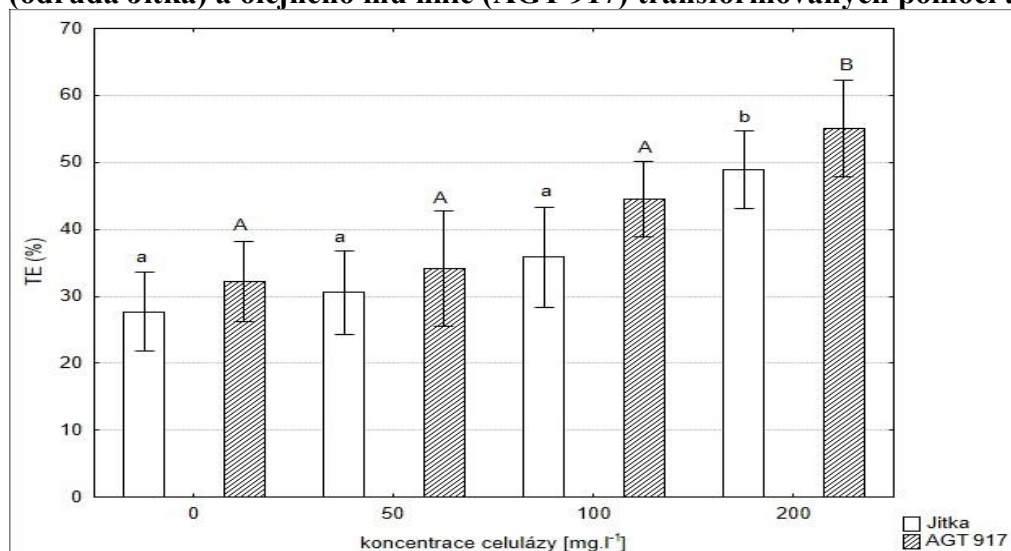
Pro hodnocení vlivu kokultivačních látek na TE byl vybrán acetosyringon, který zvyšuje virulenci agrobaktéria. Tato látka byla přidána do kokultivačního média v koncentracích 10, 50, 100 a 200 mg.l⁻¹. Data získaná pomocí obrazové analýzy GUS oblastí na explantátech ukázala, že nejvyšší frekvence pozitivních GUS explantátů (statisticky odlišná od kontroly) byla získána po přidání 100 mg.l⁻¹ acetosyringonu do kokultivačního média LB u odrůdy Jitka (47,97 %). Také linie AGT 917 reagovala na přidání 100 mg.l⁻¹ acetosyringonu výrazným zvýšením GUS pozitivní plochy explantátů (43,28 %). Aplikace 10, 50 a 200 mg.l⁻¹ acetosyringonu neměla žádný statisticky průkazný vliv na frekvenci transformace ve srovnání s kontrolou (graf 2).

Graf 2: Vliv koncentrace acetosyringonu během kokultivace na transientní expresi GUS (TE%) u hypokotylů přadného lnu (odrůda Jitka) a olejného lnu (linie AGT 917) transformovaných pomocí agrobaktéria.



Data reprezentují průměr $\pm$ stř. chybu tří opakování s 30 hypokotyly na každé opakování. Rozdílná písmena znamenají statisticky průkazný rozdíl na úrovni $\alpha = 0.05$.

Jako další kokultivační agens pro potenciální zvýšení transformační efektivity byla vybrána celuláza. Po vyhodnocení výsledků získaných pomocí obrazové analýzy GUS pozitivních explantátů bylo zjištěno, že nejvyšší frekvence GUS pozitivních pletiv na explantátu byla získána po přidání 200 mg.l⁻¹ celulázy do kokultivačního média u odrůdy Jitka (49,22 %). Také linie AGT 917 reagovala na 200 mg.l⁻¹ celulázy zvýšením GUS pozitivní plochy explantátů (55,99 %), rozdíly v procentu transgenních pletiv na explantátu mezi koncentrací 200 mg.l⁻¹ a kontrolou byly statisticky průkazné u obou genotypů. Koncentrace celulázy 50 a 100 mg.l⁻¹ vedla také ke zvýšení frekvence v transformaci lnu, ale rozdíly nebyly statisticky významné (graf 3).

Graf 3: Vliv koncentrace celulázy na transientní GUS expresi u hypokotylů přadného lnu (odrůda Jitka) a olejného lnu linie (AGT 917) transformovaných pomocí agrobaktéria

Data reprezentují průměr $\pm$ stř. chybu tří opakování s 30 hypokotylů na každé opakování. Rozdílná písmena znamenají statisticky průkazný rozdíl na úrovni $\alpha = 0.05$.

Mnoho experimentů s transformací prokázalo, že kokultivační podmínky a genotyp mohou být klíčovými faktory určujícími účinnost genetické transformace. Doba inokulace *A. tumefaciens* byla optimalizována v řadě experimentů u různých plodin: 5 minut bylo optimální na hypokotylu ramie (Ma et al., 2010), nad 30 minut u nodů okurky (Miao et al., 2009), a 120 minut u hypokotylu lnu (Mlynářová et al., 1994). U explantátů lnu se v našich experimentech ukázala prodloužená doba kokultivace s *A. tumefaciens* jako neúčinná, naopak se TE snižovala. Naopak explantáty, inokulované 10 nebo 15 minut s *A. tumefaciens*, prokázaly významně zvýšenou transformační efektivitu, než explantáty inokulované 5, 60 a 120 minut. Naše výsledky jsou velmi podobné těm, které získal v transformaci *Zizyphus jujuba* Gu et al. (2008) a byl potvrzen čas kokultivace použitý při transformaci lnu publikovaný Dongem a McHughenem (1993).

Přidání acetosyringonu jako fenolického induktoru je jednou z možností, jak zvýšit procento transformovaných pletiv. Optimalizovaná kokultivace za pomoci 200 μ M acetosyringonu byla publikována u fazolu ostrolistého (*Phaseolus acutifolius*), 150 μ M acetosyringonu v indukčním médiu bylo užito při transformaci kultivarů mandloně (Costa et al., 2006) a hrachu (Švábová a Griga, 2008). V embryogenní suspenzi batátu byl nejvyšší efekt zvýšení transformace zajištěn přidáním 200 μ M acetosyringonu (Xing et al., 2007). Při agrobakteriální transformaci *Cenhus ciliaris* L. bylo optimální 100 μ M AS v kokultivačním médiu (Batra and Kumar, 2003). Tato práce je v souladu s našimi výsledky: 100 μ M acetosyringonu výrazně zvýšilo TE u hypokotylů lnu. Výsledky ukazují, že acetosyringon je jednou z kokultivačních látek, kterou lze úspěšně použít k posílení agrobakteriální transformace u různých rostlinných druhů, včetně lnu.

Celuláza byla aplikována s cílem narušit epidermis hypokotylu lnu. Důvodem je to, že tento macerační enzym může být alternativou k odstranění epidermis (Dong a McHughen, 1993), ultrazvuku (Beranová et al., 2008) nebo poranění skleněnými střepinami u slunečnice (Weber et al., 2003), a to pro umožnění lepší průchodnosti *A. tumefaciens* do buněk. Kombinace celulázy a pektinázy byla úspěšně využita např. u explantátů slunečnice (Weber et al., 2003). Naše výsledky ukazují, že 200 mg.l⁻¹ celulázy zvýšilo účinnost transformace.

Pro úspěšnost transformace může být rozhodující použitý genotyp. Genotypová citlivost k transformaci byla pozorovaná např. u hrachu (Švábová et al., 2005), řepky olejné (Dutta et al., 2008) a ramie (Ma et al., 2010). U lnu je na základě publikovaných prací evidentní, že se liší schopnost produkovat transgenní rostliny u přadných a olejných lnů. Zatímco Rakouský et al.

(1999) nezískali žádnou transgenní rostlinu s přadným lnem odrůdy Jitka, u olejných lnů Antares (Basiran et al., 1987), Linola (Lorenc-Kukula et al., 2007) a Norlin (Dong a McHughen, 1993) byly transgenní rostliny získány. Tato vlastnost může být také důvodem, proč byla v našich experimentech pozorována významně vyšší účinnost TE na 3 týdny starých explantátech po inokulaci agrobaktériem u olejného lnu (AGT 917), zatímco TE genotypu přadného lnu (Jitka) byla významně nižší. Podobný trend byl pozorován při porovnání TE prýtů regenerovaných z 16 genotypů lnu v této studii.

Závěr

Pro získání transgenních rostlin produkujících metalothionein jako potenciální molekulární nástroj pro zvýšenou detoxifikaci kadmia v rostlinných buňkách bylo nejdříve potřeba optimalizovat již publikované transformační protokoly (nízká efektivita transformace, omezeno jen na některé kultivary). Při porovnání publikovaných transformačních postupů jsme aplikovali nové kroky (přídavek acetosyringonu, celulázy) a ověřili nejvhodnější čas kokultivace explantátů s agrobaktériem. Zároveň jsme porovnali susceptibilitu 16 odrůd lnu k transformaci agrobaktériem. Na základě výsledků získaných v experimentech s délkou kokultivační doby a použitou kokultivační látkou jsme dospěli k závěru, že nejvhodnější kombinací pro zvýšení TE při agrobakteriální transformaci hypokotylů lnu je délka kokultivace 10 min a použití acetosyringonu v koncentraci 100 mg.l⁻¹ a celulázy v koncentraci 200 mg.l⁻¹ při vlastní kokultivaci explantátů s *A. tumefaciens*.

Použitá literatura

- Batra S., Kumar S., 2003: *Agrobacterium*-mediated transient GUS gene expression in buffel grass (*Cenchrus ciliaris* L.). *Journal of Applied Genetics*, 44: 449-458.
- Beranová M., Rakouský S., Vávrová Z., Skalický T., 2008: Sonication assisted *Agrobacterium*-mediated transformation enhances the transformation efficiency in flax (*Linum usitatissimum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 94: 253-259.
- Basiran N., Armitage P., Scott R.J., Draper J., 1987: Genetic transformation of flax (*Linum usitatissimum*) by *Agrobacterium tumefaciens*: Regeneration of transformed shoots via a callus phase. *Plant Cell Reports*, 6: 396-399.
- Bjelková M., Genčurová V., Griga M., 2011: Accumulation of cadmium by flax and linseed cultivars in field-simulated conditions: a potential for phytoremediation of Cd-contaminated soils. *Industrial Crops and Products*, 1: 761-774.
- Costa M., Miguel C., Oliviera M., 2006: An improved selection strategy and the use of acetosyringone in shoot induction medium increase almond transformation efficiency by 100-fold. *Plant, Cell Tissue and Organ Culture*, 85: 205-209.
- Diopan V., Baloun J., Adam V., Macek T., Havel L., Kizek R., 2007: Determination of expression of metallothionein at transgenic tobacco plants. *Listy cukrovarnické a řepářské*, 123: 325-327.
- Dong J.Z., McHughen A., 1993: An improved procedure for production of transgenic flax plants using *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Science*, 88: 61-71.
- Gu, X., F., et al., 2008: *Agrobacterium*-mediated transformation of the winter jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 94: 23-32.
- Jhala A.J., Weselake R.J., Hall L.M., 2009: Genetically engineered flax (*Linum usitatissimum* L.): Potential benefits, risks, regulations and mitigation of transgene movement. *Crop Science*, 49:1943-1954.
- Lorenc-Kukula K., Wróbel-Kwiatkowska M., Starzycki M., Szopa J., 2007: Engineering flax with increased flavonoid content and thus *Fusarium* resistance. *Physiological and Plant Molecular Pathology*, 70: 38-48.
- Ma X., Yu Ch., Tang Sh., Guo S., Zhang R., Wang Y., Zhu A., Zhu S., Xiong H., 2010: Genetic transformation of the bast fiber plant ramie (*Boehmeria nivea* Gaud.) via *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 100: 165-174.

- Mankowski J., Grabowski L., Baraniecki P., 1994. Hemp and flax cultivated on the soil polluted with heavy metals-a biological purification of the soil and a raw material for the pulp industry. In: *Symp. Alternative Oilseed and Fibre Crops for Cool and Wet Regions of Europe*, Wageningen, p. 50-59.
- McHughen A., Rowland G.G., Holm F.A., Bhatti R.S., Kenaschuk E.O., 1997: CDC Triffid transgenic flax. *Canadian Journal of Plant Science* 77: 641-643.
- Miao M.M., Xu R., Zheng L.J., Zhou H.L., Zhang Z.D., Cheng H., 2009: High-efficiency *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of cucumber (*Cucumis sativus* L.) using stem nodes as explants. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 84: 199-203.
- Misra S., Gedamu L., 1989: Heavy metal tolerant transgenic *Brassica napus* L. and *Nicotiana tabacum* L. plants. *Theoretical and Applied Genetics* 78: 161-168.
- Mlynárová L., Bauer M., Nap J.P., Preťová A., 1994: High-efficiency *Agrobacterium*-mediated gene transfer to flax. *Plant Cell Reports*, 13, 282-285.
- Musialak M., Wróbel-Kwiatkowska M., Kulma A., Starzycka E., Szopa J., 2008: Improving retting of fibre through genetic modification of flax to express pectinases. *Transgenic Research*, 17: 133-147.
- Preťová A., Obert B., Bartošová Z., 2007: Flax. In: Pua, E. Ch., Davey, M.R. (Eds.) *Transgenic Crops VI. Series: Biotechnology in Agriculture and Forestry*. Springer, Heidelberg., s.129-148.
- Rakouský S., Tejklová E., Wiesner I., Wiesnerová D., Kocábek T., Ondřej M., 1999: Hygromycin B – an alternative in flax transformation selection. *Biologia Plantarum*, 42: 361-369.
- Rutkowska-Krause I., Mankowska G., Lukaszewicz M., Szopa J., 2003: Regeneration of flax (*Linum usitatissimum* L.) plants from anther culture and somatic tissue with increased resistance to *Fusarium oxysporum*. *Plant Cell Reports*, 22: 110-116.
- Švábová L., Griga M., 2008: The effect of cocultivation treatments on transformation efficiency in pea (*Pisum sativum* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 95: 293-304.
- Švábová L., Smýkal P., Griga M., Ondřej V., 2005: *Agrobacterium*-mediated transformation of *Pisum sativum* in vitro and in vivo. *Biologia Plantarum*, 49: 361-370.
- Weber S., Friedt W., Landes N., Molinier J., Himber C., Rousselin P., Hahne G., Horn R., 2003: Improved *Agrobacterium*-mediated transformation of sunflower (*Helianthus annuus* L.): assessment of macerating enzymes and sonication. *Plant Cell Reports*, 21: 475-482.
- Xing Y., Yang Q., Ji Q., Luo Y., Zhang Y., Gu K., Wang D., 2007: Optimization of *Agrobacterium*-mediated transformation parameters for sweet potato embryogenic callus using β -glucuronidase (GUS) as a reporter. *African Journal of Biotechnology*, 6: 2578-2584.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora projektu č. MZE-RO1018.

Kontaktní adresa:

Ing. Miroslava Prokopová, Ph.D.
AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o.
Zemědělská 16
787 01 Šumperk
Email: prokopova@agritec.cz

ZMĚNY VE VÝSKYTU FUSARIOÓZ V GENOVÝCH ZDROJÍCH LNU

Changes in fusarium occurrence in flax gene resources

Prokopová M., Ondráčková E.

Agritec Plant Research s.r.o.

Abstrakt

Za nejzávažnější chorobu lnu v našich podmínkách je považováno fusariové vadnutí lnu. U nás je tato choroba vyvolávána několika druhy rodu *Fusarium* (např. *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* f. *lini*). Příznaky jsou odumírání vzcházejících rostlin, na starších rostlinách výrazné zpomalení růstu, rostliny vadnou, stáčí se a odshora žloutnou a zasychají jim vegetační vrcholy. Škodlivost spočívá v úbytku rostlin na jednotku plochy. Jediná možná ochrana spočívá v dodržení pěstebních postupů a především pěstování odolných odrůd. S cílem vyhledat odrůdy lnu rezistentní k patogenu *Fusarium oxysporum* f. *lini* bylo vyseto 130 genotypů/odrůd z genové banky firmy AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o. Součástí hodnoceného souboru genotypů/odrůd byly jak staré krajové odrůdy (datum zařazení do genové banky před rokem 1970), tak novošlechtění (genotypy lnu ve fázi šlechtitelských F-linií) a moderní odrůdy, komerčně volně dostupné.

Klíčová slova: *Fusarium oxysporum*, genové zdroje, rezistence, odrůdy

Abstract

The most serious disease of flax in our conditions is considered to be *Fusarium* wilting of flax. In our country, this disease is caused by several species of the genus *Fusarium* (eg *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* f. *lini*). Symptoms include the death of emerging plants, a significant slowdown in older plants, the plants wither, twist and turn yellow from above and the vegetation tops dry out. Harm is the loss of plants per unit area. The only possible protection is to follow cultivation practices and, above all, to grow resistant varieties. In order to look for flax varieties resistant to *Fusarium oxysporum* f. *lini*, 130 genotypes / varieties were sown from the gene bank AGRITEC, research, breeding and services, Ltd. The evaluated set of genotypes / varieties included both old regional varieties (date of inclusion in the gene bank before 1970), and new breeding (flax genotypes in the phase of breeding F-lines) and modern varieties, free available commercially.

Keywords: *Fusarium oxysporum*, gene resources, resistance, varieties

Úvod

Fusariové vadnutí lnu způsobuje fytopatogenní houba *Fusarium oxysporum* f. *lini* (Bolley) W. C. Snyder & H. N. Hansen. Jedná se o kosmopolitně rozšířenou chorobu. Patogen se přenáší osivem a půdou. V půdě přežívá v podobě chlamydospor a na organických zbytcích rostlin (Kroes 1997). Tvoří tři typy nepohlavních spor – malé jedno nebo dvoubuněčné mikrokonidie, srpovité makrokonidie se čtyřmi až pěti přehrádkami a klidové spory - chlamydospory (Edirisinghe 2016, Kroes 1997). Chlamydospory mohou v půdě přežívat i desítky let (Edirisinghe 2016). Z jednoho pole na druhé se patogen šíří větrem a vodou. K napadení rostlin lnu může dojít v jakékoli růstové fázi v průběhu vegetace. Závažnost onemocnění koreluje s teplotou, která je nejdůležitějším faktorem při rozvoji choroby. Optimální teplota pro rozvoj infekce je 25–28 °C a houba preferuje spíše sušší podmínky (Edirisinghe 2016, Ally *et al.* 2011, Kommedahl *et al.* 1970).

Fusarium oxysporum f. *lini* napadá rostliny přes kořeny, postupně prorůstá do vodivých pletiv, ucpává je a zabraňuje transportu vody a živin do nadzemních částí rostlin. Příznaky se liší

v závislosti na růstové fázi, ve které k napadení dojde. Krátce po vzejití dochází v místě kořenového krčku ke změknutí pletiv a k následnému padání klíčnicích rostlin. Ve fázi stroměčku a na začátku rychlého růstu se infekce projevuje vadnutím a žloutnutím vegetačních vrcholů a následně celé rostliny. Dochází k typickému ohnutí vrcholu. Listy nejprve světlají a žloutnou, později hnědnou, nicméně ze stonku neopadávají. Na bázi stonku napadených rostlin se odlupuje pokožka a na řezu je patrné červené nebo hnědé zbarvení cévních svazků. S rozvojem choroby postupně odumírá celá rostlina. Pokud k napadení dojde v době mezi kvetením a zráním, nedochází již k typickému ohýbání vegetačních vrcholů, listy rychle schnou, kroutí se a neopadávají, jako při běžném zrání, ale zůstávají na lodyze. Lodyha hnědne, odumírá a napadené rostliny bývají často druhotně napadeny černěmi. Napadené rostliny lze lehce vytáhnout z půdy. Výskyt napadených rostlin v porostu je častější v ohniscích, ale mohou být rozptýleny i po celém pozemku. (Rataj 1958, Kroes 1997). Tuto infekci také podporuje extrémně teplý průběh počasí, zvýšené riziko výskytu také představují kyselejší půdy (Vaculík *et al.* 2018). Nejdůležitějším ochranným opatřením je setí dostupných rezistentních nebo středně rezistentních odrůd (Edirisinghe *et al.* 2016). Rezistentní k fuzarióze mohou být i starší odrůdy nebo šlechtitelské materiály, které mohou být zároveň donory i jiných odolností nebo významných hospodářských vlastností. V genové bance firmy AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o. je uloženo více než 2500 genových zdrojů lnu (*Linum usitatissimum* L.). Podle původu jsou tyto genové zdroje (dále GZ) rozděleny do tří skupin: X11 je skupina šlechtitelských linií, tedy materiálů šlechtěných za účelem získání nové odrůdy. X12 jsou staré krajové odrůdy, které v některých případech pochází i z roku 1955. Tyto GZ nesplňují parametry pro odrůdy (například nemají dostatečně vysoký výnos nebo jiný hospodářsky důležitý parametr), ale jsou nositeli jiné vlastnosti, například odolnosti vůči některé z řady chorob. Poslední skupinou je soubor GZ s označením X13, což jsou moderní komerční odrůdy. Z tohoto souboru byla vybrána skupina GZ s cílem získat informace o dalších možných genových zdrojích rezistence vůči fusariovému vadnutí lnu.

Materiál a metody

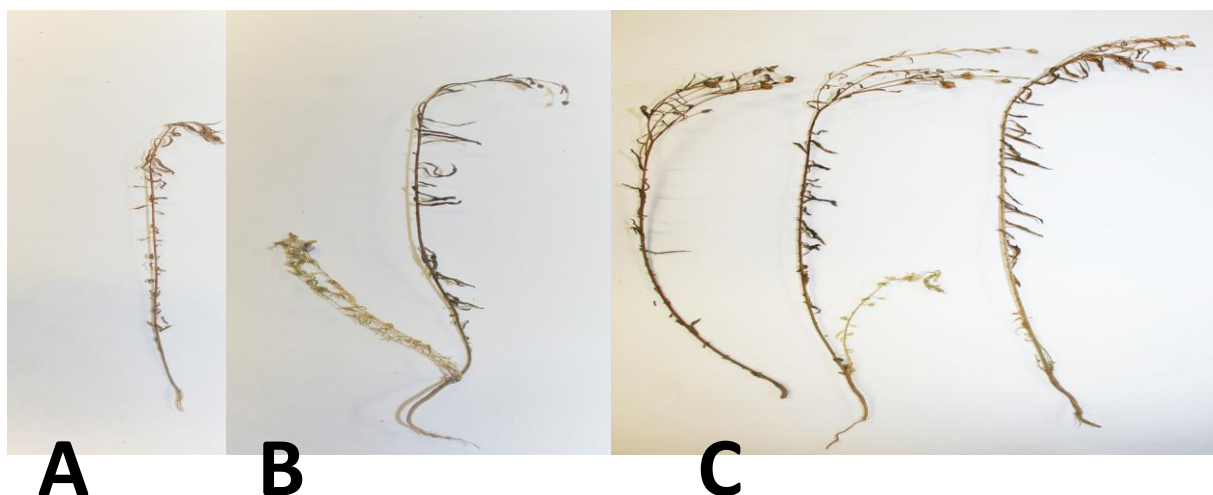
Na lokalitě Bratrušov bylo z genové banky firmy AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o. vyseto celkem 130 genotypů/odrůd lnu *Linum usitatissimum* L. do parcelek o velikosti 1 m². Třicet genových zdrojů (ECN) patří do skupiny X11, 70 do skupiny X12 a 30 do skupiny X13.

X11 – novošlechtění, šlechtitelské linie s ustálenými znaky – 30 genových zdrojů (ECN)

X12 – staré krajové odrůdy – 70 genových zdrojů (ECN)

X13 – moderní odrůdy – 30 genových zdrojů (ECN)

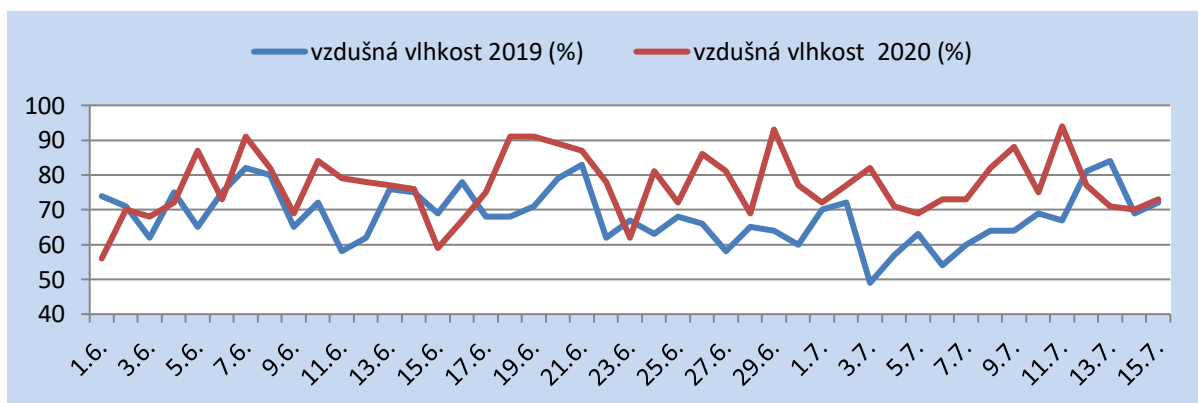
Fusariové vadnutí lnu bylo hodnoceno ve fázi zelené zralosti v červenci 2019 a 2020. Z každé parcelky se spočítaly všechny rostliny s příznaky choroby. Dle vzorce pro výpočet procent byl stanoven podíl napadených rostlin na jednotku plochy: počet vzešlých rostlin na parcele o velikosti 1m² /počet napadených rostlin fusariovým vadnutím lnu – ve všech fázích růstu (obrázek 1).



Obr. 1: různé fáze napadení rostliny lnu *F. oxysporum* f. *lini*. A. Fáze rychlého růstu, B. Fáze kvetení, C. Fáze zelené zralosti

Výsledky a diskuze

Za jednu z nejzávažnějších chorob lnu v našich podmínkách je považována fusarióza. U nás je vyvolávána několika druhy rodu *Fusarium* (např. *F. avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum* f. *lini*). Výskyt jednotlivých druhů je často vázán na fenofázi rostliny. Příznaky fusarióz se projevují ve všech vývojových fázích rostlin. V raných fázích odumírají klíčící rostliny (padání), u starších rostlin se objevují hnědé nekrózy stonků, někdy s růžovým nádechem, vadnutí a zasychání (Obrázek 1). Houby rodu *Fusarium* přežívají na rostlinných zbytcích v půdě, některé druhy jsou přenosné i osivem. Šíření houby v porostu napomáhá vysoká relativní vlhkost vzduchu (Prokinová, Kazda 2001). Tomuto konstatování odpovídá korelace hodnoty průměrné vlhkosti vzduchu v porovnávaných letech a výskytu fusariového vadnutí u jednotlivých popisovaných GZ. V roce 2019 byla průměrná vlhkost za hodnocené období 68,3 %, v roce 2020 to bylo 77 %, tedy o 10 % vyšší (Obrázek 2).



Obr. 2: Průměrná denní vlhkost vzduchu v období od 1. 6. do 15. 7. v roce výsevu souboru GZ - rok 2019 a 2020

Základem ochrany před výskytem fusariového vadnutí lnu je dbát na výběr pozemku – slévací půdy a kyselé půdy nejsou pro pěstování lnu vhodné. Len by neměl být na jednom pozemku pěstován dříve než po 6ti letech. Důležitá je kvalitní předseťová příprava půdy a dodržování agrotechnické lhůty setí. Na základě poznatků o biologii a interakcích některých zástupců půdní mikrobioty ve vztahu k pěstovaným plodinám se také nedoporučuje do osevních sledů se lnem

zařazovat řepku (zvýšení výskytu fusarióz lnu) (Vaculík *et al.* 2018). Veškeré tyto skutečnosti byly v obou pozorovaných letech dodrženy. Na výskyt fusarióz v hodnocených letech měl tedy vliv pouze rok, kdy byly vybrané genové zdroje vysety (Tabulka 1).

Tabulka 1: Podíl napadených rostlin lnu fytopatogenní houbou *Fusarium oxysporum* f. lini na parcelkách o velikosti 1 m² v letech 2019 a 2020 (v %)

ECN		2019 (%)	2020 (%)	Průměr (%)	ECN		2019 (%)	2020 (%)	Průměr (%)	ECN		2019 (%)	2020 (%)	Průměr (%)
Šlechtitelské linie lnu	05X1100237	0	0	0	Staré krajové odrůdy	05X1200113	0.3	0.8	0.6	Staré krajové odrůdy	05X1200406	4	13	8.5
	05X1100241	0	0	0		05X1200156	0	1.4	0.7		05X1200130	1.2	16	8.6
	05X1100251	0	0	0		05X1200182	0.4	1	0.7		05X1200137	1.2	16	8.6
	05X1100258	0	0	0		05X1200357	0.2	1.2	0.7		05X1200135	0	17.5	8.8
	05X1100297	0	0	0		05X1200050	0.8	0.8	0.8		05X1200021	1.3	16.4	8.9
	05X1100300	0	0	0		05X1200417	0.8	1	0.9		05X1200160	1.7	17	9.4
	05X1100304	0	0	0		05X1200064	0.3	1.6	1		05X1200001	2	17.3	9.7
	05X1100340	0	0	0		05X1200076	0	2	1		05X1200029	2.4	18	10.2
	05X1100370	0	0	0		05X1200149	0	2.2	1.1		05X1200031	0.4	20	10.2
	05X1100374	0	0	0		05X1200066	0.4	2	1.2		05X1200168	0.8	20	10.4
	05X1100375	0	0	0		05X1200012	0.5	2	1.3		05X1200399	0.3	22.4	11.4
	05X1100383	0	0	0		05X1200078	0	2.5	1.3		05X1200019	1.9	21	11.5
	05X1100386	0	0	0		05X1200138	0.3	2.7	1.5		05X1200025	4	19.6	11.8
	05X1100393	0	0	0		05X1200154	0	3.3	1.7		05X1200403	5.8	18.8	12.3
	05X1100498	0	0	0		05X1200101	0	3.6	1.8		05X1200108	4.8	21	12.9
	05X1100499	0	0	0		05X1200125	0.4	3.2	1.8		05X1200110	5	26.5	15.8
	05X1100298	0	0	0		05X1200081	1.3	2.4	1.9		05X1200026	4	28	16
	05X1100233	0	2.5	1.3		05X1200127	0	4	2		05X1200107	7.2	28	17.6
	05X1100266	0.5	2	1.3		05X1200145	0	4	2		05X1200140	1.8	37	19.4
	05X1100245	0.5	2.3	1.4		05X1200124	0	4.2	2.1		05X1200128	9	32.2	20.6
	05X1100337	0.8	2.3	1.6		05X1200051	1.3	3	2.2		05X1200115	12	35.1	23.6
	05X1100373	0.3	2.9	1.6		05X1200105	0.2	5	2.6		05X1200063	7	40.4	23.7
	05X1100368	0.5	3.2	1.9		05X1200075	0.8	5	2.9		05X1200020	4	53.2	28.6
	05X1100252	0.8	3.1	2		05X1200106	0.8	5.2	3		05X1200136	9.2	75.9	42.6
	05X1100248	0	4.5	2.3		05X1200037	0.8	6.2	3.5	Moderní odrůdy	05X1301121	0	0	0
	05X1100452	1	3.7	2.4		05X1200189	0.2	6.8	3.5		05X1301122	0	0	0
	05X1100305	0	5.7	2.9		05X1200159	0.2	7.2	3.7		05X1301123	0	0	0

	05X110036 3	1.2	4.8	3		05X120007 2	0.4	7.6	4		05X130112 4	0	0	0
	05X110037 8	0.2	6.5	3.4		05X120016 0	0	8	4		05X130112 5	0	0	0
	05X110038 1	1.5	8.5	5		05X120003 0	1.9	6.8	4.4		05X130112 6	0	0	0
Staré krajové odrůdy	05X120009 4	0	0	0		05X120016 2	0.2	8.8	4.5		05X130112 8	0	0	0
	05X120010 9	0	0	0		05X120004 8	1	8.4	4.7		05X130112 9	0	0	0
	05X120035 3	0	0	0		05X120011 8	0.8	9	4.9		05X130113 2	0	0	0
	05X120035 5	0	0	0		05X120014 3	0.6	9.6	5.1		05X130113 5	0	0	0
	05X120037 8	0	0	0		05X120004 9	1.2	9.6	5.4		05X130113 6	0	0	0
	05X120050 2	0	0	0		05X120005 6	1.5	10.3	5.9		05X130113 7	0	0	0
	05X120009 8	0.2	0.2	0.2		05X120017 8	0	12	6		05X130113 9	0	0	0
	05X120036 5	0.2	0.2	0.2		05X120005 2	0.6	12.8	6.7		05X130114 0	0	0	0
	05X120009 2	0.2	0.4	0.3		05X120004 6	1.3	12.8	7.1		05X130114 2	0	0	0
	05X120006 5	0	0.8	0.4		05X120006 2	2.6	11.5	7.1		05X130114 3	0	0	0
	05X120009 7	0	0.8	0.4		05X120015 7	0	15	7.5		05X130114 4	0	1	0.5
	05X120011 2	0.6	0.4	0.5		05X120040 0	1.3	14	7.7		05X130113 1	0	1.5	0.8
	05X120016 4	0	1	0.5		05X120004 3	1.5	15	8.3		05X130113 3	0	2	1
											05X130114 1	0	3.5	1.8

V celkovém počtu 130 hodnocených GZ bylo označeno jako rezistentní (nulový výskyt *F. oxysporum* f. *lini* na parcelce) celkem 47 GZ. Největší podíl rezistentních linií byl v souboru X13 – tedy ve vybraných moderních odrůdách lnu (16 rezistentních/4 s výskytem *F. oxysporum* f. *lini*). V souboru X11 – šlechtitelské linie – byl podíl rezistentních genotypů 17/13 s výskytem choroby. Nejvíce napadené byly plochy ze souboru X12 – krajové odrůdy. Zde bylo napadeno celkem 74 z celkových 80 vyšetřovaných GZ, na některých parcelkách bylo napadení fusariózou velmi masivní a počet regenerujících rostlin byl silně zredukován (Obrázek 3). Z uvedených dat vyplývá, že zatímco u původních historických krajových odrůd byla rezistence vůči fusariózám spíše výjimkou, u novějších šlechtitelských materiálů již převažují rezistentní nebo středně rezistentní linie.



Obrázek 3: Foto parcelky silně napadené chorobou *Fusarium lini* (vlevo), srovnání napadené a zdravé rostliny ve fázi kvetení (uprostřed), parcelka s rezistentním genotypem (vpravo)

Závěr

Vyhodnocením dat získaných zaznamenáním výskytu fusariového vadnutí lnu v souboru vyšetřovaných genových zdrojů lnu byly potvrzeny, ale také zjištěny nové genotypy /odrůdy resistantní vůči této chorobě. Projevu náchylnosti k této chorobě pomohl v tomto roce průběh počasí s vysokou relativní vlhkostí v rozhodném období v důsledku nadměrných srážek. V průběhu desetiletí šlechtění lnu se tedy podařilo rezistenci vůči patogenu jako je *F. oxysporum* úspěšně upevnit v genomu komerčních odrůd, u kterých je přítomnost této vlastnosti jednou z podmínek pro splnění státních odrůdových zkoušek. Zároveň bylo nalezeno několik potenciálních nových donorů rezistence z dosud nepopisovaných GZ.

Použitá literatura

- Aly A. A., Omar M. R., Mansour M. T. M., Zayed S. M. E. and Abd- Elsalam K. A. (2011). Fusaria and other fungi associated with seedling blight and root rot of flax in the Nile Delta. Plant Pathology and Quarantine 1: 89–102.
- Edirisinghe P.V. (2016). Characterization of Flax Germplasm for Resistance to Fusarium Wilt Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*. M. Sc. Thesis. Department of Plant Sciences, College of Agriculture and Bioresources, University of Saskatchewan, Saskatoon, Saskatchewan, 120 p.
- Kommedahl T., Christensen J., a Frederiksen R. (1970). A Half Century of Research in Minnesota on Flax Wilt Caused by *Fusarium Oxyporum*. Agricultural Experiment Station, University of Minnesota, Technical Bulletin 273, 35 p.
- Kroes I. (1997) Aspects of resistance in flax and linseed (*Linum usitatissimum*) to *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini*. PhD thesis, Wageningen Agricultural University, The Netherlands, pp. 159
- Prokinová E., Kazda J. (2001): Choroby a škůdci lnu. Úroda, 29.1.2001. <https://www.uroda.cz/choroby-a-skudci-lnu/>
- Rashid K. Y. a Kenaschuk E. O. (1993). Effect of trifluralin on fusarium wilt in flax. Can. J. Plant Sci. 73: 893-901.
- Rataj K. (1958) Choroby lnu. In: *Zemědělská fytopatologie – Díl II*. Praha: Československá akademie zemědělských věd, 1958, s. 468–509.
- Vaculík A., Ondráčková E., Seidenglanz M., Šafář J. (2018): Integrovaná ochrana lnu a konopí. Soubor přednášek, AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o., 16.–18. října 2018

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, Národní program pro genofondy rostlin, 51834/2017-MZE-17253/6.2.8

Kontaktní adresa:

Ing. Miroslava Prokopová, Ph.D.
AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o.
Zemědělská 16
787 01 Šumperk, tel: 583 382 125,
Email: prokopova@agritec.cz

VLIV GENOMU NA ENERGII KLÍČENÍ MÁKU SETÉHO (*PAPAVÉR SOMNIFERUM*)

The influence of genome on the germination energy of Poppy (*Papaver somniferum*)

Rychlá A.¹, Vrbovský V.², Gališová V.²

¹OSEVA PRO s.r.o., o. z. VÚO Opava

²OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.

Abstrakt

Na dobrý průběh vegetace a uspokojivý výnos má velký vliv kvalita vzcházení porostů. Některé plodiny, jako i mák setý, jsou velmi citlivé na stres suchem v tomto období. Byla testována energie klíčení 226 genových zdrojů máku s cílem potvrdit vliv genomu na tuto vlastnost.

Klíčová slova: mák setý, energie klíčení, semeno, genový zdroj

Abstract

The quality of crop emergence is a major influence on the good vegetation pattern and satisfactory yield. Some crops, such as the poppy seed, are very sensitive to the stress of drought during this period. The germination energy of 226 poppy genetic sources was tested to confirm the genome's impact on germination rate.

Keywords: Poppy, germination energy, seed, genetic source

Úvod

V době měnícího se klimatu a výskytu extrémních projevů počasí nabývá na významu výběr vhodných genetických zdrojů (GZ), nesoucích ve svém genomu geny související s odolností k nejruznějším biotickým i abiotickým stresům. Použití takových rodičovských komponent v procesu šlechtění a tvorba nových rezistentních odrůd je jednou z významných cest, jak se s nastalou situací vyrovnat. Díky realizaci Národního programu konzervace a využití genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity (NP) je šlechtitelům k dispozici obsáhlá kolekce starších i moderních materiálů, jejichž studiem mohou být odhaleny potencionálně významné materiály vhodné k použití do křížení pro získání specifických odolností nově vzniklých odrůd. Podle Rámcové metodiky NP (Holubec, 2020) je povinností každého kurátora plodinové kolekce realizovat na ukládaných GZ řadu morfologických, fenologických a kvalitativních hodnocení podle platných klasifikátorů. Tato data slouží potřebám uživatelů, tedy především šlechtitelů, při výběru vhodných materiálů. Nejde jen o činnost rutinní, neboť zohledňuje aktuálně řešené problémy zemědělské praxe a snaží se rozšiřovat portfolio hodnocených znaků podle současných požadavků. Jsou vytvářeny a testovány nové deskriptory, které rozšíří popisná data jednotlivých GZ. Na pracovišti společnosti OSEVA PRO s.r.o., o.z. VÚO Opava jsou vedeny kolekce olejných plodin, jejichž součástí je i kolekce máku setého. V současné době je uchováváno 203 položek máku v kolekci řádné a 70 GZ v kolekci pracovní. Jedná se o materiály domácího i zahraničního původu, od nejstarších odrůd až po současná novošlechtění, svůj podíl zaujímají i položky ze sběrových expedic – staré krajové materiály či GZ se specifickými vlastnostmi. Mák setý je pro naši republiku významnou plodinou. V pěstování máku na semeno pro potravinářské využití patříme ke světové špičce. V roce 2019 dosáhla pěstební plocha téměř 36 000 ha s průměrným výnosem 0,68 t/ha (Zehnálek, 2020). Mák je poměrně citlivá rostlina, a to především v období vzcházení. Dobré založení porostů z velké míry ovlivňuje konečný výnos semen. Drobné semeno je vyséváno brzy na jaře do jemněji připravené půdy. Počáteční vývoj rostlin je pomalý, dochází však k rychlému růstu kulového

kořene, který zajišťuje pro malou rostlinu dostatek vláhy z hlubších vrstev půdy. Díky tomu v pozdějších fázích vývoje není rostlina až tak ovlivněna přísuškou, které snáší lépe než třeba jen krátkodobé přemokření. Jako nejzranitelnější období tedy lze vytipovat dobu vzházení a raného růstu, kdy často dojde k zaschnutí klíčenců v prosychající horní vrstvě jemně připravené půdy. Další vývoj rostlin je již rychlý, silně reagující na délku dne (Fábry, 1990).

Materiál a metody

Pro účely pokusu bylo z kolekce NP vybráno celkem 226 GZ máku setého. Jednalo se převážně o máky jarní formy, pouze jednotky zdrojů byly formy ozimé. Pracoviště využilo metodické koncepce postupu hodnocení položek NP, kdy všechny dostupné materiály jsou každoročně vysévány do maloparcelních pokusů pro účely shromáždění popisných dat. Jako výchozí zdroj pro zásev bylo vždy použito izolované osivo z regenerací. Pokusy byly zakládány v letech 2017-2019 maloparcelním secím strojem Haldrup bezprostředně po nástupu jara a oschnutí vrchní vrstvy půdy. Konečná velikost parcel byla 1,25 x 4 m, rostliny byly vysety do řádků 12,5 cm širokých. Během vegetace byl pokus standardně ošetřován herbicidy a insekticidy; fungicidní ošetření bylo z důvodů hodnocení odolnosti k chorobám vynecháno. V době plné technické zralosti bylo z každé parcely odebráno 30 primárních makovic, které byly ručně odsemeněny. Získaný semenný materiál byl použit pro realizaci testů energie klíčení a celkové klíčivosti. Rostliny materiálů, z nichž bylo testované osivo sklizeno, byly vystaveny stejným faktorům a průběhu počasí vegetačního roku a můžeme se tedy domnívat, že zjištěná energie klíčení semen je z velké části projevem genomu GZ. V zimních měsících sklizňového roku, po odeznění dormance semen, byl realizován standardní test klíčivosti. Z každého GZ bylo odpočítáno 50 semen a ta byla umístěna na vlhčený papír na Petriho misce o průměru 9 cm. Misky byly zakryty a ponechány při teplotě kolem 20 °C a standardním osvětlení. Dva dny po založení byl realizován odpočet klíčících rostlin a pátý den stanovena celková klíčivost. V prvním roce řešení byl zároveň realizován pokus, kdy stejně založený test byl uložen do chladničky (4–8 °C) na dobu tří dnů. Poté byly misky vytaženy a umístěny v laboratoři při teplotě 20 °C. Byl proveden odečet klíčenců po dvou dnech.

Výsledky a diskuze

Mezi testovanými materiály byly patrné již v prvním roce významné rozdíly. V kolekci existovaly položky, které dosáhly celkové klíčivosti (50 semen) již druhý den po založení testu. Naopak řada materiálů druhý den neklíčila vůbec. Celková klíčivost pátý den byla ale velmi dobrá pro všechny materiály. Tento trend se podařilo potvrdit i pokusy z let 2018 a 2019. Pokud byl založený test umístěn do chladničky, došlo k zastavení růstu a semena pouze nasávala vodu. Třetí den nebyly pozorovány žádné klíčící rostliny v celé kolekci. Po umístění v teplejším prostředí semena začala rychle klíčit a pátý den (druhý den při 20 °C) již byla většina semen všech GZ vyklíčená. Tímto postupem došlo k vyrušení vlivu genomu na energii klíčení.

Po ukončení tří hodnocení z let 2017-2019 byla data statisticky zpracována a byla vyjádřena korelace mezi jednotlivými roky. Výsledky jsou uvedeny v tab.1.

Tab.1 Korelační koeficient pro energii klíčivosti 226 GZ máku setého mezi roky 2017-2019

korelace mezi roky 2017 až 2019 pro 226 GZ	
2017 vs. 2018	0,512
2017 vs. 2019	0,599
2018 vs. 2019	0,547

Z uvedených výsledků je patrné, že genetická informace velmi silně ovlivňuje rychlost růstu rostlin máku v počátcích vývoje. Jde o průkaznou závislost.

V následující tabulce je uveden výběr materiálů s největším rozdílem v energii klíčivosti. Jsou zde uvedeny počty klíčenců z celkových 50 semen druhý den experimentu a průměr za tři roky.

Tab.2 Počet klíčenců druhý den testu v letech 2017-2019

ECN	Název	2017	2018	2019	průměr
15O0800174	Zeno	0	0	0	0,00
15O0800186	Opava-Komarov	4	0	0	1,33
15O0800198	Ametiszt	3	0	2	1,67
15O0800149	Pap.somn.z Laosu	3	3	0	2,00
15O08	Morfeusz	0	0	7	2,33
15O0800077	Zwetleruv sedy krajovy	49	47	49	48,33
15O0800121	R 4	49	49	47	48,33
15O0800018	Fontaine Fouseke	49	47	50	48,67
15O0800151	Papaver 41	49	50	49	49,33
15O0800150	Papaver 7	49	50	50	49,67

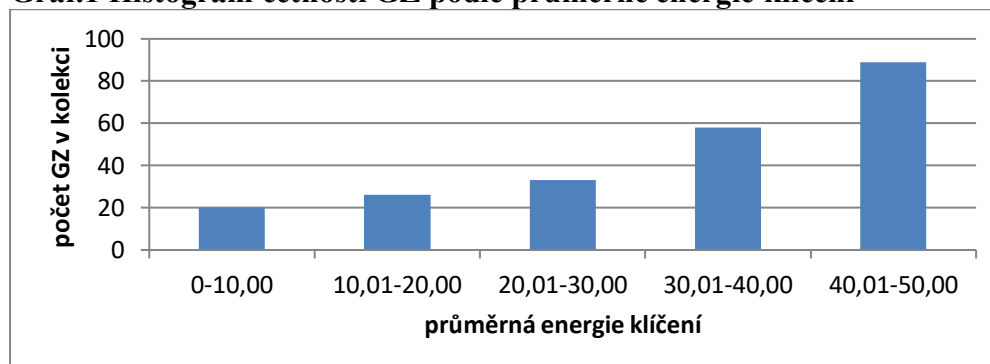
Z celkové kolekce byla následně vybrána core kolekce odrůd, využívaných v zemědělské praxi, včetně staré odrůdy Hanácký modrý a byla porovnána jejich energie klíčení. Z dat je patrné, že převaha těchto položek má rychlý start vegetace, ale byly zde zahrnuty i materiály rizikové. Velmi dobrých výsledků dosahuje stará (první) česká odrůda Hanácký modrý z roku 1934. Přehled výsledků uvádí tab.3.

Tab.3 Počet klíčenců nosných odrůd současnosti, včetně nejstarší české

ECN	Název	2017	2018	2019	průměr
15O0800200	Agat	44	4	3	17,00
15O08	Akvarel	42	26	16	28,00
15O0800159	Albin	37	43	40	40,00
15O0800198	Ametiszt	3	0	2	1,67
15O0800205	Aplaus	41	29	22	30,67
15O0800199	Aristo	48	34	14	32,00
15O0800184	Bergam	47	34	32	37,67
15O0800148	Gerlach	33	17	45	31,67
15O0800022	Hanacky modry	49	40	48	45,67
15O0800155	Lazur	48	15	14	25,67
15O0800182	Major	45	23	24	30,67
15O0800181	Maraton	43	24	49	38,67
15O08	Onyx	49	49	16	38,00
15O0800169	Opal	33	35	2	23,33
15O0800203	Opex	48	50	18	38,67
15O0800204	Orbis	41	25	13	26,33
15O0800187	Orel	48	31	21	33,33
15O0800190	Orfeus	21	3	0	8,00
15O0800195	Postomi	8	10	3	7,00
15O0800188	Racek	45	14	41	33,33
15O0800189	Redy	10	48	32	30,00
15O0800179	Sokol	48	41	44	44,33
15O0800174	Zeno	0	0	0	0,00

Následující histogram četnosti (Graf 1.) uvádí počty GZ v kolekci podle dosažené průměrné energie klíčení z let 2017-2019

Graf.1 Histogram četnosti GZ podle průměrné energie klíčení



Exponenciální růst počtu GZ s vyšší energií klíčení obsáhlé kolekce máků (226 GZ) potvrzuje domněnku, že pozitivní genotypy jsou v přírodním prostředí preferovány a že naopak výskyt GZ s nižší energií klíčení bude zřejmě vázán na jinou významnou vlastnost genotypů.

Závěr

Díky realizaci rozsáhlých laboratorních testů energie klíčení a celkové klíčivosti semen GZ máku setého bylo možné potvrdit hypotézu, že genotyp hraje významnou roli pro úspěšný start vegetace. Genetika podmiňuje významné rozdíly v rychlosti klíčení, a tedy i odolnosti materiálů k časným jarním přisuškům. Pokud je osivo vyseto do vlhké půdy a v době nižších teplot, dojde k jeho bobtnání, rozdíly budou smazány a po příchodu teplých dnů rovnoměrně a rychle vzejde. Pokud bude průběh počasí teplejší a suchý, projeví se genetická dispozice odrůd. Existují materiály, které i za těchto okolností dobře a rychle vzejdou a rychle překonají krizové období. Část materiálů si ale ve své genetické výbavě nese informaci s negativním dopadem na zdárné vyklíčení, protože potřebují výrazně delší dobu k tomu, aby dobře vyklíčily. Tyto vlastnosti se zdají být důležité v dnešní době především s ohledem na častý výskyt jarních přisušků a měly by být zohledněny i ve šlechtitelském programu.

Dedikace

Prezentované výsledky byly získány na základě řešení projektů MZe ČR 206553/2011-17253 "Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity", NAZV QK1810391a institucionální podpory MZE-RO1820.

Použitá literatura

- Fábry A. et al. (1990). Jarní olejniny. Ministerstvo zemědělství a výživy ČR (241 s.)
Holubec V. et al. [online]. (Cit.2.10.2020). 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. (2020). Seznam doporučených odrůd 2020

Kontaktní adresa: Ing. Andrea Rychlá OSEVA PRO s.r.o., o. z.
Výzkumný ústav olejnin Opava, Purkyňova 10, 764 01 Opava
rychla@oseva.cz

VÝBĚR MIKROSATELITNÍCH MARKERŮ PRO IDENTIFIKACI ODRŮD OVSA

Selection of microsatellite loci suitable for oat variety identification

Leišová-Svobodová L., Dvořáček V.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha – Ruzyně

Abstrakt

Celkem bylo testováno 42 mikrosatelitních markerů na setu 140 odrůd a šlechtitelských liniích ovsa setého (*Avena sativa* L.). Čtrnáct markerů bylo vyloučeno z následných analýz, protože u nich byla detekována pouze jedna alela. Bylo identifikováno 51 lokusů a celkem 255 alel. Na základě výsledků byla vypočtena hodnota informačního indexu (polymorphic information content - PIC) pro každý lokus. Je diskutován minimální počet lokusů pro jednoznačnou identifikaci odrůd ovsa. Výsledky mohou sloužit k právní ochraně odrůd nebo k odhalování falšování.

Klíčová slova: oves, mikrosatelity, PIC, identifikace odrůd

Abstract

In total, 56 microsatellite loci were tested on the set of 140 varieties and breeding lines of oat (*Avena sativa* L.). Fourteen markers were excluded from the following analyses, because they were monomorphic. Fifty-one loci were identified giving 255 alleles. Based on results, value of the Polymorphic information content (PIC) was calculated for each locus. A minimal number of loci for unambiguous identification of each of 140 oat genotypes is discussed. The results could be used for legal protection of oat varieties or for adulteration discovery.

Key words: oat, microsatellites, PIC, variety identification

Úvod

Oves setý (*Avena sativa* L.) je obilnina pěstovaná zejména na zrno, a dále jako zelená píce. Oves je jednoděložná rostlina z čeledi lipnicovité (*Poaceae*). 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 šlechtí od 2. světové války. Z ovesné mouky se připravuje různé pečivo, v euroamerické společnosti jsou ovesné vločky oblíbeným základem zdravých pokrmů. Ovesný šrot se zkrmuje a ovesná sláma se hlavně stele. Oves, společně s pšenicí, ječmenem a žitem, je jednou z nejrozšířenějších obilnin mírného pásma. Oves jako krmivo je vynikající hlavně pro koně.

Oves je samosprašný allohexaploidní druh trávy charakteristický velkým genomem 14 Gb/1C. Haploidní genom má základní sestavu 7 chromozomů $n = 3x = 21$.

Identifikace odrůd pro potřeby semenářských podniků, šlechtitelských stanic a odrůdového zkušebnictví je obecným problémem. S objevem polymerázové řetězové reakce (PCR) se však značně zrychlil vývoj metod pro studium genetické variability a tudíž se i problém charakterizace odrůd stal řešitelným. V současné době již existuje mnoho metod, které vedou k pochopení rozdílů mezi odrůdami a jsou základem pro vývoj molekulárních markerů využívaných ve šlechtění. Jednou z nich je analýza mikrosatelitů, která je založena na detekci

alelických variant úseků DNA, které obsahují repetitivní sekvence, které snáze podléhají mutacím v důsledku chyb transkripce (Goldstein a Schlotterer, 2000). Proto se vyznačují vysokou mírou variability i v rámci druhu a jsou specifické pro danou odrůdu či individuum (Plaschke et al., 1995). Proto se využívají ve forenzních aplikacích: určování paternit zvířat i lidí, v kriminalistice, apod. Další výhodou analýzy mikrosatelitů je jejich kodominantní charakter, vysoká reproducibilita a spolehlivost (Russel et al. 1997; Leisova-Svobodova et al., 2014, 2018). Proto jsou mikrosatelity využívány u rostlin pro studium biodiverzity a pro různé mapovací a populační studie.

Hlavním záměrem této studie bylo najít optimální sadu mikrosatelitních markerů k jednoznačné identifikaci uvedených odrůd ovsa.

Materiál a metody

Pro analýzu bylo vybráno celkem 140 odrůd a novošlechtění ovsa. Souhrn je uveden v Tabulce 1. Z celkového počtu bylo 108 genotypů typu pluchatého ovsa, 22 bezpluchých (z ČR, Kanady, Velké Británie, Německa a Ruska) a 10 typu černého ovsa (z Francie, České republiky a Velké Británie).

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 vizualizací pomocí ethidiumbromidu v UV světle srovnáním s velikostním a koncentračním standardem λ Hind III.

Tab: 1: Země původu analyzovaných genotypů ovsa

Země původu	Počet genotypů	Země původu	Počet genotypů
Argentina	2	Maďarsko	1
Rakousko	6	Irsko	2
Belgie	2	Itálie	1
Kanada	8	Holandsko	8
Česká republika	46	Norsko	1
Estonsko	2	Polsko	2
Finsko	6	Rumunsko	1
Francie	10	Rusko	5
Německo	18	Srbsko	1
Velká Británie	8	Švédsko	3
		Spojené státy	8
Celkem			140

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 u všech 140 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).

Výsledky a diskuze

Aplikací 42 primerových kombinací na 140 genotypů ovsa bylo nalezeno 51 mikrosatelitních lokusů s celkovým počtem 255 alel. Průměrná hodnota činí 5,0 alely na lokus. 14 lokusů se

ukázalo být monomorfní. Nejvyšší počet alel (24) byl nalezen u lokusů AM3 a AM114c (Tabulka 2). Hodnota indexu PIC (Polymorphism Information Content) se pohybovala v intervalu od 0 (u monomorfních lokusů) do 0,898 (Tabulka 2).

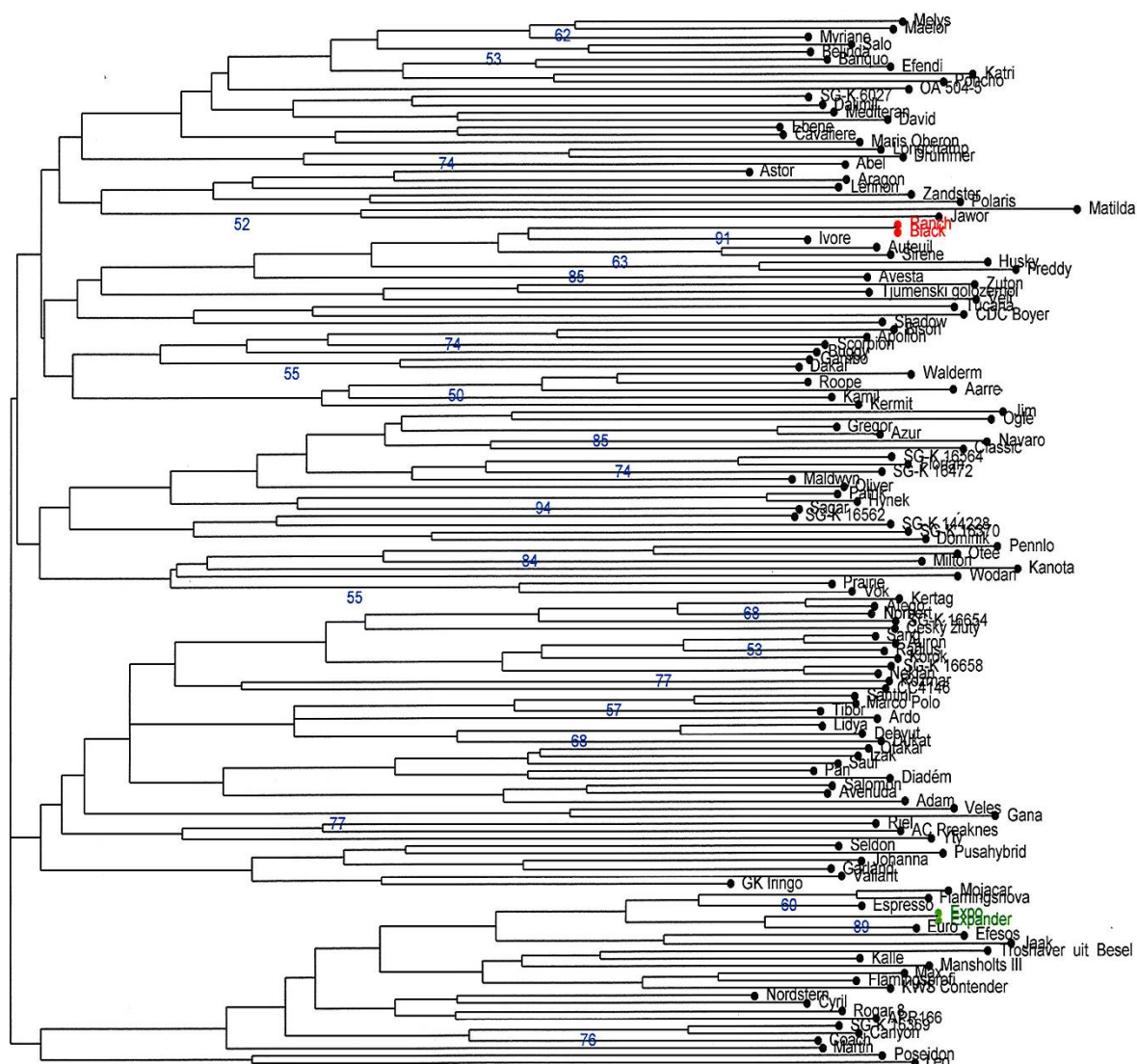
Tab. 2: Charakteristika markerů použitých ve studii variability souboru 140 genotypů ovsa

	Počet alel	Pozorovaná heterozygoty	Předpokládaná heterozygoty	G-W index	PIC
AM1a	2	0,150	0,328	0,028	0,318
AM1b	13	0,514	0,842	0,086	0,836
AM2a	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM2b	13	0,093	0,785	0,117	0,779
AM3	24	0,171	0,862	0,094	0,857
AM4a	3	0,000	0,315	0,053	0,242
AM4b	10	0,050	0,531	0,524	0,529
AM4c	18	0,207	0,882	0,419	0,879
AM22	7	0,086	0,763	0,089	0,711
AM25	2	0,064	0,358	0,667	0,356
AM42a	4	0,057	0,306	0,034	0,132
AM42b	3	0,057	0,521	0,176	0,518
AM47	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM102	6	0,171	0,505	0,316	0,503
AM54	6	0,143	0,629	0,353	0,627
AM83	2	0,000	0,056	0,021	0,028
AM84	2	0,100	0,095	0,069	0,095
AM103	2	0,000	0,082	0,400	0,082
AM112	8	0,029	0,255	0,229	0,254
AM87	8	0,036	0,416	0,381	0,414
AM92a	6	0,014	0,174	0,092	0,150
AM92b	12	0,050	0,826	0,308	0,823
AM104	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM107	3	0,007	0,103	0,018	0,090
AM114a	5	0,064	0,439	0,041	0,132
AM114b	19	0,021	0,906	0,093	0,897
AM114c	24	0,079	0,907	0,115	0,898
AM115	2	0,079	0,127	0,667	0,127
AM201	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM203	2	0,079	0,151	0,400	0,151
AM204	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM205	3	0,136	0,129	0,061	0,129
AM206	3	0,014	0,028	0,429	0,028
AM207	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM208a	3	0,021	0,394	0,027	0,383
AM208b	2	0,014	0,349	0,020	0,018
AM209	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM210	3	0,243	0,586	0,097	0,584
AM211	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM212	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM213	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM214	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM215a	4	0,043	0,573	0,267	0,570
AM216	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM215b	3	0,000	0,344	0,231	0,342
AM217a	5	0,014	0,631	0,047	0,618

AM217b	3	0,000	0,390	0,024	0,380
AM218	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM219	1	0,000	0,000	0,000	0,000
AM220	2	0,000	0,182	0,012	0,170
AM221	4	0,200	0,188	0,571	0,188

Pro výběr mikrosatelitních lokusů rozlišujících 140 genotypů ovsa byla zvolena strategie výběru dle hodnoty PIC (Tabulka 2). Postupně byly vypočteny genetické vzdálenosti pro lokusy s hodnotami PIC větší než 0,1 (32 lokusů); 0,3 (21 lokusů); 0,5 (15 lokusů); 0,6 (10 lokusů) a 0,8 (6 lokusů) pomocí koeficientů jednoduché shody (SM). Shlukovací metodou nevážených vzdáleností nejbližších sousedů byl získán příslušné dendrogramy. Dendrogram zahrnující 6 lokusů s PIC větší než 0,8 je uveden na Obrázku 1. Je z něj patrné, že tento počet lokusů už nedokáže odlišit odrůdu ovsa Ranch od odrůdy Black a odrůdu Expo od odrůdy Expander.

Obr. 1: Dendrogram založený na analýze 6 lokusů mikrosatelitů s PIC > 0,8



Nejlépeších výsledků bylo dosaženo, když bylo do analýzy zahrnuto 10 lokusů s PIC větší než 0,6. Výsledný dendrogram je uveden na obrázku 2, kde jsou barevně zvýrazněny odrůdy, které

- Leišová-Svobodová L., Tomková L., Sedláček T., Psota V., Kučera L. (2014): The application of microsatellite analysis in barley malting quality breeding programmes. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 50(4): 268-277.
- Leišová-Svobodová L., Phillips J., Martinussen I., Holubec V. (2018): Genetic differentiation of *Rubus chamaemorus* populations in the Czech Republic and Norway after the last glacial period. *Ecology and Evolution* 8: 5701-5711.
- 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. *Theoretical and Applied Genetics* 101: 1259-1268.
- Moudrý J. (2014): Oves (*Avena* L.), Available on: <http://www2.zf.jcu.cz/~moudry/database/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 J.P. (2006): DARwin software <http://darwin.cirad.fr/darwin>.
- Plaschke J., Ganai M.W., Roder M.S. (1995): Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* 91: 1001-1007.
- Russell J., Fuller J., Young G., Thomas B., Macaulay M., Waugh R., Powell W., Taramino G. (1997): Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers. *Genome* 40(4): 442-450.

Dedikace

Tento výzkum byl podpořen finančními prostředky projektů NAZV QK1810102 a Mze ČR MZE RO0418.

Kontaktní adresa:

RNDr. Leona Leišová-Svobodová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně,
Email: leisova@vurv.cz

HODNOCENÍ VYBRANÝCH DUPLICITNÍCH POLOŽEK V KOLEKCI GENETICKÝCH ZDROJŮ LOCIKY SALÁTOVÉ (*L. SATIVA* L.)

Evaluation of selected duplicates of lettuce (*L. sativa* L.) germplasm

¹Sochor, M., ²Doležalová I.

¹Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum

²Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha

Abstrakt

Česká kolekce genových zdrojů lociky seté (*Lactuca sativa* L.) zahrnuje v současné době 849 položek, přičemž na základě pasportních dat více než 30 % kolekce tvoří pravděpodobné duplicity. U 32 vybraných položek odrůd Král Máje, Kamenáč, Lednický, Achát a Kunovický byla provedena analýza deseti SSR markerů u tří jedinců z každé položky a fenotypizace u deseti jedinců ve dvou sezónách. Ve studovaném souboru byly jako vysoce pravděpodobné duplicitní vylíšeny pouze položky čtyři položky odrůdy Lednický, čtyři (až pět) odrůd Král Máje/Královna Máje a tři položky nazvané Majskij, Majus Kirali a Majskij Jar. Ostatní studované položky vykazují diferenciaci v SSR a/nebo fenotypových znacích.

Klíčová slova: duplicity, fenotypizace, genetické zdroje, salát, SSR markery

Abstract

The Czech collection of cultivated lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources currently includes 849 accessions. Based on passport data, more than 30% of the collection is probable duplication. For 32 selected accessions of the Král Máje, Kamenáč, Lednický, Achát and Kunovický varieties, an analysis of ten SSR markers was performed on three individuals per accession, and phenotyping in 10 individuals and two seasons. In the studied set, only four accessions of the Lednický variety were considered as highly possible duplicates; further four (up to five) accessions of the variety Král Máje/Královna Máje; and two accessions named Majskij, Majus Kirali and Majskij Jar. Other accessions show differences in SSR and/or phenotypic traits.

Key words: duplicates, phenotyping, genetic resources, lettuce, SSR markers

Úvod

Na základě různých analýz se předpokládá, že pouze 25 až 30 % položek genových zdrojů (GZ) rostlin je odlišných a ostatní tvoří duplicity uložené ve stejných nebo častěji různých kolekcích ve světě (FAO 2010). Důležitými aspekty účinného managementu GZ rostlin jsou identifikace a eliminace nadbytečných (identických nebo téměř identických) položek v genových bankách, protože takové položky nepřispívají ke genetické rozmanitosti kolekcí, ale vyžadují zdroje pro jejich uchování (Spooner et al. 2005). Efektivní využívání GZ v genových bankách vyžaduje přesná a kompletní pasportní a popisná data položek. Pro identifikaci duplicit v kolekcích je vhodné použít komplexní přístup a potenciální duplicity vytipované na základě pasportních dat ověřit morfologickým porovnáním položek a metodami molekulárních markerů (van Treuren et al. 2010). Česká kolekce GZ lociky seté, salátu (*Lactuca sativa* L.) zahrnuje v současné době 849 položek (Hýbl et al. 2019), přičemž na základě pasportních dat více než 30 % kolekce tvoří pravděpodobné duplicity (GRIN Czech Release 1.10.3. 2020). Nejvíce duplicit se na základě pasportních dat vyskytuje u položek s názvy Král Máje, Kamenáč, Atrakce a dalších. Cílem této studie bylo identifikovat duplicitní položky odrůdy Král Máje a odrůd s podobnými názvy v různých jazycích, skupiny Kamenáčů a dále odrůd Lednický, Achát a Kunovický.

Materiál a Metody

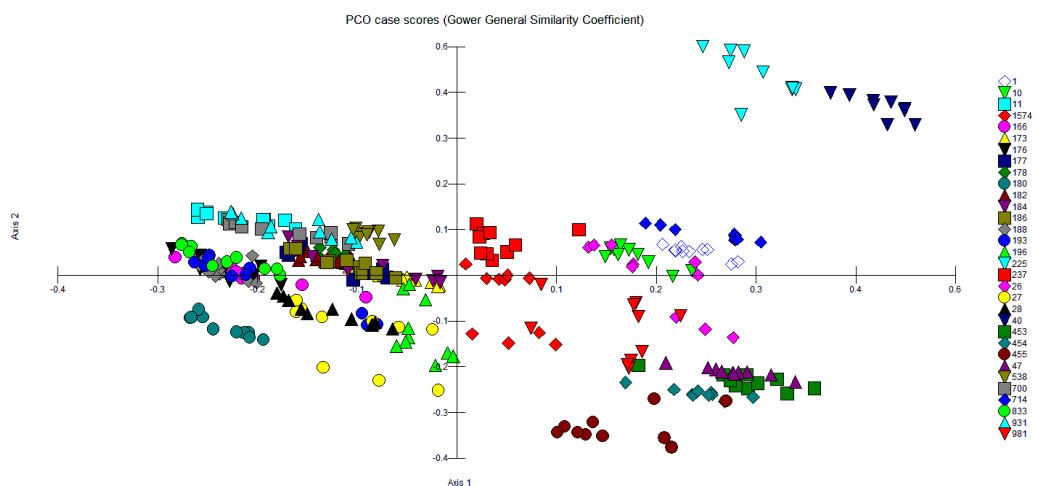
Na základě pasportních dat bylo vybráno 32 položek pěti odrůd salátu, u nichž se očekávala vysoká míra identity. Byla provedena analýza deseti SSR markerů u tří jedinců z každé položky podle metodiky Sochor et al. (2019). Fenotypizace byla provedena ve dvou sezónách (2016 a 2017) vždy u 15 jedinců. Znaky rozmístění antokyanu a způsob rozmístění antokyanu, dělení čepele, žilnatina, tvar čepele, okraj čepele a vertikální zvlnění okrajů u mladých listů; u dospělých listů barva, rozmístění antokyanu a způsob rozmístění antokyanu, bublinatost, velikost hlávky, tvar hlávky v podélném řezu a překrytí listy byly hodnoceny podle klasifikátoru pro *L. sativa* (http://genbank.vurv.cz/genetic/nar_prog_rostlin/klasifikatory/Lactuca.pdf). U pěti jedinců (skupina A) byla vyříznuta hlávka a byly měřeny tyto znaky: délka listu (tři měření), šířka listu (tři měření), hmotnost, pevnost, výška a šířka hlávky. Hodnoty délky a šířky listu byly pro každého jedince zprůměrovány a jako proměnné byly použity průměr, minimum a maximum. U zbývajících deseti jedinců (skupina B) pak byla sledována délka stonku, barva oplodí a čas vybílání, kvetení a zralosti první nažky. Jedinci, kteří v průběhu sezóny uhynuli, nebo se u nich z jiných příčin nepodařilo některé znaky změřit, byli z analýzy vyřazeni.

Jak molekulární, tak fenotypové znaky byly kódovány podle jejich charakteru jako víceřadové (kategoriální) nebo kvantitativní proměnné a analyzovány ve třech skupinách tak, aby žádný analyzovaný soubor neobsahoval chybějící data z důvodu nepřekrývajících se (či jen částečně se překrývajících) výběrů jedinců: SSR data, fenotypová data pro skupinu A a fenotypová data pro skupinu B. Pro lepší přehlednost pak byl vytvořen souhrnný dataset z výběru jedinců skupiny A s jejich SSR daty, k nimž byla vždy v rámci jedné položky náhodně přiřazena data z jedinců skupiny B. Tento dataset tedy obsahuje všechny studované molekulární a fenotypové znaky pro tři jedince každé položky, přičemž část hodnot je pro dané jedince extrapolovaná. Analýza hlavních koordinát (PCoA) založená na Gowerově koeficientu podobnosti byla provedena v softwaru MVSP 3.22 (Kovach 2010), pro SSR data také v programu GenAlEx 6.5 (Peakall a Smouse 2012). Zařazení jedinců do molekulárně homogenních (či téměř homogenních) skupin bylo provedeno v programu Genotype/Genodive 2.0b23 (Meirmans a van Tienderen 2004).

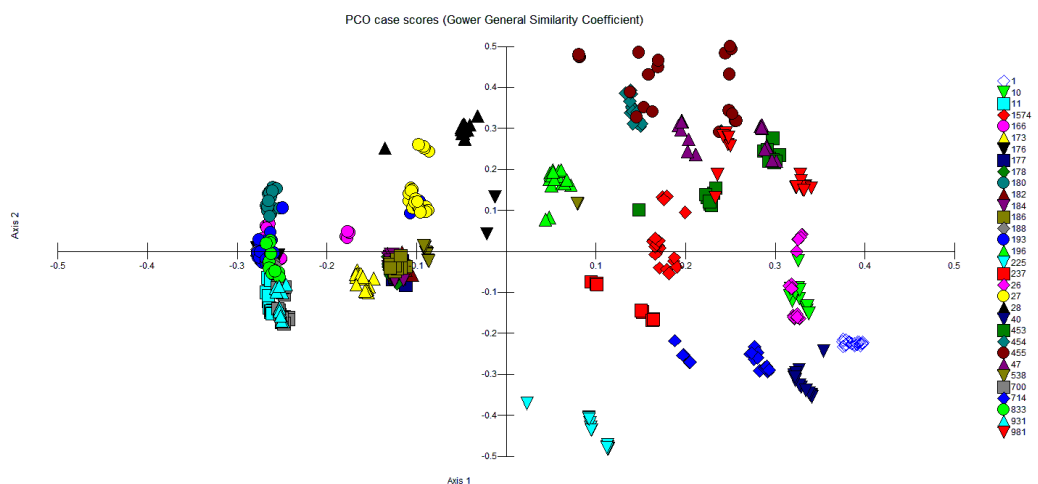
Výsledky a diskuse

Ačkoliv se na základě pasportních data očekávala vysoká míra identity mezi některými položkami, jak fenotypová, tak mikrosatelitová data ukazují na poměrně významnou diferenciaci (Obr. 1–3). Oproti předpokladu, že studovaný soubor se v multidimenzionálním PCoA prostoru rozdělí do pěti izolovaných shluků, analýza fenotypových znaků vyústila prakticky v kontinuum, jen s částečným vymezením položek 09H5700040 Kunovický a 09H5700225 Kamennaja Golovka a relativně izolovanou pozicí těsného shluku položek 09H5700011 Lednický, 09H5700166 Mayqueen, 09H5700176 Majskij, 09H5700180 May King, 09H5700188 Král Máje, 09H5700193, 09H5700700 Král Máje, 09H5700833 Lednický a 09H5700931 Lednický (Obr. 1, 2).

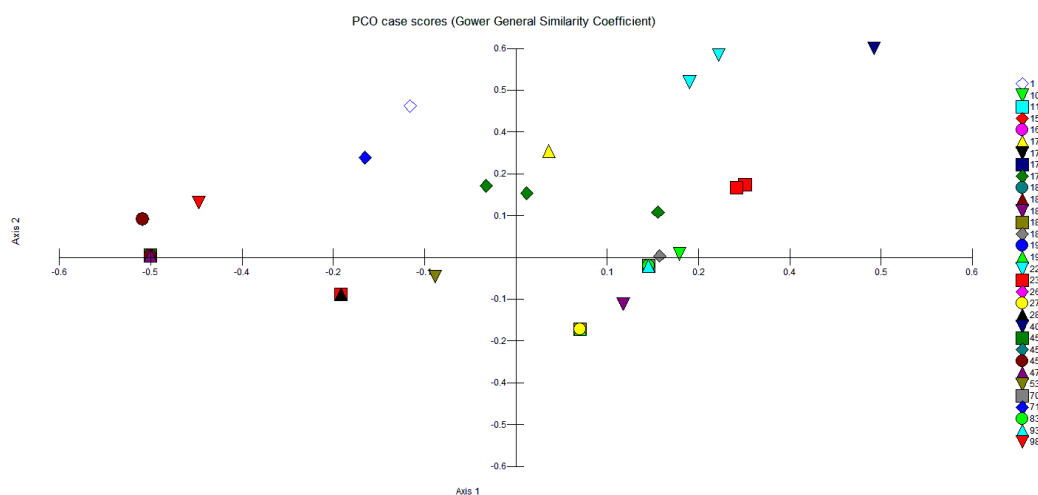
Stejně tak SSR data vykazovala poměrně velkou variabilitu (s ohledem na studovaný soubor). Heterozygotnost však nebyla pozorována u žádného z jedinců s jedinou výjimkou jedince položky 09H5700178 na lokusu SML13. Při stanovení hranice dvou rozdílů (tj. jednoho lokusu) pro přiřazení jedince ke „genotypu“ bylo v souboru vylišeno sedm skupin, které však neodpovídaly původnímu předpokladu (Tab. 1). Jednou z nich byli dva jedinci položky 09H5700237 (Kunovický zimní), kteří se lišili čtyřmi lokusy od třetího jedince a třemi lokusy od většiny jedinců „genotypu 2“.



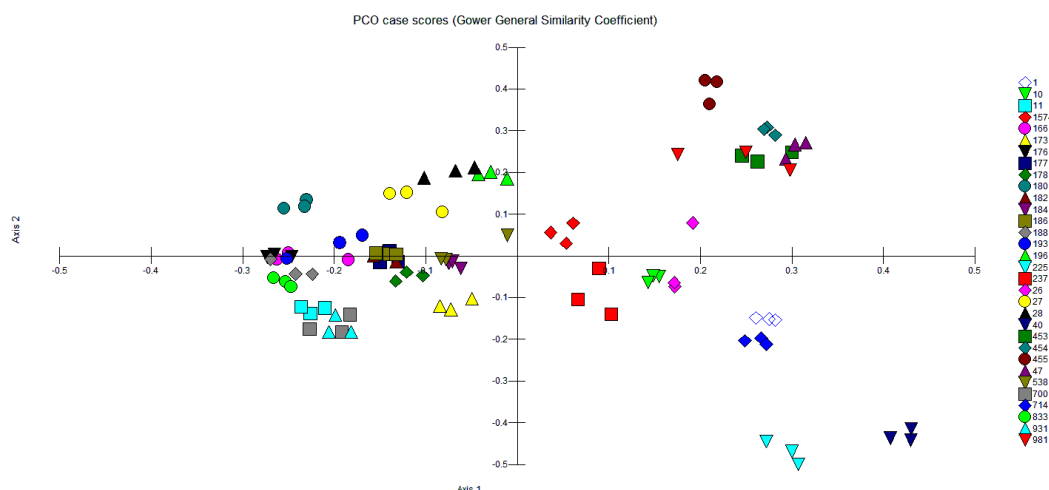
Obr. 1: PCoA diagram pro skupinu A (fenotypová data); první dvě osy zachycují 20 %, respektive 12 % variability souboru. Každý symbol označuje jednu položku, přičemž v legendě je uvedeno pouze poslední čtyřčíslí jejího identifikátoru (09H570XXXX).



Obr. 2: PCoA diagram pro skupinu B (fenotypová data); první dvě osy zachycují 21 %, respektive 15 % variability souboru.



Obr. 3: PCoA diagram pro SSR data; první dvě osy zachycují 23 %, respektive 20 % variability souboru.



Obr. 4: PCoA diagram pro částečně extrapolovaný dataset zahrnující všechny molekulární a fenotypové znaky.

Tab. 1: SSR data pro jednotlivé lokusy (SML45 – LSSA26) a přiřazení jedinců ke „genotypu“ při hranici (threshold; th) nula, dvou a čtyř rozdílů; „genotypy“ vylíšené pro hranici 2 jsou vyznačeny stejnou barvou, sloupec skupina označuje předpokládanou identitu položek na základě pasportních dat. ID položky je pro přehlednost zkráceno z původního tvaru 09H570XXXX.

ID položky	Skupina	ID jedince	Odrůda	Genotyp; th=0	Genotyp; th=2	Genotyp; th=4	SML45	SML43	LSSA30	SML13	LSSA28	LSSB51	SML22	LSSA05	SML20	LSSA26
1	1	2	Achat	1	1	1	240	208	322	279	191	244	341	254	233	360
1	1	4	Achat	1	1	1	240	208	322	279	191	244	341	254	233	360
1	1	8	Achat	1	1	1	240	208	322	279	191	244	341	254	233	360
714	1	8	Achat	9	1	1	237	208	322	279	191	244	341	254	233	360
714	1	0	Achat	9	1	1	237	208	322	279	191	244	341	254	233	360
714	1	4	Achat	9	1	1	237	208	322	279	191	244	341	254	233	360
10	2	1	Kral Maje	2	2	1	237	209	324	274	191	244	341	254	237	360
10	2	3	Kral Maje	3	2	1	237	209	324	277	191	244	341	254	237	360
10	2	4	Kral Maje	3	2	1	237	209	324	277	191	244	341	254	237	360
184	2	1	Kral Maje	3	2	1	237	209	324	277	191	244	341	254	237	360
184	2	9	Kral Maje	3	2	1	237	209	324	277	191	244	341	254	237	360
184	2	0	Kral Maje	3	2	1	237	209	324	277	191	244	341	254	237	360
11	3	5	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
11	3	8	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
11	3	9	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
700	3	1	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
700	3	3	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360

ID položky	Skupina	ID jedince	Odrůda	Genotyp; th=0	Genotyp; th=2	Genotyp; th=4	SML45	SML43	LSSA30	SML13	LSSA28	LSSB51	SML22	LSSA05	SML20	LSSA26
700	3	6	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
		1														
833	3	1	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
833	3	6	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
833	3	8	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
931	3	6	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
		1														
931	3	5	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
931	3	8	Lednický	4	2	1	237	209	322	279	191	244	341	254	237	360
26	2	9	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
26	2	1	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
26	2	7	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
			Kralovna													
27	2	3	Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
			Kralovna													
27	2	9	Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
			Kralovna													
27	2	6	Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
166	2	1	Mayqueen	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
166	2	8	Mayqueen	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
166	2	5	Mayqueen	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
176	2	4	Majskij	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
176	2	1	Majskij	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
176	2	3	Majskij	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
177	2	6	Majskij	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
177	2	8	Majskij	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
177	2	0	Majskij	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
180	2	2	May King	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
180	2	8	May King	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
180	2	4	May King	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
182	2	1	Majus Kiraly	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
182	2	3	Majus Kiraly	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
182	2	7	Majus Kiraly	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
186	2	1	Majskij Jar	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
186	2	4	Majskij Jar	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
186	2	7	Majskij Jar	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
188	2	3	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
188	2	7	Kral Maje	3	2	1	237	209	324	277	191	244	341	264	237	360
		1														
188	2	4	Kral Maje	3	2	1	237	209	324	277	191	244	341	264	237	360
193	2	6	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
193	2	8	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
193	2	4	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
196	2	3	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
196	2	4	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360

ID položky	Skupina	ID jedince	Odrůda	Genotyp; th=0	Genotyp; th=2	Genotyp; th=4	SML45	SML43	LSSA30	SML13	LSSA28	LSSB51	SML22	LSSA05	SML20	LSSA26
196	2	9	Kral Maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
1574	2	2	Kral maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
		1														
1574	2	4	Kral maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
1574	2	7	Kral maje	5	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	237	360
			Melnicky													
28	2	1	Maj	6	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	237	360
			Melnicky													
28	2	7	Maj	6	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	237	360
		1	Melnicky													
28	2	1	Maj	6	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	237	360
		1	Kunovicky													
237	4	3	Zimni	6	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	237	360
		1	Kunovicky	1												
237	4	1	Zimni	6	6	4	240	209	331	277	191	244	327	254	237	360
		1	Kunovicky	1												
237	4	5	Zimni	6	6	4	240	209	331	277	191	244	327	254	237	360
47	5	3	Kamenac	8	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	231	360
		1														
47	5	3	Kamenac	8	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	231	360
		1														
47	5	9	Kamenac	8	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	231	360
			Kamenac													
453	5	6	Plzensky	8	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	231	360
		1	Kamenac													
453	5	3	Plzensky	8	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	231	360
		1	Kamenac													
453	5	4	Plzensky	8	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	231	360
455	5	6	Kamenac	8	2	1	237	212	322	277	191	244	341	254	231	360
		1		1												
454	5	5	Kamenac	7	2	1	237	212	320	277	191	244	341	254	231	360
				1												
454	5	6	Kamenac	7	2	1	237	212	320	277	191	244	341	254	231	360
				1												
454	5	8	Kamenac	7	2	1	237	212	320	277	191	244	341	254	231	360
				1												
455	5	3	Kamenac	7	2	1	237	212	320	277	191	244	341	254	231	360
				1												
455	5	9	Kamenac	7	2	1	237	212	320	277	191	244	341	254	231	360
				1												
538	2	4	May Krop	8	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	233	360
		1		1												
538	2	6	May Krop	8	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	233	360
		1		1												
538	2	1	May Krop	8	2	1	237	209	322	277	191	244	341	254	233	360
40	4	2	Kunovicky	7	3	2	240	209	333	288	191	244	327	262	237	360
40	4	8	Kunovicky	7	3	2	240	209	333	288	191	244	327	262	237	360
		1														
40	4	5	Kunovicky	7	3	2	240	209	333	288	191	244	327	262	237	360
		1	Majusi													
173	2	1	Kiraly	9	4	1	237	208	322	288	191	244	341	270	237	360
			Majusi													
173	2	7	Kiraly	9	4	1	237	208	322	288	191	244	341	270	237	360
		1	Majusi													
173	2	5	Kiraly	9	4	1	237	208	322	288	191	244	341	270	237	360
		1		1												
178	2	4	Kral Maje	0	4	1	237	208	322	288	191	244	341	254	237	360

ID položky	Skupina	ID jedince	Odrůda	Genotyp; th=0	Genotyp; th=2	Genotyp; th=4	SML45	SML43	LSSA30	SML13	LSSA28	LSSB51	SML22	LSSA05	SML20	LSSA26
178	2	2	Kral Maje	1	4	1	237	209	320	288 283 /28	191	244	341	254	237	360
178	2	7	Kral Maje	1	4	1	237	208	320	8	191	244	341	254	237	360
225	2	1	Kamennaja Golovka	1	5	3	237	209	312	281	191	244	327	264	227	360
225	2	3	Kamennaja Golovka	1	5	3	237	209	312	288	191	244	327	264	227	360
225	2	5	Kamennaja Golovka	1	5	3	237	209	312	288	191	244	327	264	227	360
981	2	5	Kamenacek	2	7	1	237	212	322	277	191	244	341	274	233	360
981	2	1	Kamenacek	2	7	1	237	212	322	277	191	244	341	274	233	360
981	2	4	Kamenacek	2	7	1	237	212	322	277	191	244	341	274	233	360

Van Hintum a Knüpfner (1995) popsali různé typy duplicitních položek GZ uchovávaných v kolekcích a mezi kolekcemi genových bank, přičemž poukázali na nízkou pravděpodobnost výskytu zcela identických položek. Navzdory pasportním datům, která indikovala velké množství pravděpodobných duplicit v České kolekci genových zdrojů lociky seté (GRIN Czech Release 1.10.3. 2020), ve studovaném souboru byly jako vysoce pravděpodobně duplicitní vylišeny pouze položky 09H5700011, 09H5700700, 09H5700833 a 09H5700931 odrůdy Lednický; dále položky 09H5700176, 09H5700180 a 09H57000193 (případně také 09H5700188, která však obsahuje dvě mutace u studovaných mikrosatelitů u některých jedinců) odrůdy Král Máje a položka 09H5700166 odrůdy Královna Máje; a položky 09H5700177 nazvaná Majskij, 09H5700182 Majus Kirali a 09H5700186 Majskij Jar. Ačkoli převládající samosprašnost snižuje schopnost genetické rekombinace celková genetická variabilita u autogamních druhů včetně lociky salátové může být významná (Sochor et al. 2019). Tato námi zjištěná skutečnost odpovídá faktu, že variabilita uvnitř položek GZ rostlin se vyskytuje i u tak vysoce autogamních druhů jako je např. ječmen (van Treuren a van Hintum 2001).

Ostatní studované položky vykazovaly určitou, byť možná zanedbatelnou, diferenciaci v SSR a/nebo fenotypových znacích. U těchto položek nelze jednoznačně a objektivně rozhodnout, kam položit hranici mezi (téměř) identickými a velmi podobnými položkami, které se v průběhu času diferencovaly následkem různých populačně genetických procesů (mutace, drift, neúmyslná selekce apod.). Tyto procesy jsou příčinou ve změnách frekvence jednotlivých alel. Pokud lze zabránit úplnému vymizení jednotlivých alel v položce, materiál zůstává běžnou duplikací (van Hintum a Knüpfner 1995), a jako s běžnou duplikací s ním lze i nakládat.

Závěr

Pokud se rozhodneme duplicitní položky v kolekci uchovat, je např. možné je zařadit do procesu regenerace v delších regeneračních cyklech. Vysoce pravděpodobně duplicitní položky salátu tvoří 28 % ze studovaného souboru 32 položek, což se blíží odhadovanému stavu duplicitních položek v kolekci lociky seté na základě pasportních dat. Jestliže bychom chtěli tyto položky eliminovat, přineslo by to jednoznačnou úsporu prostoru na skladování, času i finančních prostředků.

Použitá literatura

- FAO (2010): Chapter 3. The state of *ex situ* conservation. In: The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Rome, FAO: 54–90.
- GRIN Czech Release 1.10.3. (2020): Dostupné na: <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>.
- Hýbl M., Doležalová, I., Kaffková, K., Kopecký, P., Smékalová, K., Stavělková, H. (2019): Výroční zpráva za rok 2018. Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity. Věcná etapa řešení: B.2.13. Zeleniny, kořeninové, aromatické a léčivé rostliny. VÚRV, v.v.i. Praha.
- Kovach W.L. (2010): MVSP – A MultiVariate statistical package for Windows, ver. 3.2., Pentraeth, Wales, Kovach Computing Services.
- Meirmans P. G., van Tienderen P. H. (2004): Genotype and Genodive: two programs for the analysis of genetic diversity of asexual organisms. Molecular Ecology Notes 4: 792–794.
- Peakall R., Smouse P.E. (2012): GenAlEx 6.5: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. Bioinformatics 28: 2537–2539.
- Sochor, M., Jemelková, M., Doležalová, I. (2019): Phenotyping and SSR markers as a tool for identification of duplicates in lettuce germplasm. Czech Journal of Genetics and Plant Breeding 55: 110–119.
- Spooner D., van Treuren R., de Vicente M.C. (2005): Molecular markers for genebank management. IPGRI Technical No. 10. Rome: International Plant Genetic Resources Institute.
- van Treuren R., de Groot E.C., Boukema I. W., van de Wiel C.C.M., van Hintum T.J.L. (2010): Marker-assisted reduction of redundancy in a genebank collection of cultivated lettuce. Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization 8: 95–105.
- van Treuren R., van Hintum T.J.L. (2001): Identification of intra-accession genetic diversity in selfing crops using AFLP markers: implications for collection management. Genetic Resources and Crop Evolution 48: 287–295.
- van Hintum T.J.L., Knüpffer. H. (1995): Duplication within and between germplasm collections: I. Identifying duplication on the basis of passport data. Genetic Resources and Crop Evolution 42: 127–133.

Dedikace

Výzkum vznikl za podpory institucionálního projektu RO0415 (MZE) a Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity (MZE).

Kontaktní adresa:

RNDr. Ivana Doležalová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Šlechtitelů 29, 783 71 Olomouc
e-mail: dolezalova@genobanka.cz

MOLEKULÁRNÍ CHARAKTERIZACE A HODNOCENÍ GENETICKÉ DIVERZITY GENETICKÝCH ZDROJŮ MÁKU

Molecular characterization and evaluation of genetic diversity of poppy genetic sources

Stará M., Jozová E., Čurn V.

Zemědělská fakulta JČU v Českých Budějovicích

Abstrakt

Podobně jako u dalších hospodářských plodin i u máku probíhá intenzivní šlechtění. Klíčovým předpokladem pro získání nových odrůd je dostatečný rozsah genetické variability šlechtitelské populace a dostupná rozsáhlá genetická rozmanitost vyskytující se v souborech genetických zdrojů. Metody molekulární biologie umožňují jednoznačnou identifikaci genetických zdrojů. K hodnocení genetické diverzity pomocí molekulárních markerů bylo zařazeno 99 odrůd máku setého (*P. somniferum*) pocházejících z českého a evropského šlechtění, moderní i krajové odrůdy a 3 genotypy máku vlčího (*P. rhoeas*). Pro popis genetických zdrojů máku byla použita analýza mikrosatelitů. Tyto markery jsou uváděny jako vhodné pro popis variability na úrovni odrůd. Celkem bylo zvoleno 10 mikrosatelitových primerů, které amplifikovaly 70 alel. Analyzované markery vykazovaly vysoký stupeň polymorfismu, jednoznačně bylo rozlišeno 97 odrůd. Pozitivním faktem je, že z hlediska českého šlechtění dochází k rozšiřování míry genetické diverzity u nových odrůd.

Klíčová slova: mák, molekulární markery, SSR, šlechtění

Abstract

As with other crops, intensive breeding is carried out for poppies. A key prerequisite for obtaining new varieties is a sufficient range of genetic variability of the breeding population and the available extensive genetic diversity occurring in sets of genetic resources. Molecular markers allow unambiguous identification of genetic resources. To evaluate genetic diversity using molecular markers, 99 varieties of poppy (*P. somniferum*) originating from Czech and European breeding, modern and regional varieties and 3 genotypes of *Papver. rhoeas* were included. Microsatellite analysis was used to describe poppy genetic resources. These markers are reported to be suitable for describing variability of varieties. A total of 10 microsatellite primers were selected that amplified 70 alleles. The analyzed markers showed a high degree of polymorphism, 97 varieties were clearly distinguished. A positive fact is that from the point of view of Czech breeding, the degree of genetic diversity in new varieties is expanding.

Key words: poppy, molecular markers, SSR, breeding

Úvod

Mák setý (*Papaver somniferum* L.) je stará kulturní plodina, jejíž původ není zcela znám (Novák, 1992). Patří do čeledi makovitých, která zahrnuje přibližně 120 druhů. Kromě máku setého se lze v České republice setkat i s výskytem dalších druhů máku, jako je např. mák pochybný (*Papaver dubium*), mák Lecoquův (*Papaver lecoqui*), mák časný (*Papaver cosine*), mák bělokvětý (*Papaver maculosum*), mák polní (*Papaver argemone*), vzácně mák zvrhlý (*Papaver hybridum*) a zejména nejznámější druh, mák vlčí (*Papaver rhoeas*) (Baranyk a kol., 2010).

Mák je druhá nejpěstovanější olejní plodina pěstovaná u nás na ploše přesahující 30 tisíc hektarů. V roce 2019 byla osevní plocha máku 36 tis. ha, s hektarovým výnosem 0,71 t/ha, v roce 2020 pak byla pěstební plocha 40 tis. hektarů, tedy nejvyšší za posledních 10 let, s celkovým

výnosem 29 tis. tun (www.czso.cz). Česká republika je nejvýznamnějším světovým legálním pěstitelem máku s nízkým obsahem alkaloidů. Tyto odrůdy poskytují olejnatá semena s dobrými dietetickými vlastnostmi využívanými převážně v potravinářství, ale například i v kosmetickém průmyslu. Naopak ve světě se pěstují odrůdy s vysokým podílem alkaloidů v makovině využitelných převážně ve farmaceutickém průmyslu. Více než 90% tuzemské produkce je exportováno do zahraničí. Především do slovanských zemí (Rusko, Polsko, Bělorusko, Ukrajina) a do zemí, které jsou ovlivněné slovanskou kuchyní (Zukalová a kol., 2009).

Pro své všestranné využití je mák pěstován v mnoha zemích světa. Potravinářský mák se zásadně liší od „opiových“ máků tím, že jeho mléčnice téměř neprodukují latex a obsah alkaloidů je (velmi) nízký. V České republice se pěstuje převážně mák s moudrou barvou semen, avšak v posledních letech dochází ke zvýšení osevních ploch máku s bílou barvou semen. Předpokládá se, že tato tendence bude do budoucna pokračovat (Liška, 2019, Vašák, 2010).

V důsledku intenzivního šlechtění, kdy se šlechtitelé zaměřují pouze na některé vlastnosti, dochází k zužování genetické variability u zemědělských plodin. Dříve používané morfologické znaky, které byly jediným nástrojem pro hodnocení, již nejsou dostačující pro určení genetické variability. Jako vhodný nástroj k upřesnění genetické variability pak mohou být molekulární markery, které jsou schopné detekovat DNA polymorfismus mezi jednotlivými odrůdami a pomoci lépe porozumět genetické struktuře rodičovských komponent. Spojení morfologických charakteristik a molekulárních markerů se tak stává účinným nástrojem pro výběr vhodných genotypů, selekci žádaných rostlin a udržení dostatečné genetické rozmanitosti.

Materiál a metody

Celkově bylo do hodnocení genetické diverzity zařazeno 96 odrůd máku setého a tři genotypy máku vlčího. Kompletní analyzovaný materiál zahrnuje jak staré odrůdy, tak i odrůdy a novošlechtění pocházejících zejména ze střední Evropy. Z celkového počtu 96 odrůd jsou 4 odrůdy ozimé a ostatní jarní. Dále jsou mezi analyzovanými vzorky zahrnuty odrůdy s různou barvou semene počínaje od odrůd s bílými semeny, přes šedé, okrové až po různé odstíny modrých máků.

Získaný materiál byl pěstován ve výsevním substrátu po 40-ti semenech od každé odrůdy. Přibližně po 14 dnech byl materiál odebrán do papírových sáčků a šetrným způsobem vysušen v silicagelu. Pro extrakci DNA byl použit vysušený a zhomogenizovaný materiál. Extrakce probíhala modifikovanou CTAB PVP metodou (Doyle, 1991).

Pro hodnocení genetické diverzity odrůd máku setého byly vybrány mikrosatelitové markery. Celkem bylo použito 10 mikrosatelitových primerů. PCR reakce probíhala v objemu 10 µl, 2x PPP Master Mix (150mM Tris-HCl, pH 8,8 (při 25 °C), 40mM (NH₄)₂SO₄, 0,02% Tween, 20,5mM MgCl₂, 400µM dATP, 400µM dCTP, 400µM dGTP, 400µM dTTP, 100 U/ml Taq DNA polymerázy, barvivo, stabilizátory a aditiva) nebo 2xGoTaq® G2 Green Master Mix (GoTaq® G2 DNA Polymerase je dodána v 2X Green GoTaq® G2 Reaction Buffer (pH 8.5), 400µM dATP, 400µM dGTP, 400µM dCTP, 400µM dTTP a 3mM MgCl₂, 2x BSA (NEB), 10 pmol primeru forward a reverse, 100 ng templátové DNA. Výsledky mikrosatelitové analýzy byly vyhodnoceny pomocí fragmentační analýzy na automatickém sekvenátoru ABI 3500 (Applied Biosystems).

Výsledky a diskuze

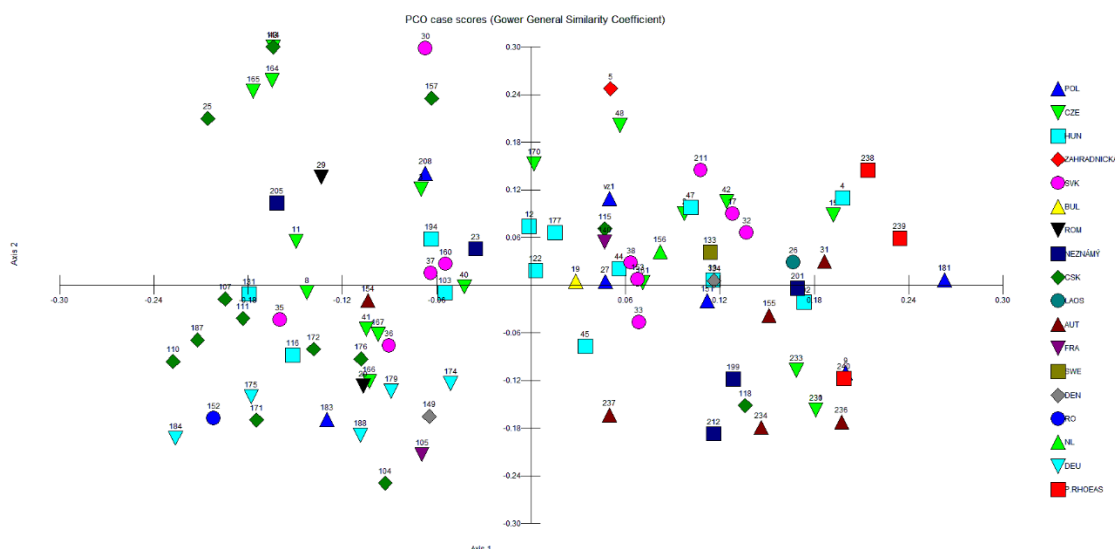
Pomocí výsledků fragmentační analýzy bylo z celkového počtu deseti mikrosatelitových primerů amplifikováno 70 alel. Všechny primery byly dostatečně polymorfní a dokázaly odlišit

jednotlivé odrůdy máku. Počet alel se pohyboval v rozmezí od 3 do 14 alel na primer. Počty alel a velikostní rozsah pro jednotlivé primery jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 2: Výsledky amplifikace pro jednotlivé primery

primer	počet alel	velikost fragmentu
psom4 Ondreičková (2017)	4	155-167
psom17 Ondreičková (2017)	5	101-122
OPEST026 Vašek (2019)	8	120-154
OPEST081c Vašek (2019)	6	166-172
OPEST053 Vašek (2019)	10	193-209
OPEST106 Vašek (2019)	6	184-193
OPGSSR001 Vašek (2019)	14	216-241
OPEST061 Vašek (2019)	8	225-237
psSSR57 Ondreičková (2017)	3	202-229
psSSR69 Ondreičková (2017)	6	155-166
celkem	70	

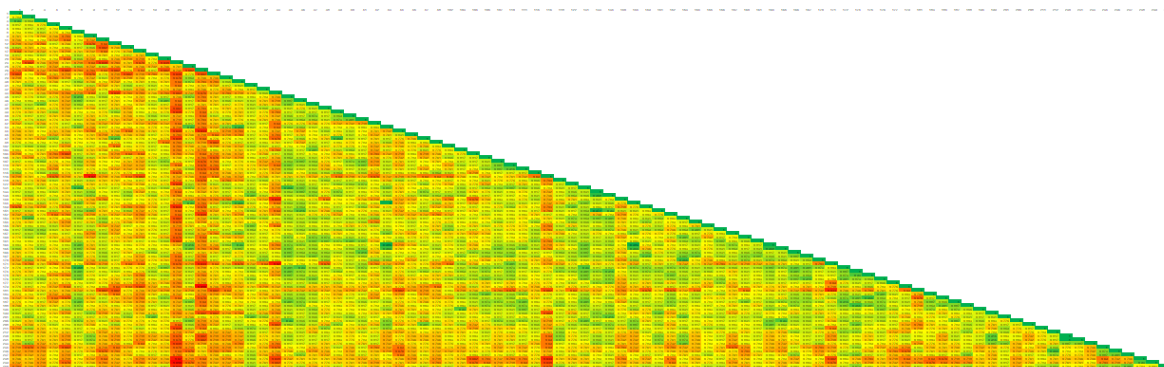
Z výsledků fragmentační analýzy byla sestavena binární matice přítomnosti (1) a nepřítomnosti (0) fragmentů. Tato matice byla převedena do programu MVSP a data byla vyhodnocena pomocí PCO analýzy. Všechny odrůdy byly rozděleny dle původu vyšlechtění, jedna odrůda byla zařazena samostatně jako odrůda zahradnická, u pěti odrůd nebyl znám původ a tři odrůdy jsou vlčí máky. Celkem tedy došlo k rozdělení do 18 kategorií.



Obr. 13: Výstup PCO analýzy - rozdělení dle původu

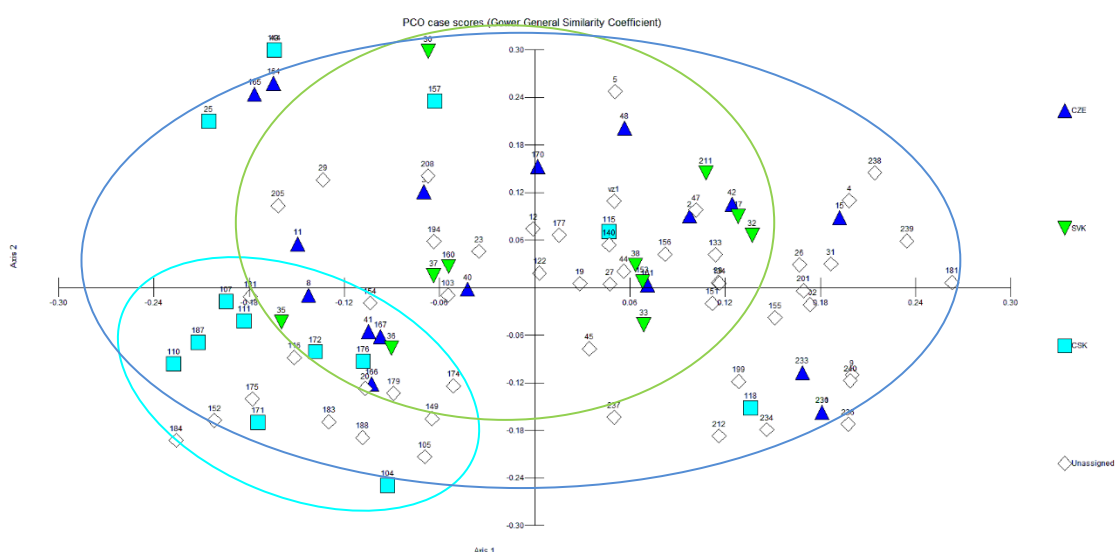
Na dendrogramu je patrné, že došlo k rovnoměrnému rozložení všech analyzovaných vzorků, včetně vlčího máku. Také došlo k úplnému rozlišení odrůd, až na jednu výjimku a to mezi

odrůdami Dubník (stará Československá odrůda) a Orfeus (Česká odrůda z novošlechtění), u těchto dvou odrůd došlo ke 100% shodě ve všech 70 alelách.



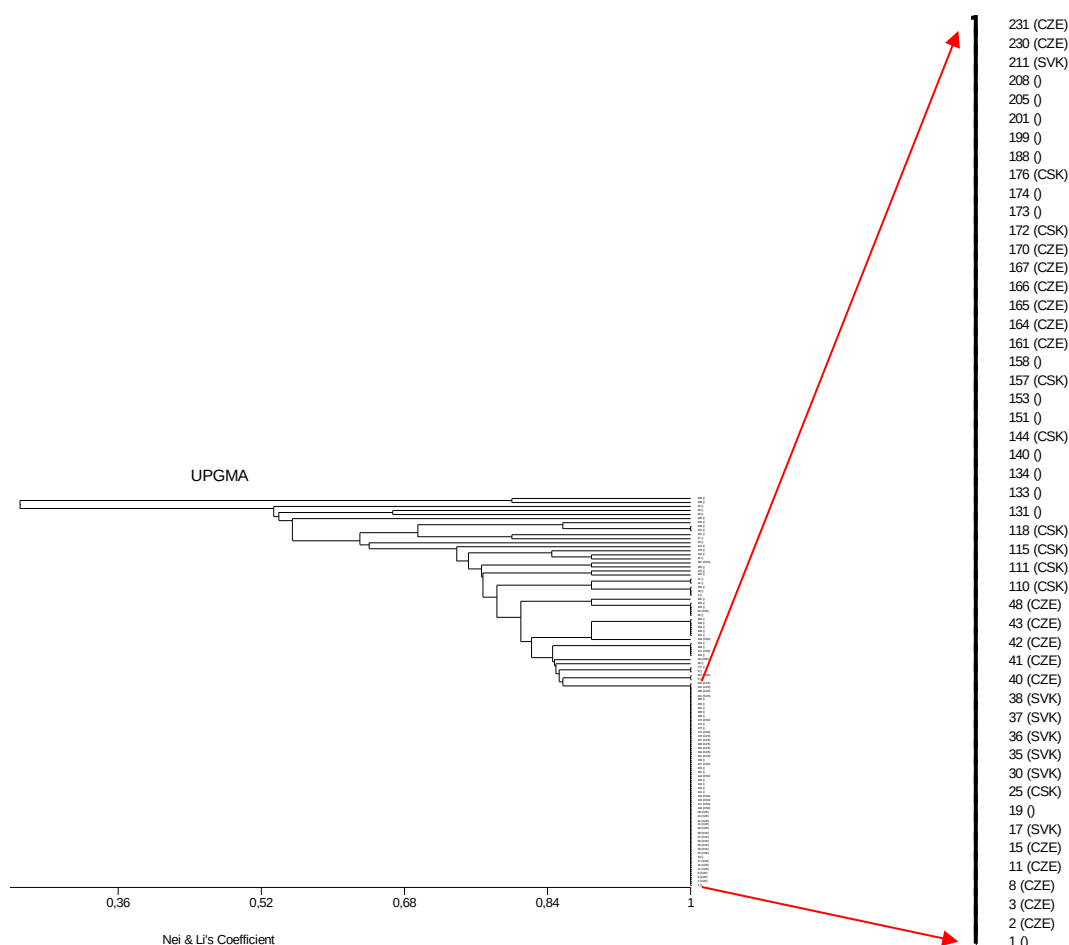
Obr. 14: Maticе podobnosti

Na základě výpočtů z matice podobnosti bylo dosaženo maximálně 100% shody mezi již zmíněnými položkami Dubník a Orfeus. Minimální shoda pak byla 60%. Oproti ostatním hodnoceným položkám jsou pak nejodlišnější položky č. 23 (*Papaver somniferum* var *albiflora* – původ neznámý), č. 26 (*Papaver somniferum* z Laosu - Laos), č. 33 (Solivarsky - SVK), č. 116 (Kek Duna - HUN) a č. 171 (Freundlův Libverdský - CSK). Z těchto pěti vzorků mají tři vzorky (č. 23, 26 a 33) bílou barvu semen.



Obr. 3: PCO analýzy se zaměřením na československé odrůdy

Na obrázku č. 3 je výpočet PCO se zaměřením pouze na československé odrůdy jak původní, tak i nově vyšlechtěné. Zvýrazněny byly položky původem z Československa (CSK – světle modrá), České republiky (CZE – tmavě modrá) a Slovenské republiky (SVK – zelená). Původní, tedy československé odrůdy, se až na pár výjimek shlukují blíže k sobě tzn., že mají malý genetický základ. Oproti tomu odrůdy z novošlechtění, jak českého i slovenského jsou mnohem rozdílnější a rovnoměrně rozložené po celém grafu. Tento výsledek je pro české šlechtění velmi pozitivní, jelikož dochází k rozšiřování genetické diverzity.



Obr. 4: Výsledky UPGMA analýzy pro vybrané alely

Jelikož v poslední době dochází k dovozu morfinového máku ze zahraničí, je důležité zaměřit se na genotyp českého máku, který je bezmorfinový a vhodný k použití v potravinářství. Proto byly z binární matice vybrány pouze ty alely, které byly stejné u všech českých odrůd. Z celkového počtu 70 alel bylo 25 u všech českých odrůd shodných. Z binární matice těchto 25 alel byl pomocí výpočtu UPGMA analýzy sestaven dendrogram (Obrázek 4). Ve vyznačeném detailu dendrogramu byly zařazeny nejen všechny odrůdy z českého šlechtění, ale také většina slovenských a původních československých odrůd a některé odrůdy původem ze střední a severní Evropy. Pokud bychom chtěli ještě zpřesnit výsledky tak, aby bylo možné úplně oddělit pouze odrůdy českého novošlechtění, bylo by potřeba použít ještě více mikrosatelitových primerů, a nebo jiné markery typu AFLP, ISSR nebo např. SNP.

Závěr

Pro hodnocení genetické diverzity bylo zahrnuto celkem 99 odrůd máku jak původních odrůd, tak i novošlechtění pocházejících z různých zemí světa, nejvíce však ze střední Evropy. Celkově bylo použito 10 mikrosatelitových primerů, pomocí nichž bylo amplifikováno 70 alel. Na základě přítomnosti ampliconů byla sestavena binární matice, ze které byla vypočtena matice genetické podobnosti. Tato matice bude poskytnuta šlechtitelům a pomocí výsledků z genotypové a i fenotypové analýzy budou vybrány vhodní jedinci pro další šlechtění. Až na jednu výjimku, kdy došlo ke 100 % shodě, byly všechny ostatní odrůdy navzájem rozlišeny.

Tzn., že použitý počet primerů pro účely rozlišení odrůd je dostatečný a primery vykazují vysoký stupeň polymorfismu. Pokud bychom se chtěli zaměřit pouze na české odrůdy, bylo by třeba použít ještě další markery, které by výsledky upřesnily. Velmi pozitivní je, že z hlediska českého šlechtění dochází k rozšiřování genetické diverzity, tudíž nedochází ke ztrátě geneticky zajímavých znaků.

Dedikace

Tato studie byla vytvořena díky podpoře projektu NAZV QK1810391 a GAJU 027/2019/Z.

Poděkování patří Ing. Andree Rychlé z OSEVA PRO s.r.o Opava, za poskytnutý materiál.

Použitá literatura

- Baranyk, P. a kol. Olejniny. 1. vyd. Praha: Profi Press, 2010. 206 s. ISBN 978-80-86726-38-0.
- Doyle, J., 1991. DNA Protocols for Plants. In: Hewitt G.M., Johnston A.W.B., Young J.P.W. (eds) Molecular Techniques in Taxonomy. NATO ASI Series (Series H:Cell Biology), vol 57. Springer, Berlin, Heidelberg.
- <https://www.czso.cz/csu/czso/cri/odhady-sklizni-cervenec-2019>
- Liška, M. Situační a výhledová zpráva olejniny. 2019. ISBN 978-80-7434-505-0.
- Novák J., 1992: Mák setý, Systematika, původ a dějiny pěstování, In: Fábry, A. (ed.), Olejniny. MZe ČR, Praha, s. 265-267.
- Ondreičková, K., Mičianová, V., Muchová, D., Klčová, L., Hudcovicová, M., Havrlentová, M., Mihálik, D., Kraic, J, 2017. Forensic application of EST-derived STR markers in opium poppy. Biologia. 72(6): 587-594
- Vašák, J., T. Kadlec A J. Vašák, Mák. Praha, 2010. Semafor. ISBN 978-80-904011-8-1.
- Vašek, J., Číhalová, D., Melounová, M., Svoboda, P., Vejl, P., Štikarová, R., Vostrý, L., Kuchtová, P., Ovesná, J., 2019. New EST-SSR Markers for Individual Genotyping of Opium Poppy Cultivars (*Papaver somniferum* L.). Plants, 2020, 9(1):10
- Zukalová H. a kol. (2009): Perspektiva odbytu semen máku a jeho rizika, Úroda 2/2009, str. 24 – 26.

Kontaktní adresa:

Ing. Eva Jozová, Ph.D.
Studentská 1668, 370 05,
České Budějovice
Email: vondre01@zf.jcu.cz

HYBRIDNÍ SESTAVENÍ REFERENČNÍHO GENOMU JETELE LUČNÍHO (*TRIFOLIUM PRATENSE* L.)

Hybrid assembly of red clover (*Trifolium pratense* L.) reference genome

Trněný O.¹, Čegan R.², Šimková H.³, Šafář J.³, Vlk D.⁴

¹Zemědělský výzkum spol. s r. o., Troubsko

²Biofyzikální ústav AV ČR, v. v. i., Brno

³Ústav experimentální botaniky AV ČR, v. v. i., Olomouc

⁴Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Brno

Abstrakt

Základem pro aplikaci molekulárního šlechtění je znalost kvalitní referenční sekvence plodiny. Nové metody sekvenace 3. generace zvládají číst i desítky tisíc párů bází dlouhé úseky DNA a tím umožní překonat nedostatky v souvislosti stávajících referenčních sekvencích, protože znalost dlouhých úseků sekvencí pomáhá překonat oblasti genomu s vysokým obsahem opakujících se motivů sekvence. Zde prezentovaná nová verze sestavení diploidní odrůdy Start je výsledkem hybridního sestavení krátkých i dlouhých sekvencí, které dalo vzniku referenční sekvenci s vysokou průměrnou délkou kontigu i vysokou hodnotou N50. Nová verze sestavení referenční sekvence umožní přesnější mapování polymorfismů sloužících k vytváření molekulárních markerů pro šlechtění jetele lučního.

Klíčová slova: referenční sekvence, dlouhé čtení, hybridní sestavení, genom jetele lučního

Abstract

The basis for the application of molecular breeding is knowledge of the high-quality reference sequence of the crop. The new sequencing methods can also read tens of thousands of base pairs through long part of DNA, and thus make it possible to overcome the shortcomings of the existing reference sequences, since knowledge of long sequence sequences helps to cross regions of the genome with a high content of repeating sequence motifs. The new version of the diploid Start variety assembly presented here is the result of a hybrid assembly of both short and long reads, which gave rise to a reference sequence with both a high average contiguous length and a high N50 value. The new version of the reference sequence assembly will allow more accurate mapping of polymorphisms used to create molecular markers for the breeding of red clover.

Key words: reference sequence, long-read sequencing, hybrid assembly, red clover genome

Úvod

Jetel luční (*Trifolium pratense* L.) je dusík fixující plodina, která poskytuje kvalitní píci bohatou na dusíkaté látky a současně plní i mimoprodukční úlohu, jakožto plodina zlepšující půdní vlastnosti. Ekologicky významná vlastnost jetele lučního je jeho nektarodárná funkce. Vzhledem k délce korunní trubky květů jetele lučního je jetelová pastva důležitá zejména pro skupinu opylovačů s dlouhým sosákem, jako je chráněný druh čmelák zemní (*Bombus terrestris* L.). Velikost genomu jetele lučního je 418 Mbp haploidního genomu (Vižintin et al. 2006). Základní chromozomové číslo $x = 7$. Kromě diploidních odrůd se využívají i odrůdy autotetraploidní, které vykazují mohutnější vzrůst i lepší výnos a vytrvalost rostlin na stanovišti. Cizosprašnost jetele lučního způsobuje vysoce heterozygotní charakter genomu. V současnosti jsou v databázi Genome NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome>) k dispozici pro Jetel luční referenční genomy pro diploidní odrůdu Milvus B (De Vega et al. 2020) a tetraploidní odrůdu Tatra (Ištváněk et al. 2014). Tyto referenční sekvence jsou vytvořené na základě

seskládání krátkých sekvencí získaných z NGS (Next Generation Sequencing) sekvenace. Nejpropracovanější je aktuální sestavení referenční sekvenace odrůdy Milvus B (assembly GCA_900292005.1 *Trifolium pratense* genome v3), která je k dispozici ve formě skefoldů o celkové délce 352 Mbp sekvenace, z nichž je 75 % délky mapováno do sedmi chromozomů. Obsah nukleotidových párů GC je 33,7 %, což řadí genom jetele lučního spíše k druhům s nízkým obsahem GC (Singh et al. 2016). Kvalita stávajících sestavení referenčních sekvencí odpovídá využití technologii NGS sekvenace, která je založena na sekvenaci fragmentů DNA o délce čtení v jednotkách stovek bází. Přiřazení do skefoldů či chromozomů je výsledkem genetického mapování. Nové metody 3. generace sekvenování umožňují čtení dlouhých fragmentů DNA v řádech desítek až stovek tisíc párů bází. Hlavní nevýhoda sekvenace s dlouhým čtením je nižší přesnost čtení, specifické nároky na izolaci DNA o vysoké molekulární hmotnosti a vyšší cena sekvenace za bázi. Spojením velkého množství krátkých sekvencí s nízkou chybovostí společně s dlouhými sekvencemi z 3. generace sekvenování lze vytvořit tzv. hybridní seskládání genomu. Hybridní seskládání vykazuje lepší parametry referenčního genomu s vyšší kontinuitou kontigů.

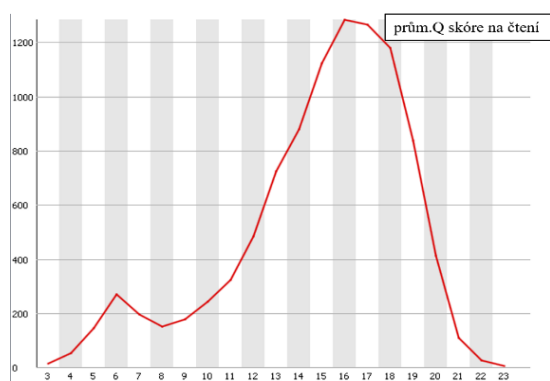
Materiál a metody

K sekvenaci byla použita rostlina diploidní odrůdy Start. Pro potřeby sekvenace dlouhých čtení je potřeba poskytnout sekvenátoru fragmenty DNA s vysokou délkou a s dostatečnou čistotou izolované DNA. Neboť se jedná se o rostlinný druh, z kterého se DNA izoluje problematicky, byla k získání dlouhých sekvencí jetele lučního využita izolace DNA z izolovaných jader mladých listů rostliny sortovaných pomocí průtokového cytometru. Vysoko molekulární HMW DNA byla přečištěna pomocí purifikačních disků MagNanobind Disks (Circulomics).

Knihovna pro sekvenaci byla vytvořena s použitím Rapid sequencing kitu dle protokolu udávaného výrobcem. Sekvenční běh probíhal po dobu 72 hodin na sekvenátoru MinION (Oxford Nanopore Technologies) s využitím flowcely R9.4.1 s 1699 přístupnými sekvenačními póry při zahájení sekvenování. K mapování dlouhých čtení na původní sestavení referenční sekvenace z krátkých čtení byl využit mapovací software minimap2 (Li, 2018). Původní sestavení referenční sekvenace bylo vytvořeno z krátkých čteních rostlin odrůdy Start dle postupu uvedeného v Ištváněk et al. (2014). Pro vytvoření hybridního sestavení byl použit assembler Lrscaf (Qin et al. 2019). Charakteristika původního i nově vzniklého hybridního sestavení byla získána pomocí programu Seqkits stats (Shen et al. 2016).

Výsledky a diskuze

Ze sekvenačního běhu HMW DNA jetele lučního na sekvenátoru MinION bylo získáno 4 349 781 raw sekvencí o celkové délce 9,696 Gbp. Průměrná délka sekvenace činila 2,229 kbp. Maximální délka sekvenace činila 559 kbp. Pro hybridní sestavení byly využity jen čtení s délkou vyšší než 500 bp a s průměrnou kvalitou sekvenací Q skóre > 10 (Graf 1).



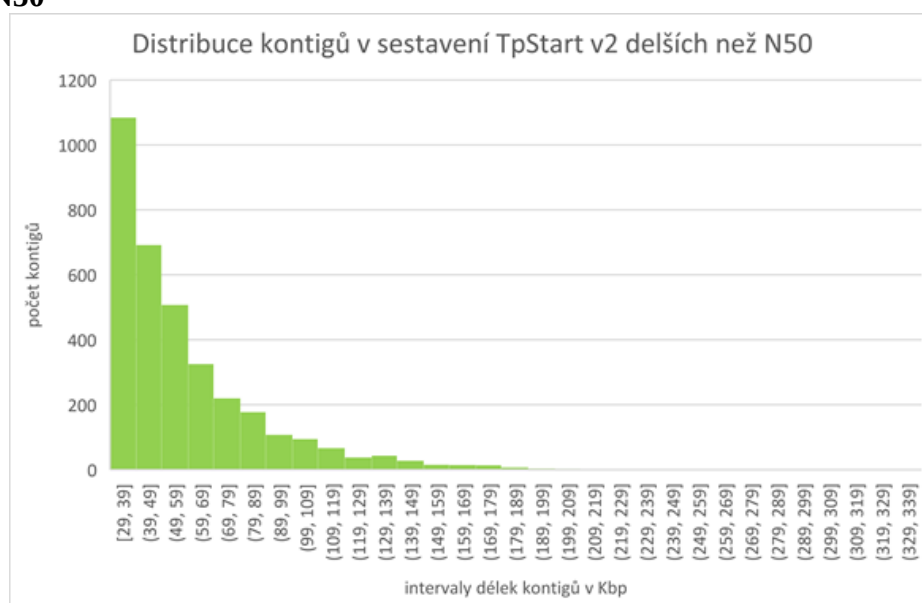
Graf 1: Distribuce průměrného Q skóre sekvencí pro raw výsledky sekvenace HMW DNA jetele lučního sekvenátorem

Nová verze referenční sekvenace jetele lučního pro diploidní odrůdu Start s označením TpStart V2 byla vytvořena z kombinace dat stávající referenční sekvenace genomu sestaveného z krátkých čtení NGS sekvenace a z nově získaných dlouhých čtení sekvenace HMW DNA. Popisná charakteristika nové referenční sekvenace TpStart v2 je uvedena v Tabulce 1. V porovnání s původním sestavením TpStart v1 vykazuje nová verze referenční sekvenace vyšší úroveň souvislosti vyjádřenou hodnotou N50, která udává délku nejkratšího kontigu, který společně se všemi delšími kontigy v sestavení dosahuje v součtu 50 % celkové délky sestavení. Nová referenční sekvenace TpStart v2 je k dispozici na vyžádání u autorů studie.

Tab. 1: Srovnání popisných parametrů kontigů referenčních sekvenací jetele lučního

Sestavení	Tp1.0 <i>Tatra</i> <i>GCA_000583005.2</i>	T.pratense v3 <i>Milvus B</i> <i>GCA_900292005.1</i>	TpStart v1 <i>sestavení</i> <i>z krátkých čtení</i>	TpStart v2 <i>hybridní</i> <i>sestavení</i>
Počet kontigů	267372	135014	288451	197226
Celková délka	304972039	309013328	267234915	402608754
Průměrná délka kontigu	1140	2289	926	2041
Maximální délka kontigu	37462	32759	32069	338432
N50	2432	4846	1646	28762
Minimální délka kontigu	200	785	200	200

Graf 2: Přehled distribuce počtu kontigů v novém sestavení TpStart v2 delších než hodnota N50



Dosavadní referenční sekvenace jetele lučního jsou poskládány na základě sestavení krátkých čtení z NGS sekvenací. Tyto referenční sekvenace se vyznačují nízkou návazností krátkých kontigů. Referenční sekvenace Tp1.0 (Ištváněk et al. 2014) je jedinou referenční sekvencí vystavenou na sekvenačních datech tetraploidních jedinců jetele lučního, avšak toto sestavení vykazuje nízkou hodnotu průměrné délky kontigů i nízkou hodnotu N50 (Tabulka 1). Sestavení *Trifolium pratense* v3 (DeVega et al. 2015) diploidní odrůdy *Milvus B* má již delší průměrnou délku kontigů i vyšší hodnotu N50, navíc jsou jeho kontigy spojeny do chromozomů a nepřirazených skefoldů skrze genetické mapování, avšak intervaly mezi jednotlivými kontigy

jsou často neznámé sekvence a jejich vzdálenost je pouze odhadem na základě míry genetické vzdálenosti. V porovnání se stávajícími referenčními sekvencemi jetele lučního se nová verze TpStart v2 skládá z velké části z dlouhých sekvencí a s absencí neznámých mezer.

Závěr

Pomocí sekvenace dlouhých čtení a hybridního sestavení byla získána nová verze referenční sekvence genomu jetele lučního (*T. pratense*). Nová verze sestavení dosahuje lepší kontinuity než verze předchozí, vyznačuje se dlouhými kontigy a je určena pro praktické využití ve šlechtění. Nová referenční sekvence je vhodná zejména k mapování variant při celogenomových genotypizacích jetele lučního, k určení vzdáleností mezi polymorfismy, ale také k navrhování PCR markerů pro markerově asistovanou selekci ve šlechtitelských programech jetele lučního.

Použitá literatura

- De Vega JJ., Ayling S., Hegarty M., Kudrna D., Goicoechea JL., Ergon A. 2015. Red Clover (*Trifolium Pratense* L.) Draft Genome Provides a Platform for Trait Improvement. *Scientific Reports* 5: 1–10.
- Ištvánek J., Jaroš M., Krenek A., Řepková J. 2014. Genome Assembly and Annotation for Red Clover (*Trifolium Pratense*; Fabaceae). *American Journal of Botany* 101(2): 327–37.
- Li H. 2018. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics* 34(18):3094–100.
- Qin M., Wu S., Li A., Zhao F., Feng H., Ding L., Ruan J. 2019. LRScaf: improving draft genomes using long noisy reads. *BMC Genomics* 20(955).
- Shen W., Le S., Li Y., Hu F. 2016. SeqKit: a cross-platform and ultrafast toolkit for FASTA/Q file manipulation. *PLoS ONE* 11(10): e0163962.
- Singh R., Ming R., Yu Q. 2016. Comparative Analysis of GC Content Variations in Plant Genomes. *Tropical Plant Biology* 9(3), 136–149.
- Vižintin L., Javornik B., Bohanec B. 2006. Genetic characterization of selected *Trifolium* species as revealed by nuclear DNA content and ITS rDNA region analysis. *Plant Science* 170(4): 859–866.

Dedikace

Príspevek byl zpracován v rámci řešení projektu TN01000062, financovaného Technologickou agenturou České republiky, a částečně v rámci řešení projektu DKRVO, číslo MZE-RO1720, financovaného Ministerstvem zemědělství.

Kontaktní adresa:

Ing. Oldřich Trněný
Zemědělský výzkum spol s r. o.
Zahradní 1, 66441 Troubsko
Email: trneny@vupt.cz

HODNOCENÍ ŠLECHTITELSKÉHO MATERIÁLU BRAMBOR ZA POUŽITÍ FYZIOLOGICKÝCH CHARAKTERISTIK ZÍSKANÝCH ZE SPEKTRÁLNÍ ANALÝZY DAT Z BEZPILOTNÍHO SNÍMÁNÍ POROSTU

Evaluation of potato breeding material using physiological characteristics obtained from spectral analysis of data from unmanned vegetation scanning

Zámečník J.¹, Domkářová J.², Lukáš J.¹, Faltus M.¹, Švecová R.², Ptáček J.²

¹Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

²Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

Abstrakt

Pomocí dálkového snímání porostu novošlechtění bramboru bylo možné vybrat jednotlivé rostliny, které byly na základě analýzy dvou spektrálních indexů (PRI, Photochemical Reflectance Index a DZNI, Dry Zea N Index) detekovány jako vynikající, odrážející excelentní fyziologický stav a patřily do skupiny tři sigma vzhledem k rozložení naměřených dat. Bylo vybráno 0,27 % procent nejlepších jedinců u těchto dvou indexů. To činilo z 1740 jedinců 5 genotypů. Tento výběr nadějných novošlechtění byl zohledněn při sklizni a tyto genotypy budou přednostně sledovány v příští vegetační sezóně. Na tomto modelovém příkladu bylo ukázáno na velký potenciál dálkového sledování porostu bramboru a využití multispektrální analýzy k hodnocení reakce rostlin bramboru na nepříznivé podmínky nedostatku vody.

Klíčová slova: suchovzdornost, dálkový průzkum, hyperspektrální analýza, novošlechtění

Abstract

Based on remote sensing of new potato breeding, it was possible to select individuals who were excellent in two spectral indexes (PRI, Photochemical Reflectance Index and DZNI (Dry Zea N Index) and belonging to the three sigma best individuals according to the distribution of measured data. Thus, 0.27% of the best individuals for these two indexes were selected. This made 5 genotypes out of 1740 individuals. This selection of promising new breeds was taken into account at harvest and these genotypes will be preferentially monitored in the next growing season. In this model example, the great potential of remote monitoring of potato crops was shown and the use of multispectral analysis to evaluate the response of potato plants to unfavourable water shortage conditions.

Key words: drought resistance, remote sensing, hyperspectral analysis, new breeding

Úvod

Brambory jsou důležitou potravinářskou plodinou s vysokými výnosy. V důsledku působení sucha však vznikají významné ztráty v jejich výnosu a kvalitě. Vzhledem k celosvětovému významu bramboru jako potravinu a rostoucímu významu a dopadu sucha v souvislosti se změnou klimatu získává na důležitosti výzkum zaměřený na toleranci sucha u bramboru (Handayani et al. 2019). Problematika suchovzdornosti bramboru se v poslední době dostává do popředí vzhledem k posledním suchým ročníkům, kdy v polních podmínkách brambor trpí nedostatkem vody a byl tímto faktorem prokazatelně u něj snížen výnos a kvalitativní vlastnosti. Jednou z nejefektivnější cest je použít širokého spektra geneticky založené odolnosti bramboru k suchu (Zámečník et al. 2018, Zámečník 2015).

Práce navazuje na pokrok v odvozování prediktivních vztahů mezi různými charakteristikami a transformacemi dat vycházejícími ze sledování spektrální odrazivosti listů rostlin (Blackburn 2007) reflektující změny v koncentraci a poměru zastoupení pigmentů jako nástroje pro diagnostiku řady fyziologických procesů rostlin.

Vegetační indexy PRI a DZNI byly vypočteny podle Romero et al. (2017). Analýza dalších potenciálních vegetačních indexů uváděné Romero et al. (2017) byla limitována vlastnostmi použitého RGB senzoru s širokými pásmy snímaných vlnových délek při absenci NIR (tato analýza bude provedena později na základě dat z pěti pásmové multispektrální kamery na konkrétních parcelách).

Cílem této práce bylo porovnat parametry suchovzdornosti bramboru v raných fázích novošlechtění bramboru ještě před sklizní, tak aby bylo možné nadějně novošlechtěnce označené na základě zjištěných parametrů sklídit odděleně. Vzhledem k velkému počtu, řádově tisíce až desetitisíce hodnocených jedinců bylo cílem použít expeditivní metodu dálkového snímání porostu z přeletů nad pokusnou parcelou pomocí dronu s širokospektrální RGB kamerou. Cílem bylo ověřit možnost použití dostupného širokopásmového RGB snímání pomocí dronu pro rychlé hodnocení tisíců novošlechtění rostlin bramboru v krátkém časovém úseku.

Materiál a metody

Studovali jsme soubor 1740 novošlechtění bramboru, ramší (kombinace křížení v první polní hlízové generaci) na jednom stanovišti v jednom roce představujících genetickou rozmanitost po křížení vybraných rodičů.

Dálkové snímání bylo provedeno pomocí bezpilotního letounu DJI Phantom 4 pro osazeného RGB senzorem. Letecká mise byla naprogramována a řízena pomocí programu MapPilot zohledňujícího terén a svažitosť snímané plochy. Samotné snímání bylo realizováno koncem července v 15h CET z výšky 30m AGL s dopředným/stranovým překryvem jednotlivých snímků 75/75% při fixním manuálním nastavení expozice, clony a citlivosti. Ortorektifikace snímku byla provedena programem OneButton. Výsledná mozaika byla dále zpracována v programu ImageJ pro dekompozici na jednotlivé barevné složky RGB odstranění pozadí (půdy) tak, aby analýza vegetačních indexů byla provedena výhradně na samotných rostlinách ve vytyčených transektech na jednotlivých pixlech. V barevném snímku (Obr. 1) bylo ohraničeno 12 řádků v levé a v pravé části pole (řádky nebyly v přímce, proto hodnocení bylo prováděno zvlášť v každé části pokusného pole). Obdélníkem procházela středem přímka (transekt), na které byla provedena obrazová analýza. Otázka přesahu jednotlivých novošlechtění mezi sebou; v době snímání porost byl zapojený i tam kde byly vynechané rostliny při sázení, proto byl zvolen pro měření transekt, na kterém byly změřeny indexy jednotlivým trsům v jednotlivých řádcích.

Indexy byly vybrány dva: PRI a DZNI podle publikace (Romero et al, 2017).

PRI (Photochemical Reflectance Index) = $(R(531 \text{ nm}) - R(570 \text{ nm})) / (R(531 \text{ nm}) + R(570 \text{ nm}))$ (Penuelas et al., 1997)

DZNI (Dry Zea N Index) = $(R(575 \text{ nm})) / (R(526 \text{ nm}))$ (Zhao et al., 2003)

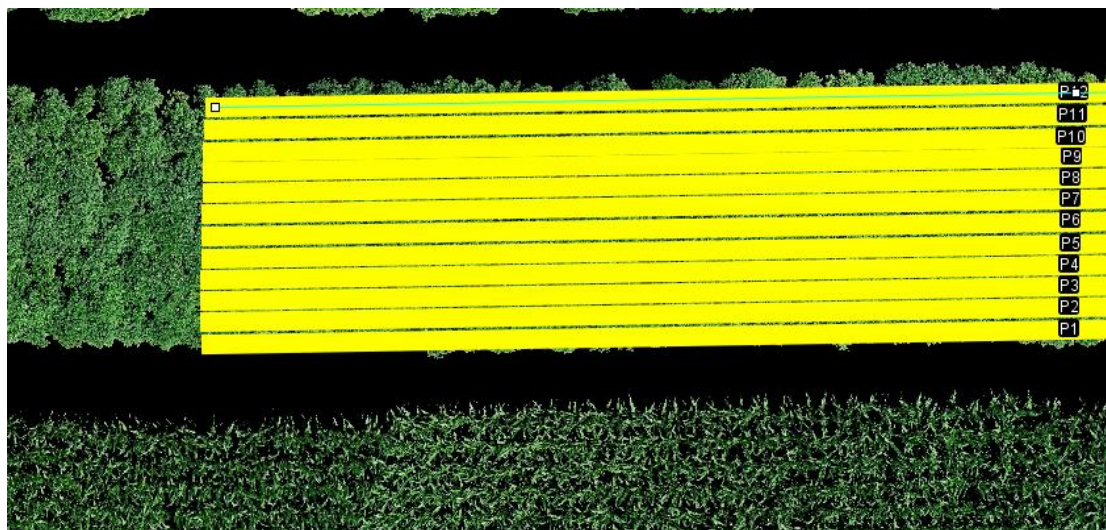
Výpočet dalších indexů byl limitován absencí vyšších vlnových délek v oblasti NIR. Je zajímavé, že oba indexy jsou v nelineárním nepřímě úměrném vztahu.

Z jednotlivých řádků byly vybrány novošlechtění a spočítané střední hodnoty se směrodatnými odchylkami pro jednotlivé indexy pro konkrétní genotyp. Na základě této odchylky byly vybráni jedinci v pozitivním tři sigma rozsahu do výběru.

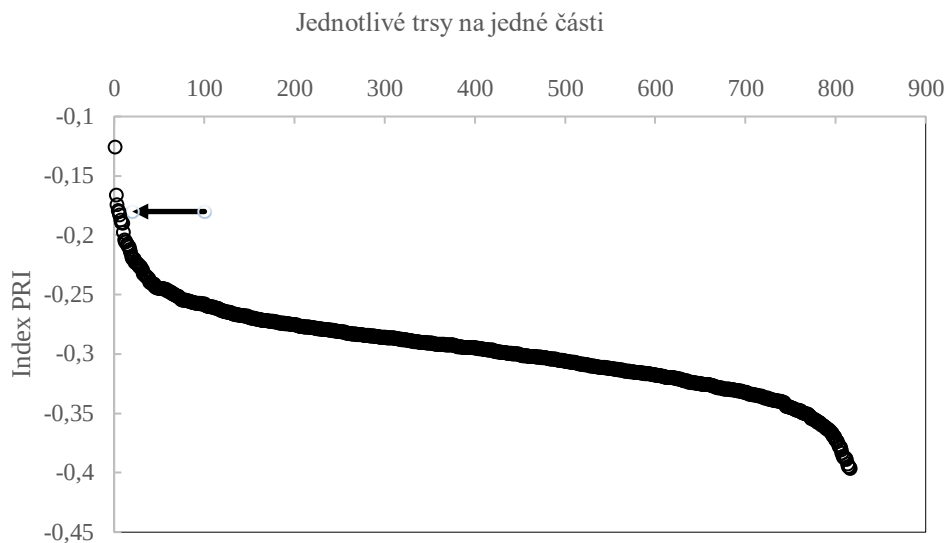
Pravidlo tři sigma, známé i jako 3s-kritérium, pravidlo 3σ , je definováno jako pro přibližně statisticky normálně rozděleného souboru, kdy by se měly téměř všechny relevantní hodnoty nacházet ve třech odchylnkách od aritmetického průměru tj. 99,73% všech hodnot. V této práci byly využity právě zbývající jedinci v kladné části odchylky reprezentující 0,27% jedinců a ty byly označeny jako výjimeční jedinci ve sledovaném indexu.

Výsledky a diskuze

Byla získána data dvou indexů PRI a DZNI na základě snímání širokospektrální RGB kamerou nesenou bezpilotním prostředkem nad pokusným pozemkem. Nejlepší novošlechtění byla vybrána na základě 3s-kritéria, pravidlo tři sigma pozitivní odchylky od průměru a jeho dopočtu do jedné tj. 0,27% procent nejlepších jedinců u těchto dvou indexů. To činilo z 1740 jedinců 5 genotypů. V případě požadavku na více vybraných novošlechtění lze přidávat podle seřazených hodnot obou indexů. Tak bylo navrženo k výběru z 1740 novošlechtění 30 nejnadějnějších genotypů v každém sledovaném indexu. Tento výběr nadějných novošlechtění byl zohledněn při sklizni a tyto genotypy budou přednostně sledovány v příští vegetační sezóně.

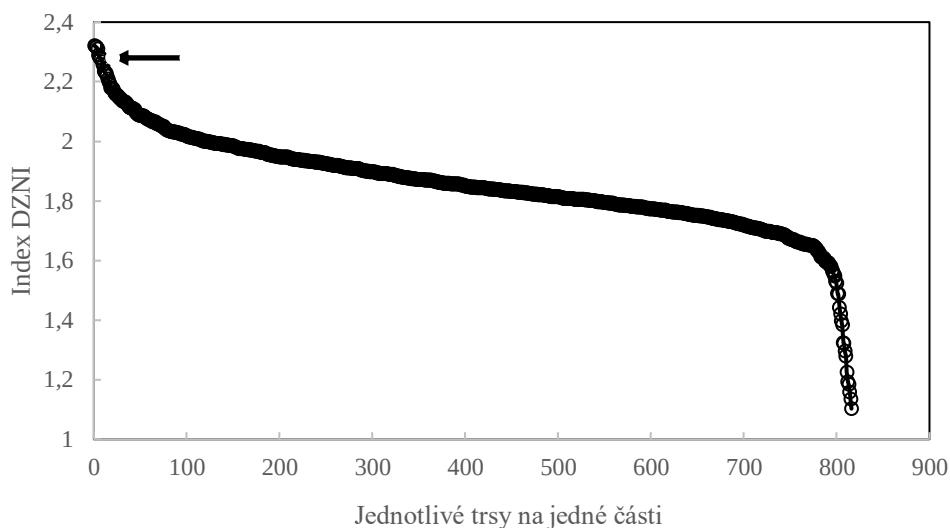


Obr. 1: Snímek z bezpilotního prostředku po odstranění pozadí na části pokusné parcely. Pohled na jednu část se zahrnutím jednotlivých řádků (žlutě), u posledního 12. řádku je zdůrazněn transekt (zeleně) podle kterého se měřily jednotlivé spektrální charakteristiky



Graf 1: Seřazené trsy bramboru podle velikosti indexu PRI (Photochemical Reflectance Index) na jedné části pokusného pozemku. Šipkou je naznačeno tři sigma odchylka od průměru, sloužící pro výběr nejlepších trsů v tomto indexu $n = 816$.

V grafu 1 jsou patrné extrémní hodnoty indexu PRI, na základě toho bylo možné označit novošlechtění, které spadají nad hranici 3sigma tj. novošlechtění s vysokým zapojením porostu a dalších růstových charakteristik.



Graf 2: Seřazené trsy bramboru podle velikosti indexu DZNI (Dry Zea N Index) na jedné části pokusného pozemku. Šipkou je naznačeno tři sigma odchylka od průměru, sloužící pro výběr nejlepších trsů v tomto indexu $n = 816$.

V grafu 2 jsou seřazené extrémní hodnoty indexu DZNI, na základě toho indexu bylo možné označit novošlechtění, která spadají nad hranici 3sigma a která mají nejvíce vody. Jestliže za srovnatelných podmínek genotypy bramboru jsou schopné v sobě uchovávat vodu, tak musí být

schopny na základě rozdílu ve vodním potenciálu mezi rostlinou a půdou tuto vodu čerpat z půdy.

Na základě Poisonova rozdělení bylo možné vyhodnotit, že index PRI vysoce koreloval s vegetativními charakteristikami a biomasou brambor LAI (0,932), FA (0,875), LAR (0,861), RGTtub (0,916) a druhý index DZNI vysoce koreloval (0,777) s celkovým obsahem vody listů brambor (Romero et al, 2017). Studie prokázaly, že PRI je fyziologický index citlivý na stav xantofylových pigmentů a na fotosyntetickou účinnost. Index je citlivý na absorpci pigmentu podmínkami osvětlení, geometrií pohledu a strukturou povrchu porostu (Hernández-Clemente et al., 2011). Pomocí této metody, dálkového snímání porostu rostlin bramboru, by mohly být sledované indexy online na pozemní stanici.

Při stresu sucha mělo rychlé dosažení exponenciálního růstu a maximální pokryv porostu negativní účinky na tvorbu hlíz a jejich zvětšení. Rychlost růstu, maximální pokryv porostu a plocha pod křivkou (fotosyntetická kapacita během růstové sezóny) byly důležitější pro objem hlíz než pro tvorbu hlíz při stresu ze sucha (Blackburn 2007).

Na tomto modelovém příkladu bylo ukázáno na velký potenciál bezpilotního dálkového sledování porostu bramboru a využití multispektrální analýzy k hodnocení reakce rostlin bramboru na konkrétní nepříznivé podmínky. Navzdory těmto možnostem pro další vývoj a zdokonalování technik svědčí současné trendy rozšiřující se řady aplikací v ekofyziologických, environmentálních, zemědělských a lesnických vědách a zároveň zdůrazňují rostoucí důležitost hyperspektrálního dálkového průzkumu rostlinných pigmentů.

Závěr

Na základě spektrální obrazové analýzy byla vybrána novošlechtění s vysokou hodnotou vegetačních parametrů a vysokým obsahem vody. Vybrané novošlechtění byla tak identifikována jako potenciální genetický materiál pro zlepšení rezistence k suchu. Na polní úrovni se navrhuje použití vhodné kultivační techniky spolu s technologií přesného dálkového snímání pro odhalení odolných novošlechtění k nedostatku vody za účelem dosažení vysokého výnosu i při nepříznivých podmínkách.

Použitá literatura

- Aliche, E. B., Oortwijn, M., Theeuwes, T. P., Bachem, C. W., Visser, R. G., & van der Linden, C. G. (2018) *Agricultural Water Management*, 206, 20-30
- Blackburn, G. A. (2007) *Journal of experimental botany*, 58(4), 855-867
- Handayani, T., Gilani, S. A., & Watanabe, K. N. (2019) *Breeding Science*, 69(4), 545-563
- Hernández-Clemente, R., Navarro, R., Suárez, L., Morales, F., and Zarco, P. (2011) *Remote Sens. Environ.* 115, 2360–2375
- Penuelas, J., Llusa, J., Pinol, J., and Filella, I. (1997) *Int. J. Remote Sens.* 18, 2863–2868.
- Romero, A. P., Alarcón, A., Valbuena, R. I., & Galeano, C. H. (2017) *Frontiers in plant science*, 8, 1608
- Zhao, D., Reddy, K., Kakani, K., Read, J., and Carter, A. (2003) *Plant Soil* 257, 205–218.
- Zámečník J., Domkářová J., Faltus M., Čepel J. (2018) *Úroda*, roč. 66, č. 12, vědecká příloha, 191-194
- Zámečník, J. (2015) Zedek, V., Mládková, A., Holubec, V., (eds) *Mze*, ISBN 9788074342493, 31-35

Dedikace

Tato práce vznikla za částečné podpory projektů TAČR TH04030159 a RO0418.

Kontaktní adresa:

Ing. Jiří Zámečník, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 16106 Praha 6 - Ruzyně
e-mail: zamecnik@vurv.cz

POROVNÁNÍ VÝSKYTU ENDOFYTNÍCH HUB RODU *NEOTYPHODIUM* SPP. V SEMENECH A ČERSTVÉM PLETIVU U VYBRANÝCH GENOTYPŮ KOSTŘAVY RÁKOSOVITÉ A JÍLKU VYTRVALÉHO

Comparison of endophytic fungi of the genus *Neotyphodium* spp. in seeds and tissue in selected genotypes of tall fescue and perennial ryegrass

Drápalová I.¹, Lošák M.^{1,2}

¹ OSEVA vývoj a výzkum s.r.o, Zubří

² OSEVA PRO s.r.o, o. z. Výzkumná stanice travinářská Rožnov – Zubří

Abstrakt

Hodnocení výskytu endofytních hub rodu *Neotyphodium* spp. bylo provedeno mikroskopicky *in situ*. Byly vybrány genotypy kostřavy rákosovité (Aronde, Clemfine, Metsovo, Buffalo) a jílku vytrvalého (Victorian, Vigor R.V.P., PF 19/8, Barvestra) z trsoviště Genetických zdrojů rostlin v Zubří. U těchto genotypů byly nalezeny statisticky významné rozdíly. Zároveň bylo též provedeno porovnání výskytu endofytní houby rodu *Neotyphodium* spp. u genotypů kostřavy rákosovité (Aronde, Clemfine, Metsovo, Buffalo) ze semenných vzorků a živé tkáně listových pochev po výsevu těchto infikovaných semen. Cílem bylo zjistit, zda jsou endofytní houby schopny přežít a dále infikovat pletivo ve stejném procentním zastoupení. Po mikroskopické analýze bylo zjištěno, že endofytní houby r. *Neotyphodium* spp. jsou schopny života i po výsevu.

Klíčová slova: *Neotyphodium*, endofytní houby, kostřava rákosovitá, jílek vytrvalý

Abstract

An evaluation of the presence of endophytic fungus of the genus *Neotyphodium* spp. was done microscopically *in situ*. Genotypes of tall fescue (Aronde, Clemfine, Metsovo, Buffalo) and perennial ryegrass (Victorian, Vigor R.V.P., PF 19/8, Barvestra) have been selected from the Plant Genetic Resources tuft area in Zubří. Statistically significant differences were found in these genotypes. At the same time, a comparison was also made between the incidence of endophytic fungi of the genus *Neotyphodium* spp. in the genotypes of tall fescue (Aronde, Clemfine, Metsovo, Buffalo) from seed samples and the tissue of leaf sheaths after sowing these infected seeds. The goal was to see if endophytic fungi could survive and further infect the tissue in the same percentage. After microscopic analysis, endophytic fungi of *Neotyphodium* spp. were found to be able to live after sowing.

Keywords: *Neotyphodium*, endophytic fungi, tall fescue, perennial ryegrass

Úvod

Endofytní houby jsou všudypřítomné mezi všemi rostlinnými rody a byly získány z asymptomatické tkáně rostlin, včetně řas, mečů, kapradin, jehličnanů a krytosemenných rostlin pěstovaných v suchozemských a vodních ekosystémech, včetně agroekosystémů a přírodních ekosystémů patřících od tropických, subtropických, pouštních, mírných oblastí až po tundru a arktické biomy. Většina studií ukázala, že hojnost, rozmanitost a druhové složení endofytních hub se liší podle hostitelských druhů, typu a stáří pletiv, charakteru lokality, místních klimatických podmínek a antropogenních faktorů (Torres, Tadych, White, Bills, 2011). Pro agronomickou a zootechnickou praxi je nejvýznamnější výskyt endofytních hub

v pastevních druzích trav, především v košťavách a jílcích, kde po konzumaci dobyt看m a skotem způsobují ekonomické ztráty (Schardl, Moon 2003; Jennings, West, Jones 2006).

Cílem bylo zjistit, zda jsou endofytní houby schopny přežít a dále infikovat pletivo ve stejném procentním zastoupení. Současne byla porovnávána míra infekce endofytními houbami mezi jednotlivými genotypy košťavy rákosovité a jílkou vytrvalého.

Materiál a metody

Přítomnost houby *Neotyphodium* spp. byla zjišťována v semenech travních druhů košťava rákosovitá (*Festuca arundinacea* Schreb.) a jílek vytrvalý (*Lolium perenne* L.) barvicí metodou. Semena byla nejdříve ponechána 15 hodin v roztoku 5% NaOH při pokojové teplotě. Následně byla semena řádně proplachována pod tekoucí vodou a poté vařena 15 minut v laktopenolu (kyselina mléčná, fenol, glycerol, metylová modř). Po uvaření a zchlazení byla semena znovu proplachována pod tekoucí vodou a následně mikroskopována. Pro analýzu semenných vzorků bylo použito nejméně 50 semen od každého genotypu. U druhu košťava rákosovitá byla provedena také analýza listových pochev, pro níž bylo použito 30 vzorků od každého genotypu. Pokožka byla barvena kapkou laktopenolu na podložním skle po dobu 3 minut. Poté byl laktopenol odsát filtračním papírem a pokožka byla zakápnuta fruktózovým sirupem a přikryta krycím sklíčkem (Torres, Tadych, White, Bills, 2011).

Semena použitá k analýzám byla získána z genové banky VÚRV, v.v.i. Praha – Ruzyně a přehled konkrétních genotypů použitých v našem výzkumu je uveden v tabulce 1. Semenný materiál byl uchováván v lednici. Živé pletivo bylo získáno z trsoviště genetických zdrojů trav, které bylo založeno ze stejného osiva získaného z genové banky. Toto osivo bylo vyseto v roce 2016 do výsevních misek, následně byly rostliny přepikýrovány do sadbovačů a předpěstovány pro jejich výsadbu v polních podmínkách, která proběhla v červenci 2017. Živé pletivo bylo po jeho odebrání v roce 2020 z trsoviště a uloženo v mrazícím boxu pro delší skladování.

Získané výsledky byly zpracovány v programu Excel a statisticky vyhodnoceny v programu STATISTICA 12 metodou analýzy rozptylu. Grafy byly vytvořeny pomocí analýzy rozptylu (ANOVA). Současne byly výsledky zhodnoceny metodou následného testování průkaznosti rozdílů středních hodnot prostřednictvím Tukey-HSD testu vždy na dvou hladinách významnosti (0,05 a 0,01).

Tab. 1 Přehled genotypů trav zkoušených na přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium*

ECN	Druh	Název	Původ
14G1200002	<i>Festuca arundinacea</i>	Aronde	Nizozemsko
14G1200042	<i>Festuca arundinacea</i>	Clemfine	USA
14G1200051	<i>Festuca arundinacea</i>	Metsovo	Řecko
14G1200063	<i>Festuca arundinacea</i>	Buffalo	Francie
14G2000021	<i>Lolium perenne</i>	Barvestra	Nizozemsko
14G2000109	<i>Lolium perenne</i>	Victorian	Austrálie
14G2000110	<i>Lolium perenne</i>	Vigor R.V.P.	Belgie
14G2000644	<i>Lolium perenne</i>	PF 19/08	ČR (planý původ)

ECN – evidenční číslo národní genetického zdroje

Výsledky a diskuse

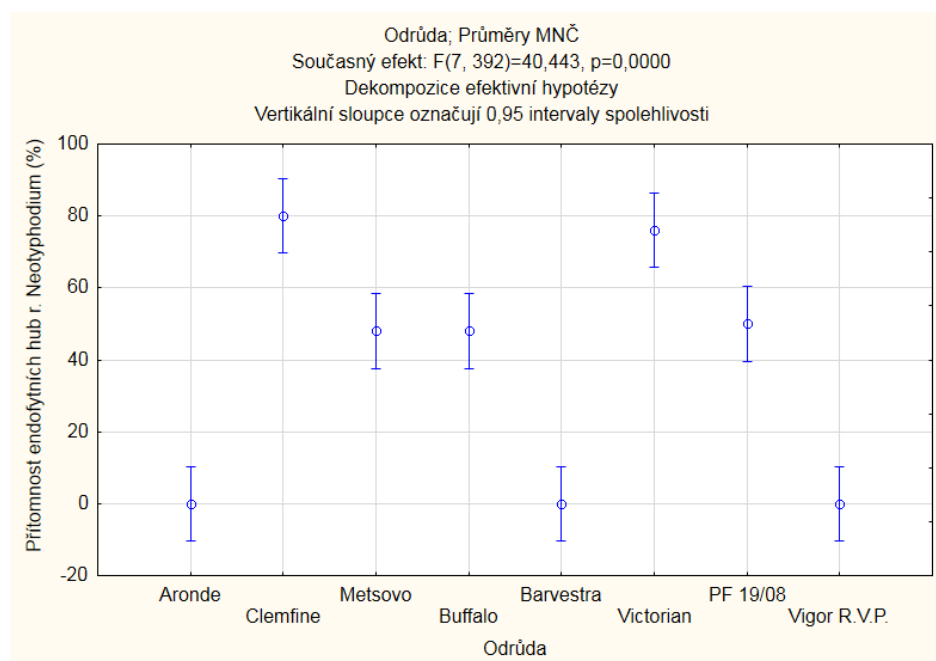
V semenech kostřavy rákosovité, která pocházela z české genové banky, byla v roce 2016 zjištěna statisticky vysoce průkazně (na hladině významnosti 0,01) vyšší přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* (44,0 %) než v semenech jílku vytrvalého (31,5 %), a to v průměru všech hodnocených genotypů každého travního druhu (Tab. 2). Rozdíl ve výskytu endofytních hub mezi oběma travními druhy představoval 12,5 %. Vliv travního druhu na přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech byl vyhodnocen jako signifikantní na hladině významnosti 0,01. Mezi oběma hodnocenými druhy byly v průměru všech genotypů nalezeny statisticky významné rozdíly.

Tab. 2 Přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech druhů *Lolium perenne* a *Festuca arundinacea*

Travní druh	Průměr [%]	Statistická průkaznost $P \leq 0,01$
<i>Lolium perenne</i>	31,5	a
<i>Festuca arundinacea</i>	44,0	b

Tukeyův HSD test; Homogenní skupiny, alfa = ,01000. Chyba: meziskup. PČ = ,23225, sv = 398,00.

V semenech kostřavy rákosovité byla zjištěna statisticky vysoce průkazně (na hladině významnosti 0,01) vyšší přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* (44,0 %) než v semenech jílku vytrvalého (31,5 %), a to v průměru všech hodnocených genotypů každého travního druhu (Tab. 2). Rozdíl ve výskytu endofytních hub mezi oběma travními druhy představoval 12,5 %. Vliv travního druhu na přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech byl vyhodnocen jako signifikantní na hladině významnosti 0,01. Mezi oběma hodnocenými druhy byly v průměru všech genotypů nalezeny statisticky významné rozdíly.



Graf 1 Porovnání přítomnosti endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech mezi hodnocenými genotypy druhů *Festuca arundinacea* a *Lolium perenne*

Vliv hodnoceného travního genotypu na přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech byl signifikantní na hladině významnosti 0,05 (Graf 1). Mezi hodnocenými genotypy byly nalezeny statisticky významné rozdíly.

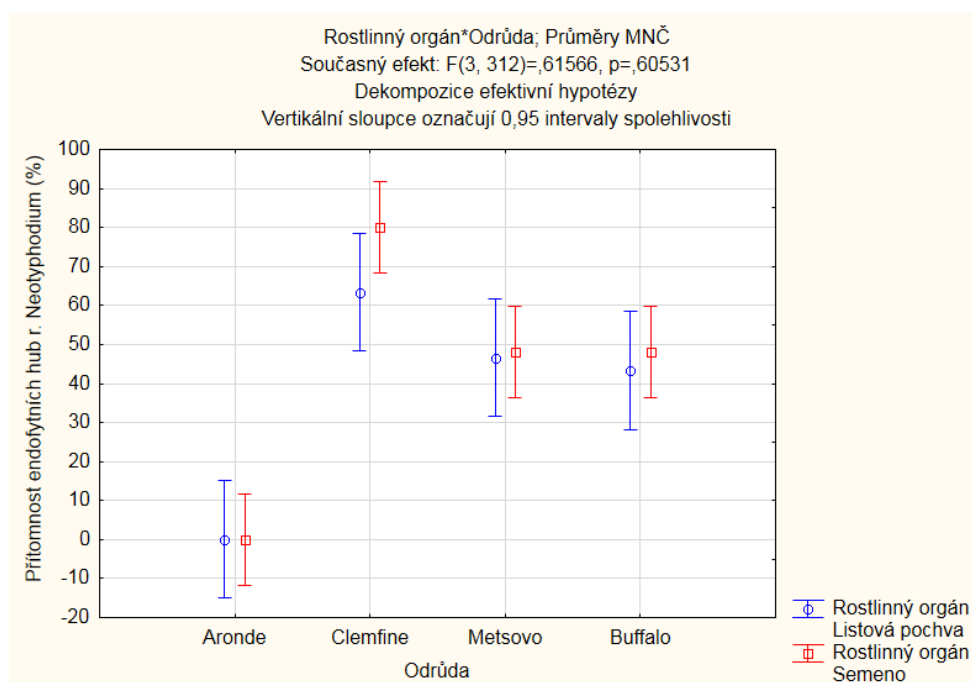
Tab. 3 Přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech genotypů druhů *Festuca arundinacea* a *Lolium perenne*

Travní druh	Odrůda	Průměr [%]	Statistická průkaznost	
			P≤0,05	P≤0,01
<i>Lolium perenne</i>	Vigor R.V.P.	0	a	a
<i>Lolium perenne</i>	Barvestra	0	a	a
<i>Festuca arundinacea</i>	Aronde	0	a	a
<i>Festuca arundinacea</i>	Buffalo	48	b	b
<i>Festuca arundinacea</i>	Metsovo	48	b	b
<i>Lolium perenne</i>	PF 19/08	50	b	bc
<i>Lolium perenne</i>	Victorian	76	c	cd
<i>Festuca arundinacea</i>	Clemfine	80	c	d

Tukeyův HSD test; Homogenní skupiny, alfa = 0,05000 / 0,01000. Chyba: meziskup. PČ = ,13923, sv = 392,00.

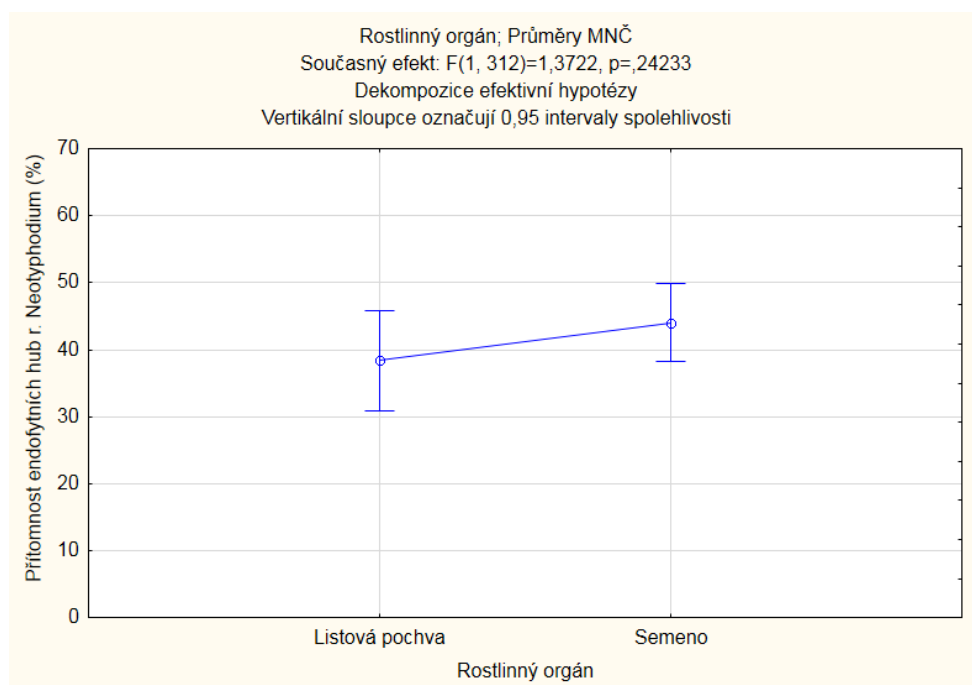
Zkoušené genotypy kostřavy rákosovité a jílku vytrvalého se rozdělily na tři staticky odlišné skupiny z hlediska přítomnosti endofytních hub. První skupina (genotypy Vigor R.V.P., Barvestra a Aronde) se vyznačovala úplnou nepřítomností endofytních hub, druhá skupina měla střední obsah endofytních hub v semenech (Buffalo 48 %, Metsovo 48 %, PF 19/08 50 %) a v poslední skupině byl zjištěn vyšší obsah endofytních hub (Victorian 76 %, Clemfine 80 %) v porovnání s ostatními hodnocenými genotypy. Na vyšší hladině významnosti 0,01 nejsou mezi genotypy PF 19/08 a Victorian zjištěny signifikantní rozdíly v přítomnosti endofytních hub v semenech (Tab. 3).

Pokud přihlídneme k interakci mezi travním druhem a genotypem, tak u jílku vytrvalého nebyly u poloviny zkoušených genotypů endofytní houby v semenech nalezeny vůbec, zatímco u kostřavy rákosovité endofyty nebyly přítomny pouze u jednoho genotypu ze čtyř zkoušených. Vyšší frekvenci ve výskytu infekcí endofytními houbami u druhu kostřava rákosovitá ve srovnání s druhem jílek vytrvalý ve své práci uvádí také Saikkonen et al. (2000), který v semenech pocházejících z přírodních populací ve Finsku a zemědělských kultivarů uvádí četnost výskytu infekcí endofytními houbami u druhu kostřava rákosovitá 98 % a u druhu jílek vytrvalý 33 %.



Graf 2 Porovnání přítomnosti endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech z roku 2016 a listových pochvách ze sklizně r. 2020 mezi hodnocenými genotypy druhu *Festuca arundinacea*

Vliv hodnoceného orgánu rostlin trav na přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* v interakci s vlivem sledovaného genotypu nebyl signifikantní. Odrůda Clemfine měla vyšší přítomnost endofytních hub v semenech (80,0 %) než v listových pochvách (63,3 %), ale bez statistické průkaznosti (Graf 2).



Graf 3 Porovnání přítomnosti endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech z roku 2016 a v listových pochvách ze sklizně r. 2020 druhu *Festuca arundinacea*

V průměru všech genotypů kostravy rákosovité nebyl vliv hodnoceného orgánu rostlin na přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* signifikantní (Graf 3).

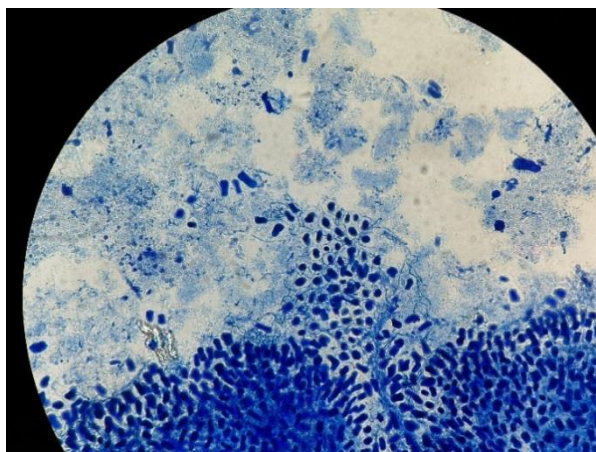
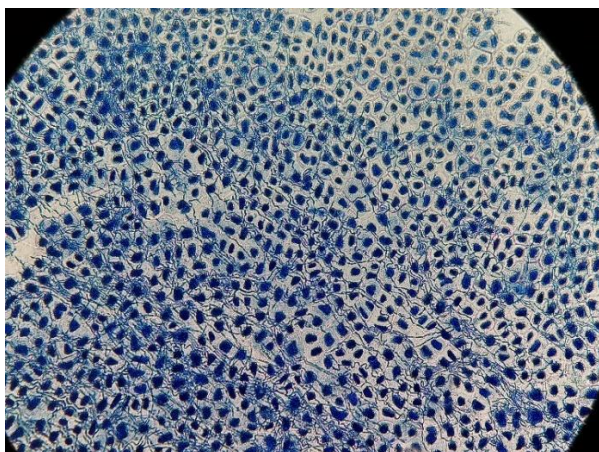
Tab. 4 Přítomnost endofytních hub rodu *Neotyphodium* v semenech a listových pochvách druhu *Festuca arundinacea*

Orgán	Průměr [%]	Statistická průkaznost $P \leq 0,05$
Listová pochva	38,3	a
Semeno	44,0	a

Tukeyův HSD test; Homogenní skupiny, alfa = ,05000. Chyba: meziskup. PČ = ,17551, sv = 312,00.

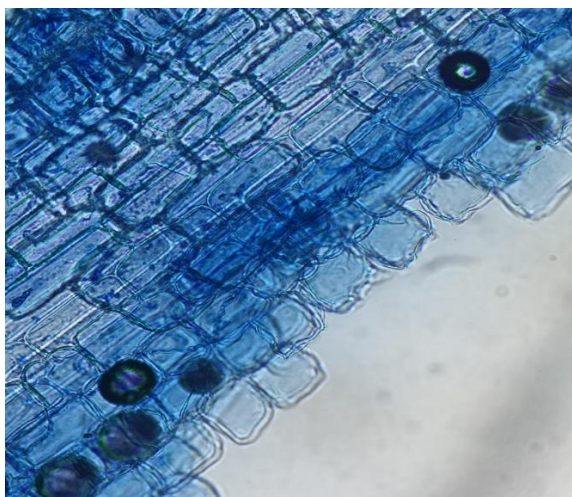
Jak uvádí tabulka 4, v přítomnosti endofytních hub rodu *Neotyphodium* mezi listovými pochvami a semeny kostravy rákosovité v průměru všech hodnocených genotypů nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. Statisticky neprůkazně byla vyšší přítomnost endofytních hub zjištěna v semenech (44,0 %) ve srovnání s listovými pochvami (38,3 %).

Houby rodu *Neotyphodium* spp. pocházejí z čeledi *Clavicipitaceae*, jsou biotrofními symbionty různých hostitelských organismů a mohou produkovat námelové alkaloidy, především ergovalin a další mykotoxiny, jako jsou například alkaloidy a peramin. *Neotyphodium coenophialum* propůjčuje rostlině odolnost vůči suchu a stresu a odolnost vůči škůdcům (Haschek, Rousseaux, Wallig, 2013). Dle Schardla a Moonové (2003) bylo popsáno na 14 druhů rodu *Neotyphodium* spp. 13 z nich bylo odvozeno od *Epichloë* s.s. Mezi prvními byly popsány *Neotyphodium typhinum* (jako anamorfa *E. typhina*), *N. coenophialum* u kostravy rákosovité (*Festuca arundinacea*) a *N. lolii* u jílku vytrvalého (*Lolium perenne*). Kostrava rákosovitá je hlavním hostitelem endofytní houby *Neotyphodium coenophialum*, dříve známou jako *Acremonium coenophialum*.

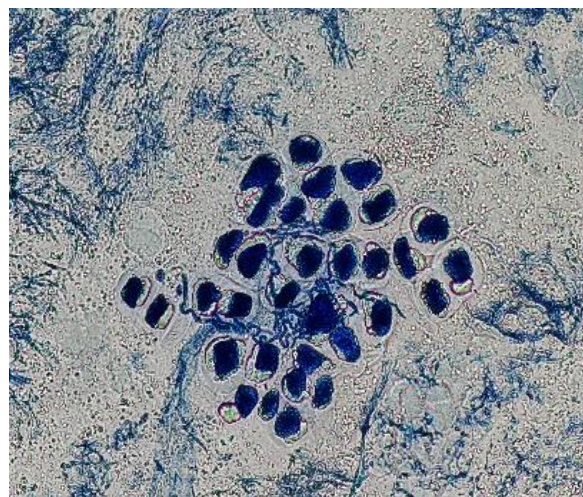


Obrázek 1 *Lolium perenne* – Victorian; hyfy mezi škrobovými zrny

Obrázek 2 *Lolium perenne* PF 19/8; hyfy mezi škrobovými zrny



Obrázek 3 *Festuca arundinacea* – *Clemfine*; hyfy mezi pokožkovými buňkami listové pochvy



Obrázek 4 *Festuca arundinacea* – *Clemfine*; hyfy mezi škrobovými zrny v osivu

Závěr

Bylo zjištěno, že existují signifikantní rozdíly v obsahu endofytní houby rodu *Neotyphodium* spp. pro druhy kostřavy rákosovité (44,0 %) a jílku vytrvalého (31,5 %) na hladině významnosti $\alpha=0,01$. A to nejen mezi travními druhy, ale i mezi jednotlivými odrůdami. Pro druh kostřavy rákosovité měla nejvyšší procentuální napadení endofytní houbou odrůda *Clemfine* (80,0 %) a pro jílek vytrvalý odrůda *Victorian* (76,0 %). Na hladině významnosti $\alpha=0,01$ signifikantní rozdíly ve výskytu endofytních hub v semenech jílku vytrvalého mezi odrůdou *Victorian* a položkou planého původu PF 19/08 zjištěny nebyly. Pro odrůdy kostřavy rákosovité bylo zjištěno, že rozdíl v přítomnosti endofytních hub v semeni a listové pochvě není signifikantní. Statisticky neprůkazný rozdíl vyšší přítomnosti houby v semenech (2016) (44,0 %) oproti listové pochvě (2020) (38,3 %) však značí příznivý přenos houby do další generace.

Kromě benefitů ve formě odolnosti vůči nepříznivým přírodním podmínkám, hmyzu, hádátkům a rozvodu vody a živin jsou endofytní houby také rizikem pro různá zvířata. Infikované kultivary kostřavy rákosovité a jílku vytrvalého mohou mít škodlivé účinky nejen na dobytek, ale také na drobné savce a migrující ptáky (Cheplick, Faeth, 2009). Díky pokusu na Novém Zélandu v letech 2007-2012 bylo zjištěno, že tráva na letišti infikovaná endofytními houbami dokonce odpuzuje ptáky. Pro tyto účely byl vyvinut i přípravek *Avanex* (Pennell et al. 2017). Z důvodů značné využitelnosti je screening endofytních hub v travní populaci dobrým prvotním měřítkem a je využitelný pro výběr výchozích šlechtitelských materiálů vhodných ve šlechtění nových odrůd se zvýšenou odolností vůči nepříznivým podmínkám prostředí.

Dedikace

Práce vznikla za podpory MZe (Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.6 a institucionální podpora na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZE-RO1820).

Literatura

- Cheplick, G. P., Faeth, S. H., 2009: Ecology and Evolution of the Grass-Endophyte Symbiosis, Oxford University Press, ISBN 978-0-19-530808-2, 241 p.
- Haschek W. M., Rousseaux C. G., Wallig M. A., 2013: Safety Assessment including Current and Emerging Issues in Toxicologic Pathology in Handbook of Toxicologic Pathology (Third Edition), 3054 p., ISBN 978-0-12-415759-0.
- Jennings J. A., West Ch. P., Jones S. M. 2006: "Friendly" Endophyte-Infected Tall Fescue for Livestock Production [online] <https://www.uaex.edu/publications/pdf/FSA-2140.pdf>.
- Pennell C. G. L., Rolston M. P., Van Koten C., Hume D. E., Card S. D., 2017: Reducing bird numbers at New Zealand airports using a unique endophyte product, Article in New Zealand Plant Protection. [online] https://www.researchgate.net/publication/319089836_Reducing_bird_numbers_at_New_Zealand_airports_using_a_unique_endophyte_product.
- Saikkonen K., Ahlholm J., Helander M., Lehtimäki S., Niemeläinen O., 2000: Endophytic fungi in wild and cultivated grasses in Finland. Ecography. 23: 360-366.
- Schardl Ch. L., Moon Ch. D., 2003: Processes of Species Evolution in *Epichloë/Neotyphodium* Endophytes of Grasses in Clavicipitacean Fungi Evolutionary Biology, Chemistry, and Cultural Impacts, 571 p., ISBN: 0-8247-4255-9.
- Ševčíková M., Šrámek P., Faberová I., 2002: Klasifikátor. Trávy (Poaceae). Praha: VÚRV, 34 s.
- Torres M., Tadych M., White J., Bills G., 2011: Isolation and identification of fungal endophytes, ISBN 9789529930265.

Kontaktní adresa:

Ing. Iva Drápalová
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.
Hamerská 698
75654 Zubří
e-mail: drapalova@oseva, 739208694

ANALÝZA DRUHOVÉHO SLOŽENÍ VYBRANÝCH TRAVNÍCH POROSTŮ

Analysis of species composition of selected grasslands

Kadlček L., Stehlíková J., Zdražilová M., Winkler J.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Cílem práce bylo provést vyhodnocení druhového spektra vegetace na viničních tratích ve Znojenské vinařské podoblasti. Nalezené druhy bylo potřeba rozdělit do funkčních skupin ve vztahu k révě vinné a vybrat jednotlivé druhy rostlin, které by byly vhodné do druhově bohaté směsi rostlin na ozelenění. Na sledovaných vinicích byl zjištěn velký počet druhů rostlin, což naznačuje bohatou biologickou diverzitu a rozmanitost vegetace na daných lokalitách. Celkem bylo identifikováno 93 druhů rostlin. Ze všech fytocenologických snímků, které byly na vinicích zapsány, vyplývá, že největší pokryvnost tvořil jílek vytrvalý (*Lolium perenne*). Jílek vytrvalý má ve vztahu k vinici pozitivní vliv, jelikož vytváří protierozní ochranu. Dále bylo nalezeno velké množství druhů, které mají pozitivní vliv na biologickou rozmanitost a jsou přínosné z hlediska setrvání zajímavých a vzácných rostlinných druhů v krajině. Některé z těchto ohrožených druhů jsou zajímavým cílem pro opylovatele např: *Centaurea jacea*, *Medicago lupulina*, *Trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Silene latifolia* a *Cichorium intybus*.

Klíčová slova: vinice, vegetace, *Lolium perenne*

Abstract

The aim of the study was to evaluate the species spectrum of vegetation on vineyard routes in the Znojmo wine region. The found species needed to be divided into functional groups in relation to the vine and selected individual plant species that would be suitable for a species-rich mixture of plants for landscaping. A large number of plant species was found in the monitored vineyards, which indicates a rich biological diversity and diversity of vegetation in monitored localities. A total of 93 plant species were identified. From all the phytocenological images that were recorded in the vineyards, it follows that the largest cover was *Lolium perenne*. Perennial ryegrass has a positive effect on the vineyard, as it creates erosion protection. Furthermore, a large number of species have been found that have a positive effect on biodiversity and are beneficial in terms of the persistence of interesting and rare plant species in the landscape. Some of these endangered species are interesting targets for pollinators such as: *Centaurea jacea*, *Medicago Lupulina*, *trifolium repens*, *Trifolium pratense*, *Silene latifolia* and *Cichorium intybus*.

Key words: vineyard, vegetation, *Lolium perenne*

Úvod

Neustálá likvidace přírodě blízkých stanovišť vede k postupnému omezování přirozených rostlinných společenstev. Z krajiny rychle mizí původní louky a pastviny. Proto je velmi důležité hledat nové možnosti, které vedou alespoň k částečnému navrácení prospěšné a původní flóry do krajiny (Webber et al., 2020). Právě vinice představují z tohoto pohledu ideální stanoviště.

Vinice ponechané bez zásahu ve stavu spontánního ozelenění mají vegetaci v meziřadí tvořenou především monokulturami trav z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*). Pro vegetaci vinic je nezbytné zvolit správné druhy rostlin, protože mnoho rostlinných druhů vytváří pro révu vinnou

konkurenci, naopak některé druhy rostlin jsou pro révu prospěšné (Pavloušek, 2007). Na vinicích, které se nachází ve svazích či na lokalitách s menším úhrnem srážek, bychom měli preferovat rostlinné druhy nízké a mělce kořenící. Takové druhy vytváří menší množství biomasy a jsou méně konkurenční pro révu při boji o vodu (Hejduk, 2009).

Správné složení vegetace v meziřadí napomáhá lepší ochraně půdy před větrnou i vodní erozí. Dobře probíhá vsakování srážkové vody a půda je účinně chráněna před výparem (Pavloušek, 2011). Díky ozelenění je zajištěna dobrá pohyblivost mechanizace v meziřadí vinice po celý rok, umožňuje vjezd i v horších povětrnostních podmínkách. Další pozitivum skýtá zajištění vyššího obsahu humusu v půdě díky organické hmotě vegetace. Přínosný je vyšší výskyt užitečných rostlinných a živočišných druhů. Důležité pozitivum ozelenění je celoroční pokryv půdy (Pavloušek, 2005).

Za negativní vliv se považuje konkurence ozelenění vůči révě vinné z hlediska vody a živin. Dalšími nevýhodami ozelenění je způsobení vodního deficitu v suchých letech, což má negativní dopad na kvalitu vína (Hlušek et al., 2015).

Bez ohledu na management vegetace pod keři révy hraje údržba tohoto prostoru významnou roli při potlačování nežádoucí a agresivní vegetace bujně rostoucích plevelů. Dnes je k dispozici řada mechanizačních prostředků k obdělávání prostoru pod keři révy vinné, z nichž si vinař může podle půdních podmínek, struktury půdy, svazitosti atd. vybrat optimální variantu (Figueiral et al., 2010).

Důležité je vyhledávat vhodné lokality a postupy pěstování, kterými můžeme revitalizovat protierozní pásy, sady anebo také meziřadí ve vinicích. Při správném managementu se tato společenstva rostlin stávají vhodnými pro pastvu včel, čmeláků a motýlů, díky tomu se může zastavit pokles biodiverzity v naší krajině (Webber et al., 2020).

Cílem práce je získat představu, které z původních druhů rostlin je vhodné využít pro možné sestavení směsi určené pro travní porosty. Druhy rostlin musí splňovat některá kritéria, jako jsou I – víceletá životní forma, II – protierozní funkce, III – poskytovat potravu pro opylovaatele, IV – dobře vzdorovat suchu, V – dobře snášet sečení, VI – podporovat regionálně původní druhy. Na základě monitoringu vegetace ve vybrané lokalitě budou vybrány vhodné druhy rostlin.

Materiál a metody

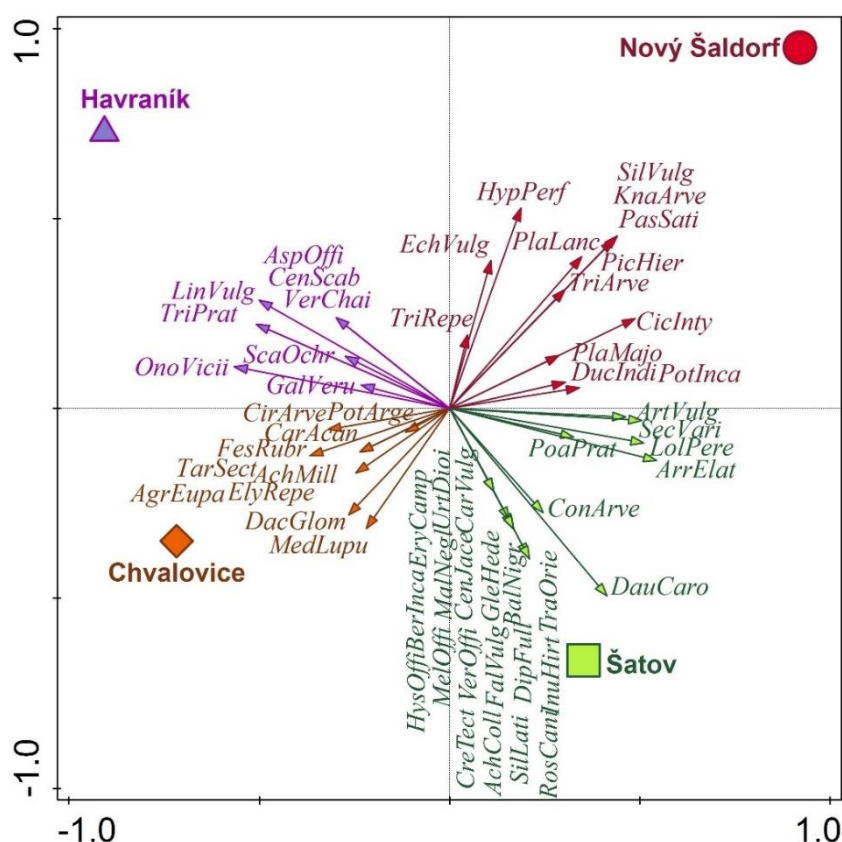
Hodnocení vegetace probíhalo v katastru čtyř vinařských obcí (Chvalovice, Šatov, Havraníky a Nový Šaldorf). Vinařské obce spadají do Znojemské vinařské podoblasti, která se nachází v kukuřičné výrobní oblasti s velmi teplým a suchým klimatickým regionem. Průměrné roční teploty v této oblasti jsou 8 – 10 °C a průměrné roční srážky činí zhruba 500 – 600 mm. Vyhodnocování bylo provedeno během července v letech 2016 a 2017. Druhovému složení vegetace bylo vyhodnoceno na základě fytocenologických snímků. Fytocenologické snímky byly zapisovány v travnatém meziřadí ve vybraných vinicích. V každé viniční trati každé vinařské obce byly zapsány dva fytocenologické snímky. Každý fytocenologický snímek měl plochu 10 m², pokryvnost vyskytujících se druhů byla odhadována přímo v procentech. Vědecké názvy jednotlivých druhů rostlin byly stanoveny podle databáze Plaidias (Plaidias, 2020). Získaná data byla zpracována mnohorozměrnými analýzami ekologických dat. Nejprve byla provedena analýza hlavních komponentů (DCA – Detrended Correspondence Analysis), která vedla k výpočtu délky gradientu (Lengths of Gradient). Následně byla použita redundanční analýza RDA (Redundancy Analysis). Testování průkaznosti bylo provedeno pomocí testu Monte-Carlo. Zpracování dat a výpočty byly provedeny pomocí počítačového programu Canoco 5.0. (Ter Braak a Šmilauer, 2012).

Výsledky a diskuse

Za dobu dvou let bylo identifikováno celkem 93 druhů rostlin. V Tabulce I. jsou uvedeny počty druhů rostlin vybraných čeledí, které byly nalezeny ve sledovaných viničních tratích a obcích. Na Obrázku 1 jsou uvedeny výsledky analýzy RDA, které ukazují, že druhové složení vegetace vinic v jednotlivých sledovaných vinařských obcích se statisticky průkazně liší. Podle směru jednotlivých vektorů rostlinných druhů je patrné, ve které obci se častěji vyskytoval.

Tabulka 1: Znázorňující počet; vybraných čeledí v jednotlivých tratích.

Obec	Trat'	Poaceae	Asteraceae	Fabaceae	Ostatní
Chvalovice	Nad sklepy	4	5	0	84
	Dívčí hory	6	4	7	76
Šatov	Peklo	3	6	3	81
	Skalky	3	6	0	84
	U bunkru	2	8	2	81
	Na vinici	5	7	1	80
Havraníky	Staré vinice	4	3	4	82
	Skalky	2	6	0	85
Nový Šaldorf - Sedlešovice	Kraví hora	12	3	5	73
	Kraví hora - Zahrádky	5	9	0	79



Obrázek 1: Ordinační diagram vyjadřující vztah výskytu nalezených druhů k jednotlivým obcím (výsledky analýzy RDA; pseudo F = 4,7; p = 0,001)

První skupina druhů se převážně vyskytovala na vinařských tratích v obci Havraníky. Jsou to druhy: *Asp offi* – *Asparagus officinalis*, *Cen scab* – *Centaurea scabiosa*, *Gal veru* – *Galium verum*, *Lin vulg* – *Linaria vulgaris*, *Ono vicii* – *Onobrychis viciifolia*, *Sca ochr* – *Scabiosa ochroleuca*, *Tri prat* – *Trifolium pratense*, *Ver chai* – *Verbascum chaixii*. Tato skupina druhů vykazovala nejmenší počet druhů vázaných na stanoviště.

Druhá skupina rostlin se převážně vyskytovala na tratích nacházejících se v obci Chvalovice: Mezi tyhle druhy patří: *Ach mill* – *Achillea millefolium*, *Agr eup* – *Agrimonia eupatoria*, *Car acan* – *Carduus acanthoides*, *Cir arve* – *Cirsium arvense*, *Dac glom* – *Dactylis glomerata*, *Ely repe* – *Elytrigia repens*, *Fes rubr* – *Festuca rubra*, *Med lupu* – *Medicago lupulina*, *Pot arge* – *Potentilla argentea*, *Tar sect* – *Taraxacum sect. Ruderalia*. Celkem se v této skupině nacházelo 10 druhů rostlin.

Nejvíce početná skupina se nacházela na pozemcích vyskytujících se v katastrálním území Šatov. *Arr elat* – *Arrhenatherum elatius*, *Art vulg* – *Artemisia vulgaris*, *Ach coll* – *Achillea collina*, *Bal nigr* – *Ballota nigra*, *Ber inca* – *Berteroa incana*, *Con arve* – *Convolvulus arvensis*, *Cre tect* – *Crepis tectorum*, *Cen jace* – *Centaurea jacea*, *Car vulg* – *Carlina vulgaris*, *Dau caro* – *Daucus carota*, *Ery camp* – *Eryngium campestre*, *Dip full* – *Dipsacus fullonum*, *Fal vulg* – *Falcaria vulgaris*, *Gle hede* – *Glechoma hederacea*, *Hys offi* – *Hyssopus officinalis*, *Inu hirt* – *Inula hirta*, *Lol pere* – *Lolium perenne*, *Mal negl* – *Malva neglecta*, *Mel offi* – *Melilotus officinalis*, *Poa prat* – *Poa pratensis*, *Ros cani* – *Rosa canina*, *Sec vari* – *Securigera varia*, *Sil lati* – *Silene latifolia*, *Tra orie* – *Tragopogon orientalis*, *Urt dioi* – *Urtica dioica*, *Ver offi* – *Verbena officinalis*.

Poslední skupina rostlin se nacházela převážně v obci Nový Šaldorf. Do této skupiny řadíme tyto rostliny: *Cic inty* – *Cichorium intybus*, *Duc indi* – *Duchesnea indica*, *Ech vulg* – *Echium vulgare*, *Hyp perf* – *Hypericum perforatum*, *Kna arve* – *Knautia arvensis*, *Pas sati* – *Pastinaca sativa*, *Pic hier* – *Picris hieracioides*, *Pla majo* – *Plantago major*, *Pla lanc* – *Plantago lanceolata*, *Pot inca* – *Potentilla incana*, *Sil vulg* – *Silene vulgaris*, *Tri repe* – *Trifolium repens*, *Tri arve* – *Trifolium arvense*.

Nejvíce zastoupeným druhem na sledovaných plochách je jilek vytrvalý. Jilek vytrvalý se řadí do čeledi lipnicovité a je to vytrvalý druh. Jeho výskyt ve vinicích můžeme hodnotit pozitivně, jelikož může působit jako ochrana půdy před větrnou a vodní erozí, jak uvádí Tannenbaum et al. (2020).

Na sledovaných plochách se často nacházely rostliny z čeledi hvězdnicovité (*Asteraceae*). Výskyt zástupců této čeledi můžeme považovat za pozitivní pro fungování potravní sítě. Například chrpa luční je vynikající nektarodárná a pylodárná rostlina s dlouhou dobou kvetení. Všechny rostliny čeledi bobovité (*Fabaceae*) jsou známy [symbiózou](#) s [hlízkovitými bakteriemi](#) rodu [Rhizobium](#). Rostliny hostí tyto bakterie v malých hlízkách ve svých kořenech. Symbiotické bakterie mají schopnost poutat [dusík](#) z atmosféry a přeměnit jej na formu dusíku, která je využitelná pro výživu rostlin, ale i ke zlepšení kvality půd (Zhang et al., 2019). U révy viné je odběr dusíku největší v období květu a nasazení bobulí. Dostatek dusíku působí příznivě na plodnost révy i na následnou kvalitu samotného vína. Růst vinné révy při nedostatku dusíku je pomalý a cukernatost nízká (Gambetta et al., 2020). Bobovité rostliny jsou také řazeny mezi významné nektarodárné rostliny zejména tollice dětelová, jetel plazivý a j. luční. V mnoha oblastech jsou zdrojem hlavní snůšky včel a dalších opylovatelů (Persson et al., 2020).

Pro každou lokalitu je vhodné sestavit druhově bohatou regionální směs, která by obsahovala vyvážený poměr všech komponentů jak pro ozelenění vinice, tak pro další ekosystémové funkce. Dle Zieglera (2004) by směs měla obsahovat rostliny z čeledi bobovité (*Fabaceae*), lipnicovité (*Poaceae*), a dvouděložné kvetoucí byliny. Pro správné sestavení by mělo být důležité zachovat správný poměr komponentů, což by nemělo být méně než 50 % druhů z čeledi lipnicovité, minimálně 33 % druhů z čeledi bobovité a zbylá procenta by měly pokrýt kvetoucí

byliny. Vybrané kvetoucí byliny by měly být atraktivní pro včely, současně poskytovat potravu a útočiště pro ostatní druhy hmyzu a obratlovce.

Závěr

Ve sledovaných vinicích byl zjištěn velký počet druhů rostlin (93), což naznačuje bohatou biologickou diverzitu a rozmanitost vegetace na dané lokalitě. Na základě monitoringu vegetace provedené ve vybraných obcích Znojemské vinařské podoblasti můžeme vybrat druhy rostlin, které jsou vhodné do regionálních travních směsí pro tuto oblast.

Z čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) jsou vhodné druhy: *Lolium perenne*, *Dactylis glomerata*, *Poa pratensis*, *Festuca rubra*. Z čeledi hvězdnicovitých (*Asteraceae*) jsou vhodné: *Achillea millefolium*, *Achillea collina*, *Crepis tectorum*, *Centaurea scabiosa*, *Cichorium intybus*, *Centaurea jacea*, *Taraxacum sect. Ruderalia*, *Inula hirta*, *Picris hieracioides*.

Z čeledi bobovitých (*Fabaceae*) jsou vhodné: *Melilotus officinalis*, *Onobrychis viciifolia*, *Trifolium pratense*, *Medicago lupulina*, *Trifolium arvense*, *Trifolium repens*.

Z ostatních čeledí jsou vhodnými zástupci druhy: *Scabiosa ochroleuca*, *Galium verum*, *Potentilla argentea*, *Agrimonia eupatoria*, *Daucus carota*, *Hyssopus officinalis*, *Berteroa incana*, *Eryngium campestre*, *Verbena officinalis*, *Carlina vulgaris*, *Falcaria vulgaris*, *Silene latifolia*, *Echium vulgare*, *Hypericum perforatum*, *Plantago lanceolata*, *Silene vulgaris*, *Knautia arvensis*, *Pastinaca sativa*, *Plantago major*, *Potentilla incana*.

Podpora výskytu těchto druhů povede k vyšší a stabilnější biodiverzitě naší krajiny, zvýší se potravní nabídka pro opylovatele a další hmyz. Řada těchto druhů přispěje také v protierozní ochraně krajiny a zlepší hospodaření s vodou.

Literatura

- Figueiral, I., Bouby, L., Buffat, L., Petitot, H., & Terral, J. F. 2010. Archaeobotany, vine growing and wine producing in Roman Southern France: the site of Gasquino (Béziers, Hérault). *Journal of Archaeological Science*, 37(1), 139-149.
- Gambetta, G. A., Herrera, J. C., Dayer, S., Feng, Q., Hochberg, U., & Castellarin, S. D. 2020. The physiology of drought stress in grapevine: towards an integrative definition of drought tolerance. *Journal of experimental botany*, 71(16), 4658-4676.
- Hejduk, S., 2009: Proč zatravňovat meziřadí v ovocných sadech a ve vinicích. *Vinař sadař*, 1, s. 50–53
- Hlušek, J., Baroň M., Burg P., Lošák T., Pavloušek P., Šafránková I., Zemánek P., 2015: Réva vinná. Praha: ProfiPress. ISBN 978-80-86726-67-0
- Pavloušek, P., 2005: Pěstování révy vinné v zahradách. Brno: CP Books. ISBN 80-251-0840-6.
- Pavloušek, P., 2007: Encyklopedie révy vinné. Brno: ComputerPress. ISBN 978-80-251-1704-0.
- Pavloušek, P., 2011: Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví. Praha: Grada. ISBN 978-80-247-3314-2.
- Persson, A. S., Ekroos, J., Olsson, P., & Smith, H. G. 2020. Wild bees and hoverflies respond differently to urbanisation, human population density and urban form. *Landscape and Urban Planning*, 204, 103901.
- Tannenbaum, I., Kaur, J., Mann, R., Sawbridge, T., Rodoni, B., & Spangenberg, G. 2020. Profiling the *Lolium perenne* microbiome: From seed to seed. *Phytobiomes Journal*, 4(3), 281-289.
- Ter Braak, C. J. F., Šmilauer, P., 2012: Canoco reference manual and user's guide: software for ordination (version 5.0). Microcomputer Power, Ithaca.

- Webber, S. M., Garratt, M. P., Lukac, M., Bailey, A. P., Huxley, T., & Potts, S. G. 2020. Quantifying crop pollinator-dependence and pollination deficits: The effects of experimental scale on yield and quality assessments. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 304, 107106.
- Zhang, C., Shi, S., Liu, Z., Yang, F., & Yin, G. 2019. Drought tolerance in alfalfa (*Medicago sativa* L.) varieties is associated with enhanced antioxidative protection and declined lipid peroxidation. *Journal of plant physiology*, 232, 226-240.
- Ziegler, B., 2004: Bodenflegeim Weinbauunter Berücksichtigung des Bodenschutzgesetzes. DLR Rheinpfalz.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem TAČR TJ04000048 „Vliv foliární aplikace selenu a zinku na kvalitativní a kvantitativní parametry píce a životního prostředí organismů na ně vázaných“.

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

VYUŽITÍ BAKTERIOFÁGŮ PŘI OCHRANĚ BRAMBORU PROTI BAKTERIÍM RODU *DICKEYA*

The use of bacteriophages in the protection of potatoes against bacteria of the genus *Dickeya*

Kmoch M.¹, Petrzik K.², Brázdová S.², Kopačka V.³, Vacek J.¹, Ševčík R.⁴

¹Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.; Laboratoř virologie

²Biologické centrum AV ČR, v. v. i.; Ústav molekulární biologie rostlin (ÚMBR)

³Veselá Velhartice, a. s.

⁴Vysoká škola chemicko-technologická v Praze (VŠCHT); Ústav konzervace potravin

Abstrakt

Bakterie z čeledi *Enterobacteriaceae*, do kterých patří rody *Pectobacterium* a *Dickeya*, způsobují hospodářsky významné ztráty na výnosu a kvalitě produkce brambor. Cílem práce bylo ověření účinnosti izolovaných lytických bakteriofágů ϕ Ds3CZ a ϕ Ds20CZ na bakterii *Dickeya solani* pomocí laboratorních testů na plátcích hlíz bramboru. Směs fágů účinně potlačovala symptomy měkké hniloby hlíz bramboru vyvolané bakterií *D. solani*. Mezi ošetřenou a neošetřenou variantou byly zaznamenány statisticky průkazné rozdíly v infekci hlíz. Aplikace směsi fágů vedla ke snížení vývoje symptomů choroby v průměru o 47,5 %. Účinnost fágů je nutné ještě ověřit v poloprovozních a provozních podmínkách. V případě dostatečné účinnosti lze bakteriofágy využít v ekologické produkci brambor jako ochranu proti bakteriím, která je šetrná k životnímu prostředí a bezpečná pro spotřebitele.

Klíčová slova: *Dickeya* spp.; měkká hniloba bramboru; hlízy; bakteriofágy; biologická ochrana.

Abstract

Bacteria from the family *Enterobacteriaceae*, which include the genera *Pectobacterium* and *Dickeya*, cause economically significant losses in the yield and quality of potato production. The aim of the work was to verify the effectiveness of isolated lytic bacteriophages ϕ Ds3CZ and ϕ Ds20CZ on the bacterium *Dickeya solani* using laboratory tests on potato tuber slices. The phage mixture effectively suppressed the symptoms of soft rot of potato tubers caused by *D. solani*. Statistically significant differences were noted between the treated and untreated variants. Application of the phage mixture reduced the development of disease symptoms on average 47.5 %. Efficacy of phage must still be verified in pilot and operational conditions. If sufficiently effective, bacteriophages can be used in organic potato production as protection against bacteria that is environmentally friendly and safe for consumers.

Key words: *Dickeya* spp.; Potato soft rot; Tubers; Bacteriophages; Biocontrol.

Úvod

Druhy rodu *Dickeya* (dříve *Erwinia chrysanthemi*) jsou patogenní gramnegativní fakultativně anaerobní bakterie rostlin z čeledi *Enterobacteriaceae*. Způsobují měkkou hnilobou u širokého spektra hospodářsky významných plodin (brambory, rajčata, mrkev, cibule, ananas, kukuřice, rýže aj.) a okrasných rostlin (hyacint, chryzantéma, kala aj.) po celém světě (Perombelon et Kelman 1980; Czajkowski et al., 2011; Toth et al., 2011; Adriaenssens et al., 2012). Produkuje charakteristické enzymy, které jsou příčinou degradace buněčné stěny rostlin projevující se macerací pletiv (Czajkowski et al., 2011; Adriaenssens et al., 2012). Mohou se šířit infikovanými rostlinami na velké vzdálenosti a jsou schopny žít jako epifyté nebo fakultativní saprofyté v půdě a podzemní vodě (Reverchon et Nasser, 2013). Byly detekovány v různých

vodních zdrojích a závlahové vodě (Toth *et al.*, 2011). Rod *Dickeya* zahrnuje osm druhů, tj. *Dickeya zaeae*, *D. dadantii*, *D. chrysanthemi*, *D. solani*, *D. aquatica*, *D. dianthicola*, *D. paradisiaca* a *D. fangzhongdai* (Samson *et al.*, 2005; Toth *et al.*, 2011; Adriaenssens *et al.*, 2012; Tian *et al.*, 2016).

V současné době neexistují žádné účinné chemické látky k potlačování infekce *Dickeya* spp., což způsobuje značné ekonomické ztráty, zejména pokud jde o produkci brambor (Adriaenssens *et al.*, 2012; Czajkowski *et al.*, 2014). Použití bakteriofágů je atraktivní možností biologické ochrany rostlin (Jones *et al.*, 2007; Adriaenssens *et al.*, 2012; Buttner *et al.*, 2017). Bakteriofágy (fágy) jsou viry, které infikují bakteriální buňky. Byly popsány poprvé na počátku 20. století (Abedon, 2008). Jsou velmi rozšířené v biosféře. Přirozeně se vyskytují např. v půdě, vodě, rostlinách a zvířatech, kde mohou přetrvávat po dlouhou dobu prostřednictvím autoreplikace závislé na hostiteli. Jsou přítomny všude, kde přežívají hostitelské druhy bakterií (Marsh *et al.*, 1994; Jones *et al.*, 2007). Bakteriofágy se skládají z jednovláknových nebo dvouvláknových, lineárních nebo kruhových molekul DNA nebo RNA, které se nachází uvnitř proteinového nebo lipoproteinového obalu (kapsida). Některé fágy mohou tvořit složité morfologické struktury, které usnadňují jejich interakci s bakteriálním hostitelem nebo slouží k přenosu genetického materiálu do hostitelských buněk (Bradley, 1965). Bakteriofágy obvykle vykazují vysokou specifitu k bakteriálním hostitelům. Jejich použití proti bakteriím je zcela bezpečné, protože nemohou infikovat eukaryotické buňky. Pro biologickou ochranu rostlin je možno použít pouze tzv. lytické bakteriofágy, které na konci infekce bakteriální buňku lyzují. Lze je relativně snadno a levně produkovat (Jones *et al.*, 2007, 2012).

Cílem experimentů bylo ověření účinnosti izolovaných lytických bakteriofágů ϕ Ds3CZ a ϕ Ds20CZ na bakterii *Dickeya solani* pomocí laboratorních testů na řezech hlíz bramboru.

Materiál a Metody

Pro zjištění účinnosti směsi lytických fágů ϕ Ds3CZ a ϕ Ds20CZ (rod *Limestonevirus*, čeleď *Ackermannviridae*) na bakterii *D. solani* byly použity laboratorní testy na plátcích hlíz bramboru. Fágy byly izolovány ze vzorků půdy odebraných z polí brambor z různých lokalit České republiky. Vzorky půdy (přibližně 5g) byly kultivovány 16 hodin při 20 °C na třepačce s 20 ml LB média, aby došlo k namnožení přítomných bakterií. Poté byly vzorky sedimentovány centrifugací a supernatant byl sterilizován filtrací přes bakteriální filtr. Tímto způsobem bylo připraveno více než 200 vzorků. Přítomnost fága/fágů ve vzorku byla testována aplikací 1 μ l sterilního filtrátu na vrstvu měkkého agarů, ve které byla rozmíchána aktivně rostoucí bakteriální kultura a jeho kultivací 16 hodin při 20°C. Vzorky byly testovány proti kmenům *Dickeya* ssp. CPPB 016, CPPB 019, CPPB 050, CPPB 065, CPPB 176 a CPPB 200, získané ze sbírky fytopatogenních bakterií VÚRV Praha-Ruzyně. Přítomnost fága proti konkrétnímu bakteriálnímu kmenu byla signalizována prosvětlenou zónou (plakem) v místě aplikace vzorku. Asi 1 mm² z plaku byl resuspendován v 1 ml pufru (10mM Tris-HCl, pH 7.4, 10mM MgSO₄, 150mM NaCl), filtrován přes bakteriální filtr a 1 μ l filtrátu byl v měkkém agaru spolu s příslušným bakteriálním kmenem kultivován 16 hod při 20°C. Tímto způsobem byl každý fág pasážován 5x. Fágový lyzát pro purifikaci byl připraven inokulací 200ml exponenciálně rostoucí kultury *Dickeya* ssp. CPPB 050 v LB médiu pasážovaným fágem a jeho kultivací při pomalém třepání 24 hod při 20 °C. Materiál byl odstředěn 15 min při 15 000 x g a supernatant byl filtrován přes bakteriální filtr. Fágy byly z filtrátu vysráženy pomocí 10 % PEG6000 a 4 % NaCl 16 hod při 10 °C a koncentrovány centrifugací 30 min při 20 000 x g. Fágový extrakt byl rozpuštěn v pufru a sterilizován filtrací.

Zdravé hlízy odrůdy 'Jasmína', 'Red Anna' a 'Bohemia' (jednalo se o citlivé odrůdy k bakteriím způsobujícím měkkou hnilobu bramboru) byly omyty pod tekoucí vodou pro odstranění ulpívajících zbytků půdy, dezinfikovány postřikem 70 % etanolem a osušeny po dobu 30 min.

Dezinfikované hlízy brambor byly nakrájeny na plátky přibližně 10 mm silné, které byly vyrovnány do sterilních uzavíratelných boxů z PVC. Do jednoho boxu bylo uloženo na vlhký filtrační papír (nasycený 200 ml vody) 4×10 plátků hlíz od každé varianty pokusu. Na plátky hlíz bylo nejprve pipetou naneseno 200 μ l fágového roztoku (10^{-8} PFU/ml). Plátky byly ponechány po dobu 10 minut, aby roztok mohl dobře difundovat do pletiv. Na plátky hlíz byly potom pomocí pinzety položeny sterilní papírové čtverečky o rozměru 9×9 mm nasycené bakteriální suspenzí (jednalo se o kmen *D. solani* CPPB-050 vykazující významnou pektinolytickou aktivitu, 500 tisíc jednotek na 1 ml). Jako pozitivní kontrola sloužila varianta bez ošetření plátků hlíz fágy (pouze inokulace bakteriální suspenzí). Jako negativní kontroly byly použity varianty s aplikací roztoku fágů a sterilní vody na papírové štítky. Od každé varianty pokusu byla provedena tři opakování pro potřebné statistické vyhodnocení. Potom byly boxy uzavřeny a uloženy při teplotě 21 °C. Po třech dnech inkubace bylo provedeno vyhodnocení pokusu. Účinnost ošetření testovanými fágy byla vypočtena dělením průměru oblasti bramborového plátku vykazujícím příznaky měkké hniloby a celkovým průměrem hlízy. Výsledky byly vyjádřeny v procentech. Potom bylo provedeno statistické vyhodnocení pokusu (program UNISTAT), kdy byla vzájemně porovnána průměrná infekce plátků hlíz bramboru jednotlivých variant pokusu.

Výsledky a diskuze

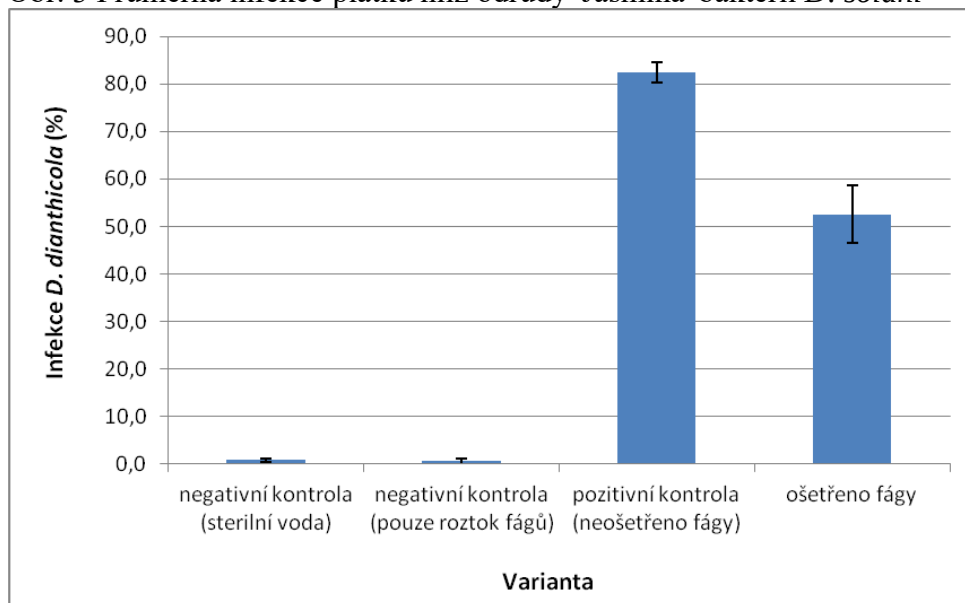
Experimentální data ukázala, že směs izolovaných lytických fágů ϕ Ds3CZ a ϕ Ds20CZ o koncentraci 10^{-8} PFU/ml účinně potlačovala měkkou hnilobu hlíz bramboru způsobenou bakterií *D. solani*. Na ošetřené variantě fágy byla zjištěna statisticky průkazně nižší infekce *D. solani* u všech testovaných odrůd bramboru (obr. 3 až 5). Na obr. 1 a 2 lze vidět patrný rozdíl mezi ošetřenou a neošetřenou variantou pokusu. Aplikace roztoku fágů na plátky bramboru před inokulací bakteriálním patogenem vedla ke snížení vývoje symptomů choroby v průměru o 47,5 % (obr. 6). Muturi *et al.* (2019) zjistil pomocí stejné metody snížení infekce druhem *P. carotovorum* vyšší než 50 %. Carstens *et al.* (2018) prokázal snížení infekce bakterií *D. solani* pomocí bakteriofágů o 93,3 % až 48,9 %.

Přestože aplikace směsi fágů ϕ Ds3CZ a ϕ Ds20CZ účinně snižovala příznaky měkké hniloby, nedokázala úplně eliminovat infekci, což je ve shodě s Muturi *et al.* (2019), který se zabýval fágy proti *P. carotovorum*. Není jasné, zda se bakterie, které vyvolají infekci na hlízách ošetřených fágy, stanou rezistentní vůči všem fágům ve směsi, nebo jakým způsobem se vyhnou infekci fágy. Pro snížení pravděpodobnosti vytvoření případné rezistence bakterií vůči všem fágům je vhodné pro účinné snížení infekce použít geneticky různorodou sadu fágů.

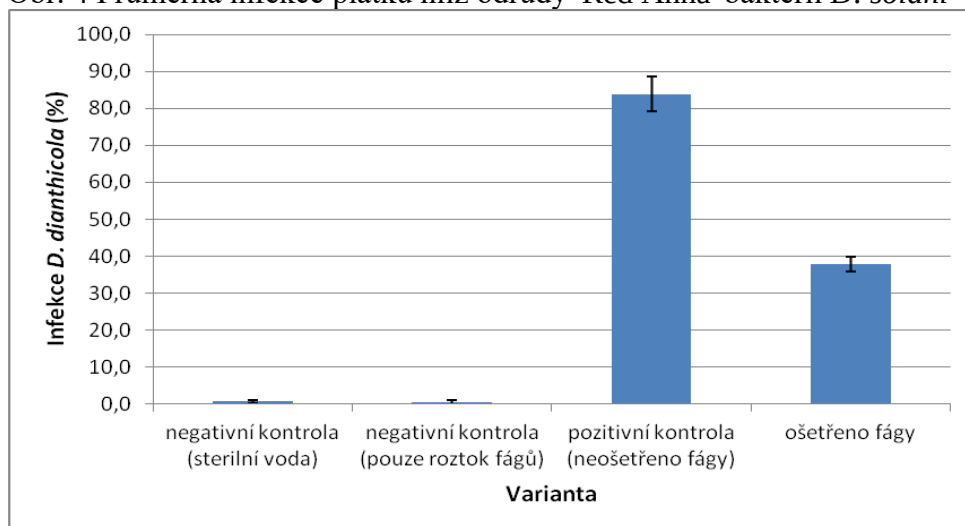


Obr. 1 Neošetřená varianta fágy ('Red Anna') Obr. 2 Ošetřená varianta fágy ('Red Anna')

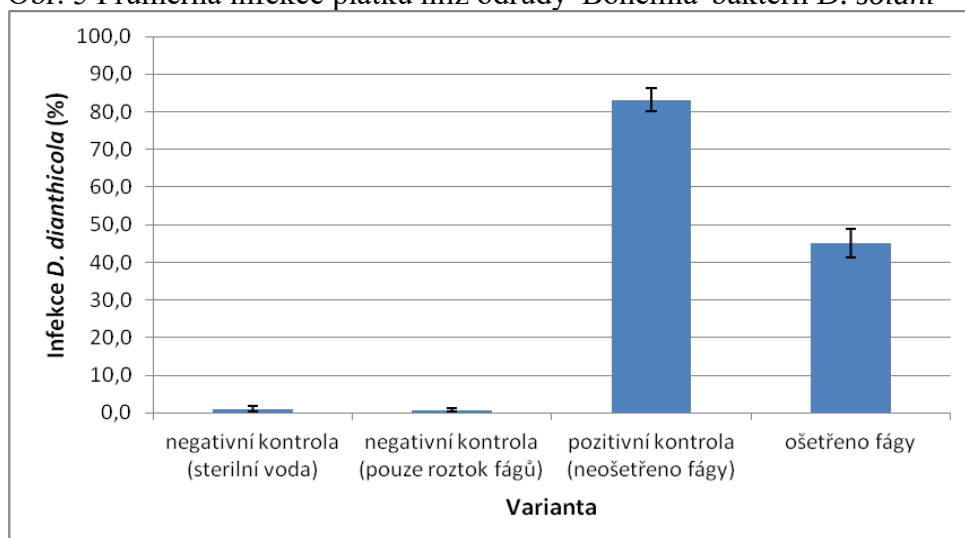
Obr. 3 Průměrná infekce plátků hlíz odrůdy 'Jasmína' bakterií *D. solani*



Obr. 4 Průměrná infekce plátků hlíz odrůdy 'Red Anna' bakterií *D. solani*

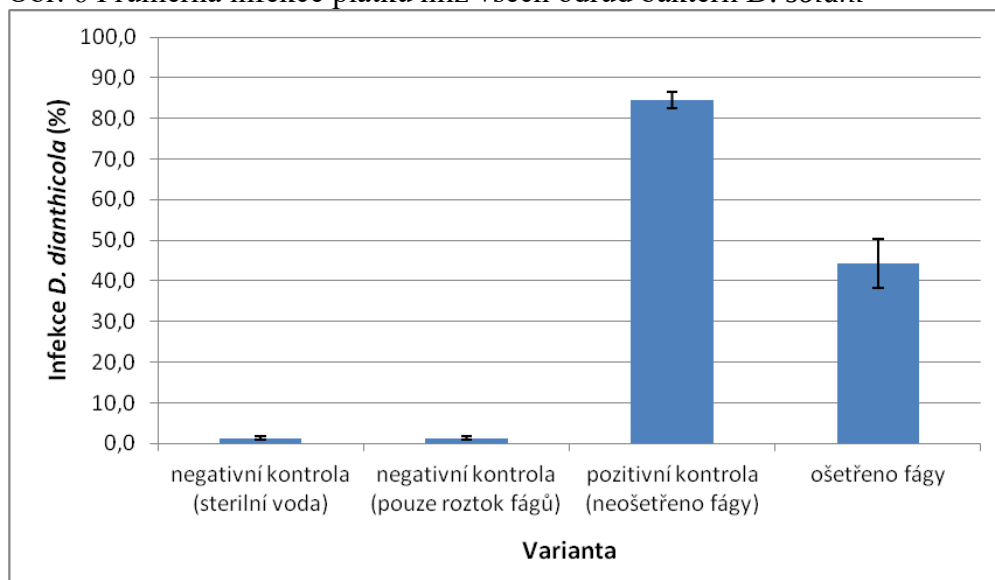


Obr. 5 Průměrná infekce plátků hlíz odrůdy 'Bohemia' bakterií *D. solani*



Možnost ochrany rostlin pomocí bakteriofágů byla studována u různých patogenních bakterií (např. *E. amylovora*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Ralstonia solanacearum*, *Streptomyces*, *Pseudomonas* sp., *Xanthomonas* sp., *Pectobacterium* sp., *Xylella fastidiosa*, *Dickeya* sp.) [Jones *et al.*, 2007; Monk *et al.*, 2010; Buttmer *et al.*, 2017]. Byly izolovány a identifikovány bakteriofágy, které byly účinné na druh *D. solani* v podmínkách *in vitro* (Czajkowski *et al.*, 2014). Adriaenssens *et al.* (2012) popsal T4 bakteriofágy proti *D. solani*, kdy došlo po jejich aplikaci ke zvýšení výnosu brambor. Různé výzkumné skupiny se zabývali účinností fágů na *Pectobacterium* spp. a *Dickeya* spp. v rostlinách a hlízách brambor *in vitro*, ve skleníkových podmínkách a v polních pokusech (Czajkowski, 2015). Komerčně byl vyvinut produkt na bázi bakteriofágů s názvem AgriPhage™ (Omnilytics) proti např. *P. syringe* pv. *tomato*, *Xanthomonas pruni*, *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, *Erwinia amylovora* (Monk *et al.*, 2010, Anonymus, 2020a). Dále byl na trh uveden přípravek Biolyse®-PB proti bakteriím z čeledi *Enterobacteriaceae* způsobujícím měkkou hnilobu bramboru (Anonymus, 2020b).

Obr. 6 Průměrná infekce plátků hlíz všech odrůd bakterií *D. solani*



Závěr

Pomocí laboratorních experimentů byla ověřena účinnost směsi lytických fágů ϕ DS3CZ a ϕ DS20CZ na infekci bakterií *D. solani* na plátcích hlíz bramboru. Roztok fágů účinně potlačoval symptomy měkké hniloby hlíz bramboru způsobené bakterií *D. solani*. Mezi ošetřenou a neošetřenou variantou byly zaznamenány statisticky významné rozdíly v infekci hlíz bramboru u všech testovaných odrůd. Aplikace směsi fágů na plátky bramboru před inokulací bakteriálním patogenem vedla ke snížení vývoje symptomů choroby v průměru o 47,5 %. Účinnost fágů je nutné ještě ověřit v poloprovozních a provozních podmínkách. Fágy by mohly být aplikovány po sklizni brambor pro snížení znehodnocení hlíz způsobené měkkou hnilobou během skladování, nebo bezprostředně před výsadbou brambor pro snížení infekce bakteriemi během vegetačního období. Udržení nízké úrovně kontaminace produkce brambor bakteriemi je v současné době velkým problémem. V případě dostatečné účinnosti na infekci lze bakteriofágy využít v ekologické produkci brambor pro ochranu proti bakteriím, která je šetrná k životnímu prostředí a bezpečná pro spotřebitele.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu NAZV QK1910028 „Biologická ochrana brambor proti vybraným patogenním bakteriím“.

Poděkování patří za poskytnutí potřebných kmenů bakterií Sbírcе fytopatogenních a zemědělsky prospěšných bakterií – Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha (Národní program genetických zdrojů mikroorganismů a drobných živočichů hospodářského významu).

Použitá literatura

- Abedon, S., T. 2008. Bacteriophage Ecology: Population Growth, Evolution and Impact of Bacterial Viruses. *Advances in Molecular and Cellular Microbiology*. Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Adriaenssens, E., M.; Van Vaerenbergh, J.; Vandenheuvel, D.; Vandenheuvel, D.; Dunon, V.; Ceyssens, P., J.; De Proft, M.; Kropinski, A. M.; Noben, J. P.; Maes, M. and Lavigne, R. 2012. T4-related bacteriophage LIME stone isolates for the kontrol of soft rot on potato caused by '*Dickeya solani*'. *PLoS One* 7:e33227.
- Anonymus, 2020a. OmniLytics Agriphage-cmm. [přístupné 8. října 2020]; dostupné online: <http://www.agriphage.com/wp-content/uploads/2018/11/67986-6-EPA-Final-Print-Label-AGRIPHAGE-CMM-10-23-18.pdf>.
- Anonymus, 2020b. APS-Biocontrol-Ltd. Biolyse®-pb. [přístupné 8. října 2020]; dostupné online: <http://www.apsbiocontrol.com/products>.
- Bradley, D., E. 1965. The morphology and physiology of bacteriophages as revealed by the electron microscope. *J R Microsc Soc* 84:257–316.
- Buttimer, C.; McAuliffe, O.; Ross, R. P.; Hill, C.; O'Mahony, J. and Coffey, A. 2017. Bacteriophages and bacterial plant diseases. *Front. Microbiol.* 8:34.
- Carstens, A., B.; Djurhuus, A., M.; Kot, W.; Sera, D., J.; Hatfull, G., F. and Hansen, L., H. 2018. Unlocking the Potential of 46 New Bacteriophages for Biocontrol of *Dickeya Solani*. *Viruses* 10, 621.
- Czajkowski, R. 2015. Bacteriophages of Soft Rot *Enterobacteriaceae* – a minireview. *FEMS Microbiology Letters*, 2016: 363, 2.
- Czajkowski, R., Ozymko, Z. and Lojkowska, E. 2014. Isolation and characterization of novel soilborne lytic bacteriophages infecting *Dickeya* spp. biovar 3 ("*D. solani*"). *Plant Pathol.* 63, 758–772.
- Czajkowski, R.; Pérombelon, M., C., M.; van Veen, J., A. and van der Wolf, J., M. 2011. Control of blackleg and tuber soft rot of potato caused by *Pectobacterium* and *Dickeya* species: a review. *Plant Pathol.* 60, 999–1013.
- Jones, J., B.; Jackson, L., E.; Balogh, B.; Obradovic, A.; Iriarte, F., B. and Momol, M., T. 2007. Bacteriophages for plant disease control. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45, 245–262.
- Jones, J., B.; Vallad, G., E.; Iriarte, F., B.; Obradović, A.; Wernsing, M., H.; Jackson, L., E.; Balogh, B.; Hong J., C.; and Momol, M., T. 2012. Considerations for using bacteriophages for plant disease control. *Bacteriophage* 2, 208–214.
- Marsh, P.; Wellington, E., M., H. 1994. Phage-host interactions in soil. *FEMS Microbiol Ecol* 15:99–107.
- Monk, A., B.; Rees, C., D.; Barrow, P.; Hagen, S. and Harper, D., G. 2010. Bacteriophage applications: where are we now? *Lett Appl Microbiol* 51: 363–9.
- Muturi, P.; Yu, J., Maina, A., N.; Kariuki, S.; Mwaura, F., B. and We, H. 2019. Bacteriophages Isolated in China for the Control of *Pectobacterium carotovorum* Causing Potato Soft Rot in Kenya. *Virologica Sinica* 34:287–294.
- Perombelon, M., C., M. and Kelman, A. 1980. Ecology of the soft rot Erwinias. *Annu Rev Phytopathol* 18:361–87.
- Reverchon, S., and Nasser, W. 2013. *Dickeya* ecology, environment sensing and regulation of virulence programme. *Environ. Microbiol. Rep.* 5, 622–636.
- Samson, R.; Legendre, J., B.; Christen, R.; Saux, M., F., L.; Achouak, W. and Gardan, L. 2005. Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder *et al.*, 1953) Brenner *et al.*, 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi* comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55, 1415–1427.
- Tian, Y.; Zhao, Y.; Yuan, X.; Yi, J.; Fan, J.; Xu, Z.; Hu, H.; De Boer, S. H. and Li, X. 2016. *Dickeya fangzhongdai* sp. nov., a plant-pathogenic bacterium isolated from pear trees (*Pyrus pyrifolia*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 66, 2831–2835.
- Toth, I., K.; van der Wolf, J., M.; Saddler, G.; Lojkowska, E.; Hélias, V.; Pirhonen, M., T.; Tsrör, L. and Elphinstone, J. G. 2011. *Dickeya* species: an emerging problem for potato production in Europe. *Plant Pathol.* 60, 385–399.

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 LNIČKY SETÉ (*CAMELIA SATIVA* L.) PROTI DŘEPČÍKŮM RODU *PHYLLOTRETA*

Possibilities of protection of *Camelina sativa* against insect pests of genus *Phyllotreta*

Kolařík, P.

Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko

Abstrakt

V letech 2018 až 2020 byla v maloparcelkových polních pokusech s lničkou setou ověřována účinnost perspektivních insekticidních přípravků (mořidel) proti dřepčíkům rodu *Phyllotreta*. Účinnost jednotlivých pokusných variant byla vyhodnocována na základě procentického poškození listové plochy na listech lničky způsobené žírem dřepčίκů. Porovnávány byly zároveň i s foliárním přípravkem Decis EW 15. Zkoušené přípravky vykazovaly velmi dobrou biologickou účinnost ve všech letech testování. Při hodnocení nebyly zjištěny projevy fytotoxicity na rostlinách.

Klíčová slova: ochrana rostlin, lnička setá, dřepčící rodu *Phyllotreta*, Decis EW 15, flupyradifuron

Abstract

In the years 2018 to 2020, the effectiveness of promising insecticides (seed treatments) against pests of the genus *Phyllotreta* was verified in small-plot field experiments with a *Camelia sativa*. The biological effectiveness of the individual experimental variants was evaluated on the basis of the percentage damage to the leaf area on the leaves of the *Phyllotreta* caused by the damage leaves area. They were also compared with the foliar preparation Decis EW 15. The tested preparations showed very good biological activity in all years of testing. No phytotoxicity was observed in plants during the evaluation.

Keyword: plant protection, *Camelia sativa*, insect pests of genus *Phyllotreta*, Decis EW 15, flupyradifuron

Úvod

Lnička setá *Camelina sativa* je jednoletá olejnína z čeledi brukvovitých, vhodná do sušších podmínek. Má krátkou vegetační dobu (3 až 3,5 měsíce) a její využití je především jako olejnína, meziplodina i jako zdroj pastvy pro opylovače (Anonymus, 2020).

Mezi její hlavní hmyzí škůdce patří dřepčící rodu *Phyllotreta* a to zejména dřepčík černonohý, dřepčík černý, dřepčík zelný a dřepčík polní (*Phyllotreta nigripes*, *P. atra*, *P. nemorum* a *P. undulata*). Mohou se vyskytovat také další druhy, ale význam je malý. Brouci jsou drobní, nejčastěji černí nebo se žlutým pruhem na každé krovce. Díky zesíleným stehňům na 3. páru noh dobře skáčou, zejména při vyrušení, létají velmi zřídka (Rotrekl, 2000).

Dřepčící škodí jako dospělci žírem na vzcházejících rostlinách, obvykle do fáze 4 pravých listů. Škody se zvyšují při teplém a suchém počasí v době vzcházení. Aktivita dřepčίκů naopak klesá s nižší teplotou. Pod 15–16 °C se brouci spíše jen ukrývají pod listy, a při teplotách pod 8–10 °C přestávají být aktivní. K větším poškozením od dřepčίκů je náchylný porost vzcházející pomalu a nevyrovnaně. Pesticidy jsou cíleny na zabránění žiru dospělců. Larvy těchto dřepčίκů neškodí, vyvíjejí se v půdě na drobných koříncích (Seidenglanz, 2020).

Moření osiva je jedním z úsporných a ekologicky přijatelných způsobů ochrany vzcházejících rostlin před hmyzími škůdci. Při moření osiva se do životního prostředí dostávají mnohem nižší dávky účinných látek na hektar než při plošné aplikaci insekticidů (Rotrekl, 2009). Pokud jsou

navíc použita mořidla se systémovým účinkem jsou zasaženy pouze ty skupiny hmyzu, které svým žírem rostliny poškozuji. Při takovém využívání pesticidních látek může současně s chemickým způsobem ochrany fungovat i snižování početnosti škůdce přirozeným odporem prostředí prostřednictvím predátorů či parazitoidů (Seidenglanz et al., 2010). Při srovnání ochrany vzcházejících porostů prostřednictvím foliární aplikace likvidujeme nejenom cíleného škůdce, ale i všechny jeho přirozené predátory či parazitoidy nacházející se přímo v porostech či přímo v jeho blízkosti (Rotrekl & Kolařík, 2013).

Tento příspěvek přináší tříleté výsledky testování vybraných insekticidních přípravků (mořidel) proti dřepčíkům rodu *Phyllotreta* u lničky seté.

Materiál a metody

V letech 2018 - 2020 byl založen na lokalitě Troubsko maloparcelkový polní pokus s cílem ověřit biologickou účinnost vybraných insekticidních přípravků (mořidel) proti dřepčíkům rodu *Phyllotreta*. Pokus se skládal z neošetřené kontrolní varianty 1 a variant s testovanými insekticidními přípravky – varianta 2 - BYI02960 (ú.l. flupyradifuron) v dávce 10,42 ml/kg osiva, varianta 3 - FLC&FXA FS 350 (ú.l. fluopicolide + fluoxastrobin) v dávce 10 ml/kg osiva, varianta 4 - BYI02960 a FLC&FXA FS 350 v dávce 10,42 ml/kg a 10 ml/kg osiva, varianta 5 – 7 Cruiser OSR (thiamethoxam, fludioxonil a metalaxyl-M) v dávce 1500 MLPR/100KGSEED, 37,5 MLPR/1000000SEED a 75 MLPR/1000000SEED, varianta 8 – foliární přípravek Decis EW 15 (ú.l. deltamethrin) v dávce 0,5 l/ha. Pokusné aplikace mořidel byly prováděny před setím na laboratorní mořiště Minirotostat. Velikost jednotlivých parcel byla 1,25 m² s úplné znáhodněnými bloky ve čtyřech opakováních. Pro zjištění účinnosti bylo využito hodnocení procentického poškození listové plochy rostlin žírem dospělců – celkem 50 rostlin na parcel, tj. celkem 200 rostlin na variantu. Termíny hodnocení byly stanoveny na základě vývojové fáze rostlin lničky (cca v 7denních intervalech) a to – BBCH 10-12, 14 a 16, stejně tak i hodnocení fytotoxicity použitých dávek mořidla. V případě postřikové varianty byla aplikace provedena na základě signalizace škůdce v porostu a hodnocení účinnosti pak provedeno následně ve 2 termínech po aplikaci.

Byl hodnocen průměrný výnos z jednotlivých testovaných variant přepočtený na t/ha, standartní vlhkost (9 %) a procentické stanovení (%REL) vůči neošetřené kontrole.

Výsledky byly statisticky zpracovány metodou jednofaktorové analýzy variance s následným testováním Tukey test (α 0,05) v programu UPAV GEP.

Výsledky a diskuze

V roce 2018 byli v prvním termínu hodnocení dne 25.4. zjištěni živí jedinci dřepčíků na kontrolní neošetřené variantě a na variantě s přípravkem Decis EW 15. Zároveň u těchto variant byly pozorovány příznaky žiru na vzcházejících rostlinách lničky. Poškození listové plochy se pohybovalo do cca 6 % (tabulka 1). U mořených variant se míra poškození listové plochy pohybovala v rozmezí od 0,4 % (varianta 4) do 1,89 % (variant 2). Velmi dobrá biologická účinnost u všech mořených variant pohybující se v rozmezí od 68,54 % do 93,33 %, bez zjištěného průkazného rozdílu mezi mořenými variantami ($F = 5,294$). V dalším termínu hodnocení kleslo procento poškozené listové plochy na neošetřené kontrolní variantě na 4,4 %. Byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi neošetřenou kontrolou a ošetřenými variantami ($F = 8,036$). Zároveň byla zjištěna velmi vysoká biologická účinnost u varianty s foliárním přípravkem Decis EW 15 (92,86 %). U mořených variant se procento poškozené listové plochy pohybovalo na velmi nízké úrovni – od 0,25 % do 0,86 %, bez zjištěného průkazného rozdílu. V posledním termínu hodnocení dne 7.5. nebylo žádné poškození zjištěno u variant 5 a 7, minimální pak u varianty 4. Celková míra poškození byla velmi nízká i na neošetřené kontrolní

variantě. Při hodnocení výskytu fytooxycity nebyly ani v jednom termínu hodnocení zjištěny negativní projevy mořidla na rostlinách lničky.

Při hodnocení výnosu bylo z důvodů výskytu extrémních povětrnostních podmínek v daném roce (sucho, velmi vysoké teploty) zjištěn velmi nízký průměrný výnos na všech pokusných variantách pohybující se v rozmezí od 0,198 t/ha (varianta 8) do 0,346 t/ha (varianta 2). Zvýšení výnosu v porovnání s neošetřenou kontrolou tak představovalo od 27,02 % do 68,9 %, s tím že u varianty 8 bylo zjištěno snížení výnosu v porovnání s neošetřenou kontrolou o 3,3 %. Zároveň ale nebyl mezi jednotlivými variantami zjištěn průkazný statistický rozdíl ($F = 1,198$).

Tabulka 1

Výskyt a biologická účinnost použitých insekticidů na dřepčíky rodu *Phyllotreta* u lničky seté v Troubsku v roce 2018

		2018							
		% poškození listové plochy			Biologická účinnost v %			výnos	
		25.4.	30.4.	7.5.	25.4.	30.4.	7.5.	t/ha	% REL
kontrola		6a	4,38a	0,88a	0	0	0	0,205a	100,00
BYI02960 (flupyradifuron)	10,42 ml/kg	1,89abc	0,44b	0,25ab	68,54	90,00	71,43	0,346a	168,93
FLC a FXA	10 ml/kg	1,34bc	0,25b	0,13ab	77,71	94,29	85,71	0,291a	141,95
BYI02960 + FLC a FXA	10,42 + 10 ml/kg	0,4c	0,61b	0,03ab	93,33	86,00	97,14	0,342a	166,95
Cruiser OSR	1500 MLPR/100KGSEED	1,31bc	0,86b	0b	78,12	80,29	100,00	0,296a	144,41
Cruiser OSR	37,5 MLPR/1000000SEED	1,04bc	0,74b	0,13ab	82,71	83,14	85,71	0,282a	137,24
Cruiser OSR	75 MLPR/1000000SEED	1,15bc	0,25b	0b	80,83	94,29	100,00	0,260a	127,02
Decis EW 15	0,5 l/ha	3,94ab	0,31b	0,38ab	*	92,86	57,14	0,198a	96,70

*biologická účinnost nebyla počítána (hodnocení před aplikací)

pozn.: a, b, c – statistické rozdíly v porovnání jednotlivých variant Tukey test ($\alpha 0,05$)

V roce 2019 bylo v prvním termínu hodnocení dne 17.4. zjištěno na neošetřené kontrole v průměru na jednu rostlinu 5,95 % poškozené listové plochy (tabulka 2). Stejná míra poškození byla sledována i u varianty 8 – zde se jednalo o hodnocení poškození před vlastní aplikací přípravku. U ošetřených mořených variant se procentické poškození listové plochy pohybovalo od 0,05 % do 1,23 %. Byl zjištěn průkazný rozdíl mezi neošetřenou kontrolou a ošetřenými variantami, mezi mořenými variantami bez rozdílu ($F = 15,572$). Biologická účinnost se pohybovala v rozmezí od 77,43 % do 99,08 %. V druhém termínu hodnocení dne 26.4. se na neošetřené kontrolní variantě snížila míra poškození listové plochy (3,85 %). Mezi ošetřenými variantami nebyl zjištěn průkazný statistický rozdíl ($F = 6,633$), nejnižší poškození listové plochy vykazovala varianta 4 – BYI02960 + FLC a FXA – 0,09 %. Biologická účinnost u všech sledovaných variant v rozmezí od 71,43 % do 92,99 %. V posledním termínu hodnocení zjištěno minimální procentické poškození listové plochy na všech variantách - od 0,05 % (varianta 4) do 0,85 % (varianta 1) bez zjištěného statistického rozdílu ($F = 1,589$).

Při výnosovém hodnocení bylo v roce 2019 zjištěno, že nejvyššího průměrného výnosu bylo dosaženo na variantě 5 (1,276 t/ha), nejnižšího pak na variantě 3 (1,083 t/ha). Při porovnání s neošetřenou kontrolou tak vlivem aplikace proti dřepčím došlo ke zvýšení výnosu v rozmezí od 3,78 % do 13,75 %, tj. od 43 kg do 155 kg/ha. U variant 3 a 8 došlo naopak v porovnání s neošetřenou kontrolou k poklesu zjištěného výnosu o 3,44 % resp. 0,3 %.

Zároveň nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi neošetřenou kontrolou a ošetřenými variantami ($F = 2,259$). Uvedené výsledky uvádí tabulka 2.

Tabulka 2

Výskyt a biologická účinnost použitých insekticidů na dřepčíky rodu *Phyllotreta* u lničky seté v Troubsku v roce 2019

		2019						
		% poškození listové plochy			Biologická účinnost v %			výnos
		17.4.	26.4.	29.4.	25.4.	30.4.	7.5.	t/ha % REL
kontrola		5,45a	3,85a	0,85a	0	0	0	1,121a 100
BYI02960 (flupyradifuron)	10,42 ml/kg	0,57b	0,44b	0,9a	89,54	88,57	-5,88	1,267a 113,02
FLC a FXA	10 ml/kg	1,23b	0,32b	0,82a	77,43	91,69	3,53	1,083a 96,56
BYI02960 + FLC a FXA	10,42 + 10 ml/kg	0,1b	0,09b	0,05a	98,17	92,99	94,12	1,164a 103,78
Cruiser OSR	1500 MLPR/100KGSEED	0,27b	0,89b	0,35a	95,05	76,88	58,82	1,276a 113,75
Cruiser OSR	37,5 MLPR/1000000SEED	0,14b	0,74b	0,20a	97,43	80,78	76,47	1,273a 113,53
Cruiser OSR	75 MLPR/1000000SEED	0,05b	1,10b	0,25a	99,08	71,43	70,59	1,267a 113,00
Decis EW 15	0,5 l/ha	3,9a	0,3b	0,35a	*	92,21	58,82	1,118a 99,70

*biologická účinnost nebyla počítána (hodnocení před aplikací)

pozn.: a, b – statistické rozdíly v porovnání jednotlivých variant Tukey test ($\alpha 0,05$)

V roce 2020 (tabulka 3) bylo v prvním termínu hodnocení dne 21.4. zjištěno na neošetřené kontrole v průměru na jednu rostlinu 5,95 % poškození listové plochy. Míra poškození u ošetřených variant se pohybovala v rozmezí od 0,02 % (varianta 7) do 1,18 % (varianta 3) s průkazným statistickým rozdílem mezi variantou 3 a 4, 5, 6 a 7 ($F = 63,577$). V následném termínu hodnocení byla zjištěna u ošetřených variant velmi dobrá biologická účinnost pohybující se v rozmezí od 73,09 % do 93,83 %. Mezi ošetřenými variantami bez zjištěného průkazného rozdílu ($F = 12,105$). V posledním termínu hodnocení dne 5.5. – minimální procento poškozené listové plochy u neošetřené kontrolní varianty (1,10 %), z ošetřených pak nejvíce u varianty 3 (0,75 %). U ostatních ošetřených variant zjištěna velmi dobrá biologická účinnost pohybující se v rozmezí od 72,73 % (varianta 8) do 96,36 % (varianta 4).

Při výnosovém hodnocení bylo v roce 2020 zjištěno, že nejvyššího průměrného výnosu bylo dosaženo u varianty 5 (1,816 t/ha), nejnižšího pak na neošetřené kontrolní variantě (1,508 t/ha). Vlivem cílené aplikace došlo u všech ošetřených variant ke zvýšení výnosu v rozmezí od 11,07 % - do 20,4 % tj. od 167 do 308 kg osiva na hektar. Byl zjištěn průkazný statistický rozdíl při porovnání neošetřené kontroly a variant 5, 6, 7 a 8 ($F = 3,569$).

Tabulka 3

Výskyt a biologická účinnost použitých insekticidů na dřepčíky rodu *Phyllotreta* u lničky seté v Troubsku v roce 2020

		2020							
		% poškození listové plochy			Biologická účinnost v %			výnos	
		21.4.	28.4.	5.5.	25.4.	30.4.	7.5.	t/ha	% REL
kontrola		5,95a	4,05a	1,10a	0	0	0	1,508b	100,00
BYI02960 (flupyradifuron)	10,42 ml/kg	0,61bc	0,48b	0,35abc	89,54	88,15	68,18	1,675ab	111,07
FLC a FXA	10 ml/kg	1,18b	0,37b	0,75ab	80,17	90,86	31,82	1,769ab	117,30
BYI02960 + FLC a FXA	10,42 + 10 ml/kg	0,12c	0,33b	0,04c	97,98	91,85	96,36	1,751ab	116,11
Cruiser OSR	1500 MLPR/100KGSEED	0,16c	1,09b	0,25bc	96,97	73,09	77,27	1,816a	120,40
Cruiser OSR	37,5 MLPR/1000000SEED	0,06c	0,58b	0,15bc	98,99	85,68	86,36	1,805a	119,70
Cruiser OSR	75 MLPR/1000000SEED	0,02c	0,87b	0,15bc	99,66	78,52	86,36	1,809a	119,95
Decis EW 15	0,5 l/ha	5,82a	0,25b	0,3bc	*	93,83	72,73	1,778a	117,88

*biologická účinnost nebyla počítána (hodnocení před aplikací)

pozn.: a, b, c – statistické rozdíly v porovnání jednotlivých variant Tukey test (α 0,05)

Lnička setá je nenáročná plodina na pěstování. Její využití spočívá především jako meziplodina, lze ji ale využít také pro olej či včelí pastvu (Anonymus, 2020). Z hlediska ochrany je nutno především u založených porostů sledovat výskyt hmyzích škůdců, které mohou způsobit škody na vzcházejících rostlinách a s tím spojené snížení jejich početnosti, resp. výnosu. Dřepčíci rodu *Phyllotreta* se řadí mezi významné škůdce celé řady brukvovitých polních plodin včetně zeleniny, kde způsobují významné ztráty asimilační plochy v podobě žíru dospělců na listech (Rotrekl, 2000). V rámci ochrany proti nim lze při překročení jejich prahu škodlivosti použít u lničky seté insekticidní přípravek Decis Protech a Decis forte (ú.l. deltamethrin) v registrované dávce (Anonymus, 2020).

Moření osiva je po stránce ekonomické i ekologické nejvhodnější způsob ochrany vzcházejících porostů (Seidenglanz et al., 2010). Foliární aplikace hubí kromě škůdců i celou řadu dalších včetně užitečných, predátorů a opylovačů, kteří se v zemědělské krajině vyskytují, a negativně tak tyto populace mohou ovlivnit., kdežto při moření osiva účinná látka insekticidu působí pouze na druhy poškozující rostlinná pletiva (Rotrekl 2009). Po zákazu tří neonicotinoidních účinných látek, které byly nedílnou součástí ochrany celé řady polních plodin, je tak nutno hledat vhodné alternativy ochrany proti hmyzím škůdcům. V maloparcelových polních pokusech byla sledována míra poškození listové plochy u starších typů mořidel (Cruiser OSR) v porovnání s perspektivními mořidly jež by mohly být v nejbližší době používány u celé řady polních plodin. Mořidlo Cruiser OSR, obsahující neonicotinoidní látky již v tuto chvíli nebude vlivem neschválení dané účinné látky k dispozici v ochraně polních plodin. V našich pokusech vykazovalo toto mořidlo ve všech sledovaných dávkách velmi dobrou biologickou účinnost s minimální poškozenou listovou plochou. Velmi dobrá biologická účinnost pak byla zjištěna ve všech letech sledování zároveň u varianty 4 (BYI02960 + FLC a FXA). Toto mořidlo by se tak v budoucnu mohlo stát jako velmi efektivní v ochraně proti danému škodlivému organismu u dané plodiny a nejenom této. Zároveň je nutno konstatovat, že u žádné sledované varianty nebyly zjištěny příznaky fytotoxycity na rostlinách ve všech letech sledování.

Závěr

Z výsledků testování insekticidních přípravků (mořidel) lze konstatovat jejich dobrou biologickou účinnost proti dřepčíkům rodu *Phyllotreta* u lničky seté. Při sledování vlivu aplikace na procentické poškození listové plochy rostlin, resp. jejich biologickou účinnost byl zjištěn staticky průkazný rozdíl v porovnání s neošetřenou kontrolní variantou ve všech letech sledování, s následným pozitivním dopadem do výnosu v podobě zvýšení množství sklizeného semene. Zároveň nebyly zjištěny v porostech žádné negativní projevy na rostlinách ve všech letech sledování.

Literatura

Anonymus (2020): Registr přípravků na ochranu rostlin

Dostupné z:

<http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx> [online] [13.10.2020]

Anonymus (2020): Odrůdy

Dostupné z: <https://www.vupt.cz/cz/odrudy/lnicka-seta> [online] [13.10.2020]

Kolařík, P., Rotrekl, J. (2015): Ochrana vzcházejících porostů víceletých píceň před hmyzími škůdci, Agromanuál, roč. 10, č. 4, s 68 – 69

Rotrekl, J. (2000): Zemědělská entomologie. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 84 s

Rotrekl, J. (2009): Hmyzí škůdci semenných porostů vojtěšky (*Medicago sativa* L.) a ochrana proti nim. Certifikovaná metodika 4/09. 30 s.

Rotrekl, J., Kolařík, P. (2013): Hmyzí škůdci v porostech vojtěšky pěstované na semeno a ochrana proti nim. Rostlinolékař, roč. 24, č. 3, s. 17 – 19.

Seidenglanz, M., Rotrekl, J., Smýkalová, I., Poslušná, J., Kolařík, P. (2010): Differences between the effects of insecticidal seed and foliar treatments on pea leaf weevils (*Sitona lineatus* L.) in the field pea (*Pisum sativum* L.), Plant Protection Science, Vol.46, No.1, pp.25-33

Dedikace

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

Kontaktní adresa

Ing. Pavel Kolařík

Zemědělský výzkum, spol. s r.o.

664 41 Troubsko, Zahradní 1

e-mail: kolarik@vupt.cz

OVĚŘENÍ ÚČINNOSTI PŘÍPRAVKŮ PROTI *MARSSONINA CORONARIA* V POLNÍCH PODMÍNKÁCH

Verification of the effectiveness of preparations against *Marssonina coronaria* in field conditions

Kracíková M., Jaklová P.

Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.

Abstrakt

V roce 2019 (odrůda 'Spartan') a 2020 (odrůda 'Golden Delicious') byl sledován vliv účinnosti přípravků na ochranu rostlin proti patogenu *Marssonina coronaria* v polních podmínkách. Tento patogen způsobuje poškození především v ekologickém systému pěstování jablek. Z tohoto důvodu byly pro testování vybrány nejen konvenční fungicidy, ale také alternativní přípravky, vhodné k aplikaci v ekologickém systému. V rámci zajištění dostatečné míry infekce byla provedena umělá inokulace pokusné výsadby. Bylo vyhodnoceno napadení listů a spočítán procentuální rozsah napadení a účinnosti jednotlivých přípravků. Z pokusu vyplývá, že nejúčinnějším přípravkem v obou letech byl Faban s účinnou látkou dithianon + pyrimethanil. Účinnost ostatních testovaných přípravků se v obou letech mírně lišila v závislosti na vybrané odrůdě. Z vybraných alternativních přípravků byla v obou letech vyšší účinnost u přípravku Imunofol (50 %) než u přípravku PowerOf-K.

Klíčová slova: jablono, fungicidy, *Marssonina coronaria*, účinnost

Abstract

In 2019 ('Spartan' variety) and 2020 ('Golden Delicious' variety), the effect of plant protection products against the pathogen *Marssonina coronaria* in field conditions was monitored. This pathogen causes damage mainly in the ecological system of apple growing. For this reason, not only conventional fungicides but also alternative preparations suitable for application in an ecological system were selected for testing. To ensure a sufficient rate of infection, artificial inoculation of the experimental planting was performed. Leaf infestation was evaluated and the percentage extent of infestation and efficacy of individual preparations was calculated. The experiment shows that the most effective product in both years was Faban with the active substance dithianon + pyrimethanil. The effectiveness of the other tested products differed slightly in both years depending on the selected variety. Of the selected alternative products, Imunofol (50 %) was more effective than PowerOf-K in both years.

Key words: apple, fungicides, *Marssonina coronaria*, efficacy

Úvod

Patogen *Diplocarpon mali* (anamorfa *Marssonina coronaria*), způsobující houbovou chorobu skvrnitost listů jablek, je závažná a široce rozšířená choroba vedoucí k významným ztrátám produkce jablek zejména v jižní a východní Asii. V současnosti jsou infekce tímto patogenem problémem v některých oblastech Číny. V Evropě byl tento patogen poprvé objeven v roce 2001 v Itálii a od té doby se šíří ve Švýcarsku a jižním Německu. V České republice byl první výskyt zaznamenán v roce 2015 na jabloních v domácích zahradách. Častěji se objevuje v jabloňových sadech v ekologickém režimu pěstování, případně v sadech určených pro produkci jablečného moštu se sníženým fungicidním ošetřením (Scharer a kol., 2019).

Houba přezimuje v opadaném listí, a na jaře vytváří apotécia, ze kterých dochází k uvolňování askospor. Ty jsou vlivem větru a srážek roznášeny do okolí a napadají mladé listy jabloní. Houba způsobuje černé skvrny na plodech a na horní straně listů se objevují černo-fialové skvrny, které se někdy mění v léze podobné hvězdám. V těchto skvrnách se tvoří malé černé útvary zvané acervuly produkující konidie, které způsobují sekundární infekce listů a výjimečně i plodů. V důsledku napadení dochází k předčasnému opadu listů, což má za následek oslabenou fyziologickou rovnováhu, sníženou vitalitu a výnos stromů (Wohner, 2018).

K omezení šíření patogenu patří podpora hnojení, odstranění spadlého listí z výsadby, řez korun stromů za účelem zvýšení cirkulace vzduchu a aplikace fungicidů. Uvádí se, že patogen je málo citlivý k aplikacím přípravků obsahujících měď, které jsou povoleny v ekologickém zemědělství. Všeobecným předpokladem je, že nejúčinnější možností regulace patogenu je pěstování rezistentních odrůd. Důvod rozšíření *M. coronaria* do Evropy není objasněn. Domněnkou je, že roky 2010 a 2011 s vyššími srážkami zaznamenanými v průběhu vegetace významně přispěly k šíření tohoto patogenu (Vávra a kol., 2016).

Cílem naší studie bylo zjistit vliv fungicidů a alternativních přípravků na rozvoj choroby po umělé inokulaci za účelem inovace systému ochrany jabloní proti této houbové chorobě v polních podmínkách.

Materiál a metody

V roce 2019 byl založen maloparcelkový pokus v experimentální výsadbě VŠÚO Holovousy (Východočeský kraj, okres Jičín, řepařská výrobní oblast, nadmořská výška 285 m.n.m.) na odrůdě 'Spartan', v roce 2020 byl pokus zopakován na odrůdě 'Golden Delicious'. Z důvodu omlazení sadu, došlo k vykácení odrůdy 'Spartan', byla v dalším roce vybrána odrůda 'Golden Delicious'. Byla hodnocena účinnost aplikací konvenčních fungicidů registrovaných do jádovin a alternativních přípravků na ochranu rostlin, jejichž seznam je uveden v Tabulce 1. Do polních testů byly vybrány takové alternativní přípravky, jež v předchozím roce 2018 v námi prováděných skleníkových testech vykazaly proti *M. coronaria* nejvyšší účinnost (Jaklová a kol., 2019). Přípravky byly aplikovány preventivně motorovým zádovým postřikovačem SOLO s podporou vzduchu v objemu postřikové kapaliny 1000 L/ha. Z důvodu zajištění dostatečné míry infekce byla následně provedena inokulace houbou *M. coronaria*.

Vzhledem k tomu, že předpokládaným mechanismem účinku alternativních přípravků zařazených do testu, je vyvolání imunitní reakce rostliny, jež si ale vyžaduje určitý čas, byla provedena umělá infekce až po 48 hodinách od ošetření. Jako inokulum byla použita suspenze konidií setřených do vody z infikovaných listů přinesených z domácí zahrady o koncentraci 11×10^4 spor/ml. Inokulace byla provedena za oblačného odpoledne a, jak ukazuje graf 1, stromy byly zakryty plastovou plachtou, aby se udržela vysoká vzdušná vlhkost, a tím vhodné podmínky pro vznik infekce. Plachty byly druhý den odebrány z ošetřeného porostu. Hodnocení bylo provedeno po cca 3 týdnech od inokulace podle metodiky VŠÚO Holovousy uvedené v Tabulce 2. U každé varianty byla hodnocena čtyři opakování (1 opakování = 1 strom). Vždy bylo hodnoceno 4x100 listů z varianty, přičemž se odebraly vždy po řadě všechny listy z výhonu (Obr.2). Zároveň bylo sledováno množství srážek, teplota vzduchu v období od aplikace přípravků po vyhodnocení listů (Graf 1 a 2). Poté bylo spočítáno celkové procento napadení a při srovnání s neošetřovanou kontrolou byla dle Abbotta (1925) vypočtena biologická účinnost jednotlivých variant.

Tab. 3: Seznam testovaných přípravků

Název přípravku	Účinná látka	dávka
Dithane DG Neotec	mankozebl	2 kg/ha
Faban	dithanion, pyrimethanil,	1,2 kg/ha
PowerOf-K	draselné hnojivo	10 l/ha
Imunofol	chelát zinku 3,1 %, kyselina octová, chitosan hydrochlorid, aminokyseliny	3 l/ha

Pokusné varianty:

- V1)** Kontrola bez ošetření
- V2)** Dithane DG Neotec (mankozebl) – 2 kg/ha
- V3)** Faban (dithianon + pyrimethanil) – 1,2 kg/ha
- V4)** PowerOf-K – 10 l/ha
- V5)** Imunofol – 3 l/ha

Tab. 2: Termíny aplikace, BBCH - 85

2019- odrůda 'Spartan'	2020 – odrůda 'Golden Delicious'
27.8.2019 – aplikace přípravků	25.8.2020 – aplikace přípravků
29.8.2019 – inokulace <i>M. coronaria</i>	27.8.2020 – inokulace <i>M. coronaria</i>
15.9.2019 – hodnocení napadených listů	17.9.2020 – hodnocení napadených listů



Obr. 1: Pokusné varianty před sundáním plachet

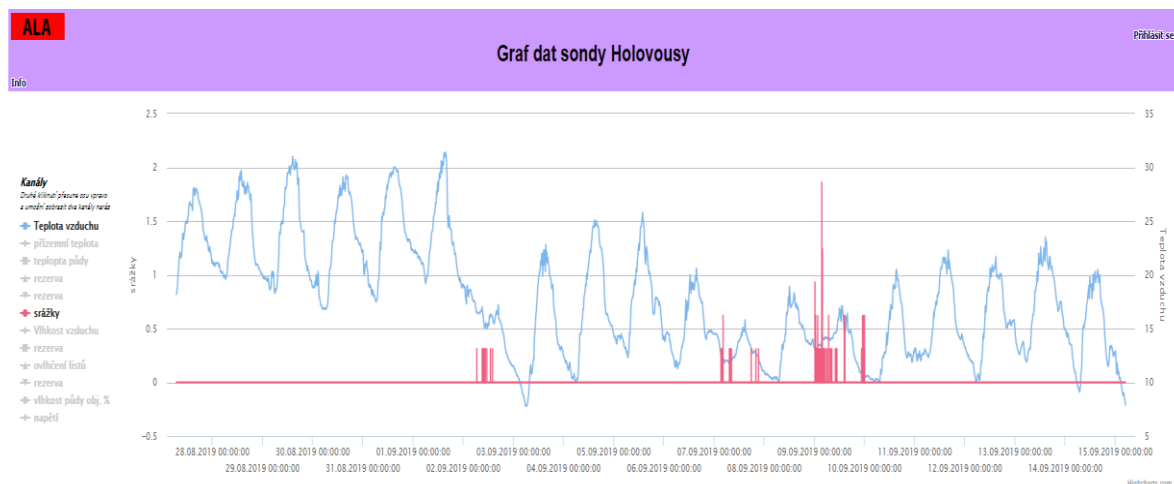
Tab. 3: Pětibodová stupnice k hodnocení napadení listů

0	bez napadení
1	napadeno 1-10% plochy listu
2	napadeno 11-30% plochy listu
3	napadeno 31-50% plochy listu
4	napadeno > 50% plochy listu, listy žloutnou, opadávají

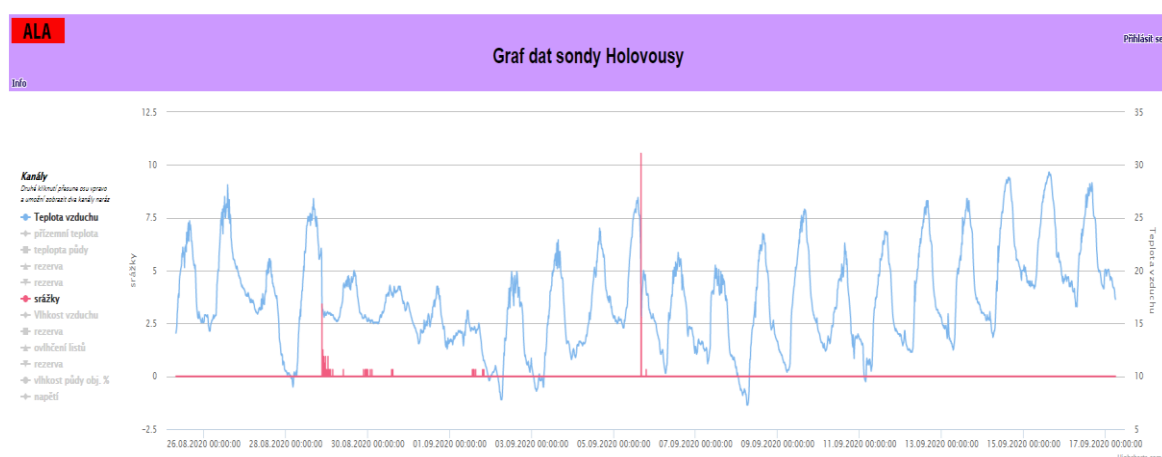


Obr. 2: Napadení listů houbou *Marssonina coronaria*

Graf 1: Znázornění množství srážek, teploty vzduchu v období aplikace přípravků – vyhodnocení napadení listů v roce 2019



Graf 2: Znázornění množství srážek, teploty vzduchu v období aplikace přípravků – vyhodnocení napadení listů v roce 2020



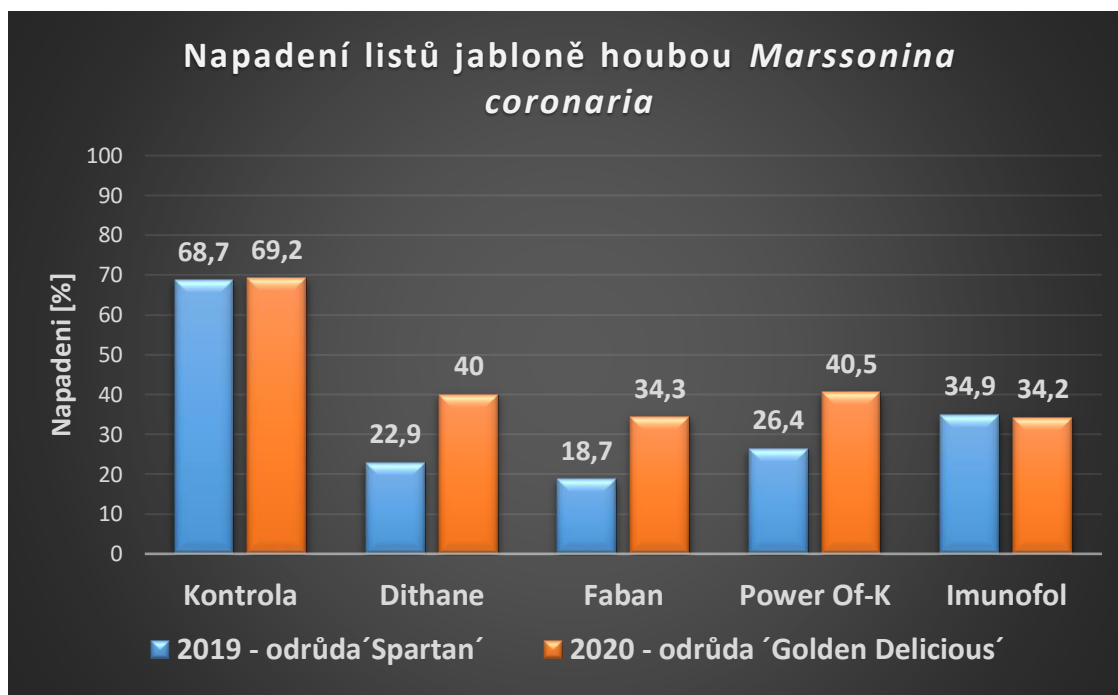
Výsledky a diskuze

Pokus probíhal na dvou odrůdách 'Spartan' a 'Golden Delicious'. Z našich výsledků vyplývá, že v roce 2019 bylo u odrůdy 'Spartan' celkově zaznamenáno nižší napadení u všech testovaných přípravků než v roce 2020 u odrůdy 'Golden Delicious', která je obecně k houbovým chorobám citlivější. Nejvyšší účinnost 73 a 50 % byla v obou letech testování zaznamenána u konvenčního fungicidu Faban. Účinnost 62 % byla nalezena v roce 2019 u kontaktního fungicidního přípravku Dithane DG Neotec (úč.látka mancozeb), v roce 2020 byla pak účinnost téhož fungicidu 42 %. Zařazení přípravků na bázi mancozebu do postřikového plánu doporučují také autoři Takahashi *a kol.* (2014) a Kumar and Sharma (2016), kteří studovali infekční cykly a managementy ochrany proti houbě *M. coronaria*. Alternativní přípravek Imunofol, vykazoval účinnost 50 % v obou letech. Dalším testovaným alternativním přípravkem bylo draselné hnojivo PowerOf-K, které u odrůdy 'Spartan' vykazoval účinnost 61 % a u odrůdy 'Golden Delicious' 41 % (Graf 3 a 4).

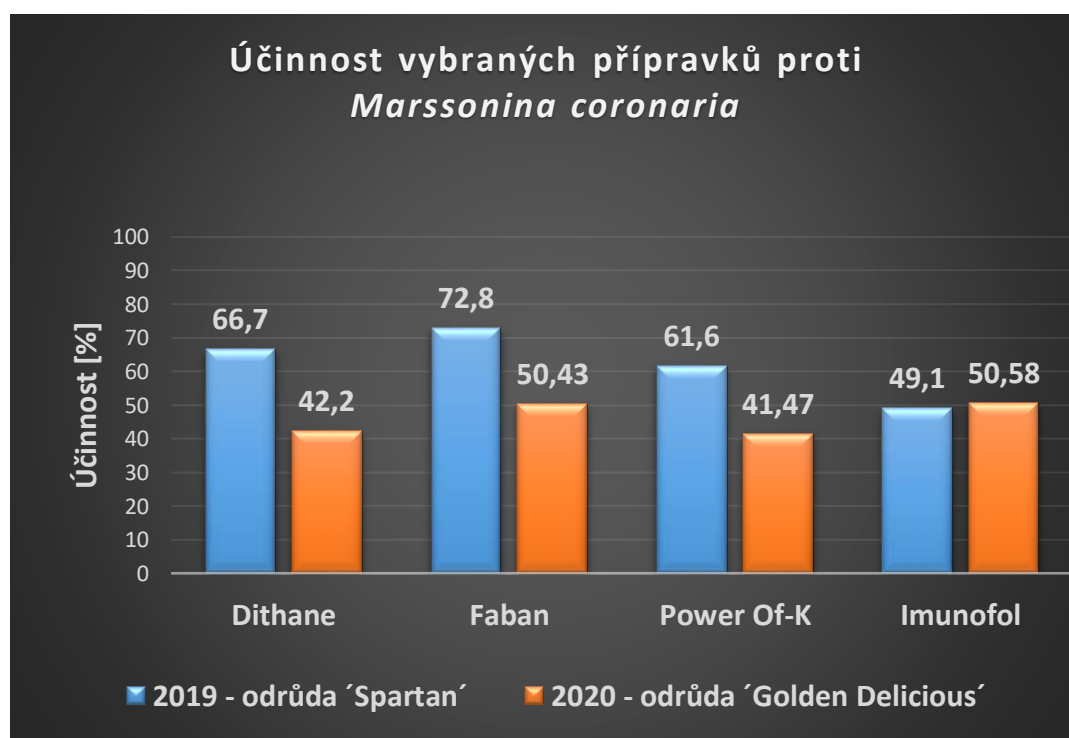
Ve skleníkových testech probíhajících v roce 2018 ve VŠÚO Holovousy na kontejnerovaných rostlinách odrůdy 'Golden Delicious', kde byly aplikovány alternativní přípravky PowerOf-K a Imunofol, byla účinnost aplikovaných přípravků vyšší než v polních podmínkách. U

přípravku PowerOf-K byla stanovena účinnost 93 % a u přípravku Imunofol 88,5 %. Tento fakt lze vysvětlit charakteristickými podmínkami venkovního prostředí, především vystavení vyššímu infekčnímu tlaku a rozdílným teplotním podmínkám, než je tomu u skleníkových testů. Zejména v roce 2019 byly z důvodu četnějších srážek příznivější podmínky pro šíření infekce a současně mohlo dojít i k částečným smyvům aplikovaných přípravků.

Graf 3: Napadení listů jabloně houbou *Marssonina coronaria* v letech 2019 a 2020 – lokalita VŠÚO Holovousy



Graf 4: Biologická účinnost testovaných přípravků proti *Marssonina coronaria* v letech 2019 a 2020 – lokalita VŠÚO Holovousy



Závěr

Předmětem výzkumu této práce byl patogen *M. coronaria*, nepůvodní invazivní druh proti kterému nejsou v České republice registrovány žádné přípravky. Naším předmětem výzkumu bylo hledat fungicidy a alternativní přípravky účinné v preventivních ošetřeních proti napadení patogenem *Marssonina coronaria*. Ukázalo se, že je vhodné přípravky testovat v různých podmínkách a hledat co nejvhodnější mechanismy ošetření proti tomuto patogenu. Při testování účinnosti vybraných přípravků bylo nejlepších výsledků dosaženo u přípravku Faban, Dithane DG Neotec. Z alternativních byl testován Imunofol (50% účinnosti v obou letech) a PowerOf-K (61% v roce 2019, 41% v roce 2020). V současné době, kdy je snaha o snížení používání mědi v ekologické produkci, by mohly být tyto přípravky využity v případě šíření choroby.

Dedikace

Tato práce byla realizována v rámci projektu NAZV QK1710200 a za finanční podpory MŠMT v rámci programu NPU I - LO1608 – „Výzkumné ovocnářské centrum“.

Použitá literatura

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol.; **18** 265-267.
- Jaklová, P., Hortová, B., Kloutvorová, J. 2019. Srovnání účinnosti přípravků proti houbě *Marssonina coronaria* způsobující skvrnitost listů jabloně. Zahradnictví. 2: 18–20. ISSN 1213-7596.
- Kumar, A.; Sharma J.N. (2016) Evaluation of post-symptom activities of fungicides against *Marssonina coronaria* causing premature leaf fall in apple. Indian Phytopathology 69 (3):278-285.
- Schärer, H.J; Ludwig, M.; Oberhänsli, T.; Bohr, A.; Buchleither, S. and Tamm, L. (2018) Multi-dimensional approach against *Marssonina coronaria* in apple (Abstr.). In: *Phytopathology*, 108 (S1), p. 177
- Takahashi, S.; Sawamura, K., and Sato, Y. (2014). *Marssonina blotch* In: T.B Sutton, H. S. Aldwinckle, A. M. Agnello, and J. F. Walgenbach (eds.), *Compendium of Apple and Pear Diseases and Pests*. American Phytopathological Society, St. Paul: p 46-47.
- Vávra, R., Čmejla, R. 2016. Předčasný opad listů jabloní způsobený houbovými patogeny. Zahradnictví 11/2016. p.15.
- Wöhner, T., Emeriewen, O. F. 2018. Apple blotch disease (*Marssonina coronaria* (Ellis & Davis) Davis). *European Journal of Plant Pathology* volume 153, p. 657–669(2019)

Kontaktní adresa:

Mgr. Michaela Kracíková
Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.
Holovousy 129, Hořice 508 01
+420 491 848 214,
e-mail: Michaela.KRACIKOVA@vsuo.cz

VÝZNAM FOMOVÉHO ČERNÁNÍ STONKU ŘEPKY V ČR The Importance of Blackled of Rapeseed in the Czech Republic

Plachká E.¹, Šafář J.²

¹OSEVA PRO s.r.o., oz Výzkumný ústav olejnin Opava; OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.

²Agritec Plant Research s.r.o., Šumperk

Abstrakt

Pozorovací stanoviště pro hodnocení výskytů fomového černání stonku řepky byla založena v roce 2018 a 2019. Bylo sledováno napadení listů na podzim a stonků a kořenových krčků v době dozrávání řepky olejky. Po zásevu jsme hodnotili výskyty askospor patogenů *Leptosphaeria maculans*, *L. biglobosa* na lokalitách Opava a Šumperk. Dosažené výsledky ukazují rozdílný význam obou patogenů v pěstování řepky olejky v ČR.

Klíčová slova: řepka olejka ozimá, fomové černání stonku řepky, význam, ČR

Abstract

Observation posts for the evaluation of the occurrence of blackled of rapeseed stem were established in years 2018 and 2019. Infestation was monitored of leaves in autumn and stems and root necks in the ripening of rapeseed. We evaluated the occurrences of ascospores of the pathogens *Leptosphaeria maculans*, *L. biglobosa* on the localities Opava and Šumperk after sowing. The achieved results show the different importance of this disease in growing of oilseed rapeseed in the Czech Republic.

Keywords: winter oilseed rapeseed, blackled of rapeseed stem, importance, Czech Republic

Úvod

Řepka olejka ozimá je významnou kulturní plodinou. Podle stavu k 30. listopadu 2019 byla vyseta na 369 tis. ha. Meziročně byla plocha řepky ozimé o 10 tis. ha (-2,7 %) nižší. Součástí pěstitelské technologie je ochrana proti chorobám, která vychází ze znalosti lokality pěstování a odolnosti odrůd. Odolnost odrůd k původcům chorob je jedním z hlavních parametrů hodnocení jejich výkonu ve státních odrůdových zkouškách. Mezi hlavní stonkové a kořenové choroby je jako první zařazena choroba fomové černání stonku brukvovitých (Zehnálek 2019). Původcem této choroby u řepky je komplex patogenů *Leptosphaeria maculans* (Desm.) Ces. Et de Not a *Leptosphaeria biglobosa* (Shoemaker & Brun 2001). Patogeny jsou příčinou předčasného odumírání rostlin v Austrálii, Kanadě a Evropě (West et al. 2001, Jedryczka et al. 2010). V případě výskytu onemocnění jsou obvyklé ztráty při sklizni <10 %, i když mohou dosáhnout 30 až 50 % (West et al. 2001). K dalším faktorům ochrany proti chorobám patří ošetření prováděná na základě vyhodnocení infekčního tlaku patogenů – signalizace výskytů choroby. Jednou z možností je využití systémů signalizace epidemiologie chorob pracujících na základě záchytů spor patogenů *L. maculans*, *L. biglobosa* ze vzduchu (web SPEC). Cílem práce je shromáždit data o napadení vybraných odrůd řepky olejky patogenem *Leptosphaeria maculans* v podmínkách ČR.

Materiál a Metody

Polní testy byly založeny na pozorovacích stanovištích v ČR. Pozorování byla prováděna v ročníkách 2018/2019 a 2019/2020. V prvním ročníku bylo hodnoceno 9 stanovišť, v druhém 11. Jedná se o stanoviště, kde jsou zakládány státní a mezistaniční zkoušky výkonů odrůd řepky olejky ozimé. Stanoviště leží v teplých a chladných oblastech ČR. Teplá oblast je

charakterizována dlouhodobou průměrnou teplotou v rozmezí 7,5-9,1 °C, nadmořskou výškou 171-505 m a dlouhodobým průměrným úhrnem srážek 450-738 mm. Převážně zahrnuje zemědělskou výrobní oblast kukuřičnou a řepářskou. Chladná oblast je charakterizována průměrnou teplotou v rozmezí 6,1-7,8 °C, nadmořskou výškou 445-647 m a dlouhodobým úhrnem srážek 585-708 mm. Zahrnuje převážně zemědělskou výrobní oblast bramborářskou. Jedná se o oblasti s velmi dobrými, dobrými nebo převažujícími příznivými podmínkami pro pěstování řepky olejky (Zehnálek 2019). Přehled stanovišť a jejich zařazení do oblastí je uveden v Tabulce 2.

Hodnocení: Na podzim bylo provedeno sledování výskytů fomového černání na listech 9 – bez výskytu, 1 – velmi silný výskyt nad 30 % rostlin (UKZUZ 2019). V době dozrávání bylo provedeno hodnocení napadení spodní části stonku a napadení kořenového krčku na kolmém řezu 1 – bez napadení, 5 – napadeno 100 % plochy, rostlina odumřela dle aktuální metodiky EPPO pro daný typ hodnocení (EPPO PP1/78). Sledované genotypy řepky: 4 starší odrůdy řepky olejky s definovanými geny odolnosti vůči patogenu *Leptosphaeria maculans*: Bristol, Columbus, Darmor, JetNef.

Sledovaná lokalita záchytu askospor Opava se nachází v řepářské výrobní oblasti v nadmořské výšce 268 m. Dlouhodobá průměrná roční teplota je 8,6 °C a roční úhrn srážek 567,6 mm. Jedná se o teplou oblast. Lokalita Šumperk spadá do bramborářské výrobní oblasti, průměrná roční teplota činí 7,27 °C a průměrný roční úhrn srážek je 702,2 mm, nadmořská výška 317 m. Jedná se o chladnou oblast. Tyto dvě lokality jsou zařazeny do pozorovacích stanovišť s vybranými odrůdami řepky.

Monitoring askospor patogenů *Leptosphaeria maculans* a *L. biglobosa* ve vzduchu probíhal nepřetržitě v období od 1. září do 30. října (podzim) za pomoci sedmidenních lapačů spor výrobce AMET. Lapače aktivně nasávají vzduch se spory a pylem. Ty jsou zachycovány uvnitř lapače na pásku pokrytou vazelínou. Páska je umístěna na otočný válec, který se otáčí rychlostí 2 mm/h. Po uplynutí jednoho týdne byla páska z bubnu odstraněna a nasazena nová. Sundaná páska byla rozdělena na díly o velikosti 48 mm. Každý z dílů představuje 24 hodin činnosti lapače. Díl s denními záchyty byl umístěn na podložní sklíčko, zafixován pomocí fixační látky (gelvatol a trypanová modř) a krycího sklíčka. Pozorováním preparátu pod mikroskopem při zvětšení 312,5× byl určen počet zachycených askospor sledovaných patogenů. Askospory *L. maculans* a *L. biglobosa* mají specifický tvar a přesnou velikost, tudíž jsou snadno rozpoznatelné od spor ostatních patotypů. S ohledem na podobnost askospor druhů *L. maculans* a *L. biglobosa* nebylo možné pomocí mikroskopického pozorování určit konkrétní druh, ale pouze počet askospor obou druhů dohromady, kdy odečtené spory mohou patřit k jednomu ze zmíněných druhů nebo k oběma druhům v různých poměrech.

Výsledky a diskuze

Získané výsledky potvrzují, že na pozorovacích stanovištích rozmístěných v ČR jsou v rámci jednoho ročníku rozdíly v napadení původci fomového černání stonků řepky. Rozdíly v napadení byly zaznamenány také u čtyřech sledovaných odrůd Bristol, Columbus, Darmor, JetNef. To potvrzuje rozdílnou odrůdovou citlivost k patogenům *L. maculans*, *L. biglobosa* (Tabulka 1 a 2). Rozdílná citlivost šlechtitelských genotypů řepky olejky ozimé k sledovaným patogenům byla také zjištěna v mezistanicích předzkouškách na lokalitách Opava, Chlumec nad Cidlinou, Slapy u Tábora a Lužany (Poslušná a kol. 2018) a na lokalitách státních zkoušek řepky (Zehnálek, 2019).

Pro napadení kořenů a stonků řepky před sklizní je rozhodující přítomnost zdroje infekce (napadené posklizňové zbytky) a průběh počasí v kritickém období pro zrání vřecek a uvolňování askospor patogenů *Leptosphaeria* spp. na řepce. Jedná se o dostatečnou vlhkost pro zrání a optimální podmínky - teplo pro uvolňování a šíření askospor a to v srpnu a září. To ovlivňuje napadení řepky v srpnu až říjnu, v teplejších ročnících a oblastech až listopadu a šíření

patogenu v napadených rostlinách již na podzim a v zimě. Čím časnější napadení tím je vyšší pravděpodobnost škodlivého napadení v období zrání řepky. Vliv průběhu počasí na vývoj původců fomového černání a napadení před sklizní na lokalitách Opava a Šumperk je uveden v Grafu 1. Z výsledků z teplé oblasti Opava a z chladné oblasti Šumperk je zřejmé, že v chladnější oblasti dochází k posunu maximálních záchytů askospor ve srovnání s teplejší oblastí. Dále bylo zjištěno, že v případě příznivějších podmínek (průběh počasí, zdroj infekce) pro vývoj patogenů došlo na podzim 2018 k vyšším záchytům askospor v chladnější oblasti (Graf 2 a 3). Na podzim 2019 byly první záchyty zaznamenány koncem září. Do 14 dní od zaznamenaných záchytů askospor byly pozorovány první makrosymptomy na listech. Intenzita napadení odpovídala počtu zachycených askospor a průběhu počasí (teplota, vlhkost). Vliv lokality a počasí na počty zachycených askospor a napadení řepky olejky potvrzují pozorování v střední Evropě, Polsku a ČR (Jedryczka a kol. 2010, 2012; Plachká a kol. 2018).

Závěr

Na pozorovacích stanovištích založených v teplých a chladných oblastech ČR byly zjištěny rozdíly v napadení řepky olejky ozimé původci fomového černání stonku řepky patogeny *Leptosphaeria maculans* a *L. biglobosa*.

Rozdíly v napadení byly zaznamenány i v rámci sledovaných ročníků 2018/2019 a 2019/2020. Na sledovaných lokalitách byly zaznamenány také rozdíly v napadení mezi odrůdami.

Byl potvrzen vliv lokality a průběhu počasí na množství infekčního zdroje a napadení řepky olejky před sklizní.

Zjištění ukazují na rozdílnou škodlivost patogenu v závislosti na odolnosti zvolené odrůdy, lokalitě a průběhu počasí.

Znalosti o vlivu odrůdy, lokality a provádění signalizace výskytů choroby na základě hodnocení přítomnosti infekčního zdroje a průběhu počasí jsou nedílnou součástí zásad integrované ochrany rostlin. Ty jsou nezbytné v rozhodovacím procesu o použití efektivního pesticidního ošetření.

Tabulka 1: Intenzita výskytů fomového černání stonku řepky na listech na podzim, říjen 2019

Silný výskyt	Opava 2, Kujavy, Krásné Údolí
Střední výskyt	Opava 1, Chlumec nad Cidlinou
Nízký výskyt	Šumperk, Lužany, Slapy u Tábora, Humpolec
Bez výskytu	Ivanovice na Hané, Červený Újezd

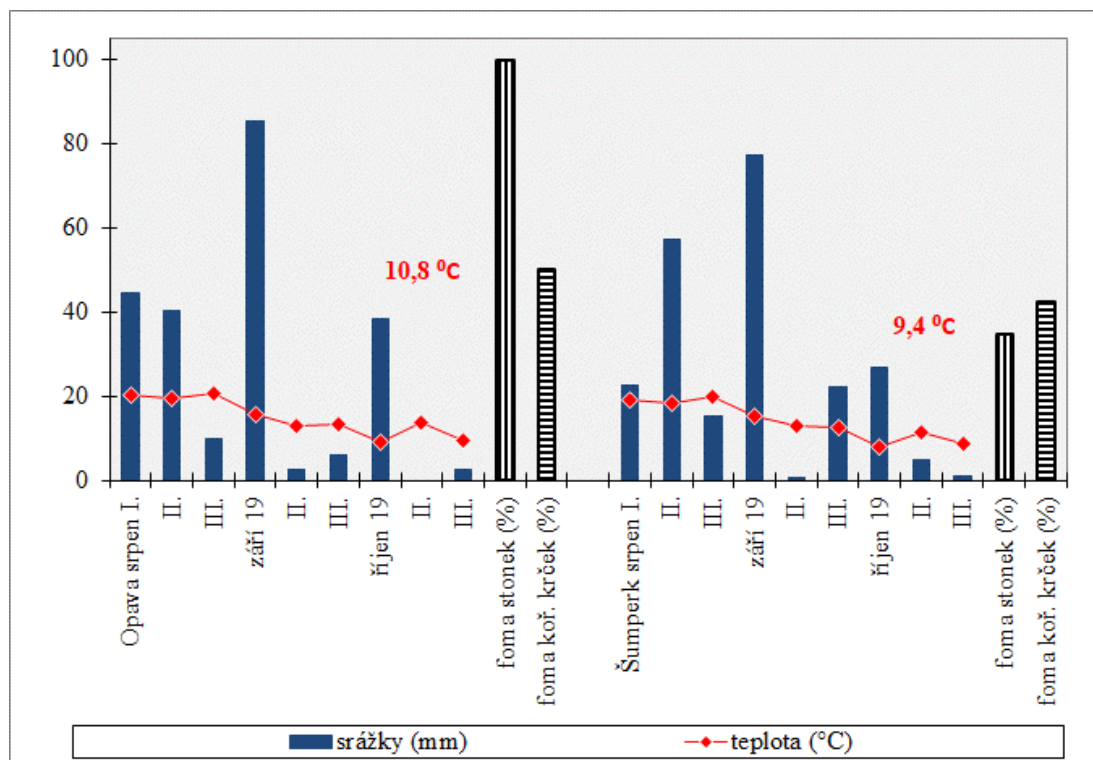
Tabulka 2: Průměrná intenzita napadení stonků a kořenových krčků řepky patogeny *Leptosphaeria* spp. (%), termín hodnocení dozrávání (BBCH 85-87)

Lokalita oblast teplá (T) chladná (CH)		Intenzita napadení 2019 (%)				Intenzita napadení 2020 (%)			
		Stonek		Kořenový krček		Stonek		Kořenový krček	
		$\bar{x}$	min-max	$\bar{x}$	Min-max	$\bar{x}$	Min-max	$\bar{x}$	Min-max
Opava 1	T	61	48 – 80	52	28 – 88	88	80 – 100	76	70 – 100
Opava 2*	T	-	-	-	-	79	73 – 85	68	55 – 78
Kujavy	T	57	45 – 73	51	35 – 78	76	68 – 83	68	60 – 86
Chlumce n. Cidlinou	T	48	43 – 60	43	33 – 60	37	30 – 43	54	40 – 63
Lužany	T	30	20 – 40	26	23 – 28	54	40 – 68	29	10 – 53
Červený Újezd	T	13	5 – 30	4	3 – 8	31	19 – 42	27	20 – 31
Ivanovice n. Hané	T	42	35 – 50	46	30 – 50	64	58 – 70	29	17 – 58

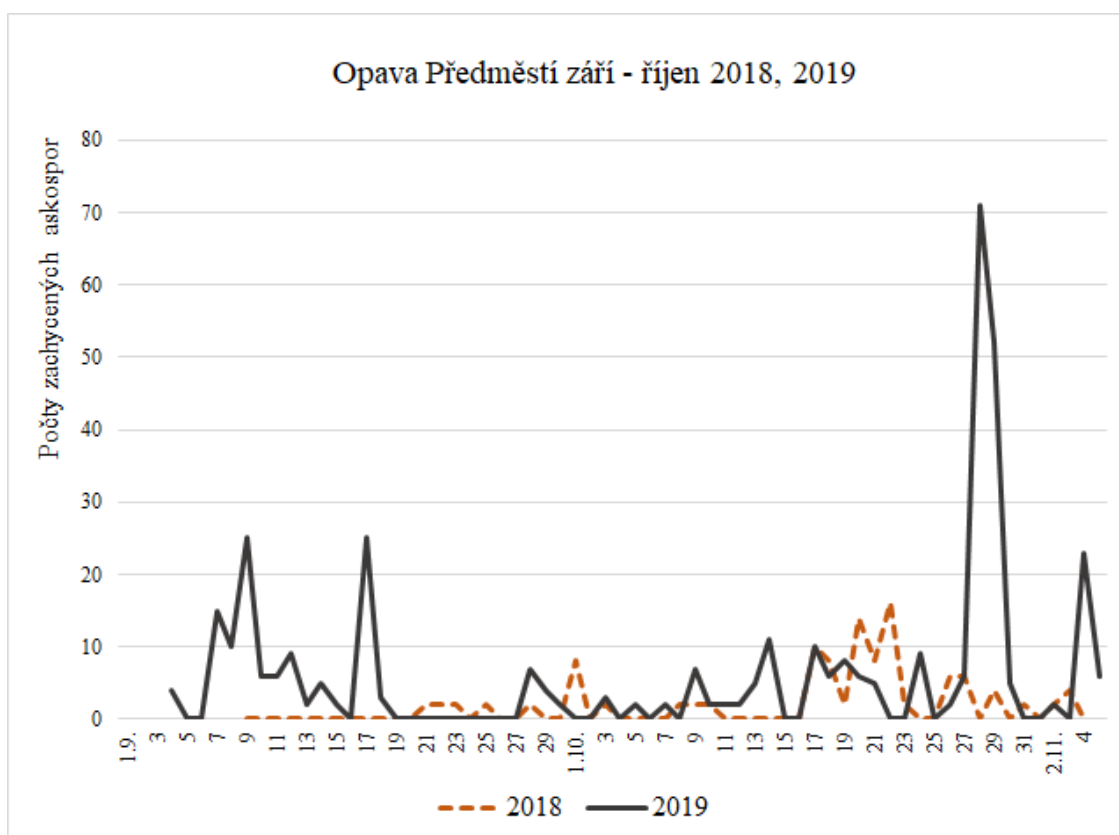
Šumperk	CH	11	0 – 25	10	5 – 15	35	8 – 48	43	33 – 63
Krásné Údolí**	CH	-	-	-	-	28	25 – 30	42	35 – 50
Slapy u Tábora	CH	41	31 – 68	41	8 – 63	44	34 – 53	43	35 – 43
Humpolec	CH	47	28 – 65	29	20 – 40	30	20 – 40	19	8 – 43
Průměr za rok		39	28 – 55	34	21 – 53	51	41 – 60	45	35 – 61

*Zásev na lokalitě Opava 2 nebyla v ročníku 2018/2019 hodnocena z důvodu vyplavení osiva po zásevu vlivem silných lokálních srážek.

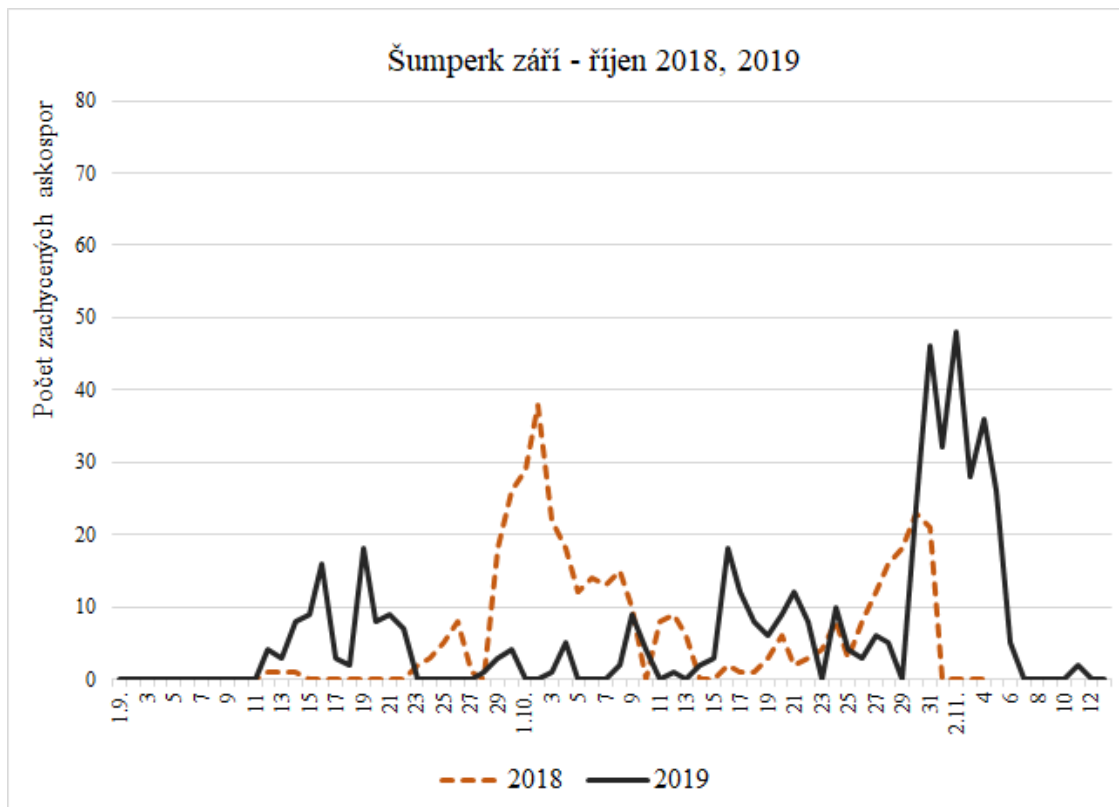
**Lokalita zařazena až v ročníku 2019/2020.



Graf 1: Průběh dekadních hodnot srážek a teplot ČHMU Opava - Otice a ČHMU Šumperk, VIII. - X. 2019, % napadených stonků a kořenových krčků původci fomového černání VI. 2020



Graf 2: Záchyty askospor *Leptosphaeria maculans*, *L. biglobosa*; Opava předměstí, září až začátek listopadu 2018 a 2019



Graf 3: Záchyty askospor *Leptosphaeria maculans*, *L. biglobosa*; Šumperk, září až začátek listopadu 2018 a 2019

Dedikace

Řešení uvedené problematiky bylo podpořeno projekty MZe ČR, NAZV: QK1710397 a MZe ČR: RO18/18, RO10/18.

Použitá literatura

ČSÚ, 2020: <https://www.czso.cz/csu/czso/osevni-plochy-ozimych-plodin-pro-sklizen-v-roce-2020>

Jedryczka M., Berg G., Plachká E., Weryszko-Chmielewska E., Poslušná J., Brazauskienė I., Ryšánek P., Kasprzyk I., Pokorný R., Maczynska A., Spitzer T., Karolewski Z., Aubertot J.-N., Latunde-Dada A., Brachaczek A., Podlesna A., Havis N., Kaczmarek J., Dawidziuk A., Holmblad J., Petraitienė E., Mazaková J., Krédli Z., Sulborska A., Haratym W., Gorniak K. 2012. Monitoring of fungal inoculum in air samples as an important tool of IPM in Central Europe. 10th Conference of the European Foundation for Plant Pathology (EFPP), IPM 2.0 – Towards future-proof crop protection in Europe. 1-5 October 2012, Wageningen, the Netherlands. Abstract: Session 3 Decision Support Systems_vti_cnf2.pdf

Jedryczka M., Plachká E., Kaczmarek J., Poslušná J., Latunde-Dada A.O., Maczyńska A. 2010. Monitoring of *Leptosphaeria maculans* and *L. biglobosa* ascospores around the East Sudeten mountains – a joint initiative of Poland and the Czech Republic. In Rośliny Oleiste – Oilseed Crops XXXI, 2010, pp. 49-66

Metodika zkoušek užitné hodnoty – brukvovité olejnin. ZUH/4-2019. UKZUZ Brno, 2019. 27 s.

Plachká E., Šafář J., Prokinová E., Odstrčilová L. 2018: Signalizační modely *Leptosphaeria* spp. a *Sclerotinia sclerotiorum*, zhodnocení možností jejich využití. Certifikovaná metodika PL07/18. OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Opava 2018, s. 60

Poslušná J., Plachká E., Horáček J., Macháček I., Ondráčková E., Šmirous P., Vrbovský V.: The Harmfulness of Phoma Stem Canker, Sclerotinia Stem Rot, and Phytoplasma on Winter Oilseed Rape with Regard to Czech Breeding. Agronomy 2019, 9(2), 75

Root, stem, foliar and pod diseases of rape. Bulletin CEPP/EPPO 2003 (33), p. 25-35

SPEC: System Prognozowania Epidemii Chorób <http://cropnet.pl/dbases/spec/>

West J.S., Kharbanda P.D., Barbetti M.J., Fitt B.D.L. 2001. Epidemiology and management of *Leptosphaeria maculans* (phoma stem canker) on oilseed rape in Australia, Canada and Europe. Plant Pathology 50. 10-27.

Zehnálek P. 2019: Seznam doporučených odrůd, řepky olejky ozimé 2019. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno, Národní odrůdový úřad. Brno 2019. s. 1-73.

Kontaktní adresa:

Ing. Eva Plachká, Ph.D.

OSEVA PRO s.r.o.,

oz Výzkumný ústav olejnin Opava,

Email: plachka@oseva.cz; tel. 553 624 160

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

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

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

¹Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko

²Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r. o., Troubsko

Abstrakt

V roce 2019 a 2020 byly u jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) realizovány pokusy zaměřené na nové možnosti desikace semenných porostů. Byla srovnávána účinnost *dikvátu*, *pyraflufen-ethylu*, *flumioxazu*, *fluroxypyru*, *karfentrazon-ethylu*, *bromoxynilu*, *glyfosátu* a *kys. pelargonové* v kombinaci se smáčedlem, hnojivem DAM a případně lepidly. U jetele byla hodnocena míra zasychání listové plochy, stonků a plodenství a obrůstání rostlin. Současně byla sledována účinnost na nejčastější plevel. Po sklizni byl hodnocen výnos a vlhkost sklizené hmoty. Zkoušené účinné látky zlepšovaly zasychání rostlin jetele, ale žádná ze zkoušených látek nedosahovala účinnosti *dikvátu*. Účinnost na plevel byla u většiny nově zkoušených látek nižší než u *dikvátu*.

Klíčová slova: desikace, *trifolium pratense*, jetel luční, semenné porosty

Abstract

The desiccation experiments with red clover (*Trifolium pratense* L.) were carrying out in the years 2019 and 2020. The efficacy of *diquat*, *pyraflufen-ethyl*, *flumioxazine*, *fluroxypyr*, *carfentrazone-ethyl*, *bromoxynil*, *glyphosate* and *pelargonic acid* in combination with surfactant, adhesives and fertilizer DAM was compared. The desiccation efficacy in red clover and the 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 of the new test substances on weeds was lower than efficacy of *diquat*.

Key words: desiccations, *trifolium pratense*, red clover, seed stands

Úvod

Jetel luční je vytrvalou jetelovinou nejčastěji pěstovanou v našich podmínkách pouze do prvního užitkového roku. Pěstuje se u nás jako pícnina a významnou část jeho pěstebních ploch tvoří také porosty pěstované na semeno. Porosty bývají zakládány buď z jarních nebo z podzimních výsevů. Je vícesečný a po seči obrůstá. Intenzita obrůstání závisí především na dostatku vláhy. Sklizeň na semeno probíhá v prvním užitkovém roce, obvykle z druhé seče v srpnu až září. Ukončování vegetace v průběhu dozrávání semen je u něj mnohem pozvolnější než u jetele nachového (Kubíková *et al.* 2020). Pro usnadnění sklizně se u něj využívá tzv. desikace. Doposud se k ní využívala účinná látka *dikvát*. Nařízením Komise EU 2018/1532 ze dne 12. října 2018 končí registrace této účinné látky, a tím i možnost jejího používání. 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*. Výhodou těchto látek je jejich univerzálnost, rychlost působení a široké spektrum účinku. Působí kontaktně, takže nepoškozuji kořenový systém a mají poměrně malý

vliv na pozdější obrůstání porostu a kvalitu osiva (Comendant a Davies 2018). Nevýhodou je jejich vysoká toxicita.

K desikaci byly u bobovitých zkoušeny další účinné látky např. *bromoxynil*, *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin*, *pyraflufen-ethyl*, *fluroxypyr*, *glyfosát* aj. (Tavares *et al.* 2016, Soltani *et al.* 2013, McNaughton *et al.* 2015, Pereira *et al.* 2015a, Pereira *et al.* 2015b, Kirk *et al.* 2017, Moyer *et al.* 1996). Při použití *glyfosátu* docházelo k omezení klíčivosti a životnosti semen (Subedi *et al.* 2017). Možnosti využití *dicamby* k předsklizňovému ošetření porostů zkoumali Loux (2019) a Hatterman-Valenti *et al.* (2017) a možnosti využití *ethephonu* ke zvýšení účinnosti *dikvátu* a *paraquatu* se zabývali He *et al.* (2015). K desikaci je možné využít také organické kyseliny např. *kys. pelargonovou* (Nguyen *et al.* 2016) nebo minerální hnojiva, která mohou způsobit popálení porostů (Knoop 1976).

Nevýhodou těchto látek je ve srovnání s *dikvát*em a *paraquat*em pomalejší, méně razantní účinek a nižší univerzálnost. Navíc informací o možnostech jejich využití k desikaci jetele lučního je velmi málo. V této práci byly zkoušeny účinné látky *bromoxynil*, *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin*, *pyraflufen-ethyl*, *fluroxypyr*, *glyfosát*, *dicamba*, *ethephon* a *kys. pelargonová* v kombinaci se smáčedly a hnojivem DAM s cílem zjistit jejich účinnost na dozrávající rostliny jetele a také jejich vliv na nejčastěji zastoupené plevely. Také byly zkoumány možnosti využití vysokých dávek hnojiva DAM a kombinace hnojiva DAM s práškovou sírou.

Materiál a metody

Jednalo se o maloparcelkové pokusy s velikostí parcel 12,5 m² ve třech opakováních s náhodným uspořádáním, bylo zkoušeno celkem 12 variant v roce 2019 a 16 variant v roce 2020 (viz tabulky 2 a 3). Byly vyměřovány v provozních plochách porostů jetelovin určených na semeno případně na píce, v roce 2019 na lokalitě v Javůrku a v roce 2020 v Březejci. Lokalita Javůrek je nedaleko obce Troubsko a jsou pro ni uvedeny teploty a srážky naměřené v Troubsku. Pro lokalitu Březejc jsou uvedeny průměrné teploty pro kraj Vysočina (ČHMU, 2020).

Přezimování porostů bylo dobré. Porosty byly dobře zapojené, v roce 2019 bylo zaplevelení velmi nízké, nejvíce se vyskytovaly merlíky, turanka kanadská a locika kompasová, v roce 2020 bylo zaplevelení vyšší a nevíce se vyskytovaly knotovka bílá a jitrocel kopinatý. Průběh počasí během vegetace v roce 2019 a 2020 uvádí tabulka 1.

Tabulka 1: Průměrná měsíční teplota a úhrn srážek v letech 2019 a 2020

Lokalita/rok	Měsíc	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Troubsko	Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,9	2,4	6,7	11,1	12,0	22,0	20,3	20,7	14,6
2019	Sumy srážek (mm)	23	17	27	17	78	65	59	56	73
Březejc	Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,5	3,1	3,7	9,1	10,6	15,9	17,3	18,5	14
2020	Sumy srážek (mm)	18	70	33	26	79	187	82	128	73

Sklizeň semene probíhala ze druhé seče. Semena jetele dozrávala v průběhu měsíce srpna (2019) až září (2020). Počasí bylo v roce 2019 poměrně teplé a suché. Mírné srážky v druhé polovině měsíce srpna nastartovaly obrůstání jetele. Obrůstání bylo u jetele lučního velkým problémem nejen v roce 2019 ale také v roce 2020, kdy bylo vlhčí počasí s vydatnějšími srážkami. V roce 2020 byl díky dostatku vláhy prorost jetele poměrně vysoký a značně poléhal. Pokusné přípravky byly aplikovány ve dvou termínech (A 12.8.2019, 3.9.2020; B 19. 8.2019, 10.9.2020). Seznam variant v roce 2019 je uveden v tabulce 2 a seznam variant v roce 2020 v tabulce 3. Byla hodnocena účinnost na jetel a na merlíky, turanku a lociku (nejčastější plevely v roce 2019), knotovku bílou a jitrocel kopinatý (nejčastější plevely v roce 2020) a obrůstání. K rozpadu hlávek u jetele lučního nedocházelo. Hodnocení probíhalo v roce 2019 ve čtyřech termínech (12. 8., 15. 8., 19. 8., 23. 8.) a v roce 2020, kdy bylo zasychání jetele pomalejší, v

pěti termínech (3.9., 8.9., 10.9., 14.9., 16.9.). Poslední termín hodnocení porostů byl vždy těsně před sklizní.

Tabulka 2: Seznam variant u jetele lučního v roce 2019

Varianta	Přípravky	Účinné látky	Aplikace	Dávky na hektar	Náklady v Kč/ha
1	Kontrola bez ošetření	-	-	-	0
2	Reglone	Dikvát	B	3,5 l	2312
3	Kabuki + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 10 l	1687
4	Kabuki + Starane forte + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 0,6 + 1 + 10 l	2516
5	Spotlight + Dash + DAM	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10 l	1163*
6	Spotlight + kayak + lepidlo + DAM	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM	A	1 + 0,5 + 1 + 10 l	2538*
7	Spotlight + Kabuki + Dash + DAM	Karfentrazon-ethyl + pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 0,8 + 1 + 10 l	2533*
8	Sumimax + Dash + DAM	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	142 g + 1 + 10 l	2163
9	Roudup	Glyfosát	A	3,5 l	769
10	Pardner + Kayak + lepidlo + DAM	Bromoxynil + cypronidyl + lepidlo + DAM	A	2 + 1 + 0,1 + 10 l	1810
11	Beloukha + Dash + DAM	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	8 + 1 + 10 l	5351
12	DAM 1:1 + Dash	DAM 1:1 + smáčedlo	B	200 + 1 l	3281

Tabulka 3: Seznam variant u jetele lučního v roce 2020

Varianta	Přípravky	Účinné látky	Aplikace	Dávky na hektar	Náklady v Kč/ha
1	Kontrola bez ošetření	Kontrola bez ošetření	-	-	0
2	Reglone	Dikvát	B	3,5 l	2312
3	Kabuki + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 10 l	1687
4	Kabuki + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM 100 l	A	0,8 + 1 + 100 l	3091
5	Kabuki + Spotlight + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + DAM	A	0,8 + 1 + 1 + 10 l	2533*
6	Kabuki + Cerone + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + ethephon + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 1 + 10 l	2633
7	Kabuki + Beloukha + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 1 + 10 l	2316
8	Spotlight + Dash + DAM	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10 l	1163*
9	Roundup klasic + DAM	Glyfosát + DAM	A	3,5 + 10 l	943
10	Sumimax + Dash + DAM	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	0,142 kg + 1 + 10 l	2083
11	Pardner + Designer + Kayak + DAM	Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	2 + 0,3 + 0,5 + 10 l	1810
12	Beloukha + Dash + DAM	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	16 + 1 + 10 l	10384
13	DAM 1:1 + Dash	DAM 1:1 + smáčedlo	B	200 + 1 l	3281
14	Banvel + Dash + DAM	Dicamba + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10 l	2316
15	Reglone + Dash + DAM	Dikvát + smáčedlo + DAM	B	2 + 1 + 10 l	1638
16	DAM 1:1 + Dash + síra + ethanol	DAM 1:1 + smáčedlo + síra + ethanol	B	200 + 1 + 2 kg + 4 l	4149

První pokusnou variantou byla u všech druhů kontrola bez ošetření, další kontrolní varianta byla ošetřena účinnou látkou *dikvát* (přípravek Reglone). Dále byly zkoušeny účinné látky *pyraflufen-ethyl*, *karfentrazon-ethyl*, *fluroxypyr*, *flumioxazin*, *glyfosát*, *bromoxynil* a *kys. pelargonová*. Pro zvýšení a urychlení účinku byly přípravky kombinovány se smáčedlem (Dash HC) a tekutým hnojivem DAM. V roce 2020 byla zařazena také varianta pouze s vysokou dávkou hnojiva DAM (200 l/ha) v poměru 1:1 s vodou a v kombinaci se smáčedlem. V roce 2020 byly zkoušeny také účinné látky *ethphon* a *dicamba* a varianta s kombinací hnojiva DAM s práškovou sírou.

Hodnocení bylo prováděno vizuálně. Byl hodnocen podíl odumřelých/zaschlých/hnědých pletiv v procentech pro jednotlivé části rostlin (listy, stonky, plodenství). U plevelů bylo hodnoceno celkové poškození rostliny v procentech. U obrůstání byla hodnocena pokryvnost listové plochy nově obrůstých rostlin na parcele v procentech. Po sklizni byl hodnocen výnos čistého semene a v roce 2020 také vlhkost sklizeného osiva. 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

U jetele lučního byla v roce 2019 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 *dikváty*, kde bylo zaschlých 100 % listů, a u *kys. pelargonové*, kde bylo zaschlých 95 % listové plochy. U ostatních variant nebyl průkazný rozdíl, i když většina variant vykazovala oproti kontrole mírné zvýšení. Výsledky uvádí tabulka 4.

V roce 2020 bylo zasychání porostů pomalejší a byly zde viditelné větší rozdíly. V termínu první aplikace byla zaschlá jedna čtvrtina listové plochy. U neošetřené kontroly se zaschnutí listů výrazně nezměnilo a v době sklizně bylo zaschlých 25 % listové plochy. U všech variant

došlo k průkaznému zlepšení zasychání listové plochy oproti neošetřené kontrole. Nejlepší zaschnutí listů bylo u variant s *dikvát* (90 až 92 %), u kombinace *pyraflufen-ethylu* s *karfentrazon-ethylem* (94 %), u *karfentrazon-ethylu* (90 %) a u *glyfosátu* s hnojivem DAM (90 %). Nejhorší zasychání bylo z ošetřených variant u kombinace hnojiva DAM a práškové síry (50 %), u *bromoxynilu* (62 %) a u *kys. pelargonové* (68 %). Výsledky uvádí tabulka 5.

Tabulka 4: Zasychání listové plochy v roce 2019

Varianta/účinná látka	Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2019:		17.6.		20.6.		24.6.		28.6.	
1 Kontrola bez ošetření	-			42	a	42	ab	73	cd	84	a
2 Dikvát	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 + lepidlo + fungicid + DAM	A			42	a	42	ab	75	acd	83	a
7 Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + 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 + lepidlo + fungicid + DAM	A			42	a	50	ab	85	ab	93	abc
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A			42	a	63	b	88	b	95	bc
12 DAM 1:1 + smáčedlo	B			42	a	53	ab	83	abc	91	abc

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

Tabulka 5: Zasychání listové plochy v roce 2020

Varianta/účinná látka	Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)											
		Datum hodnocení v roce 2020:		3.9.		8.9.		10.9.		14.9.		16.9.	
1 Kontrola bez ošetření	-			22	a	33	abc	32	a	27	a	25	a
2 Dikvát	B			22	a	28	ab	30	a	82	defg	90	efg
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A			25	a	47	cd	63	bc	70	cd	75	cdef
4 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM 100 l	A			25	a	48	de	64	bc	73	cd	74	cde
5 Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + DAM	A			27	a	65	f	81	c	90	g	94	g
6 Pyraflufen-ethyl + ethephon + smáčedlo + DAM	A			20	a	52	def	66	bc	82	defg	84	defg
7 Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová + sm. + DAM	A			20	a	52	def	62	bc	74	cde	78	defg
8 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A			23	a	65	f	74	bc	86	efg	90	fg
9 Glyfosát + DAM	A			23	a	42	bcd	64	bc	88	fg	90	fg
10 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A			22	a	62	ef	76	bc	83	defg	82	defg
11 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A			25	a	52	def	59	b	70	cd	62	bc
12 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A			20	a	65	f	71	bc	79	cdefg	68	cd
13 DAM 1:1 + smáčedlo	B			22	a	23	a	37	a	68	c	72	cd
14 Dicamba + smáčedlo + DAM	A			18	a	42	bcd	61	bc	76	cdef	80	defg
15 Dikvát + smáčedlo + DAM	B			20	a	27	a	33	a	91	g	92	g
16 DAM 1:1 + smáčedlo + síra + ethanol	B			17	a	27	a	32	a	53	b	50	b

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

Zasychání/odumírání/hnědnutí stonků a hlávek

U stonků bylo zasychání ještě pomalejší a byla zde mnohem vyšší variabilita. V roce 2019 bylo průkazně vyšší zaschnutí stonků oproti neošetřené kontrole pouze u varianty s *dikvát*, i když určité zlepšení v zasychání stonků bylo pozorováno na většině variant. Výsledky uvádí tabulka 6. V roce 2020 bylo zasychání stonků u jetele lučního velmi pomalé. V termínu první aplikace bylo zaschlých pouze okolo 15 % stonků. V době sklizně se zaschnutí stonků pohybovalo od 40 % u neošetřené kontroly po 87 % u *dikvátu*. Ze zkoušených variant byly stonky nejlépe zaschlé na variantě ošetřené *pyraflufenen-ethylem* v kombinaci s *karfentrazon-ethylem* (78 %). Nejhorší bylo zasychání stonků na variantě s hnojivem DAM v kombinaci s práškovou sírou (52 %), *kys. pelargonové* (57 %), *dicamby* (57 %) a *bromoxynilu* (58 %). U těchto variant nebyl průkazný rozdíl ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Výsledky uvádí tabulka 7.

V zasychání hlávek nebyly v roce 2019 zjištěny průkazné rozdíly mezi ošetřenými variantami a neošetřenou kontrolou. V roce 2020 bylo zasychání hlávek pomalejší a byly zde větší rozdíly. Průkazné zlepšení oproti neošetřené kontrole vykazovaly varianty s *dikvát*, kombinace *pyraflufen-ethylu* a *karfentrazon-ethylu* a *glyfosát* v kombinaci s hnojivem DAM. Výsledky uvádí tabulky 8 a 9.

Tabulka 6: Zasychání stonků v roce 2019

Varianta/účinná látka	Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2019:		17.6.		20.6.		24.6.		28.6.	
1 Kontrola bez ošetření	-	25	a	28	a	32	a	56	a	-	-
2 Dikvát	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 + lepidlo + fungicid + DAM	A	25	a	35	a	38	ab	66	a	-	-
7 Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + 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 + lepidlo + fungicid + DAM	A	25	a	38	a	55	ab	83	ab	-	-
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	25	a	43	a	57	b	76	ab	-	-
12 DAM 1:1 + smáčedlo	B	25	a	40	a	43	ab	65	a	-	-

* písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05**Tabulka 7: Zasychání stonků v roce 2020**

Varianta/účinná látka	Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2020:		3.9.		8.9.		10.9.		14.9.	
1 Kontrola bez ošetření	-	15	a	32	a	40	abc	43	a	40	a
2 Dikvát	B	13	a	30	a	33	a	75	ef	82	de
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	13	a	32	a	40	abc	57	abcd	60	bc
4 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM 100 l	A	17	a	35	a	48	bc	60	abcde	60	bc
5 Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + DAM	A	17	a	30	a	52	c	73	def	78	cde
6 Pyraflufen-ethyl + ethephon + smáčedlo + DAM	A	17	a	33	a	47	bc	63	bcde	68	bcd
7 Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová + sm. + DAM	A	12	a	33	a	43	abc	57	abcd	62	bc
8 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	15	a	35	a	43	abc	60	abcde	65	bcd
9 Glyfosát + DAM	A	13	a	33	a	40	abc	67	cdef	69	bcde
10 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	17	a	37	a	42	abc	67	cdef	68	bcd
11 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	13	a	33	a	38	ab	58	abcde	58	ab
12 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	17	a	37	a	42	abc	62	bcde	57	ab
13 DAM 1:1 + smáčedlo	B	15	a	30	a	37	ab	63	bcde	68	bcd
14 Dicamba + smáčedlo + DAM	A	17	a	37	a	42	abc	52	abc	57	ab
15 Dikvát + smáčedlo + DAM	B	17	a	32	a	42	abc	82	f	87	e
16 DAM 1:1 + smáčedlo + síra + ethanol	B	15	a	35	a	40	abc	47	ab	52	ab

* písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05**Tabulka 8: Zasychání hlávek v roce 2019**

Varianta/účinná látka	Termín aplikace	Hlávky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2019:		17.6.		20.6.		24.6.		28.6.	
1 Kontrola bez ošetření	-	85	a	87	a	94	abc	97	abc	-	-
2 Dikvát	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 + lepidlo + fungicid + DAM	A	83	a	85	a	94	abc	99	ab	-	-
7 Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + 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 + lepidlo + fungicid + DAM	A	85	a	87	a	96	abc	99	ab	-	-
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	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**Tabulka 9: Zasychání hlávek v roce 2020**

Varianta	Termín aplikace	Hlávky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2020:		3.9.		8.9.		10.9.		14.9.	
1 Kontrola bez ošetření	-	30	a	62	abc	72	abc	80	a	83	ab
2 Dikvát	B	32	a	55	ab	60	a	94	ab	96	d
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	30	a	60	abc	72	abc	85	ab	91	bcd
4 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM 100 l	A	33	a	75	c	81	bc	93	ab	93	bcd
5 Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + DAM	A	32	a	70	bc	86	c	94	ab	94	cd
6 Pyraflufen-ethyl + ethephon + smáčedlo + DAM	A	28	a	70	bc	77	abc	92	ab	92	bcd
7 Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová + sm. + DAM	A	28	a	67	bc	74	abc	87	ab	88	abcd
8 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	32	a	62	abc	72	abc	89	ab	90	bcd
9 Glyfosát + DAM	A	32	a	67	bc	73	abc	92	ab	93	cd
10 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	23	a	63	bc	77	abc	86	ab	87	abcd
11 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	27	a	58	ab	67	ab	82	ab	80	a
12 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	33	a	67	bc	80	bc	90	ab	90	bcd
13 DAM 1:1 + smáčedlo	B	30	a	47	a	60	a	88	ab	91	bcd
14 Dicamba + smáčedlo + DAM	A	30	a	57	ab	67	ab	82	ab	85	abc
15 Dikvát + smáčedlo + DAM	B	25	a	55	ab	67	ab	91	b	96	d
16 DAM 1:1 + smáčedlo + síra + ethanol	B	28	a	55	ab	63	ab	83	b	88	abcd

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

Obrůstání

Obrůstání bylo u jetele lučního velkým problémem. V roce 2019 bylo počasí v době dozrávání jetele velmi suché a v termínu první aplikace jetel neobruštal (pokryvnost obrostu byla 0 %). Obrůstat porost začal až v průběhu desikace (po dešti) a před sklizní semen byla pokryvnost nově obrostlého zeleného porostu až 60 %. Obrost byl nižší než sklizený desikovaný porost a dosahoval výšky 10 cm. Intenzita obrůstání se statisticky nelišila na hodnocených variantách. V roce 2020 probíhalo intenzivní obrůstání v průběhu celého dozrávání a porost byl kvůli tomu značně nevyrovnaný. Obrost byl vysoký a často převyšoval starší stonky s dozrávajícími hlávkami, které značně poléhaly. V době první aplikace se pokryvnost mladého zeleného obrostu pohybovala od 30 do 70 %, v době sklizně pak byla pokryvnost obrostu na neošetřené kontrole 95 %. Nejnížší listová plocha mladého zeleného obrostu byla na variantách *karfentrazon-ethyl* (13 až 16 %), s *glyfosátem* (40 %), *dikvát* (20 až 47 %) a u kombinace *pyraflufen-ethyl* s *ethephonem* (50 %).

Účinnost na plevel

Byla hodnocena účinnost na nejvýznamnější plevel zastoupené v porostu, tj. merlíky a ojediněle také lociku (v roce 2019), a knotovku bílou a jitrocel kopinatý (v roce 2020).

Na merlíky působil *dikvát*, *pyraflufen-ethyl* a *pyraflufen-ethyl* v kombinaci s *fluroxypyrem*. Tato kombinace účinkovala také na lociku. Na knotovku nejlépe účinkoval *dikvát* a poměrně dobrá účinnost byla i u variant s *pyraflufen-ethylem*. Účinnost na jitrocel byla s výjimkou variant ošetřených *dikvát*em nízká.

Výnosy a vlhkost sklizené hmoty

Průměrný výnos v roce 2019 byl 298 kg/ha osiva. V roce 2020 byly výnosy nižší a průměrný výnos byl 265 kg/ha. Mezi hodnocenými variantami nebyly ve výnosu semen zjištěny průkazné rozdíly. V roce 2019 nebyla v průběhu sklizně měřena vlhkost osiva, ale celkově byla vlhkost osiva dobrá (sklizené osivo nebylo po sklizni potřeba dosoušet). V roce 2020 byla vlhkost osiva měřena v průběhu sklizně. Vlhkost sklizeného osiva byla značně vysoká a dosoušení bylo potřeba u všech variant včetně *dikvátu*. Podílelo se na tom jednak vlhké počasí, vyšší zaplevelení porostů zejména knotovkou a silné obrůstání porostů. Do kombajnu se dostávalo hodně zelené hmoty a vlhkost u mnoha variant překračovala 20 %. Nejnížší vlhkost měly varianty ošetřené *dikvát*em. Nejhůře na tom byla neošetřená kontrola a varianta ošetřená *dicambou*. Mezi zjištěnými vlhkostmi nebyly statisticky průkazné rozdíly. Vlhkost sklizené hmoty a výnosy jsou uvedeny v tabulce 10.

Tabulka 10: Výnos osiva a vlhkost sklizené hmoty

Rok	2019			2020			
Varianta/účinná látka	Výnos v kg/ha		Účinná látka	Výnos v kg/ha		Vlhkost v %	
1 Kontrola bez ošetření	277	a	Kontrola bez ošetření	277	a	25	a
2 Dikvát	309	a	Dikvát	314	a	15	a
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	242	a	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	291	a	19	a
4 Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	358	a	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM 100 l	256	a	18	a
5 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	314	a	Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + DAM	254	a	16	a
6 Karfentrazon-ethyl + lepidlo + fungicid + DAM	287	a	Pyraflufen-ethyl + ethephon + smáčedlo + DAM	230	a	22	a
7 Pyraflufen-ethyl + karfentrazon-ethyl + sm. + DAM	291	a	Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová + sm. + DAM	189	a	19	a
8 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	312	a	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	329	a	18	a
9 Glyfosát	306	a	Glyfosát + DAM	275	a	17	a
10 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	313	a	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	269	a	18	a
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	358	a	Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	229	a	24	a
12 DAM 1:1 + smáčedlo	212	a	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	210	a	22	a
13 -	-	-	DAM 1:1 + smáčedlo	254	a	22	a
14 -	-	-	Dicamba + smáčedlo + DAM	254	a	28	a
15 -	-	-	Dikvát + smáčedlo + DAM	303	a	16	a
16 -	-	-	DAM 1:1 + smáčedlo + síra + ethanol	302	a	22	a

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

Diskuze

V roce 2019 byl příznivý vliv u většiny účinných látek méně průkazný než v roce 2020. Ve srovnání s *dikvát*em byl nástup účinku zkoumaných látek cca o týden pomalejší. McNaughten *et al.* (2015) 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 rozdíl v účinnosti u těchto dvou látek u jetelovin nepotvrdily, ale varianty s *karfentrazon-ethylem* dopadly celkově lépe, protože na nich bylo nižší obrůstání rostlin, zejména pak v roce 2020.

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. V našich pokusech s jetelem lučním nebyla účinnost *glyfosátu* významně nižší než u ostatních zkoumaných látek. Celkově patřil spíše k účinnějším variantám, ale jeho účinnost byla nižší než u *dikvátu*. Nižší účinnost *glyfosátu* oproti *dikvátu* u sóje uvádí Ergin a Kaya (2020). Ve srovnání s kontrolou však *glyfosát* urychloval sklizeň sóje. Kirk *et al.* (2017) dospěli k tomu, že *dikvát* snižuje vlhkost rostlin jetele lučního rychleji než *glyfosát*. Po aplikaci *glyfosátu* nebyl po 15 dnech od aplikace průkazný rozdíl ve srovnání s neošetřenou kontrolou. To v naší práci platilo pouze v roce 2019. V roce 2020, kdy byl porost při aplikaci zelenější a zasychání rostlin na neošetřené kontrole bylo velmi pomalé, bylo zasychání rostlin ošetřených *glyfosátem* průkazně lepší než na kontrole. *Glyfosát* lépe účinkoval na mladší intenzivně rostoucí rostliny (části rostlin).

Zajímavé bylo srovnání účinnosti varianty s hnojivem DAM (200 l/ha) 1:1 s vodou a varianty, kde byla k hnojivu DAM přidávána prášková síra. Tato varianta byla zkoušena pouze v roce 2020, ale výsledky naznačují, že prášková síra nezvyšuje desikační účinnost hnojiva DAM, ale naopak ji snižuje. Navíc použití práškové síry má svá technická úskalí, neboť prášková síra není rozpustná ani ve vodě ani v ethanolu a v použitém množství (2 kg/ha) silně zanáší trysky postřikovače.

Závěr

Ošetření zkoušenými přípravky mělo příznivý vliv na zasychání rostlin, zejména pokud porost silně obrůstal a zmlazoval. Rozdíly ve výsledcích z let 2019 a 2020 naznačují, že zkoušené přípravky mají větší vliv na mladý (nebo zmlazený) porost než na stárnoucí a zasychající rostliny. U všech zkoušených variant bylo ve srovnání s *dikvát*em zasychání rostlin pomalejší a desikační účinek se u nich začínal projevovat až asi s týdenním zpožděním. Významným faktorem bylo nejen zasychání jetelovin, ale také plevelů. Z tohoto hlediska se jeví jako nejperspektivnější účinná látka *pyraflufen-ethyl*, která poměrně dobře účinkovala na přítomné plevely, zejména na merlíky a knotovku bílou. Přidání práškové síry k tekutému hnojivu DAM nezvyšovalo poškození rostlin.

Literatura

- 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>
- Ergin N., Kaya M. D. (2020): The effectiveness of herbicidal desiccants and application times on seed yield and earliness of soybean. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 48(3):1465-1472 DOI:10.15835/nbha48311826

- Hatterman-Valenti H., Endres G., Jenks B., Ostlie M., Reinhardt T., Robinson A., Stenger J., Zollinger R. (2017): Defining glyphosate and dicamba drift injury to dry edible pea, dry edible bean and potato. Hort technology 27 (4): 502-509.
- 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
- Kubíková Z., Smejkalová H., Kolaříková K. (2020): Ukončování vegetace a sklizeň semenných porostů jetele. Pícninářské listy 2020 (XXVI): 44–53, ISBN 978-80-87091-87-6
- Loux M. (2019): Reminders about pre-harvest herbicide treatment. Ohio's country journal 09. www.ocj/2019/09/reminders-about-pre-harvest-herbicide-treatment.
- 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. (2015): Effect of application timing of glyphosate and saflufenacil as desiccants in dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Can. J. Plant Sci. (2015) 95: 369-375. Doi:10.4141/CJPS-2014-157
- 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, Nouveau 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 desiccation. 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: 10.1590/1809-4430-Eng.Agric.v36n5p858-865/2016

Poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1720 a za podpory SPTJS

Kontaktní adresa:

Zuzana Kubíková, Ing. Ph.D.
Zemědělský výzkum spol. s r. o.
Zahradní 1, 664 41
E-mail: kubikova@vupt.cz

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

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

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

²Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko

²Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r. o., Troubsko

Abstrakt

V letech 2019 a 2020 byly u jetele nachového (*Trifolium incarnatum* L.) provedeny pokusy zaměřené na nové možnosti desikace semenných porostů. Byla srovnávána účinnost *dikvátu*, *pyraflufen-ethylu*, *flumioxazinu*, *fluroxypyru*, *karfentrazon-ethylu*, *bromoxynilu*, *ethephonu*, *kys. pelargonové* a hnojiva DAM a jejich kombinací. Byla hodnocena míra zasychání listové plochy, stonků a hlávek, rozpad hlávek, obrůstání rostlin, účinnost na nejčastější plevely, výnos semene a vlhkost sklizené hmoty. Ve srovnání s neošetřenou kontrolou docházelo na většině variant k rychlejšímu zasychání rostlin jetele, avšak žádná ze zkoumaných látek nedosahovala účinnosti *dikvátu*. Nejvíce se to projevilo v účinnosti na plevely (zejména na lociku), kdy vlivem silného zaplevelení docházelo ke zvýšení vlhkosti sklizené hmoty až o 15 % oproti nezapleveleným parcelám.

Klíčová slova: desikace, jetel inkarnát, *trifolium incarnatum*, semenné porosty

Abstract

The desiccation experiments with crimson clover (*Trifolium incarnatum* L.) were carrying out in the years 2019 and 2020. The efficacy of *diquat*, *pyraflufen-ethyl*, *flumioxazine*, *fluroxypyr*, *carfentrazone-ethyl*, *bromoxynil*, *pelargonic acid*, *ethephon* and fertilizer DAM and their combinations was compared. The desiccation efficacy in crimson clover and the most common weeds was evaluated. Compared to untreated control the drying of clover plants was improved. But compared to *diquat*, a slower effect was observed with other active substances and their effectiveness in clover plants and weeds was lower. The moisture of seeds during harvest was up to 15 % higher on the most infested parcels.

Key words: desiccations, crimson clover, *trifolium incarnatum*, seed stands

Úvod

Jetel nachový je ozimá jetelovina, která se v ČR pěstuje hlavně na produkci semene. Je jednosečný a rostliny během dozrávání zasychají a ukončují vegetaci. Vlivem rozpadu hlávek u něj může docházet ke značným ztrátám, a proto je u něj důležité správné načasování sklizně. Vzhledem k nezbytnosti přesného načasování sklizně se u něj k urychlení zasychání porostů a usnadnění sklizně často využívá tzv. desikace. Doposud se k ní využívala účinná látka *dikvát*. Výhodou *dikvátu* je jeho univerzálnost, rychlost působení a široké spektrum účinku. Také nezpůsobuje trvalé poškození rostlin a neovlivňuje kvalitu osiva (Tomeu 1970). Nevýhodou je poměrně vysoká toxicita.

Nařízením Komise EU 2018/1532 ze dne 12. října 2018 končí registrace této účinné látky a tím i možnost jejího používání. S jejím zrušením vyvstává otázka její náhrady. K desikaci byly u bobovitých rostlin zkoušeny další účinné látky, např. *bromoxynil*, *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin*, *pyraflufen-ethyl*, *fluroxypyr*, *glyfosát*, *dicamba* nebo *kys. pelargonová* (Tavares et

al. 2016, Soltani *et al.* 2013, McNaughton *et al.* 2015, Pereira *et al.* 2015a, Kirk *et al.* 2017, Loux 2019, Valenti *et al.* 2017, Nguyen *et al.* 2016). Další možností jsou minerální hnojiva, která mohou způsobit popálení porostů (Knoop 1976). Oproti *dikvátu* a *paraquatu* je působení jiných látek pomalejší a méně univerzální. Jejich odlišné působení vyžaduje odlišnou technologii používání, než byla u *dikvátu*, avšak informací o možnostech využití těchto látek k desikacím porostů jetele nachového je stále poměrně málo.

Tato práce shrnuje výsledky desikačních pokusů s účinnými látkami *pyraflufen-ethyl*, *bromoxynil*, *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin*, *fluroxypyr*, *kys. pelargonová* a *dicamba* v kombinaci se smáčedly a s hnojivem DAM. Také byly zkoumány možnosti využití vysokých dávek hnojiva DAM a v roce 2020 byly zařazeny varianty s *dicambou* a *ethephonem*.

Materiál a metody

Jednalo se o maloparcelkové pokusy s velikostí parcel 12,5 m² ve třech opakováních s náhodným uspořádáním. Pokusy probíhaly v roce 2019 a 2020 v provozních plochách semenných porostů jetele nachového v Nové Vsi u Oslavan. Lokalita v Nové Vsi je nedaleko obce Troubsko a jsou pro ni uvedeny teploty a srážky naměřené v Troubsku. Průběh počasí během vegetace v roce 2019 a 2020 uvádí tabulka 1.

Tabulka 1: Průměrná měsíční teplota a úhrny srážek v letech 2019 a 2020

Lokalita/rok	Měsíc	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
Troubsko	Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,9	2,4	6,7	11,1	12,0	22,0	20,3	20,7	14,6
	2019 Sumy srážek (mm)	23	17	27	17	78	65	59	56	73
Troubsko	Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,2	4,6	5,3	9,9	12,6	18,0	19,1	20,7	15,0
	2020 Sumy srážek (mm)	9	27	26	20	64	87	68	105	82

Přezimování porostů bylo v obou letech dobré a porosty jetele byly dobře zapojené. V roce 2019 byl porost mírně zaplevelený heřmánkovcem přímořským. V roce 2020 bylo zaplevelení vyšší a nejvíce se vyskytovala locika kompasová a svízel přitula. V roce 2019 bylo v průběhu měsíce července, kdy jetel dozrával, velmi teplé počasí, což urychlilo jeho přirozené dozrávání a zasychání. V průběhu dozrávání jetele byly tři silné bouřky s přívalovým deštěm (6. 6., 20. 6. pozdě večer a 22. 6.). První z nich způsobila polehnutí porostu a poslední, těsně před sklizní, předčasný rozpad a vypadání hlávek. V roce 2020 bylo v červnu chladnější a vlhčí počasí, časté srážky v průběhu dozrávání vedly k porůstání semen v hlávkách (to mělo nepříznivý vliv na obsah nečistot a výnos čistého semene) a také k intenzivnějšímu obrůstání porostů než v roce 2019.

První pokusnou variantou byla kontrola bez ošetření, další kontrolní varianta byla ošetřena účinnou látkou *dikvát*. Zkoušeny byly účinné látky *pyraflufen-ethyl*, *fluroxypyr*, *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin*, *bromoxynil* a *kys. pelargonová*. Pro zvýšení účinku byly přípravky kombinovány se smáčedlem (Dash HC) a s hnojivem DAM. V roce 2020 byly zkoušeny také účinné látky *ethphon* a *dicamba*. Pro omezení rozpadu hlávky bylo k některým variantám přidáváno lepidlo. Také byla zkoušena varianta pouze s vysokou dávkou hnojiva DAM (200 l/ha) v poměru 1:1 s vodou a v kombinaci se smáčedlem nebo fungicidem. Seznam variant v roce 2019 uvádí tabulka 2 a seznam variant v roce 2020 v tabulka 3.

Pokusné přípravky byly aplikovány ve dvou termínech (A 17.6.2019, 16.6.2020, B 20.6.2019, 23.6.2020). Byla hodnocena účinnost na jetel a na heřmánkovec a violku (jako nejčastější plevel v roce 2019) a na lociku a svízel (jako nejčastější plevel v roce 2020), dále byl hodnocen rozpad hlávek a obrůstání. Hodnocení proběhlo ve čtyřech termínech v roce 2019 (17. 6., 20. 6., 24. 6., 28. 6.) a v pěti termínech v roce 2020 (16.6., 19.6., 23.6., 26.6., 1.7.). Poslední termín hodnocení byl vždy těsně před sklizní.

Tabulka 2: Seznam variant u jetele nachového v roce 2019

Varianta	Přípravky	Účinné látky	Aplikace	Dávky na hektar	Náklady v Kč/ha
1	Kontrola bez ošetření	Kontrola bez ošetření	-	-	0
2	Reglone	Dikvát	B	3,5 l	2312
3	Kabuki + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 l	1687
4	Kabuki + Starane forte + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 0,6 + 1 + 10 l	2516
5	Spotlight + Dash + DAM	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10 l	1163*
6	Spotlight + Spodnam + Dash + DAM	Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	B	1 + 1 + 1 + 10 l	2538*
7	Spotlight + Dash + DAM - dvě aplikace	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A,B	2x 1 + 1 + 10 l	2326*
8	Sumimax + Dash + DAM	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	142 g + 1 + 10 l	2083
9	Starane forte + Dash + DAM	Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	1,5 + 1 + 10 l	1975
10	Pardner + Designer + Kayak + DAM	Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	2 + 1 + 0,1 l	1810
11	Beloukha + Dash + DAM	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	8 + 1 + 10 l	5351
12	DAM 1:1 s vodou + Dash	DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	B	200 + 1	3281
13	DAM 1:1 s vodou + Kayak	DAM 1:1 s vodou + fungicid	B	200 + 0,5	3595
14	Reglone + Dash + DAM	Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	B	3 + 100 + 0,5	3622

Tabulka 3: Seznam variant u jetele nachového v roce 2020

Varianta	Přípravky	Účinné látky	Aplikace	Dávky na hektar	Náklady v Kč/ha
1	Kontrola bez ošetření	Kontrola bez ošetření	-	-	0
2	Reglone	Dikvát	B	3,5 l	2312
3	Kabuki + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 10 l	1687
4	Kabuki + Starane forte + Dash + DAM	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 0,6 + 1 + 100	2516
5	Spotlight + Dash + DAM	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10 l	1163*
6	Spotlight + Spodnam + Dash + DAM	Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	A	1 + 1 + 1 + 10 l	2538*
7	Spotlight + Cerone + Dash + DAM	Karfentrazon-ethyl + ethephon + smáčedlo + DAM	A	0,8 + 1 + 1 + 10 l	2633
8	Sumimax + Dash + DAM	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	0,142 kg + 1 + 10 l	2083
9	Starane forte + Dash + DAM	Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	0,6 + 1 + 100 l	1975
10	Pardner + Designer + Kayak + DAM	Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	2 + 0,3 + 0,5 + 10 l	1810
11	Beloukha + Dash + DAM	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	16 + 1 + 10 l	10384
12	DAM 1:1 s vodou + Dash	DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	B	200 + 1 l	3281
13	Banvel + Dash + DAM	Dicamba + smáčedlo + DAM	A	1 + 1 + 10 l	2757
14	Kabuki + Cerone	Pyraflufen-ethyl + ethephon	A	0,8 + 1 l	2316
15	Kabuki + Beloukha	Pyraflufen-ethyl + kys. Pelargonová	A	0,8 + 1 l	1999
16	Reglone + Dash + DAM	Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	B	3,5 + 0,5 + 100 l	4033

Vizuálně byl hodnocen podíl odumřelých/zaschlých/hnědých pletiv v procentech zvlášť pro listy, stonky a hlávky. U plevelů bylo hodnoceno celkové poškození rostliny v procentech. U rozpadu hlávek byl hodnocen podíl odrolených částí v procentech a u obrůstání pokryvnost listové plochy nově obrostlých zelených rostlin na parcele v procentech. Poslední hodnocení vždy proběhlo těsně před sklizní. Po sklizni byl vyhodnocen výnos čistého semene v kg/ha, který byl přepočítán na standartní vlhkost 8 %, a v roce 2020 byla v průběhu sklizně měřena vlhkost sklizené hmoty v %. 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

V roce 2019 bylo vzhledem k počasí zasychání listů jetele 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 listy zasychaly u variant s *dikvát*em a pak u varianty s *bromoxynilem* v kombinaci s fungicidem. Byl zde statisticky průkazný rozdíl ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Výsledky uvádí tabulka 4. V roce 2020 bylo vlhčí počasí a zasychání listů bylo pomalejší. V době první aplikace bylo zaschlých cca 50 % listů. V době sklizně se zaschnutí listů pohybovalo od 81 % u neošetřené kontroly až po 100 % u variant ošetřených *dikvát*em. Byly zde větší rozdíly než v roce 2019. Ze zkoušených variant bylo nejlepší zaschnutí listů po ošetření *kys. pelargonovou* (98 %), vysokou dávkou hnojiva DAM (94 %) a u *pyraflufen-ethylu* v kombinaci s *kys. pelargonovou* (93 %). Nejhorší zasychání listů bylo u varianty s *flumioxazinem* (81 %) a u varianty s *bromoxynilem* (85 %). Výsledky uvádí tabulka 5.

Tabulka 4: Zasychání listové plochy u jetele nachového v roce 2019

Varianta/účinná látka		Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
Datum hodnocení v roce 2019:			17.6.		20.6.		24.6.		28.6.		-	
1	Kontrola bez ošetření	-	75	a	93	a	100	a	100	a	-	-
2	Dikvát	B	75	a	96	ab	100	b	100	a	-	-
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	75	a	97	ab	100	b	100	a	-	-
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	75	a	97	ab	100	b	100	a	-	-
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	75	a	96	ab	100	b	100	a	-	-
6	Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	B	75	a	93	a	100	b	100	a	-	-
7	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A,B	75	a	96	ab	100	b	100	a	-	-
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	75	a	96	ab	100	b	100	a	-	-
9	Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	75	a	97	ab	100	b	100	a	-	-
10	Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	75	a	99	b	100	b	100	a	-	-
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	75	a	94	ab	100	b	100	a	-	-
12	DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	B	75	a	94	ab	100	b	100	a	-	-
13	DAM 1:1 s vodou + fungicid	B	75	a	94	ab	100	b	100	a	-	-
14	Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	B	75	a	93	a	100	b	100	a	-	-

* písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05**Tabulka 5: Zasychání listové plochy u jetele nachového v roce 2020**

Varianta/účinná látka		Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
Datum hodnocení v roce 2020:			16.6.		19.6.		23.6.		26.6.		1.7.	
1	Kontrola bez ošetření	-	48	a	52	a	76	a	75	a	81	a
2	Dikvát	B	47	a	52	a	77	a	93	d	100	f
3	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	47	a	59	a	78	ab	77	ab	90	cd
4	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	48	a	61	a	82	ab	78	abc	88	abcd
5	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	50	a	62	ab	78	ab	78	abc	89	bcd
6	Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	A	45	a	62	ab	78	ab	77	ab	90	cde
7	Karfentrazon-ethyl + ethefon + smáčedlo + DAM	A	47	a	55	a	81	ab	75	a	91	cde
8	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	47	a	53	a	76	a	78	abc	81	ab
9	Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	50	a	60	a	84	b	82	abc	90	cde
10	Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	48	a	55	a	80	ab	80	abc	85	abc
11	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	47	a	78	b	91	c	88	cd	98	ef
12	DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	B	47	a	53	a	78	ab	87	bcd	94	def
13	Dicamba + smáčedlo + DAM	A	48	a	58	a	81	ab	80	abc	91	cde
14	Pyraflufen-ethyl + ethephon	A	50	a	58	a	82	ab	78	abc	89	bcd
15	Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová	A	45	a	60	a	82	ab	82	abc	93	cdef
16	Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	B	42	a	52	a	77	a	95	d	100	f

* písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05**Zasychání/odumírání/hnědnutí stonků a hlávek**

Zasychání stonků bylo výrazně pomalejší než zasychání listů a hlávek. V roce 2019 bylo v termínu první aplikace zaschlých téměř 50 % stonků. Vzhledem k počasí bylo zasychání stonků poměrně rychlé a v době sklizně bylo zaschlých 92 % stonků u neošetřené kontroly. Zasnění stonků u ošetřených variant se pohybovalo od 94 do 100 %. Nejlepší zasnění bylo u variant a *dikvát*em (98 až 100 %) au varianty s *bromoxynilem* (98 %). Výsledky uvádí tabulka 6.

Tabulka 6: Zasychání stonků u jetele nachového v roce 2019

Varianta/účinná látka	Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2019:		17.6.		20.6.		24.6.		28.6.	
1 Kontrola bez ošetření	-	48	a	72	a	81	a	92	a	-	-
2 Dikvát	B	47	a	82	bc	91	cd	98	cd	-	-
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	47	a	80	abc	87	abcd	96	bc	-	-
4 Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	47	a	82	bc	88	bcd	96	bc	-	-
5 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	47	a	82	bc	85	ab	95	abc	-	-
6 Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	B	47	a	77	abc	86	abc	95	bc	-	-
7 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A,B	47	a	82	bc	88	bcd	95	abc	-	-
8 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	47	a	80	abc	89	bcd	96	bc	-	-
9 Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	47	a	80	abc	88	bcd	94	ab	-	-
10 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	47	a	83	c	92	d	98	cd	-	-
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	47	a	78	abc	88	bcd	94	ab	-	-
12 DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	B	48	a	73	a	85	ab	96	bc	-	-
13 DAM 1:1 s vodou + fungicid	B	48	a	73	a	88	bcd	96	bc	-	-
14 Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	B	48	a	72	a	100	e	100	d	-	-

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

Vzhledem k vlhčímu počasí bylo v roce 2020 zasychání stonků pomalejší než v roce 2019 a byly zde větší rozdíly mezi variantami. V termínu první aplikace bylo zaschlých okolo jedné čtvrtiny stonků. V době sklizně bylo zaschlých od 70 % stonků u neošetřené kontroly po 98 %

(u varianty ošetřené *dikvát*em v kombinaci se smáčedlem a hnojivem DAM). Z nově zkoušených přípravků bylo nejlepší zaschnutí stonků u varianty s *kys. pelargonovou* (88 %). Nejhorší zasychání listů bylo u varianty s *flumioxazinem* (70 %). Výsledky uvádí tabulka 7.

Tabulka 7: Zasychání stonků u jetele nachového v roce 2020

Varianta/účinná látka	Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2020:		16.6.		19.6.		23.6.		26.6.	
1 Kontrola bez ošetření	-	25	a	33	a	50	a	57	a	70	a
2 Dikvát	B	22	a	32	a	48	a	87	c	95	de
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	23	a	37	ab	52	a	58	a	78	b
4 Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	25	a	35	ab	50	a	55	a	75	ab
5 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	27	a	38	abc	48	a	58	a	78	b
6 Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	A	27	a	37	ab	53	a	63	a	79	b
7 Karfentrazon-ethyl + ethefon + smáčedlo + DAM	A	25	a	35	ab	52	a	60	a	80	bc
8 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	23	a	32	a	53	a	62	a	78	b
9 Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	27	a	37	ab	53	a	58	a	70	a
10 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	27	a	33	a	52	a	58	a	78	ab
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	25	a	48	c	67	b	75	b	88	cd
12 DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	B	23	a	33	a	52	a	62	a	80	bc
13 Dicamba + smáčedlo + DAM	A	22	a	33	a	53	a	60	a	75	ab
14 Pyraflufen-ethyl + ethephon	A	23	a	35	ab	58	ab	58	a	80	bc
15 Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová	A	27	a	45	bc	57	ab	57	a	78	b
16 Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	B	23	a	32	a	48	a	90	c	98	e

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

Tabulka 8: Zasychání hlávek u jetele nachového v roce 2019

Varianta/účinná látka	Termín aplikace	Hlávky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2019:		17.6.		20.6.		24.6.		28.6.	
1 Kontrola bez ošetření	-	89	a	97	abc	99	a	100	a	-	-
2 Dikvát	B	88	a	98	abc	100	c	100	a	-	-
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	88	a	99	c	100	c	100	a	-	-
4 Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	88	a	99	c	100	c	100	a	-	-
5 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	88	a	99	bc	100	c	100	a	-	-
6 Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	B	88	a	96	a	100	c	100	a	-	-
7 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A,B	88	a	98	abc	100	c	100	a	-	-
8 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	88	a	97	abc	100	c	100	a	-	-
9 Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	88	a	97	abc	100	c	100	a	-	-
10 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	88	a	99	c	100	c	100	a	-	-
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	B	88	a	96	abc	100	c	100	a	-	-
12 DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	B	89	a	96	ab	100	c	100	a	-	-
13 DAM 1:1 s vodou + fungicid	B	89	a	97	abc	100	b	100	a	-	-
14 Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	B	89	a	97	abc	100	c	100	a	-	-

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

Tabulka 9: Zasychání hlávek u jetele nachového v roce 2020

Varianta	Termín aplikace	Hlávky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)									
		Datum hodnocení v roce 2020:		16.6.		19.6.		23.6.		26.6.	
1 Kontrola bez ošetření	-	89	a	91	a	96	a	99	ab	100	a
2 Dikvát	B	88	a	90	a	96	a	100	b	100	a
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	A	90	a	91	a	96	a	100	ab	100	a
4 Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	88	a	91	a	97	a	100	b	100	a
5 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	A	89	a	91	a	96	a	100	b	100	a
6 Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	A	89	a	90	a	96	a	100	ab	100	a
7 Karfentrazon-ethyl + ethefon + smáčedlo + DAM	A	89	a	91	a	96	a	99	ab	100	a
8 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	A	89	a	90	a	97	a	100	ab	100	a
9 Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	A	88	a	91	a	97	a	100	ab	100	a
10 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	A	90	a	90	a	96	a	98	a	100	a
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	A	89	a	91	a	97	a	100	b	100	a
12 DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	B	89	a	90	a	96	a	100	b	100	a
13 Dicamba + smáčedlo + DAM	A	89	a	91	a	97	a	100	ab	100	a
14 Pyraflufen-ethyl + ethephon	A	89	a	91	a	97	a	99	ab	100	a
15 Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová	A	88	a	91	a	96	a	100	ab	100	a
16 Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	B	89	a	90	a	96	a	100	b	100	a

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

Zasychání hlávek bylo ještě rychlejší než zasychání listů. V roce 2019 byly v termínu první aplikace 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 tabulka 8.

Také v roce 2020 se zaschnutí hlávek v prvním termínu aplikace pohybovalo okolo 90 %, i když bylo zasychání hlávek mírně pozvolnější než v roce 2019, a před sklizní bylo u všech variant zaschlých 100 % hlávek. Neprojevilo se vliv aplikace přípravků na rychlost zasychání hlávek. Výsledky uvádí tabulka 9.

Rozpad plodenství a obrůstání

Hlávky se v roce 2019 začaly rozpadat cca týden před sklizní, kdy byl rozpad hlávek okolo 1 %. O čtyři dny později se rozpad hlávek následkem bouřky zvýšil na 20 až 30 %. Před sklizní byl rozpad hlávek 40 až 55 %. Nejvyšší rozpad hlávek byl u varianty s *dikvát*em v kombinaci se smáčedlem a hnojivem DAM, kde byl porost nejlépe proschlý. U ostatních variant nebyl průkazný rozdíl oproti neošetřené kontrole. V roce 2020 se rozpad hlávek týden před sklizní pohyboval od 1 do 4 %. O tři dny později se zvýšil na 8 až 12 %. V termínu sklizně byl nejnižší rozpad hlávek u neošetřené kontroly (20 %) a nejvyšší u variant s *dikvát*em (25 až 28 %), u *pyraflufen-ethylu* v kombinaci s *kys. pelargonovou* (27 %) a u varianty s *kys. pelargonovou* (26 %).

Obrůstání rostlin jetele bylo v roce 2019 minimální a dosahovalo v průměru 0 až 0,6 % obrostlých rostlin na parcelu. Mezi variantami nebyly statisticky průkazné rozdíly. V roce 2020, kdy bylo v době dozrávání a sklizně chladnější a vlhčí počasí s množstvím srážek, bylo obrůstání jetele vyšší. V době sklizně dosahovalo na neošetřené kontrole v průměru 10 %. Nejvyšší obrůstání bylo u varianty s *flumioxazinem* (12 %). U všech ostatních variant bylo obrůstání v době sklizně nižší než na kontrole. Průkazné rozdíly oproti neošetřené kontrole byly zjištěny u variant s nejnižší pokryvností listové plochy zeleného obrostu, tj. u variant s *dikvát*em (0 až 1 %), u variant s *fluroxypyrem* (0 %) a u varianty s *dicambou* (0 %).

Účinnost na plevel

Byla hodnocena také účinnost na nejvýznamnější plevel. v roce 2019 se nejvíce vyskytoval heřmánkovec a v menší míře také violka. V roce 2020 pak byly nejvýznamnějšími plevele locika a svízel přitula.

Na violku neúčinkovala žádná varianta s výjimkou kombinace *dikvátu* se smáčedlem a hnojivem DAM, kde violka zaschla stejně jako zbytek porostu. Účinnost na heřmánkovec byla kromě *dikvátu* pozorována také u *pyraflufen-ethylu*. *Pyraflufen-ethyl* měl dobrou účinnost také na lociku. Nejvyšší účinnost na lociku (90 %) měl po 10 dnech, poté docházelo k obrůstání zaschlých rostlin a jeho účinnost se snižovala (až na 60 %). Při kombinaci *pyraflufen-ethylu* s *fluroxypyrem* nebo *ethephonem* nebylo obrůstání tak výrazné a účinnost se snížila z 90 na 80 %. Dobrá účinnost na svízel byla kromě *dikvátu* (95 %) na variantách s *karfentrazon-ethylem* (90 až 97 %) a *pyraflufen-ethylem* (80 až 97 %). *Pyraflufen-ethyl* měl nižší účinnost bez přídavku hnojiva DAM. Svízel narozdíl od lociky neobrástala.

Výnosy a vlhkost sklizené hmoty

Výnosy v roce 2019 byly mírně vyšší než v roce 2020. V obou letech byl nejnižší výnos na variantě s *dikvát*em v kombinaci se smáčedlem a 100 l hnojiva DAM. V roce 2019 nebyla vlhkost osiva měřena při sklizni, ale až během posklizňového zpracování osiva. V roce 2020 bylo měření vlhkosti osiva prováděno v průběhu sklizně. Průměrná vlhkost osiva při sklizni se pohybovala od 10 % u varianty s *dikvát*em v kombinaci se smáčedlem a 100 l hnojiva DAM po 22 % u neošetřené kontroly (viz tabulka 10). Bylo provedeno také srovnání jednotlivých opakování, kdy bylo první opakování nejbližší při okraji pozemku více zaplevelené než ostatní opakování. Při srovnání zaplevelených a nezaplevelených parcel se projevil nepříznivý vliv zaplevelení na vlhkost sklizené hmoty. Oproti nezapleveleným parcelám docházelo ke zvýšení vlhkosti až o 15 %. Mezi jednotlivými variantami nebyly ve vlhkosti statisticky průkazné rozdíly. Výsledky uvádí tabulka 10.

Tabulka 10: Výnosy a vlhkost sklizené hmoty

Rok	2019			2020			
Varianta/účinná látka	Výnos v kg/ha		Účinná látka	Výnos v kg/ha		Vlhkost v %	
1 Kontrola bez ošetření	588	ab	Kontrola bez ošetření	578	a	22	a
2 Dikvát	757	b	Dikvát	506	a	16	a
3 Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	720	b	Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM	581	a	16	a
4 Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	761	b	Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM	585	a	13	a
5 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	771	b	Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	530	a	16	a
6 Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	798	b	Karfentrazon-ethyl + lepidlo + DAM	625	a	14	a
7 Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM	719	b	Karfentrazon-ethyl + ethefon + smáčedlo + DAM	605	a	13	a
8 Flumioxazin + smáčedlo + DAM	798	b	Flumioxazin + smáčedlo + DAM	634	a	13	a
9 Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	737	b	Fluroxypyr + smáčedlo + DAM	639	a	13	a
10 Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	724	b	Bromoxynil + lepidlo + fungicid + DAM	583	a	16	a
11 Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	727	b	Kys. pelargonová + smáčedlo + DAM	684	a	16	a
12 DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	676	ab	DAM 1:1 s vodou + smáčedlo	531	a	18	a
13 DAM 1:1 s vodou + fungicid	752	b	Dicamba + smáčedlo + DAM	621	a	14	a
14 Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	435	a	Pyraflufen-ethyl + ethefon	637	a	11	a
15 -	-	-	Pyraflufen-ethyl + kys. pelargonová	519	a	17	a
16 -	-	-	Dikvát + smáčedlo + DAM 100 l	431	a	10	a

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

Diskuse

U většiny účinných látek a jejich kombinací se ve srovnání s neošetřenou kontrolou projevil příznivý vliv na zasychání jetele, ale ve srovnání s *dikvátem* působily ostatní účinné látky pomaleji. U *dikváta* se maximální účinek projevoval po 4 až 8 dnech. U ostatních účinných látek byl nástup účinku cca o týden pomalejší. Rozdíly byly také v celkové účinnosti. Rozdíl mezi dvěma diametrálně odlišnými ročníky ukázal, že při vlhčím počasí dochází k intenzivnějšímu obrůstání porostů a celkově je zasychání porostů pomalejší. Největší rozdíl byl mezi dvěma ročníky u varianty s *bromoxynilem* v kombinaci s fungicidem. V teplém suchém roce 2019 dopadla tato varianta velice dobře, naopak ve vlhkém roce 2020 to byla jedna z nejméně účinných variant. Výrazné snížení účinnosti se oproti suchému roku 2019 projevilo také u varianty s *flumioxazinem*. McNaughton *et al.* (2015) a Soltani *et al.* (2013) srovnávali účinky působení *dikváta*, *karfentrazonu* a *flumioxazinu* na dozrávání jedlých fazolí. *Flumioxazin* měl v jejich pokusech nižší účinnost než *karfentrazon*. V našich pokusech s jetelem nachovým byla v roce 2020 naopak účinnost *karfentrazonu* vyšší než účinnost *flumioxazinu*. Nejvyšší desikační účinek měl podobně jako v našich pokusech *dikvát*.

Velmi dobře naopak v roce 2020 dopadla varianta s kys. pelargonovou, kde byla oproti roku 2019 provedena aplikace v časnějším termínu a zvýšena dávka. Vyšší dávka aplikovaná ve dřívějším termínu měla velmi dobrou účinnost na jetel, ale velkou nevýhodou této účinné látky je horší účinnost na plevel. Zaplevelení bylo v roce 2020 daleko větším problémem než v roce 2019. Zejména mohutné rostliny lociky hůře zasychaly a ve vlhkém počasí u nich docházelo k intenzivnímu obrůstání. Ukázalo se, že zaplevelení může zvyšovat vlhkost sklizené hmoty až o 15 %. Soltani *et al.* (2013) studovali desikační účinnost *glyphosátu*, *flumioxazinu*, *karfentrazon-ethylu* a *dikváta* na nejčastější plevel (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 *dikváta* v ostatních zkoušených variantách pomalejší, a proto je zde nutná dřívější aplikace přípravků ve srovnání s aplikací *dikváta*. U jetele nachového byl u všech ošetřených variant pozorován příznivý vliv na zasychání porostů. V roce 2019 byly rozdíly vzhledem k celkově rychlému zasychání porostu poměrně malé. Příznivý vliv ošetření byl zaznamenán i v roce 2020, kdy bylo zasychání rostlin pozvolnější a byly zde větší rozdíly mezi zkoušenými variantami a neošetřenou kontrolou. 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 svízel. U lociky docházelo k obrůstání a 10 dní po aplikaci dosáhla účinnost svého maxima (90 %) a poté se snižovala.

Literatura

- Tomeu A. (1970): Effect of the desiccant diquat on the yield and germination of alfalfa seeds. *Revista Cubana de Ciencia Agricola* 4 (1): 59-62
- 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. (2015): Effect of application timing of glyphosate and saflufenacil as desiccants in dry edible bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Can. J. Plant Sci.* (2015) 95: 369-375. Doi:10.4141/CJPS-2014-157
- Nguyen C., Chemin A., Vincent G. (2016): Beloukha, Nouveau 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 desiccation. *Planta Daninha, Viçosa-MG*, v. 33, n. 3, p. 441-450, Doi: 10.1590/S0100-83582015000300007
- 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>
- Loux M. (2019): Reminders about pre-harvest herbicide treatment. *Ohio's country journal* 09. www.ocj/2019/09/reminders-about-pre-harvest-herbicide-treatment.
- Hatterman-Valenti H., Endres G., Jenks B., Ostlie M., Reinhardt T., Robinson A., Stenger J., Zollinger R. (2017): Defining glyphosate and dicamba drift injury to dry edible pea, dry edible bean and potato. *Hort technology* 27 (4): 502-509.

Poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1720 a za podpory SPTJS

Kontaktní adresa:

Zuzana Kubíková, Ing. Ph.D.
Zemědělský výzkum spol. s r. o.
Zahradní 1, 664 41
E-mail: kubikova@vupt.cz

MOŽNOSTI OCHRANY HRACHU PROTI ZRNOKAZU HRACHOVÉMU

Possibilities of protection of peas against pea weevil

Šafář J., Seidenglanz M.

Agritec Plant Research s. r. o., Šumperk

Abstrakt

Tato práce se zabývá foliárními aplikacemi neonikotinoidů (Biscaya, Mospilan), pyretroidů (Hunter SPU), kombinací pyretroidů a neonikotinoidů (Proteus), přípravků využitelných v ekologickém zemědělství (Neemazal, Spintor, Radiant), z hlediska jejich účinnosti na juvenilní stádia zrnokaze hrachového (*Bruchus pisorum*). Postřik byl v jednotlivých variantách aplikován na začátku a vrcholu kladení samiček zrnokaze a výsledkem bylo zjištění, že pyretroidní přípravek Mospilan aplikován na vrcholu kladení samiček zrnokaze významně snižuje množství larev zrnokaze (účinnost 86 až 97 %), které jsou schopny za normálních okolností poškozovat semena hrachu a mohou způsobit naprosté znehodnocení sklizně. Tyto výsledky mohou vést k nalezení alternativy za neonikotinoidy, které byly primárně používány na kyjatku hrachovou s vedlejší účinností proti zrnokazům.

Klíčová slova: hrách setý, *Bruchus pisorum*, *Pisum sativum*

Abstract

It was studied the effect of insecticides Neonicotinoids: Biscaya 240 OD 300 ml/ha, Mospilan 20 SP-150 g/ha; Pyretroids: Hunter SPU 150 g/ha, or combination between Neonicotinoids and Pyretroids: Proteus 110 OD 0,5 l/ha and insecticides suitable for ecological production: Neemazal T/S 3l/ha, Spintor 400 ml/ha, Radiant SC 400 ml/ha on *Bruchus pisorum* eggs and mainly their larvae. The insecticides were applied at two times during the seasons 2018-2019. The treatment with Mospilan, Proteus, Biscaya and Neemazal significantly reduced the rate of pea weevil to control. Mospilan 20 SP had lowest level of *B. pisorum* survival (97 or 87 %) at the peak of egg-laying activity. The aim of this work was to find an alternative for Neonicotinoids from ecological pesticides or Pyretroids.

Key words: peas, *Bruchus pisorum*, *Pisum sativum*

Úvod

Pro produkci osiva, lusků nebo sklizeň hrachu za účelem výživy je naprosto limitující výskyt zrnokaze hrachového (*Bruchus pisorum* Linnaeus, 1767), který představuje klíčového škůdce semen hrachu setého (Clement et al. 2000). Sklizená produkce na osivo s výskytem živých nebo mrtvých jedinců zrnokazů nesplňuje požadavky na uvádění do oběhu a pro uplatnění produkce ke konzervářským účelům musí být výskyt zrnokazů nulový. V současné době jsme svědky, dle zkušenosti autorů této práce, prodlužování období kladení zrnokazů, jež není nyní přibližně 14 dní jako v minulosti, nýbrž pět až šest týdnů, tak jako tomu bývá v posledních letech. Tento fakt zavdává na složitější plánování foliárních aplikací a také jejich častější selhávání. Situaci nyní komplikuje další fakt, což je snižující se množství účinných látek přípravků na ochranu rostlin (dnes pouze pyretroidy s účinnou látkou Deltametrin a Lambda-cyhalotrin). Populace zrnokazů byly v porostech hrachu ovlivňovány i pozdními aplikacemi jiných insekticidů, kupř. proti kyjatce hrachové. Jednalo se zejména o neonikotinoidní insekticidy, o kterých je známo, že mají vcelku dobrou účinnost na žravé škůdce se systemickým účinkem zejména v mladých pletivech rostlin. Je tedy evidentní, že trend spěje minimálně třemi směry: k naprostému omezení chemické insekticidní ochrany vůbec, nadužívání chemických přípravků ze skupiny

pyretroidů a snaze najít insekticidy šetrnější k životnímu prostředí (využívané kupř. v ekologickém zemědělství). Tento článek se pokusí srovnat insekticidní přípravky, které se v porostech hrachu užívali nebo užívají a pokusit se nalézt alternativu za chybějící účinné látky o které stále častěji přicházíme.

Materiál a Metody

V průběhu roku 2018 a 2019 probíhaly na pozemcích v okolí města Šumperk (lokalita Nové Domky a Rapotín) maloparcelní polní pokusy v hrachu setém v plně znáhodněných blocích ve čtyřech opakováních. Rozloha jednotlivých parcel byla 25 m². V roce 2018 byly prováděny foliární aplikace v hrachu setém odrůdy Cysterski (fenologicky velmi ranná úponková odrůda s ranějším vývojem lusků) a následující rok v odrůdě Protecta (listový typ), kde smyslem bylo zjistit účinnost jednotlivých insekticidů při různých termínech aplikací. Pro tento screeningový pokus byly využity pesticidy ze skupiny pyretroidů a neonikotinoidů, kombinace zmíněných, dále přípravky využitelné v ekologické produkci. Konkrétně se jednalo o neonikotionid-Acetamiprid (Mospilan 20 SP 0,15 kg/ha), Thiacloprid (Biscaya 240 OD s dávkou 0,3 l/ha) a dále tento neonikotinoid (Thiacloprid) kombinovaný s pyretroidem (Deltametrinem) v produktu Proteus (0,5 l/ha). Z pyretroidů byl využit insekticid s účinnou látkou Lambda-cyhalotrin (Hunter SPU 0,15 kg/ha).

Z látek využívaných nebo potenciálně využitelných v ekologické produkci byl zařazen přípravek s látkou Azadirachtin (alkoholethoxylát v produktu Neemazal 3 l/ha), Spinetoram (Radiant SC 4 l/ha) a Spinosad (Spintor 0,6 l/ha). U některých aplikací bylo využito smáčedlo na bázi pomerančového oleje (Wetecit) se zesilujícím insekticidní účinkem. Termíny aplikací byly pro jednotlivé roky směřovány (dle monitoringu kladení vajíček samičkami zrnokazů) na začátek kladení (15. 6. 2018 – BBCH 65-71; 7. 6. 2019 – BBCH 73-75) a vrchol kladení (27. 6. 2018 – BBCH 67-71; 19. 6. 2019 – BBCH 71-75). Vzorek lusků pro rozборы a hodnocení byl odebrán na konci vegetace při BBCH 85, kdy z každé parcely bylo odebráno 20 lusků ze spodního patra a dvacet lusků z horního patra na náhodně vybraných rostlinách rovnoměrně úhlopříčně v parcelce obdélníkového charakteru. Z jedné parcely bylo tedy dohromady odebráno čtyřicet lusků, takže pokud není zmíněno v legendě patro odběru, tak to znamená, že výsledky jsou ze stošedesáti lusků na variantu (čtyři opakování krát čtyřicet lusků). Hodnocení probíhalo v následujícím po roce odběru v době líhnutí zrnokazů leden až únor 2019 a 2020.

Výsledky a diskuze

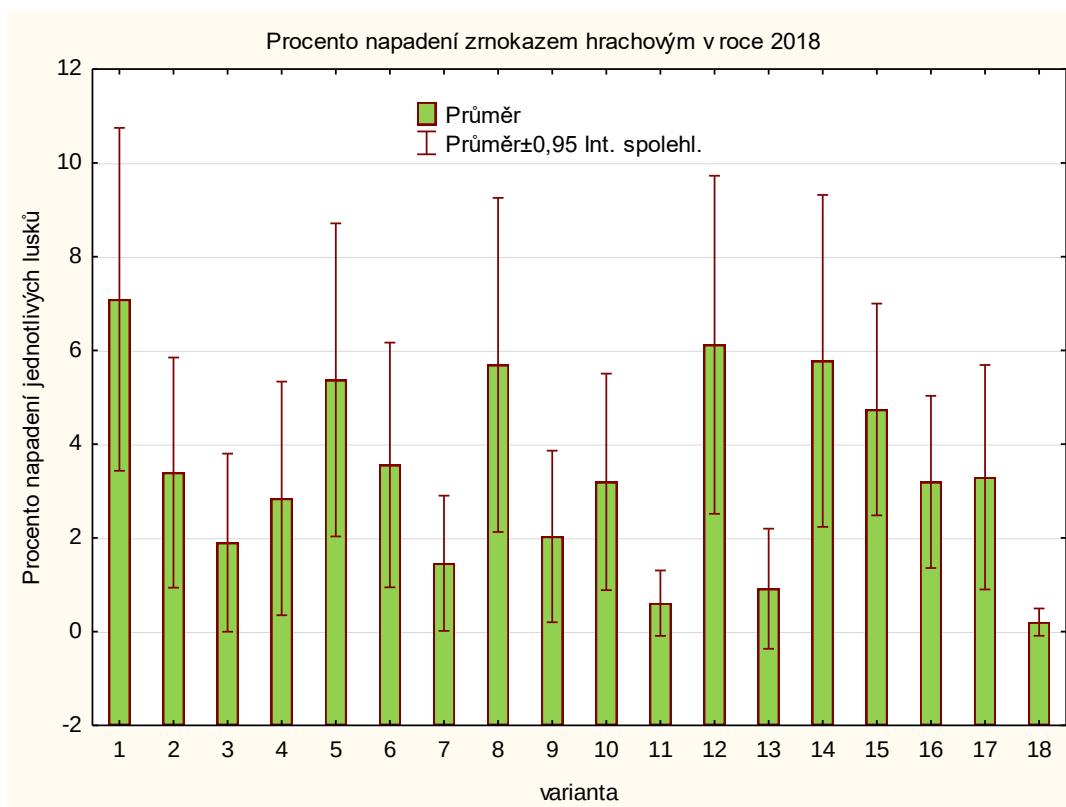
Výsledky foliárních aplikací použité ve dvouletém období studia vlivu pesticidů (zejména neregistrovaných) poukázaly na několik zajímavých zjištění (Tab. + Graf 1.1., 1.2; Tab. 2). Neonikotinoid Thiacloprid měl nižší účinnost (statisticky významnou), což se částečně projevilo i v jiných polních testech realizovaných Seidenglanzem et al. (2011), kde se projevily účinnosti pro Thiacloprid a Acetamiprid mezi sebou statisticky neprůkazně. V námi sledovaném pokusu se jevíly neonikotinoidy jako spolehlivější s tím rozdílem, že látka Acetamiprid dosáhla v našich testech překvapivých výsledků oproti Thiaclopridu. Výrazné rozdíly dosáhlo srovnání v případě neonikotionidů s registrovaným pyretroidem: Lambda-cyhalothrinem, což ale neodpovídá výsledkům Seidenglanze et al. (2011). Celkově nelze výsledky práce Seidenglanze interpretovat ve prospěch neonikotinu Thiaclopridu ve vztahu k Acetamipridu i pyretroidu Lambda-cyhalothrinu, což bylo dosud známo při srovnání Thiaclopridu s jinými pyretroidy jako Zeta-cypermethrin a Cypermethrin v práci Nikolové (2014). Signifikantní výsledky vysoké účinnosti na zrnokaze u pyretroidů oproti neonikotinoidům se podařilo potvrdit Nikolovou (2014), ovšem z výsledků této práce (Tab. 2) vyplývá, že tomu v našem případě bylo jinak. V Tab. 2 jsou zobrazeny průměry účinnosti za

dvě sledované sezóny, jež byly statisticky významné ve prospěch neonikotinoidů. O výsledcích pokusů Nikolové (2014) je nutno zmínit, že neonikotinoid Thiacloprid používala dokonce ve dvojnásobné dávce účinné látky oproti autorům této práce, přesto pyretroidy s látkou Cypermethrin vykazovaly statisticky významně vyšší účinnost. Nikolova (2014) ovšem všechny své aplikace směřovala na první výskyty vajíček zrnokazů v porostu, což pravděpodobně vedlo k zamezení projevu částečně systémového účinku neonikotinoidů. Tento jev u Thiaclopridu znám a podobně je tomu u Acetamipridu, který v této práci dosáhl vynikajících výsledků s až 97 % účinnosti na zrnokaze (v roce 2018).

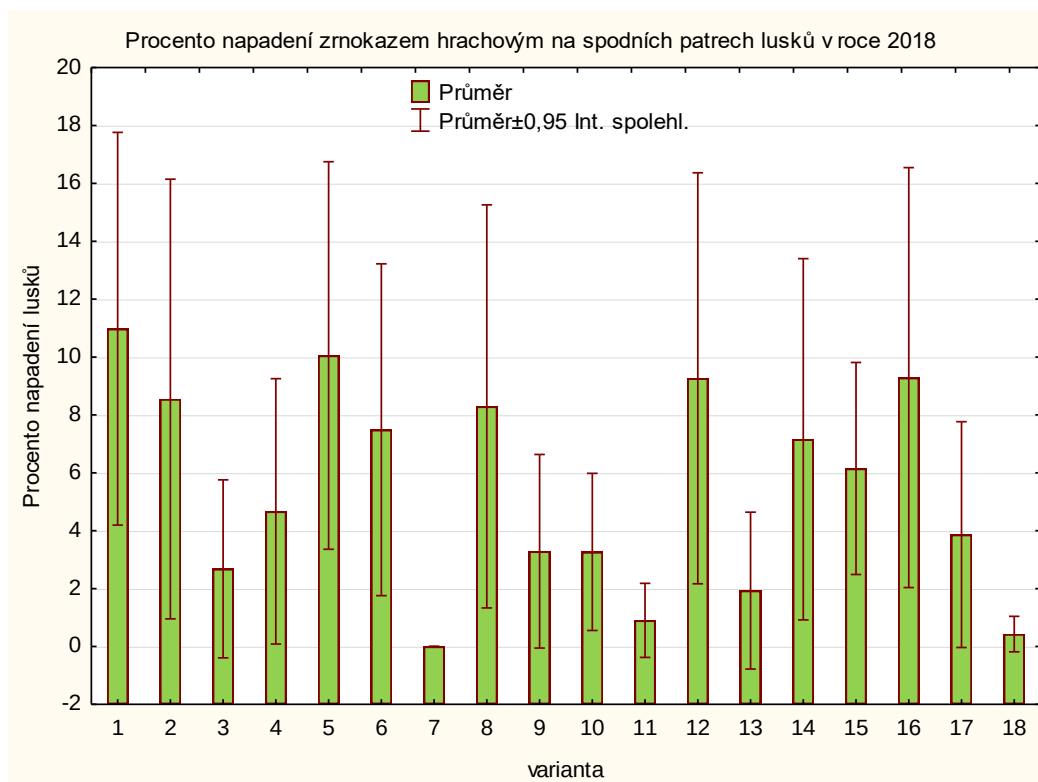
Silný inhibiční účinek na populace hmyzu je znám u Acetamipridu i z mnoha jiných prací, kupř: Parrish et al. (2001). Jako alternativou za pyretroidy se jevil ve výsledcích i přípravek Proteus 110 OD. Tento přípravek na ochranu rostlin má bohužel, po pyretroidní látce Deltamethrin (registrován na žravé škůdce v hrachu) účinnou látku Thiacloprid, které skončilo použití do hrachu. Z výsledků této práce vyplývá, že kombinovaný přípravek Proteus 110 OD lze považovat za spolehlivý při použití na začátku kladení zrnokazů. U přípravku Neemazal (užívaný v ekologickém zemědělství), který byl dokonce na žravé škůdce hrachu donedávna registrován, nebylo dosaženo přesvědčivých výsledků, podobně tomu bylo u dvou sobě příbuzných látek Spinosyn a Spinosad. Závěrem je nutno zmínit, že na vrcholu kladení se 100 % účinností projevil Lambda-cyhalothrin na vrcholu kladení v roce 2018, což se v jiných termínech nepotvrdilo.

Tab. 1.1: Výsledky Tukeyova HSD testu variant pokusu v roce 2018; $P < 0,05$. V procentech je znázorněno napadení a účinnost – kurzívou. (Wet.) – smáčedlo Wetcit

Varianta	Počátek Kladení	Vrchol Kladení	Napadení	Účinnost	Napadení*	Účinnost*
1	Kontrola	Kontrola	7,09 ±3,71		10,97 ±6,85	
2		Neemazal	3,40 ±2,49	52ab	8,55 ±7,63	22ab
3		Neemazal + Wet.	1,92 ±1,92	73ab	2,68 ±3,09	73ab
4	Biscaya		2,84 ±2,52	60ab	4,66 ±4,60	58ab
5	Neemazal + Wet.		5,37 ±3,38	24ab	10,05 ±6,72	8ab
6	Neemazal		3,56 ±2,64	50ab	7,49 ±5,75	32ab
7	Hunter SPU		1,46 ±1,46	79bc	0	100b
8	Hunter SPU + Wet.		5,69 ±3,61	20a	8,3 ±7,00	24ab
9	Spintor		2,03 ±1,85	71ab	3,29 ±3,25	70ab
10	Neemazal	Neemazal	3,19 ±2,34	55ab	3,27 ±2,72	70ab
11	Proteus		0,61 ±0,61	91b	0,90 ±1,29	92b
12		Proteus	6,12 ±3,55	14a	9,27 ±7,13	15ab
13	Proteus + Wet.		0,92 ±1,33	87bc	1,92 ±2,73	82b
14		Biscaya	5,78 ±3,54	18a	7,16 ±6,17	35
15		Radiant SC	4,74 ±2,39	33ab	6,15 ±3,67	44
16		Spintor	3,19 ±2,42	55ab	9,29 ±7,33	15
17		Hunter SPU	3,29 ±0,35	54ab	3,87 ±3,82	65
18		Mospilan	0,20 ±0,02	97c	0,43 ±0,62	96b



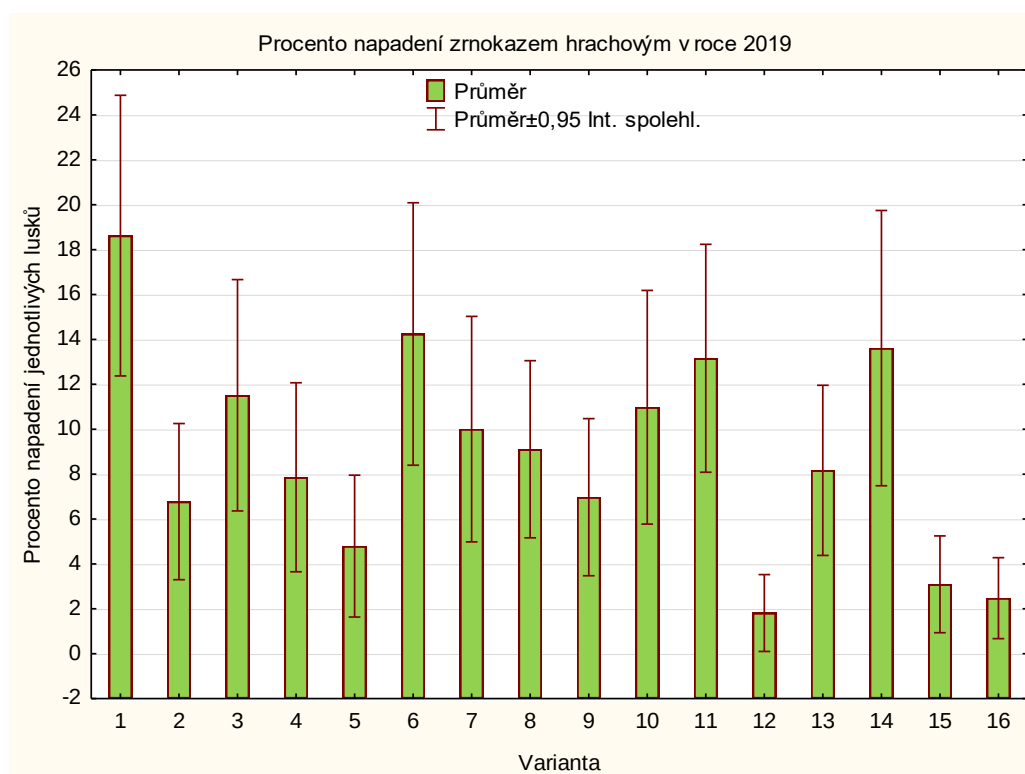
Graf 1.1: Procento napadení semen jednotlivých lusků lusků (horního i spodního patra) zrnokazem hrachovým v procentech s intervaly spolehlivosti $\pm 95\%$ v roce 2018. Seznam variant v Tab. 1.1

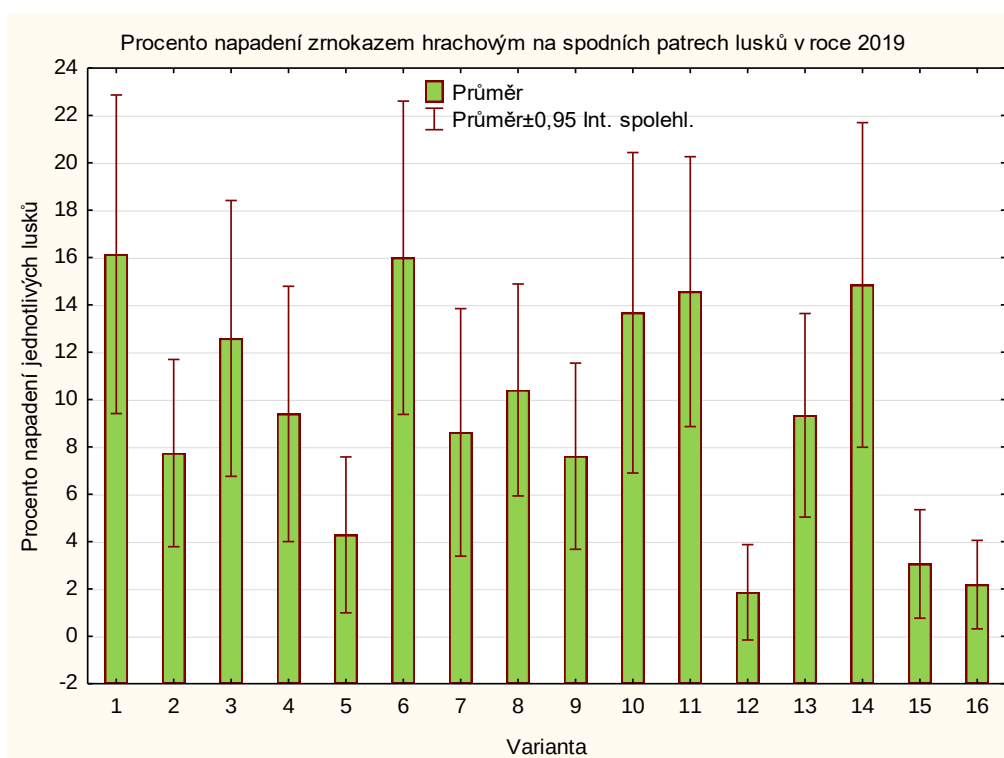


Graf 1.2: Procento napadení semen jednotlivých lusků ve spodních patrech zrnokazem hrachovým v procentech s intervaly spolehlivosti $\pm 95\%$ v roce 2018. Seznam variant v Tab. 1.1

Tab. 1.2: Výsledky Tukeyova HSD testu variant pokusu v roce 2019; $P < 0,05$. V procentech je znázorněno napadení a účinnost – kurzívou. (Wet.) – Wetcit

Varianta	Počátek Kladení	Vrchol Kladení	Napadení (%)	Účinnost	Napadení* (%)	Účinnost*
1	Kontrola	Kontrola	18,63 ±6,34		16,14 ±7,79	
2		Neemazal	6,77 ±3,53	64b	7,74 ±3,00	52ab
3		Neemazal + Wet.	11,51 ±5,22	38ab	15,59 ±5,90	3a
4	Biscaya		7,86 ±4,27	58b	9,40 ±5,44	42bc
5	Neemazal + Wet.		4,79 ±3,20	74bc	4,29 ±2,24	73bc
6	Neemazal		14,24 ±5,92	24ab	15,99 ±7,67	1a
7		Spintor	10,00 ±5,08	46ab	8,62 ±5,28	47ab
8		Proteus	9,11 ±4,00	51ab	10,41 ±5,28	36ab
9		Biscaya	6,97 ±3,54	63ab	7,61 ±2,97	53ab
10	Neemazal	Neemazal	10,97 ±4,27	41ab	13,67 ±6,94	15ab
11	Proteus		13,16 ±5,24	29ab	14,56 ±5,76	10ab
12	Proteus + Wet.		1,81 ±1,61	90c	1,86 ±3,31	88c
13	Radiant SC		8,17 ±3,76	56b	9,34 ±4,46	42ab
14		Hunter SPU + Wet.	13,61 ±6,21	27ab	14,84 ±6,93	8a
15	Mospilan		3,09 ±2,18	83c	3,06 ±2,31	81c
16		Mospilan	2,47 ±1,82	87c	2,19 ±1,89	86c

Graf 2.1: Procento napadení semen jednotlivých lusků (horního i spodního patra) zrnokazem hrachovým v procentech s intervaly spolehlivosti $\pm 95\%$ v roce 2019. Seznam variant v Tab. 1.2



Graf 2.2: Procento napadení semen jednotlivých lusků ve spodních patrech zrnokazem hrachovým v procentech s intervaly spolehlivosti $\pm 95\%$ v roce 2019. Seznam variant v Tab. 1.2

Tab 2: Průměrné napadení a účinnost na juvenilní stádia zrnokaze hrachového pro kategorie studovaných látek v semenech hrachu; (*) údaje se signifikantně liší oproti kontrole dle Student-Newman-Keuls testu ($P=0,05$)

Skupina látek	Rok	Napadení (%)	Účinnost (%)	Napadení (%)	Účinnost (%)
		Semena horního a spodního patra		Semena spodních pater lusků	
Ekologické přípravky	2018	3,43	52	6,35	42
	2019	9,49	49	10,75	33
Neonikotinoidy	2018	2,34*	67	5,05	54
	2019	6,52*	75	5,65*	75
Pyretroidy	2018	3,40	52	7,79	29
	2019	10,62	43	8,55	47
Kombinace neonikotinoidů a pyretroidů	2018	2,55*	64	4,03	63
	2019	7,49	60	8,21	49

Závěr

Zrnokaz hrachový (vzhledem k různé délce aktivitě v kladení samic) bude pravděpodobně v budoucnu stále nebezpečnějším škůdcem hrachu, protože nalezení vhodného termínu foliární aplikace bude stále složitější. Omezené množství účinných látek insekticidních přípravků související s ukončením používání neonikotinoidů do hrachu tyto problémy prohloubí. V současnosti je proti zrnokazovi povolena účinná látka Lambda-cyhalothrin. V budoucnu bezesporu dojde k nadužívání pyretroidů při ochraně rostlin hrachu proti zrnokazům, které díky

vyšším teplotám budou selhávat v účinnosti v období foliárních aplikací. Z rostlinolékařského hlediska se jedná o nebezpečnou situaci, protože toto nadužívání může způsobit rezistence populací zrnokazů, tak jak to známé u prací zaměřené na zrnokazy z jiných částí Evropy, Afriky a Asie (Carrillo-Perdomo et al. 2019). Tento stav předznamenává nutnost vyhledat cesty jak chemickou (resp. nechemickou) cestou napadení semen hrachu eliminovat.

Dedikace

Pro realizaci pokusu byla využita institucionální podpora Ministerstva zemědělství z projektu RO 10/18

Použitá literatura

- CLEMENT S. L., WIGHTMAN, J. A., HARDIE D. C., BILEY P., BAKER G., McDONALD G. 2000: Opportunities for integrated management of insect pests of grain legume. In: R. Knight (ed.) Linking research and marketing opportunities for pulses in the 21st century. Kluwer, Dordrecht, The Neatherlands, 467-480 pp.
- CARRILLO-PERDOMO E., RAFFIOT B. OLLIVIER D., DEULVOT CH., MAGNIN-ROBERT J. B., TAYEH N., MARGET P. 2019: Identification of Novel Sources of Resistance to Seed Weevils (*Bruchus* spp.) in a Faba Bean Germplasm collection. *Frontiers in Plant Science*. 9: 1-12 pp.
- NIKOLOVA I. 2014: Ovicidal effect of some insecticides on *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Chrysomelidae) eggs. *Banat's Journal of Biotechnology*. V (10): 28-36.
- PARRISH M. D., AYAD H., HOLMES K. 2001: Ovicidal aktivty of acetamiprid (Assail brand 70 WP insecticide) on economic pests of cotton. In: *Proessing Beltwide Cotton Conference*, Anaheim, CA. 9-13 January 2001, Memphis 904-905 pp.
- SEIDENGLANZ M., ROTREKL J., POSLUŠNÁ J., KOLAŘÍK 2011: Ovicidal Effects of Thiacloprid, Acetamiprid, Lambda-Cyhalothrin and Alpha-Cypermethrin on *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Chrysomelidae) Eggs. *Plant Protection Science*, Vol. 47, No. 3: 109–114 pp.

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Šafář, Ph.D.
Agritec Plant Research, s.r.o.
Zemědělská 16
e-mail: safar@agritec.cz

ANALÝZA DRUHOVÉHO SLOŽENÍ VEGETACE REKULTIVOVANÉ SKLÁDKY KOMUNÁLNÍHO ODPADU

Analysis of the species composition of vegetation of a reclaimed municipal waste landfill

Winkler J.^{1,2}, Černý M.¹, Hurajová E.¹, Vaverková M. D.^{1,2}, Adamcová D.¹, Koda E.²

¹Mendelova univerzita v Brně

²Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Abstrakt

Cílem příspěvku je analyzovat druhové složení vegetace rekultivované skládky a zhodnotit odlišné metody její údržby. Hodnocení vegetace proběhlo na uzavřené skládce komunálního odpadu v městě Pruszków (Warszawa, Polsko). Na základě monitoringu vegetace metodou fytocenologických snímků bylo nalezeno 96 druhů rostlin. Na rekultivované části intenzivně udržované bylo nalezeno 62 druhů, na části nově rekultivované 42 druhů. Na rekultivované neudržované části bylo nalezeno 54 druhů a na aktivní části bylo nalezeno 28 druhů. V druhovém složení vegetace mají významné zastoupení invazní a intenzivně se šířící druhy rostlin (*Robinia pseudacacia*, *Tanacetum vulgare*, *Acer negundo*, *Sisymbrium loeselii*, *Panicum capillare*, *Solidago canadensis*, *Atriplex tatarica*, *Bassia scoparia*, *Xanthium strumarium*). Vegetace skládek může být významným zdrojem šíření invazních druhů rostlin a také polních plevelů do okolní krajiny.

Klíčová slova: vegetace, skládka odpadu, rekultivace, biodiverzita

Abstract

The article deals with analyzing the species composition of vegetation of a reclaimed waste landfill and evaluating different methods of its maintenance. The vegetation was evaluated in a closed landfill in Pruszków (Warszawa, Poland). Based on the monitoring by the method of phytocenological relevés, 96 species of plants were found. In the intensively maintained recultivated part, there were 62 species. In the newly recultivated part, there were 42 species. In the recultivated unmaintained part, there were 54 species, and 28 species were found in the active part. Invasive and intensively spreading plant species have a significant representation in the species composition of vegetation (*Robinia pseudacacia*, *Tanacetum vulgare*, *Acer negundo*, *Sisymbrium loeselii*, *Panicum capillare*, *Solidago canadensis*, *Atriplex tatarica*, *Bassia scoparia*, *Xanthium strumarium*). Landfill vegetation can be an essential source of the spread of invasive plant species and field weeds to the surrounding landscape.

Key words: vegetation, waste landfill, reclamation, biodiversity

Úvod

Vliv člověka na životní prostředí se jasně projevuje při produkci a nakládání s různými druhy odpadů (Lestari a Trihadiningrum, 2019). Nejběžnějším způsobem nakládání s odpady na celém světě je skládkování (Wong et al., 2015; Hamid et al., 2018). Skládkování má však řadu negativních dopadů na životní prostředí v podobě degradace půdy a vody díky znečišťujícím látkám uvolňovaným z uloženého odpadu, které mohou vést ke kontaminaci půdy a vody i ve vzdáleném okolí od skládky (Dąbrowska et al., 2018; Koda et al., 2018; Vaverková et al., 2018). Existence skládek odpadů je vážným problémem v řadě zemí. Dokládá to řada vědeckých prací. Výzkum byl proveden v Německu a Rakousku (Allgaier a Stegmann, 2006), Irsku (Doak et al.,

2007), Francii (Biotto et al., 2009), Itálii (Silvestri a Omri, 2008) a Srbsku (Vasiljević et al., 2012).

Obecně lze skládky komunálního odpadu charakterizovat jako lokalitu s typickou synantropní flórou (Koda et al., 2013; Adamcová et al., 2017; Bryant et al., 2017). Podle Wania et al. (2006) jsou tyto lokality ovlivněné lidskou činností obvykle kolonizovány rostlinnými druhy ze skupiny neofytů a archeofytů. Degradace půdy jako dopad existence skládek komunálního odpadu se může projevit na složení vegetace rostoucí na skládkách komunálního odpadu a v jejich okolí (Mao et al., 2018; Vaverková et al., 2019). Změny podmínek na povrchu skládky komunálního odpadu i uvnitř jejího těla představují výzvu pro vegetaci, na kterou musí vegetace reagovat změnou druhového složení a změnami sukcese (Tintner a Klug, 2011; El-Sheikha et al., 2012).

V posledních pěti desetiletích došlo k nebývalému úbytku a degradaci krajiny na Zemi, což mělo za následek nevratný pokles biologické rozmanitosti a vzestup nových ekosystémů obsahujících kombinace a relativní množství druhů, které se dříve nevyskytovaly (Hobbs et al., 2006). Novými ekosystémy jsou také uzavřené skládky komunálního odpadu. Jejich obnova je obecně považována za problematickou z důvodu špatné struktury půdního profilu (tvořeného často z dovážených půd z různých lokalit), hrubého substrátu a vysoké koncentrace skládkového plynu (Athy, 2006; Handel, 1997). Po závěrečném zakrytí mají oblasti skládky fyzikální a chemické vlastnosti typické pro silně narušené prostředí: redukční podmínky, nízký obsah vody v půdě, heterogenní zastoupení živin (Lisk, 1991).

V současné době jsou vytvořeny metodiky pro renaturalizaci prostředí a obnovu narušených lokalit pro veřejné použití (Maurice, 1995). Základem renaturalizace je využití znalostí o potenciálních druzích rostlin pro obnovu lokality se zaměřením na ty, které jsou nevhodné pro suché podmínky. Cílem je vytvořit fytocenózu z místních druhů, které se přizpůsobí podmínkám renaturované lokality (Depuit, 1982). Konečným cílem je replikovat nejvyšší úroveň vegetativní struktury společenstev, jejich funkčních atributů a ekosystémových procesů (Funk et al., 2008; Martin et al., 2005). Obnovené ekosystémy na uzavřených skládkách musí mít schopnost se zde samy udržet, obnovovat, vytvářet vztahy a vazby mezi jednotlivými druhy organismů. Pro úspěšnou obnovu stanoviště je tedy klíčová znalost rostlinného společenství (Depuit, 1982; Gilman et al., 1985; Wheeler a Cullen, 1997).

Cílem příspěvku je analyzovat druhové složení vegetace rekultivované skládky, zhodnotit odlišný management její údržby a na základě výsledků vyhodnotit druhy, které jsou problematické z pohledu rostlinolékařského (invazní druhy, druhy rozšiřující patogeny a škůdce zemědělských plodin), a také vytipovat druhy vhodné k výsevu na nově rekultivované části skládky.

Materiál a metody

Hodnocení vegetace proběhlo na uzavřené skládce komunálního odpadu v městě Pruszków (Warszawa, Polsko). Oblast skládky se nachází v jihozápadní části Varšavské pánve. Povrch této oblasti je spíše rovinný. Nadmořská výška je v rozmezí 90–99 m n. m. Průměrná roční teplota je 8,4 °C a průměrný roční úhrn srážek činí 619 mm. Základním hydrografickým prvkem této oblasti je řeka Utrata, tekoucí v bezprostřední blízkosti skládky ve vzdálenosti 40 až 100 m od severní strany skládky.

Skládka byla provozována od začátku 60. let, ale až do 80. let neměla tato lokalita žádné regulované právní postavení. Na začátku svého provozu byl na skládku dovážen odpad z pruszkovského Ożarowa, Piastowa, Komorowa, z varšavské čtvrti Ochota a od roku 1991 také z okresů Wola a Żoliborz. V současné době je skládka využívána hlavně pro potřeby města Pruszków. V roce 1993 byla plocha skládky 7,5 ha, v současné době je její plocha přibližně 14,5 ha. V roce 2005 zde bylo téměř 1,2 milionu tun odpadu. Výška skládky je přibližně 35 m. Část skládky je již rekultivovaná, ukládání odpadu probíhá jen na malé ploše skládky.

Na skládce byla vybrána 4 stanoviště, která se liší managementem údržby vegetace:

- Rekultivovaná část intenzivně udržovaná (Rek_intenzivni): s výsevem trav (*Lolium perenne*, *Dactylis glomerata*) po rekultivaci a s pravidelným sečením
- Nově rekultivovaná část (Rek_nova): rekultivace provedená před 2 lety s výsevem trav (*Dactylis glomerata*)
- Rekultivovaná část bez údržby (Rek_neudrzovana): část skládky po rekultivaci bez údržby
- Aktivní část skládky (Aktivni): aktivní ukládání odpadu

Na těchto stanovištích bylo hodnoceno složení vegetace provedené pomocí metody fytocenologických snímků. Sledování proběhlo v letech 2019 a 2020 vždy v červenci. Velikost fytocenologických snímků byla 25 m². Pokryvnost nalezených druhů byla odhadovaná přímo v procentech. V každém roce sledování a na každém stanovišti bylo zapsáno 10 fytocenologických snímků. Snímky byly zapisovány na přibližně stejných místech. Vědecké názvy jednotlivých druhů rostlin byly převzaty z databáze české flóry a vegetace Pladias (Pladias, 2020).

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 a diskuze

Na základě monitoringu vegetace metodou fytocenologických snímků bylo nalezeno 96 druhů rostlin. Na rekultivované části intenzivně udržované bylo nalezeno 62 druhů, na části nově rekultivované 42 druhů. Na rekultivované neudržované části bylo nalezeno 54 druhů a na aktivní části 28 druhů. V Tab. 1 jsou uvedeny průměrné pokryvnosti druhů rostlin nalezených na jednotlivých částech skládky.

Pokryvnost nalezených druhů rostlin ve sledovaných částech skládky byla zpracována analýzou DCA. Délka vypočteného gradientu zjištěná pomocí DCA byla 4,73. Na základě tohoto výpočtu byla k dalšímu zpracování zvolena kanonická korespondenční analýza CCA. Analýza CCA vymezuje prostorové uspořádání jednotlivých druhů rostlin a varianty managementu vegetace, které je následně graficky vyjádřeno pomocí ordinačního diagramu (Obr. 1).

Výsledky analýzy CCA, která hodnotila pokryvnost druhů rostlin na sledovaných variantách managementu, 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 4 skupin.

První skupina se nacházela především na rekultivované a intenzivně udržované části skládky. Jednalo se o druhy: *Acer negundo*, *Achillea millefolium*, *Amaranthus retroflexus*, *Arctium lappa*, *Armoracia rusticana*, *Atriplex patula*, *Atriplex sagittata*, *Ballota nigra*, *Berteroa incana*, *Bromus inermis*, *Bunias orientalis*, *Capsella bursa-pastoris*, *Conium maculatum*, *Conyza canadensis*, *Dactylis glomerata*, *Galinsoga parviflora*, *Geranium pusillum*, *Chelidonium majus*, *Chenopodium glaucum*, *Lamium album*, *Lamium purpureum*, *Lolium perenne*, *Malva neglecta*, *Matricaria chamomilla*, *Medicago sativa*, *Onopordum acanthium*, *Pastinaca sativa*, *Portulaca oleracea*, *Potentilla argentea*, *Silene latifolia*, *Sisymbrium loeselii*, *Sonchus oleraceus*, *Stellaria media*, *Taraxacum* sect. *Ruderalia*, *Tragopogon orientalis*, *Tripleurospermum inodorum*, *Tussilago farfara*, *Urtica dioica*, *Verbascum thapsus*.

Druhá skupina je tvořena druhy, které vyskytovaly především na rekultivované a neudržované části skládky. Jednalo se o druhy: *Agrostis gigantea*, *Agrostis stolonifera*, *Artemisia vulgaris*, *Bidens tripartitus*, *Bromus sterilis*, *Calamagrostis epigejos*, *Daucus carota*, *Equisetum arvense*,

Erigeron annuus, Fallopia convolvulus, Festuca arundinacea, Festuca ovina, Festuca rubra, Hypericum perforatum, Iva xanthiifolia, Lactuca serriola, Medicago falcata, Medicago lupulina, Oenothera biennis, Panicum capillare, Persicaria lapathifolia, Phragmites australis, Plantago lanceolata, Plantago major, Poa pratensis, Populus nigra, Populus tremula, Salix alba, Salix caprea, Securigera varia, Solidago canadensis, Trifolium pratense, Typha latifolia, Vicia angustifolia.

Třetí skupina je tvořena druhy, které vyskytovaly především na nově rekultivované a aktivně využívané části skládky. Jednalo se o druhy: *Atriplex tatarica, Bassia scoparia, Cerastium arvense, Cichorium intybus, Cirsium arvense, Convolvulus arvensis, Digitaria sanguinalis, Echinochloa crus-galli, Elytrigia repens, Erysimum repandum, Chenopodium album, Melilotus albus, Polygonum aviculare, Prunus cerasifera, Rosa canina, Rumex acetosa, Rumex obtusifolius, Setaria pumila, Sisymbrium officinale, Xanthium strumarium.*

Čtvrtá skupina je tvořena druhy, jejichž výskyt byl ovlivněn jinými faktory než typem stanoviště a údržbou vegetace. Jednalo se o druhy: *Echium vulgare, Robinia pseudacacia, Tanacetum vulgare.*

V druhovém složení vegetace mají významné zastoupení invazní a intenzivně se šířící druhy rostlin. Invazní druhy, zastoupené ve všech částech skládky byly: *Robinia pseudacacia, Tanacetum vulgare.* Intenzivní údržbě vegetace dokázaly vzdorovat invazní druhy: *Acer negundo, Amaranthus retroflexus, Arctium lappa, Bunias orientalis, Conyza canadensis, Galinsoga parviflora, Onopordum acanthium, Portulaca oleracea, Sisymbrium loeselii, Tragopogon orientalis.* V neudržované části skládky se dokázaly prosadit invazní druhy *Bromus sterilis, Calamagrostis epigejos, Erigeron annuus, Iva xanthiifolia, Oenothera biennis, Panicum capillare, Solidago canadensis.* Aktivní a nově rekultivovaná část skládky může být zdrojem šíření druhů *Atriplex tatarica, Bassia scoparia, Xanthium strumarium.*

Tab. 1 Průměrná pokryvnost nalezených druhů rostlin ve fytoocenologických snímcích

Druhy	Zkratky	Části skládky			
		Rek_intenzivní	Rek_nova	Rek_neudrzovana	Aktivní
<i>Acer negundo</i>	<i>AceNegu</i>	5,1	0,0	2,0	0,0
<i>Agrostis gigantea</i>	<i>AgrGiga</i>	0,0	0,0	2,2	0,0
<i>Agrostis stolonifera</i>	<i>AgrStol</i>	0,4	0,0	2,5	0,8
<i>Achillea millefolium</i>	<i>AchMill</i>	5,5	0,6	1,1	0,6
<i>Amaranthus retroflexus</i>	<i>AmaRetr</i>	1,4	1,2	0,0	1,0
<i>Arctium lappa</i>	<i>ArcLapp</i>	0,5	0,0	0,0	0,0
<i>Armoracia rusticana</i>	<i>ArmRust</i>	1,3	0,0	0,0	0,0
<i>Artemisia vulgaris</i>	<i>ArtVulg</i>	2,3	0,0	2,9	1,2
<i>Atriplex patula</i>	<i>AtrPatu</i>	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Atriplex sagittata</i>	<i>AtrSagi</i>	3,2	0,2	0,2	1,6
<i>Atriplex tatarica</i>	<i>AtrTata</i>	4,0	12,6	1,7	35,6
<i>Ballota nigra</i>	<i>BalNigr</i>	0,8	0,4	0,0	0,0
<i>Bassia scoparia</i>	<i>BasScop</i>	1,2	0,8	0,5	8,6
<i>Berteroa incana</i>	<i>BerInca</i>	1,4	1,2	0,0	0,2
<i>Bidens tripartitus</i>	<i>BidTrip</i>	0,0	0,0	0,1	0,0

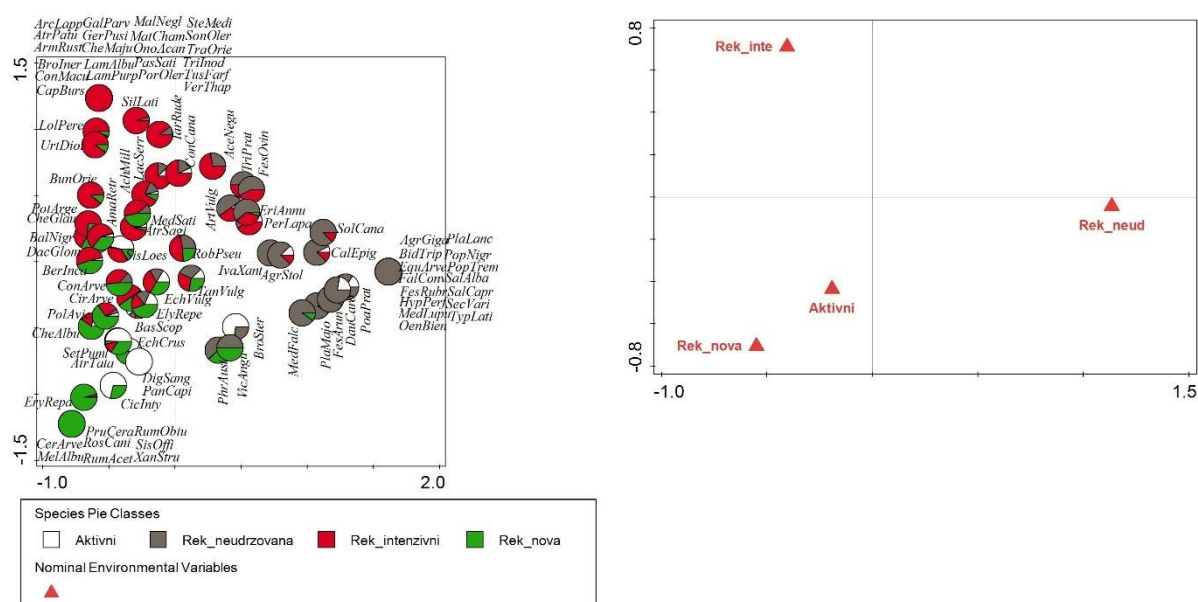
<i>Bromus inermis</i>	BroIner	1,5	0,0	0,0	0,0
<i>Bromus sterilis</i>	BroSter	0,0	0,0	0,3	1,6
<i>Bunias orientalis</i>	BunOrie	2,5	0,3	0,0	0,0
<i>Calamagrostis epigejos</i>	CalEpig	3,5	0,0	22,6	4,4
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	CapBurs	0,6	0,0	0,0	0,0
<i>Cerastium arvense</i>	CerArve	0,0	0,1	0,0	0,0
<i>Cichorium intybus</i>	CicInty	0,0	0,2	0,0	1,0
<i>Cirsium arvense</i>	CirArve	1,5	1,2	0,3	0,0
<i>Conium maculatum</i>	ConMacu	0,4	0,0	0,0	0,0
<i>Convolvulus arvensis</i>	ConArve	5,1	6,3	1,8	0,0
<i>Conyza canadensis</i>	ConCana	2,0	0,0	0,5	0,4
<i>Dactylis glomerata</i>	DacGlom	14,3	8,6	0,2	2,2
<i>Daucus carota</i>	DauCaro	0,0	0,0	1,4	0,8
<i>Digitaria sanguinalis</i>	DigSang	0,0	0,0	0,0	0,8
<i>Echinochloa crus-galli</i>	EchCrus	0,5	3,2	0,5	5,0
<i>Echium vulgare</i>	EchVulg	1,8	1,8	0,9	1,8
<i>Elytrigia repens</i>	ElyRepe	7,5	16,9	6,6	14,2
<i>Equisetum arvense</i>	EquArve	0,0	0,0	0,2	0,0
<i>Erigeron annuus</i>	EriAnnu	4,0	0,6	7,3	0,0
<i>Erysimum repandum</i>	EryRepa	0,3	9,4	0,1	0,0
<i>Fallopia convolvulus</i>	FalConv	0,0	0,0	0,2	0,0
<i>Festuca arundinacea</i>	FesArun	0,0	0,6	7,0	0,0
<i>Festuca ovina</i>	FesOvin	1,1	0,0	1,5	0,0
<i>Festuca rubra</i>	FesRubr	0,0	0,0	0,4	0,0
<i>Galinsoga parviflora</i>	GalParv	0,5	0,0	0,0	0,0
<i>Geranium pusillum</i>	GerPusi	0,1	0,0	0,0	0,0
<i>Hypericum perforatum</i>	HypPerf	0,0	0,0	2,9	0,0
<i>Chelidonium majus</i>	CheMaju	1,9	0,0	0,0	0,0
<i>Chenopodium album</i>	CheAlbu	1,0	3,3	0,0	2,4
<i>Chenopodium glaucum</i>	CheGlau	0,2	0,1	0,0	0,0
<i>Iva xanthiifolia</i>	IvaXant	0,2	0,1	1,5	0,0
<i>Lactuca serriola</i>	LacSerr	0,6	0,0	0,1	0,2
<i>Lamium album</i>	LamAlbu	0,5	0,0	0,0	0,0
<i>Lamium purpureum</i>	LamPurp	0,7	0,0	0,0	0,0
<i>Lolium perenne</i>	LolPere	14,5	1,0	0,0	0,0
<i>Malva neglecta</i>	MalNegl	0,9	0,0	0,0	0,0
<i>Matricaria chamomilla</i>	MatCham	0,2	0,0	0,0	0,0
<i>Medicago falcata</i>	MedFalc	0,0	0,2	1,8	0,0
<i>Medicago lupulina</i>	MedLupu	0,0	0,0	0,1	0,0
<i>Medicago sativa</i>	MedSati	1,8	2,0	0,5	0,0
<i>Melilotus albus</i>	MelAlbu	0,0	0,1	0,0	0,0
<i>Oenothera biennis</i>	OenBien	0,0	0,0	1,7	0,0
<i>Onopordum acanthium</i>	OnoAcan	2,1	0,0	0,0	0,0
<i>Panicum capillare</i>	PanCapi	0,0	0,0	0,0	0,4
<i>Pastinaca sativa</i>	PasSati	0,8	0,0	0,0	0,0
<i>Persicaria lapathifolia</i>	PerLapa	0,5	0,0	0,6	0,2
<i>Phragmites australis</i>	PhrAust	0,0	4,8	7,0	1,6
<i>Plantago lanceolata</i>	PlaLanc	0,0	0,0	0,4	0,0
<i>Plantago major</i>	PlaMajo	0,0	0,1	1,0	0,0
<i>Poa pratensis</i>	PoaPrat	0,0	0,0	7,5	3,0
<i>Polygonum aviculare</i>	PolAvic	4,0	10,4	0,8	1,4
<i>Populus nigra</i>	PopNigr	0,0	0,0	3,0	0,0
<i>Populus tremula</i>	PopTrem	0,0	0,0	3,0	0,0
<i>Portulaca oleracea</i>	PorOler	0,4	0,0	0,0	0,0
<i>Potentilla argentea</i>	PotArge	0,8	0,3	0,0	0,0
<i>Prunus cerasifera</i>	PruCera	0,0	5,0	0,0	0,0
<i>Robinia pseudacacia</i>	RobPseu	1,0	0,5	0,6	0,0
<i>Rosa canina</i>	RosCani	0,0	1,0	0,0	0,0

<i>Rumex acetosa</i>	RumAcet	0,0	0,5	0,0	0,0
<i>Rumex obtusifolius</i>	RumObtu	0,0	0,2	0,0	0,0
<i>Salix alba</i>	SalAlba	0,0	0,0	7,4	0,0
<i>Salix caprea</i>	SalCapr	0,0	0,0	1,5	0,0
<i>Securigera varia</i>	SecVari	0,0	0,0	1,5	0,0
<i>Setaria pumila</i>	SetPuml	0,5	2,2	0,3	1,0
<i>Silene latifolia</i>	SilLati	1,9	0,0	0,1	0,0
<i>Sisymbrium loeselii</i>	SisLoes	5,9	2,5	0,3	14,8
<i>Sisymbrium officinale</i>	SisOffi	0,0	2,6	0,0	0,0
<i>Solidago canadensis</i>	SolCana	0,9	0,0	6,0	0,0
<i>Sonchus oleraceus</i>	SonOler	0,3	0,0	0,0	0,0
<i>Stellaria media</i>	SteMedi	0,2	0,0	0,0	0,0
<i>Tanacetum vulgare</i>	TanVulg	5,7	5,6	6,2	4,8
<i>Taraxacum sect. Ruderalia</i>	TarRude	2,6	0,0	0,3	0,0
<i>Tragopogon orientalis</i>	TraOrie	0,1	0,0	0,0	0,0
<i>Trifolium pratense</i>	TriPrat	0,1	0,0	0,1	0,0
<i>Tripleurospermum inodorum</i>	TriInod	0,3	0,0	0,0	0,0
<i>Tussilago farfara</i>	TusFarf	0,8	0,0	0,0	0,0
<i>Typha latifolia</i>	TypLati	0,0	0,0	0,5	0,0
<i>Urtica dioica</i>	UrtDioi	4,7	0,5	0,0	0,0
<i>Verbascum thapsus</i>	VerThap	0,5	0,0	0,0	0,0
<i>Vicia angustifolia</i>	VicAngu	0,0	0,1	0,1	0,0
<i>Xanthium strumarium</i>	XanStru	0,0	1,3	0,0	0,0

Ve vegetaci skládky byly zastoupeny také významné polní plevely. Na rekultivované a intenzivně udržované části skládky se jednalo o druhy: *Atriplex patula*, *Atriplex sagittata*, *Capsella bursa-pastoris*, *Conium maculatum*, *Geranium pusillum*, *Chenopodium glaucum*, *Lamium purpureum*, *Malva neglecta*, *Matricaria chamomilla*, *Sonchus oleraceus*, *Stellaria media*, *Taraxacum sect. Ruderalia*, *Tripleurospermum inodorum*, *Tussilago farfara*, *Urtica dioica*. Na neudržované části se vyskytovaly plevely *Artemisia vulgaris*, *Equisetum arvense*, *Erigeron annuus*, *Fallopia convolvulus*, *Lactuca serriola*, *Persicaria lapathifolia*, *Phragmites australis*, *Plantago lanceolata*, *Plantago major*. Nově rekultivovaná a aktivně využívaná část skládky byla typická výskytem těchto druhů polních plevelů: *Cirsium arvense*, *Convolvulus arvensis*, *Digitaria sanguinalis*, *Echinochloa crus-galli*, *Elytrigia repens*, *Chenopodium album*, *Polygonum aviculare*, *Rumex acetosa*, *Rumex obtusifolius*, *Setaria pumila*.

Z výsledků je patrné, které druhy by byly vhodné pro záměrný výsev na rekultivovaných skládkách. Jedná se především o trávy (*Bromus inermis*, *Dactylis glomerata*, *Lolium perenne*, *Poa pratensis*), krátkověké a ozimé druhy (*Medicago lupulina*, *Melilotus albus*) a vytrvalé byliny (*Medicago falcata*, *Securigera varia*, *Plantago lanceolata*, *Plantago major*).

Skládky komunálního odpadu jsou známy velmi proměnlivými půdními vlastnostmi, které jsou bohaté na dusík a další živiny, ale také na cizorodé látky, jako jsou těžké kovy a jiné člověkem vytvořené chemikálie (Rebele a Lehmann, 2016; Álvarez-López et al., 2020). Tyto specifické podmínky skládek spoluvytvářejí velmi specifické druhové složení vegetace. Typickým znakem vegetace skládek je vysoký podíl invazních neofytů a nitrofilních druhů.



Obr. 1 Ordinační diagram vyjadřující vztah nalezených druhů rostlin a částí s odlišným managementem údržby vegetace (celková vysvětlená variabilita = 16,4 %; F-ratio = 2,0; P-value = 0,001) - *Vysvětlivky:* Rek_intenzivni – rekultivovaná část intenzivně udržovaná s výsevem trav a pravidelným sečením; Rek_nova – nově rekultivovaná část (rekultivace provedená před 2 lety s výsevem trav); Rek_neudrzovana – rekultivovaná část bez údržby; Aktivni – část skládky s aktivním ukládáním odpadu

Závěr

Vegetace skládek může být významným zdrojem šíření invazních druhů rostlin a také polních plevelů do okolní krajiny. Z rostlinolékařského pohledu výskyt těchto problematických druhů představuje určité nebezpečí pro okolní ekosystémy a ornou půdu. Reakce těchto druhů na způsob údržby skládky je však odlišná. Je tedy nutné provádět pravidelný monitoring vegetace rekultivovaných skládek komunálního odpadu a v případě zvýšeného výskytu některého z problematických druhů je nutné provést jeho cílenou regulaci.

Dedikace

Tato práce byla vytvořena s finanční podporou projektu IGA AF-IGA2020-IP004 Studium synantropní vegetace skládek komunálního odpadu.

Použitá literatura

- Adamcová, D., Radziemska, M., Ridošková, A., Bartoň, S., Pelcová, P., Elbl, J., Kynický, J., Brtnický, M., Vavřková, M.D. (2017). Environmental assessment of the effects of a municipal landfill on the content and distribution of heavy metals in *Tanacetum vulgare* L. *Chemosphere* 185, 2017, 1011-1018. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.060>.
- 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.
- Álvarez-López, V., Zappellini C., Durand, A., Chalo, M. (2020). Pioneer trees of *Betula pendula* at a red gypsum landfill harbour specific structure and composition of root-associated microbial communities. *Science of The Total Environment* 726, 2020, 138530. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138530>.

- Athy, E.R. et al. 2006. Effects of mulch on seedlings and soil on a closed landfill. *Restoration Ecology*, 14(2): 233–241.
- 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. *International Journal of Geographical Information Science* 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 Forestry and Urban Greening* 28, 131–137.
- 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. *Environmental Earth Sciences* 77, 266. doi.org/10.1007/s12665-018-7455-x
- Deput, J.E. 1982. Potential topsoiling strategies for enhancement of vegetation diversity on mined lands. *Minerals and the Environ*, 6(3): 115–120.
- 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.
- El-Sheikha, M.A., Al-Sodany, Y.M., Eid, E.M., Shaltout, K.H. (2012). Ten years primary succession on a newly created landfill at a lagoon of the Mediterranean Sea (Lake Burullus RAMSAR site). *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 207, 459–468.
- Funk, J.L. Cleland, E.E., Suding, K.N., Zavaleta, E.S. 2008. Restoration through reassembly: Plant traits and invasion resistance. *Trends in Ecology & Evolution*, 23(12): 695–703.
- Gilman, E.F., Flower, F.B., Leone, I.D. 1985. Standardized procedures for planting vegetation on completed sanitary landfills. *Waste Management and Research*, 3(1): 65–80.
- Hamid, H., Li, L. Y., Grace, J. R. (2018). Review of the fate and transformation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in landfills. *Environmental Pollution* 235, 74–84. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.030>.
- Handel, S.N. 1997. Restoration of woody plants to capped landfills: Root dynamics in an engineered soil. *Restoration Ecology*, 5(2): 178–186.
- Hobbs, R.J., Arico, S., Aronson, J., Baron, J.S., Bridgewater, P., Cramer, V.A., Epstein, P.R., Ewel, J.J., Klink, C.A., Lugo, A.E., Norton, D., Ojima, D., Richardson, D.M., Sanderson, E.W., Valladares, F., Vilà, M., Zamora, R., Zobel, M. 2006. Novel ecosystems: Theoretical and management aspects of the new ecological world order. *Global Ecology and Biogeography*, 15(1): 1–7.
- Koda, E., Miskowska, A., Sieczka, A., Osiński, P. (2018). Heavy metal contamination within a restored landfill site. *Environ. Geotech.* <https://doi.org/10.1680/jenge.18.00031>.
- Koda, E., Pachuta, K., Osiński, P. (2013). Potential of plants application in the initial stage of landfill reclamation process. *Polish Journal of Environmental Studies* 22, 1731–1739.
- Lestari, P., Trihadiningrum, Y. (2019). The impact of improper solid waste management to plastic pollution in Indonesian coast and marine environment. *Marine Pollution Bulletin* 149, 110505. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.110505>.
- Lisk, D.J. 1991. Environmental effects of landfill. *The Science of the Total Environment*, 100(2): 415–468.
- 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 Degradation and Development* 29, 3841–3851. <https://doi.org/10.1002/ldr.3135>.

- Martin, L.M., Moloney, K.A., Wilsey, B.J. 2005. An assessment of grassland restoration success using species diversity components. *Journal of Applied Ecology*, 42(2): 327–336.
- Maurice, C. 1995. Vegetation as a biological indicator for landfill gas emissions: initial investigations. *Proceedings Sardinia 95, fifth international landfill symposium*, Cagliari, Italy: publisher Environmental Sanitary Engineering Centre. pp. 685–698.
- Pladias, 2020: Department of Botany and Zoology Faculty of Science Masaryk University. Database of the Czech Flora and Vegetation. 2018. Available online: <https://pladias.cz/en/>.
- Rebele, F., Lehmann, C. (2016). Twenty years of woodland establishment through natural succession on a sandy landfill site in Berlin, Germany. *Urban Forestry & Urban Greening* 18, 182–189.
- Silvestri, S., Omri, M. (2008). A method for the remote sensing identification of uncontrolled landfills: formulation and validation. *International Journal of Remote Sensing* 29, 975–989.
- Ter Braak, C. J. F., Šmilauer, P., 2012: Canoco reference manual and user's guide: software for ordination (version 5.0). Microcomputer Power, Ithaca
- Tintner, J., Klug, B. (2011). Can vegetation indicate landfill cover features? *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants* 206, 559–566.
- 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. *Environmental Management* 49, 445–458. <https://doi.org/10.1007/s00267-011-9792-3>.
- Vavrková, 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, 568–57. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.06.026>.
- Vavrková, M.D., Winkler, J., Adamcová, D., Radziemska, M. Uldrijan, D. Zloch, J. (2019). Municipal solid waste landfill – Vegetation succession in an area transformed by human impact. *Ecological Engineering* 129, 109–114. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2019.01.020>.
- Wania, A., Kühn, I., Klotz, S. (2006). Plant richness patterns in agricultural and urban landscapes in Central Germany – Spatial gradients of species richness. *Landscape and Urban Planning* 97–110. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2004.12.006>.
- Wheater, C.P., Cullen, W.R. 1997. The flora and invertebrate fauna of abandoned limestone quarries in Derbyshire, United Kingdom. *Restoration Ecology*, 5(1), 77–84.
- 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 Degradation and Development* 27, 490–499. <https://doi.org/10.1002/ldr.2402>.

Kontaktní adresa:

Ing. Jan Winkler, Ph.D.

Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav biologie rostlin

Zemědělská 1

613 00 Brno, Česká republika

e-mail: winkler@mendelu.cz

SYNERGISMUS VYBRANÝCH LÁTEK ZVYŠUJÍCÍ ÚČINNOST MĚĎNATÝCH FUNGICIDŮ

Synergism of selected compounds enhancing effect of copper fungicides

Žabka M., Pavela R.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha-Ruzyně

Abstrakt

V této práci byla testována sodno-vápenná sůl kyseliny Ethylendiamintetraoctové (EDTA) jako látky s inhibičním účinkem na testované patogeny chmele a její synergický účinek v případě směsí z oxychloridem měďnatým. In vitro byly testovány efektivní koncentrace obou testovaných látek i samotné efektivní koncentrace v základních směsích obou látek. Zvolen byl modelový patogen *P. citricola* a biotrofní *P. humuli*, jehož manifestace byla sledována v základních infekčních testech na souboru modelových rostlin chmele. V práci byl potvrzen vysoký inhibiční efekt obou látek na zmíněné patogeny a navýšení účinku obou látek ve směsích. V základním in vivo testu v případě *P. humuli* bylo zjištěno zachování úrovně účinnosti oxychloridu měďnatého v poloviční dávce ve směsi z EDTA.

Klíčová slova: EDTA, Oxychlorid mědi, Antifungální aktivita, Oomycetes, Synergismus, Chmel.

Abstract

In this work, the salt of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) was tested as a substance with an inhibitory effect on the tested hop pathogens and its synergistic effect in the case of mixtures with copper oxychloride. The effective concentrations of both test substances as well as the effective concentrations in the basic mixtures of both substances were tested in vitro. A model pathogen of *P. citricola* and biotrophic *P. humuli* was selected, the manifestation of which was monitored in basic infection tests on a set of model hop plants. The work confirmed the high inhibitory effect of both substances on the mentioned pathogens and the increase of the effect of both substances in mixtures. In the basic in vivo test for *P. humuli*, it was found that the level of activity of copper oxychloride was maintained at half the dose in the EDTA mixture.

Keywords: EDTA, Copper oxychloride, Antifungal activity, Oomycetes, Synergism, Hop.

Úvod

Měďnaté fungicidy patřily vždy a patří mezi velmi spolehlivé prostředky hojně využívané k ochraně rostlin. Tyto preparáty jsou velmi účinné a využívány například při pěstování chmele k ochraně před houbovými patogeny ze skupiny Oomycetes (La Torre 2018). Omezení velmi účinných měďnatých přípravků vlivem legislativního tlaku EU na snižování mědi (až na 4 kg/ha) může do budoucna při větším výskytu na měď velmi citlivých patogenů způsobovat závažné ztráty. Mezi bezpochyby nejvíce řešenými patogenními organismy při ochraně chmele zaujímají mikroskopické patogenní houbové organismy ze skupiny Oomycetes zásadní postavení (Thines et al. 2010). Skupina mikroskopických organismů ze skupiny řasohub (Oomycetes) zahrnuje nejzávažnější patogeny chmele, což jsou například různé druhy rodu *Phytophthora* (zejména *P. citricola*) řazené systematicky do této skupiny, působí kořenovou a krčkovou hnilobu chmele (chorobný zvrát chmele). Stejně tak nelze nezmínit velmi významný patogenní mikroorganismus ze stejné skupiny a rodu *Pseudoperonospora*, *Pseudoperonospora humuli*, který způsobuje tzv. plíseň chmelovou. Plíseň chmelová patří v současnosti k nejzávažnějším chorobám vyskytujících se při pěstování chmele (Mahafee et al 2009). S omezováním dávek měďnatých preparátů vzrůstá zájem o výzkum pomocných látek

zvyšujících účinnost a majících synergický efekt. Z praktického hlediska by mělo být výhodné použití ekologicky i hygienicky nezávadných látek, například ze skupiny základních látek (basic substances), jejichž zdravotní nezávadnost či použitelnost v ochraně rostlin je definována legislativou EU (EC) Regulation No. 1107/2009. Takovéto látky mohou vzejít z látek již využívaných pro svou ověřenou bezpečnost nejčastěji v kosmetice či potravinářství. Mezi takovéto látky využívané v různých oblastech (Jiménez 2014, Van de Sande et al 2014) patří i kyselina Ethylendiamintetraoctová (EDTA), která již dříve ve formě vodorozpustné vápenato sodné soli prokázala v našich testech a studiích vlastní antifungální účinnost (Zabka and Pavela 2018; Zabka 2015). V této práci byla použita v praxi používaná účinná látka oxychlorid měďnatý (např. v Kuprikol 50; Kuprikol 250 SC) společně a v kombinacích s EDTA byl sledován vliv na testované patogeny a sledován možný synergismus. Zvolen byl modelový patogen *P. citricola* a biotrofní *P. humuli*, jehož manifestace byla sledována v základních infekčních testech na souboru modelových rostlin chmele.

Materiál a metody

veškeré použité testované látky oxychlorid měďnatý ve formě Kuprikol 50 byl pořízen od firmy AgroBio-Opava, sůl EDTA byl pořízen u Sigma-Aldrich ČR. V čistotě p.a. (per analysis). Použitý kmen *P. citricola* byl získán kultivací z šikmého agaru z naší pracovní laboratorní fytopatologické sbírky. Patogen *P. humuli* díky biotrofní povaze byl součástí přirozeně se vyskytující infekce (Tab 1.). In vitro testy byly provedeny pomocí diluční metody v agaru. Preparát ve formě smáčitelného oxychloridu měďnatého (Kuprikol 50) byl důkladně rozpuštěn v malém množství sterilní vody a vzniklý roztok byl posléze rozpuštěn v bramboro-dextrózovém agaru (PDA) v přesně dané koncentrační řadě 0,25 – 0,0025 mg.ml⁻¹. Stejným postupem bylo provedeno ředění série EDTA. Následné inhibiční testy byly již prováděny kombinací obou látek v účinných koncentracích dohromady. Kontrolní sada byla vždy připravena přidáním ekvivalentního množství vody do PDA. 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. In vivo testování synergického efektu bylo prováděno postřikem zjevně a stejně napadených výhonů mladých rostlin v izolátorech ve variantách: Kontrola, Kuprikol 50, EDTA, Kuprikol+EDTA a to v nejúčinnější kombinaci vzešlé z in vitro testů. Z každé rostliny byly vybrány 4 rovnocenné výhony. Postřik byl opakován 5x vždy po 10 dnech. Výsledné hodnocení probíhalo odhadem celkového procentačně napadených listů z celého výhonu (hranice nad 10 % symptomatické plochy listu).

Tab 1. použité modelové kmeny patogenních hub

Patogenní druh	Status a významnost houby	zdroj izolace
<i>P. citricola</i>	Patogenní, hniloby krčku chmele	Primární izolát 2018, infikovaný chmel, kořen
<i>P. humuli</i>	Patogenní, biotrof, plíseň chmele	Přirozená infekce 2020, pokusný materiál chmel



modelový patogen *P. citricola*



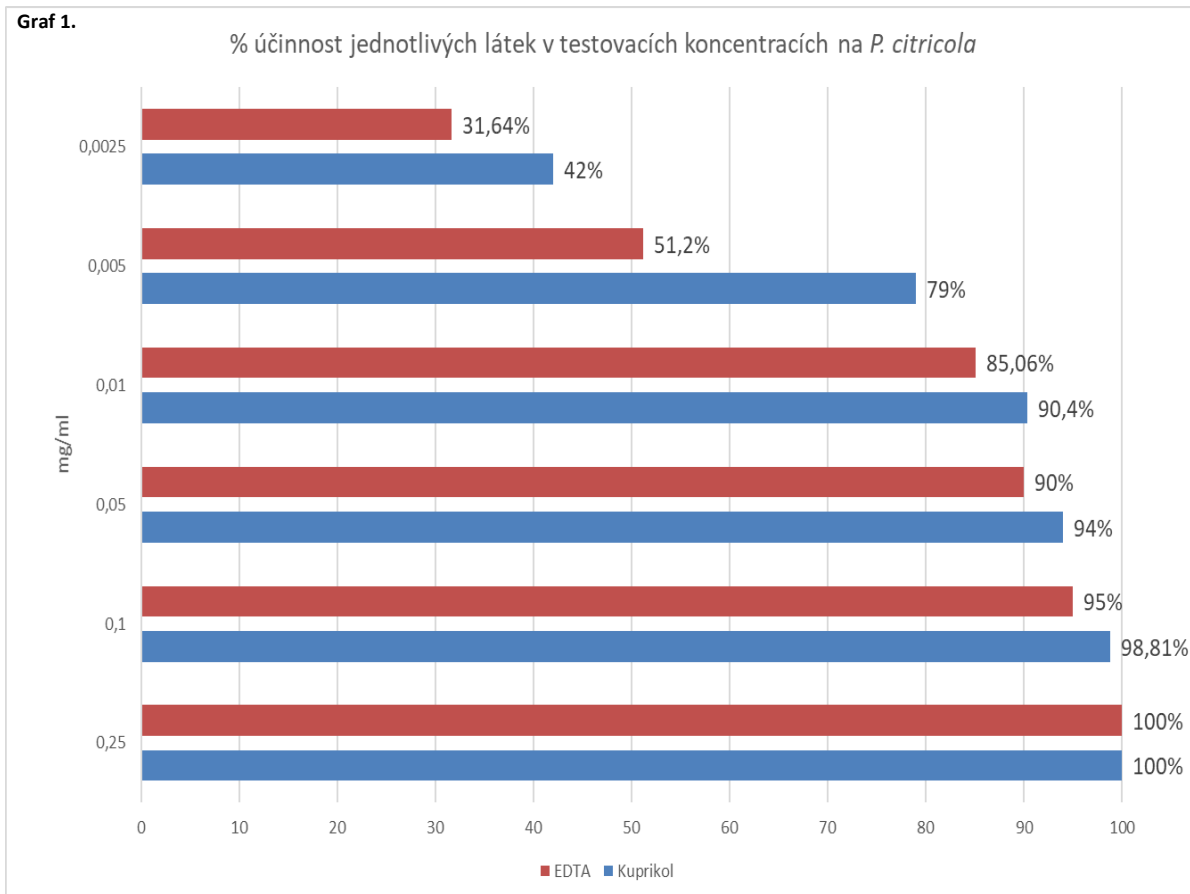
P. humuli na šišticích



Izolatory s mladými výhony (*P. humuli*)

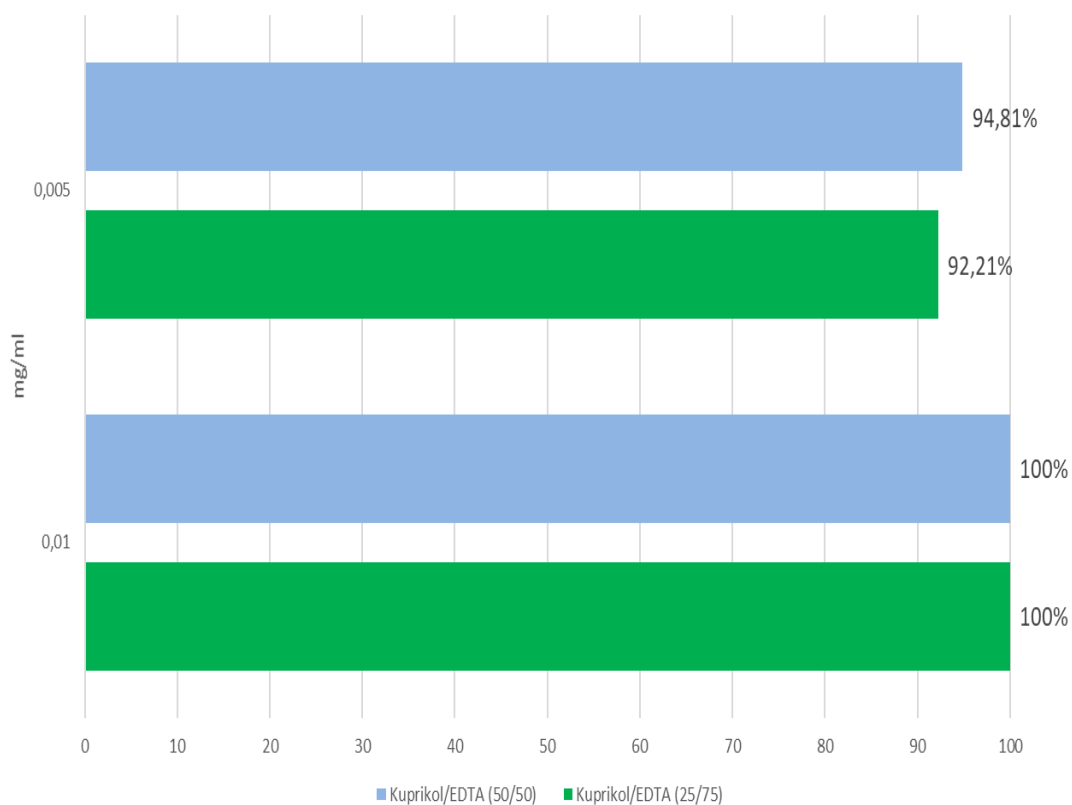
Výsledky a diskuse

Výsledky potvrzují, že v rámci testovaných látek byla prokázána schopnost efektivní inhibice radiálního růstu (>50 %) *P. citricola*. Středních hodnot bylo dosaženo v případě EDTA i preparátu Kuprikol 50 (oxychlorid měďnatý) v koncentračním intervalu 0,0025-0,005 mg/ml (Graf 1). Z hodnot je patrné, že EDTA nedosahuje v nižších koncentracích tak dobré účinnosti jako Kuprikol. Účinnost EDTA oproti Kuprikolu v koncentračním intervalu 0,0025-0,005 byla v řádech 10-20 %. Ve vyšších koncentracích 0,01-0,1 mg/ml však nejsou rozdíly natolik patrné (kolem 4 %). Je známo, že oomycety jsou velmi citlivé na měďnaté preparáty (Gisi et al., 2015). Efekt EDTA je možné též předpokládat díky vysoké chelační schopnosti této látky a závislosti oomycet na přístupnosti především Ca^{2+} iontů (Liu et al., 2016). Poměrně dobrá antifungální účinnost EDTA na jiné i toxigenní houby byla též popsána (Zabka and Pavela 2018). Testování obou látek dohromady ve směsích prokázalo možnost nahradit minimálně 50 % oxychloridu měďnatého v dávce testovanou látkou EDTA a to při pozorovaném navýšení účinnosti směsi nad účinnost samotného Kuprikolu. Při porovnání hodnot v (Graf 1 a 2) je patrné dosažení vyšší účinnosti na modelového patogena s favorizací směsi v poměru 50/50. Samotná dávka Kuprikolu v koncentraci 0,005 mg/ml dosáhla 79 % účinnosti. V případě, že polovina této dávky byla nahrazena EDTA, zvýšila se účinnost směsi na hodnoty 92-94 %. Dávka samotného Kuprikolu 0,01 vedla k účinnosti kolem 90 %. V případě směsi byla účinnost již 100 %. Je tedy patrný jistý synergický efekt přídatku EDTA k oxychloridu měďnatému. Vzhledem k tlakům na snižování dávek mědi/ha je možnost minimálně 50 % náhrady za EDTA ve společných směsích při zachování či dokonce navýšení účinnosti velmi povzbudivým experimentálním zjištěním. Nutno poznamenat, že jde o zjištění z in vitro testu na modelovém patogenu. Nejúčinnější směs v poměru 50/50 byla dále orientačně vyzkoušena v infikovaném porostu patogenem *P. humuli*. Výsledky zde potvrdily minimálně zachování účinnosti Kuprikolu v poloviční koncentraci ve směsi s EDTA (Graf 3).



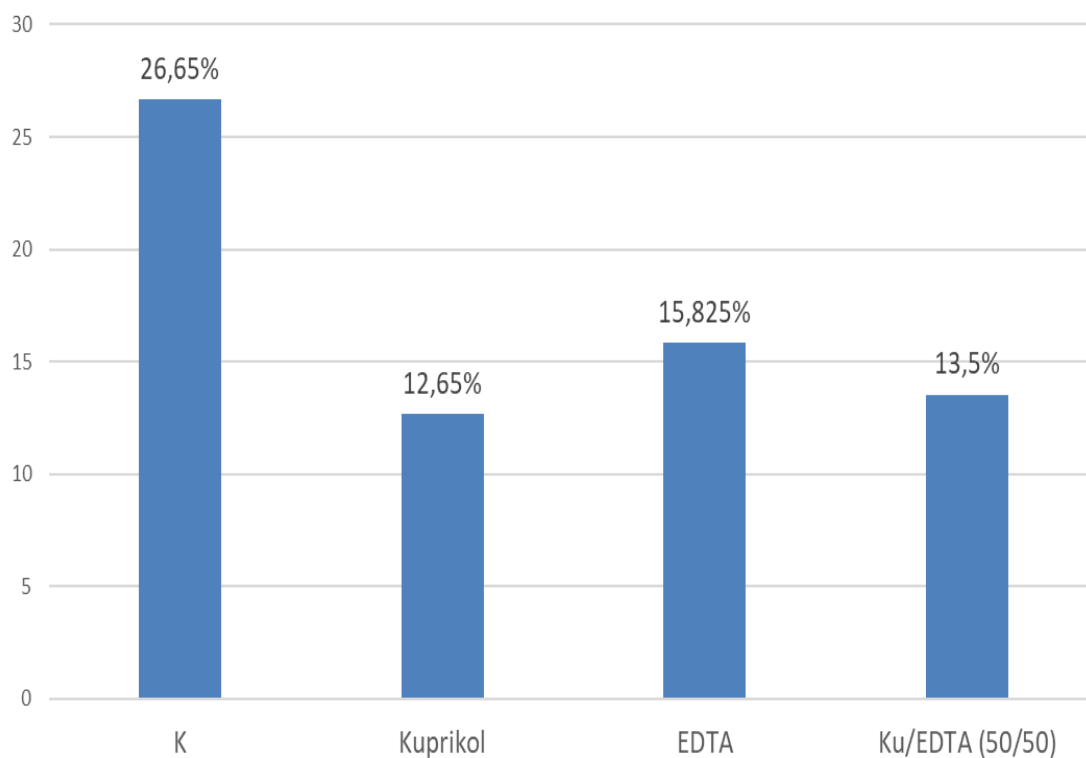
Graf 2.

% účinnosti jednotlivých směsí v testovacích koncentracích na *P. citricola*



Graf 3.

% napadených listů patogenem *P. humuli* v testovaných variantách



Závěr

V naší práci jsme v primárních in vitro a orientačních in vivo testech potvrdili možnost částečné náhrady oxychloridu měďnatého pomocí EDTA při zachování celkové účinnosti na modelové patogeny chmele ze skupiny Oomycetes. In vitro testy naznačují i efekt vzájemného synergismu ve směsi s EDTA. Je známo, že biologické systémy v praxi a mimo laboratoř vykazují daleko složitější variabilitu, nicméně i v této práci jsme orientačním základním testem na přirozeně infikovaných rostlinách předběžně zjistili minimálně zachování stejné účinnosti oxychloridu měďnatého v poloviční dávce, pakliže je ve směsi s EDTA. V dalších letech se budeme účinností a synergismem fungicidů (včetně oxychloridu měďnatého) i s jinými látkami dále zabývat v rozsáhlejších in vivo pokusech.

Dedikace

Tato práce byla financována z následujících zdrojů QK1910072

Seznam použité literatury

- La Torre, A., Iovino, V., & Caradonia, F. (2018). Copper in plant protection: current situation and prospects. *Phytopathologia Mediterranea*, 57(2), 201-236.
- Thines, M., & Kamoun, S. (2010). Oomycete-plant coevolution: recent advances and future prospects. *Current opinion in plant biology*, 13(4), 427-433.
- Mahaffee, W. F., Pethybridge, S. J., & Gent, D. H. (2009). *Compendium of hop diseases and pests*. American Phytopathological Society (APS Press).
- Jiménez, J. J. (2014). Determination of calcium disodium ethylenediaminetetraacetate (E385) in marketed bottled legumes, artichokes and emulsified sauces by gas chromatography with mass spectrometric detection. *Food chemistry*, 152, 81-87.
- Van De Sande, M. M., Wirtz, S., Vos, E., & Verhagen, H. (2014). Short review of calcium disodium ethylene diamine tetra acetic acid as a food additive. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, 408-423.
- Zabka, M., & Pavela, R. (2018). Effectiveness of environmentally safe food additives and food supplements in an in vitro growth inhibition of significant Fusarium, Aspergillus and Penicillium species. *Plant Protection Science*, 54(3), 163-173.
- Gisi, U., & Sierotzki, H. (2015). Oomycete fungicides: Phenylamides, quinone outside inhibitors, and carboxylic acid amides. In *Fungicide Resistance in Plant Pathogens* (pp. 145-174). Springer, Tokyo.
- Liu, P., Gong, J., Ding, X., Jiang, Y., Chen, G., Li, B., ... & Chen, Q. (2016). The L-type Ca²⁺ Channel Blocker Nifedipine Inhibits Mycelial Growth, Sporulation, and Virulence of Phytophthora capsici. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1236.
- Zabka M. (2015): Vliv a antifungální potenciál vybraných organických látek a běžně užívaných konzervantů na modelové patogenní houby, *Úroda* 63 (12), 227-230.

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Žabka, Ph.D

e-mail: zabka@vurv.cz;

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Drnovská 507, Praha6 -Ruzyně

ANTIFUNGÁLNÍ ÚČINNOST NOVÉHO PREPARÁTU Z OLEJE *PONGAMIA GLABRA* NA VYBRANÉ HOUBOVÉ PATOGENY OBILNIN

Antifungal efficacy of a new preparation from *Pongamia glabra* oil on selected fungal pathogens of cereals

Žabka M., Pavela R.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha-Ruzyně

Abstrakt

Syntetické fungicidy v ochraně rostlin jsou klasickým konvenčním řešením při eliminaci houbových patogenů provázejících pěstování obilnin a zemědělských plodin obecně. V posledních letech vzrůstají tendence ke snižování spotřeby syntetických fungicidů v souladu s ekologickými trendy. Tím vzrostl zájem o alternativní přístupy a možnosti ochrany rostlin. Botanické pesticidy reprezentují látky nebo preparáty na bázi rostlinných a hlavně ekologicky bezpečných extraktů s biologickou aktivitou proti škodlivým organismům. Inovovaný botanický preparát Rock effect (REN) byl otestován proti významným patogenním toxigenním houbám ze skupiny *Pyrenophora*, *Fusarium* a *Aspergillus*. Ačkoliv hlavní zaměření preparátu je spíše insekticidní, byla v naší práci ověřena i významná antifungální aktivita.

Klíčová slova: Rostlinný extrakt, antifungální aktivita, Patogenní houby, Toxinogenní houby, Botanické fungicidy.

Abstract

Synthetic fungicides in plant protection are a classic conventional solution in the elimination of plant pathogenic fungi accompanying the cultivation of cereals and crops in general. In recent years, there has been a growing tendency to reduce the consumption of synthetic fungicides in line with environmental trends. This increased interest in alternative approaches and possibilities of plant protection. Botanical pesticides represent substances or preparations based on plant and especially ecologically safe extracts with biological activity against harmful organisms. The innovative botanical preparation Rock effect (REN) was tested against significant pathogenic toxigenic fungi from the group *Pyrenophora*, *Fusarium* and *Aspergillus*. Although the main focus of the preparation is rather insecticidal, significant antifungal activity was also verified in our work.

Keywords: Plant extract, Antifungal activity, Pathogenic fungi, Toxinogenic fungi, Botanical fungicides.

Úvod

Z hlediska ochrany obilnin, stejně tak z hlediska zdravotní bezpečnosti zemědělských produktů je potlačování výskytu houbových patogenů primárním problémem. Obecně jsou patogenní houby kontrolovány aplikací syntetických fungicidů. Syntetické fungicidy a jejich rezidua však mohou v některých případech představovat riziko díky své vysoké přímé či nepřímé toxicitě pro člověka (Costa et al. 2008; Nakanishi 2007; Scordino et al. 2008). Použití fungicidů při ochraně skladovaných produktů může představovat riziko ještě vyšší (Singh et al. 2009). Kromě 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. S rozvojem ekologických trendů v ochraně rostlin jsou čím dál častěji hledány alternativní způsoby, kde podstatnou část zaujímají tzv. botanické pesticidy. Pokrok v oblasti environmentálně bezpečných antifungálních látek na bázi rostlinných extraktů nabývá

v současnosti na významu (Žabka a Pavela 2014). Biologická aktivita těchto extraktů je způsobena a ovlivněna přirozeným obsahem biologicky aktivních látek, zahrnujících např. přirozené terpenoidy, fenoly a alkaloidy, které bývají obecně v rostlinách přítomny (Žabka et al., 2009; 2013). Na trhu v ČR existuje již více let rostlinný preparát na ochranu rostlin Rock effect (Agromanual 2020). Jeho vylepšená verze bude uváděna na trh v nejbližší době. V naší práci byl tento nový preparát použit pod pracovním názvem Rock effect nový (REN). REN je stejně jako jeho předchůdce založen na rostlinném biologicky aktivním oleji z rostliny *Pongamia glabra*. Tento preparát je primárně zaměřen spíše jako botanický insekticid, nicméně v našich experimentech byla ověřována i zajímavá antifungální aktivita proti významným patogenním a toxigenním houbám vyskytujících se na obilninách či skladovaných výsledných produktech.

Pro naši práci byly vybrány 4 patogenní houby z významných skupin *Pyrenophora*, *Fusarium* a *Aspergillus*. Houbový patogen (Drechslera) *Pyrenophora tritici repentis* (PTR) je velice významným listovým patogenem pšenice, výrazně snižující výnos i kvalitu (Moreno and Perelló 2010). V oblasti produkce hygienicky nezávadných zemědělských komodit jsou mikromycety z rodu *Fusarium* a *Aspergillus* známy schopností produkce většiny nebezpečných mykotoxinů ze skupiny aflatoxinů, trichothecenů, fumonisiny atd. (Edwards et al. 2002; Niessen 2007; Palumbo et al. 2008). Toxicita mnohých zástupců je srovnatelná s toxicitou moderních bojových látek. Jejich biologická aktivita je předmětem výzkumu dnes již samostatně profilované problematiky (Žabka et al., 2002; 2008).

Materiál a metodika

Testovaný preparát (REN) byl získán na základě výzkumné spolupráce VURV, v.v.i. a firmy AGRO CS a.s. Antifungální inhibiční vlastnosti REN na myceliární růst hub byly testovány pomocí diluční metody. Stanovené množství REN bylo rozpuštěno ve sterilní destilované vodě a důkladně rozmícháno v bramboro-dextrózovém agaru (PDA) v přesně dané koncentrační řadě, zvolené na základě předchozích testů následovně: 0,25; 0,5; 1,0; a 2,0 mg.ml⁻¹. Koncentrační řada byla navržena tak, aby maximálně pokrývala předpokládané rozpětí „dose-response“ křivek u jednotlivých patogenů. Vzhledem k předpokládanému obsahu možných termolabilních látek byl tento krok realizován při teplotě pod 50°C. 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 okraje sedmidenních 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 patogenních nebo i toxigenních druhů je uveden v **Tab. 1** včetně statusu a původu izolátů. Jejich druhová determinace byla ověřena i metodou PCR s druhově specifickými primery. Pomocí probitové analýzy byla statisticky stanovena i minimální inhibiční koncentrace (MIC₅₀) preparátu REN pro jednotlivé patogeny včetně 95% konfidenčních intervalů.

Tab. 1: Cílové patogenní a toxinogenní druhy hub

Houbový druh	Status a významnost houby	zdroj izolace
<i>Fusarium oxysporum</i>	rostlinný patogen, toxinogen, kontaminant	napadený klas pšenice
<i>Fusarium verticillioides</i>	rostlinný patogen, toxinogen, kontaminant	napadená kukuřice
<i>P. tritici-repentis</i>	rostlinný patogen	napadený list pšenice
<i>Aspergillus flavus</i>	toxinogen, kontaminant krmiv a potravin	kontaminované zrno pšenice

Výsledky a diskuze

Z výsledků vyplývá patrný inhibiční efekt preparátu na všechny testované patogenní a toxigenní mikromycety. Pomocí hodnot střední inhibice, či minimální inhibiční koncentrace

(MIC₅₀) je možné předpokládat poměrně podobnou účinnost, či citlivost jednotlivých mikromycet na testovaný preparát. Nicméně, i přes poměrně podobnou MIC₅₀ byli vybraní zástupci ze skupiny *Fusarium* k preparátu citlivější než PTR a *A. flavus*. Nejvyšší účinnost preparátu, vyjádřena hodnotou MIC₅₀, byla finálně pozorována u *F. verticillioides*. Nejnížší účinnost byla pozorována v případě *A. flavus*. Tato skutečnost je v souladu s našimi předchozími experimenty, kdy *A. flavus* vykazuje stabilně nejvyšší odolnost proti testovaným látkám (Žabka 2009; 2013). Důvody lze spatřovat v odlišné morfologii a metabolickém vybavení jednotlivých druhů.

Hodnoty inhibice jednotlivých patogenů vyjádřené v procentech při jednotlivých koncentracích i minimální inhibiční koncentrace (MIC₅₀) preparátu REN pro jednotlivé patogeny jsou uvedeny v **Tab 2**. Stejně tak dose-response křivky jednotlivých druhů vykazují podobný průběh (graficky znázorněny v **Graf 1**). Výjimkou byl průběh dose response křivky u *F. oxysporum*, jehož citlivost a reakce na preparát byla výrazně vyšší ve středních koncentracích (1mg/ml). Na druhou stranu v koncentracích nižších (0,25 – 0,5 mg/ml) nebyl preparátem téměř inhibován (**Graf 1; Tab 2**). Preparát vykazuje poměrně vyrovnanou účinnost na dobré úrovni v porovnání s větším souborem jiných účinných rostlinných látek zkoumaných v předešlých letech (Žabka 2016).

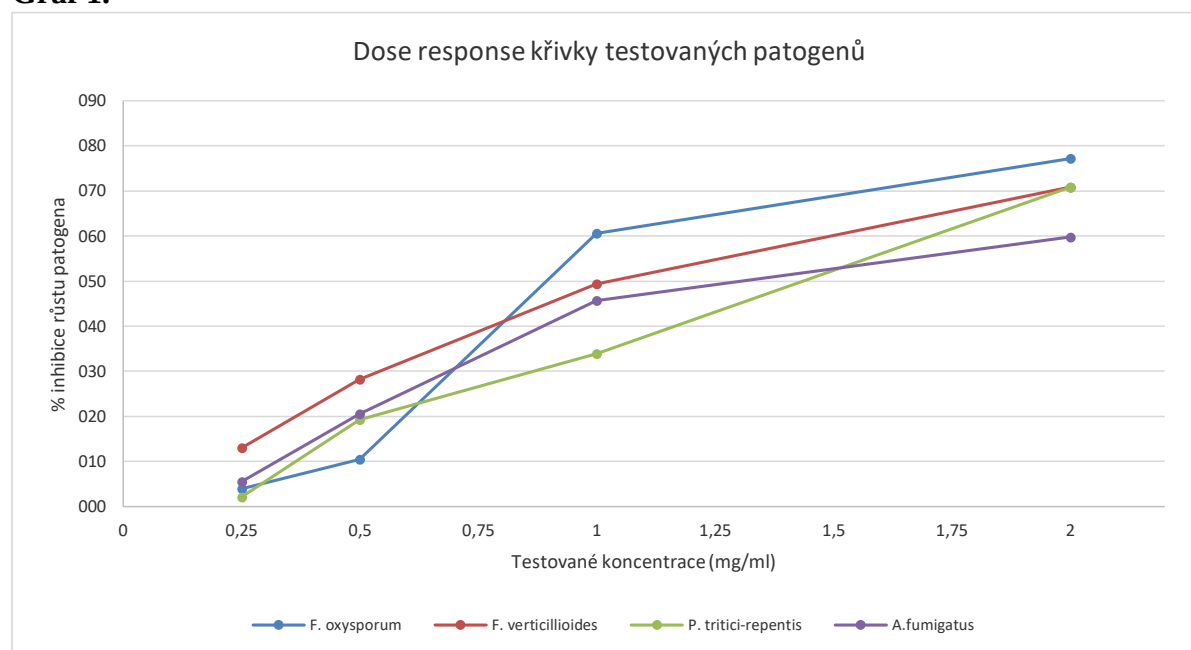
Tab. 2: Inhibiční efekt a MIC 50 preparátu na růst vybraných patogenů v řadě experimentálních koncentrací

Testovaná koncentrace REN	Testované patogenní houby (Inhibice radiálního růstu v %)			
	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium verticillioides</i>	<i>Pyrenophora tritici repentis</i>	<i>Aspergillus flavus</i>
2 mg/ml	77.17±0.19	70.85±0.49	70.82±0.24	59.80±0.09
1 mg/ml	60.63±0.05	49.33±0.24	33.91±0.24	45.73±0.00
0,5 mg/ml	10.43±0.47	28.25±0.38	19.31±0.47	20.60±0.47
0,25 mg/ml	3.94 ±0.37	13.00±0.05	2.15 ±0.00	5.53 ±0.24
MIC50 (CI 95)	1.05 (0.31-5.61)	1.03 (0.87-1.26)	1.3 (1.14-1.53)	1.36 (1.14-1.69)

CI₉₅ – 95% confidence intervals

MIC50 (CI 95) – Minimální inhibiční koncentrace nutná pro 50% potlačení růstu patogena (95% confidence interval)

Graf 1.



Závěr

V této práci byl prokázán antifungální účinek nového preparátu REN na vybrané patogenní a toxigenní druhy hub, které se s vysokou frekvencí vyskytují jako škodliví činitelé při pěstování

obilnin. Ačkoliv má nově vyvíjený preparát REN hlavní zaměření proti škodlivému hmyzu, naše práce potvrzuje i pozorovatelnou antifungální účinnost proti významným problematickým druhům. Botanické pesticidy mohou být zajímavou alternativou či doplňkem v ochraně rostlin v ekologickém zemědělství, kde používání klasických syntetických pesticidů není ze zákona povoleno a je bedlivě sledováno. Stejně tak mohou sloužit jako prostředek (ve směsích s klasickými pesticidy) pro snižování celkové pesticidní zátěže v pěstebních systémech.

Dedikace

Tato práce byla financována z následujících zdrojů TH03030009

Použitá literatura

- Agromanual 2020: <https://www.agromanual.cz/cz/pripravky/ostatni/pripravky/rock-effect>
- Costa LG, Giordano G, Guizzetti M, Vitalone A (2008) Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Front Biosci* 13:1240-1249.
- Edwards SG, O'Callaghan J, Dobson ADW (2002) PCR-based detection and quantification of mycotoxigenic fungi. *Mycol Res* 106:1005-1025.
- Nakanishi T (2007) Potential toxicity of organotin compounds via nuclear receptor signaling in mammals. *J Health Sci* 53:1-9.
- Palumbo JD, O'Keeffe T L, Abbas, HK (2008) Microbial interactions with mycotoxigenic fungi and mycotoxins. *Toxin Rev* 27:261-285.
- 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.
- Žabka M., Jegorov A. (2002): Návrat houby, jež dala vzniknout jménu trichothece, *Chemické listy* 96: 607-610.
- 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*, online 22 June 2013.
- Žabka, M. & Pavela, R. (2014) Rostlinný antifungální preparát proti rzivosti listů obilnin
- Žabka, M. & Pavela, R. (2016). Antifungální účinnost extraktů vybraných aromatických rostlin s potenciálem potravinářského využití. *Úroda*, 64 (12 věd.př.): 309-312.
- Moreno M.V., Perelló, A.E. (2010): Occurrence of *Pyrenophora tritici-repentis* causing Tan Spot in Argentina. In: Arya A., Perelló A.E. (Eds): *Management of Fungal Plant Pathogens*. Cabi: 275-290.

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Žabka, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, Praha6 –Ruzyně,
e-mail: zabka@vurv.cz;

VÝZNAM ORGANICKÉ HMOTY V PŮDĚ

The importance of organic matter in soil

Badalíková B.¹, Vašínská 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

Během let 2018–2020 byl zkoumán význam organické hmoty na vybrané půdní vlastnosti. Hodnocení proběhlo na lokalitě v Žabonosích v jabloňovém sadu, kde byl každoročně na podzim aplikován a zapraven kompost různého složení. Bylo zjištěno, že dodaná organická hmota do půdy ve formě kompostů měla pozitivní vliv na půdní strukturu, vodostálost půdních agregátů a vlhkost půdy. Bylo také zjištěno, že zlepšené půdní vlastnosti u variant se zapraveným kompostem přispěly ke zvýšení výnosů jablek.

Klíčová slova: kompost, struktura půdy, vodostálost půdních agregátů, vlhkost půdy, ovocný sad

Abstract

During the years 2018–2020, the importance of organic matter for selected soil properties was investigated. The evaluation took place at the site in Žabonosy in the apple orchard, where compost of various compositions was applied and incorporated every autumn. It was found that the organic matter supplied to the soil in the form of composts had a positive effect on the soil structure, water resistance of soil aggregates and soil moisture. It was also found that the improved soil properties of the compost variants contributed to the increase in apple yields.

Keywords: compost, soil structure, water resistance of soil aggregates, soil moisture, orchard

Úvod

Kroulík a kol. (2018) vysledovali, že půdní struktura je ve většině případů narušena vlivem nízké biologické aktivity půdy 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. 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 meziplochin (Hůla a kol., 2012). Kompost je nejstarším a nejpřirozenějším prostředkem ke zlepšování půdy, který je znám. Kompostování je aerobní exotermní mikrobiologická přeměna biologicky rozložitelných materiálů na látky bohaté na obsah humózního materiálu, živin a humusu (Kotoulová, Váňa, 2001). Produktem kompostování je kompost – organické hnojivo, jehož vlastnosti a kvalita závisí na kvalitě vstupních surovin (Hejátková a kol., 2007). Kompostováním se získává z organických odpadních látek cenný humus, který lze využít pro zlepšení půdních vlastností (Quattara a kol., 2007; Thompson a kol., 2008).

Příspěvek prezentuje výsledky vlivu aplikace organické hmoty ve formě kompostu do půdy na vybrané půdní vlastnosti a výnos ovoce.

Materiál a metody

V letech 2018-2020 byly hodnoceny půdní podmínky v provozním pokusu po zapravení různých druhů kompostů na lokalitě Žabonosy v jabloňovém sadu.

Na experimentální ploše byly založeny čtyři varianty:

varianta I – kompost – separovaný digestát, kravský hnůj, tráva (v poměru 3:3:2, celkem kompostu 30t/ha),

varianta II – kompost – separovaný digestát, rybníční 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 jablek. Kompost byl aplikován k tomuto účelu vyrobeným rozmetadlem kompostu s přesným dávkováním. Zapravení bylo vedeno ve vzdálenosti 0,7 m od kmenů v meziřádcích. Kompost z uvedených surovin byl připravován na volné ploše a pravidelně překopáván. Hlavními surovinami do zakládek kompostu byla posečená tráva z údržby areálu a digestát. Přípravek Lignohumaxu 20 (přidávaný do varianty III) 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 mikroorganismů a tím k urychlení rozkladu organické hmoty a zrání kompostu. V tab. 1 jsou uvedeny vybrané parametry složení kompostu.

Tab. 1: Vybrané parametry kompostu aplikovaného v sadu

Variantá	Ncelk. (%)	P (mg·kg ⁻¹)	K (mg·kg ⁻¹)	Mg (mg·kg ⁻¹)	Sušina (%)	pH _{KCL}
I (digestát, kravský hnůj)	0,86	224	253	509	59,5	7,0
II (digestát, rybníční bahno, tráva)	0,98	364	234	500	60,2	7,6
III (digestát, tráva + Lignohumax 20)	0,76	330	219	460	57,01	6,9

Půdní a klimatické podmínky stanoviště:

Žabonosy: pokusný pozemek je součástí jabloňového sadu, situovaný ve Středočeském kraji, v okrese Kolín, v obci Žabonosy. Z hlediska zemědělského je lokalita zařazena do řepářské výrobní oblasti s nadmořskou výškou 219 m. Řadí se do klimatického regionu teplý, mírně vlhký, dlouhodobá průměrná roční teplota 8,5⁰ 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.

V rámci sledování vlivu zapravování kompostu na půdní vlastnosti byly zjišťovány struktura půdy (metodou suché agregace), vodotělnost půdních agregátů, která byla zjišťována metodou mokrého prosévání a vlhkost půdy gravimetrickou metodou (vážkovou). Výnosy jablek byly

provedeny přesným odběrem z jednotlivých stromů ve všech čtyřech řadách v délce 100 m. Z každého stromu byla zaznamenána hmotnost jablek a pro každou řadu vypočítána hmotnost sklizených jablek.

Výsledky a diskuze

Kvalita půdní struktury je vyjadřována jako vypočítaná hodnota koeficientu strukturnosti (KS). Hodnoty KS jsou uvedeny v tab. 1. Pokud je půdní struktura zhoršená, vyskytuje se nižší procento meziagregátových pórů, až u nestrukturních půd je jejich hodnoty nulová (Kutílek, 2012).

KS na lokalitě Žabonosy v sadu (Tab. 2) byla zjištěna vyšší u variant se zapraveným kompostem (var. 1 – 3). U var. kontrolní bez kompostu (var. 4) byly hodnoty KS až o polovinu nižší oproti ostatním variantám.

Tab. 2: Půdní struktura (koeficient strukturnosti)

varianta	hloubka (m)	2018	2019	2020
I	0,00-0,15	3,74	2,40	3,60
	0,15-0,30	3,71	3,20	3,41
	průměr	3,73	2,80	3,51
II	0,00-0,15	2,97	2,13	1,60
	0,15-0,30	2,82	2,84	3,18
	průměr	2,89	2,48	2,39
III	0,00-0,15	4,06	2,38	3,09
	0,15-0,30	5,24	3,20	3,78
	průměr	4,65	2,79	3,44
IV	0,00-0,15	2,39	1,71	1,27
	0,15-0,30	1,52	2,44	2,32
	průměr	1,95	2,07	1,79

Vodostálost půdních agregátů (VPA) úzce souvisí se strukturou a dalšími fyzikálními vlastnostmi. Získané hodnoty vodostálosti za tříleté období jsou vyhodnoceny v tab. 3.

Tab. 3: Vodostálost půdních agregátů (průměr za vegetaci)

Varianta	Hloubka (m)	2018	2019	2020
I	0-0,15	40,10	53,09	60,50
	0,15-0,30	48,28	56,50	50,26
	průměr	44,19	54,79	55,38
II	0-0,15	43,26	40,28	36,54
	0,15-0,30	42,76	44,84	46,38
	průměr	43,01	42,56	41,46
III	0-0,15	55,07	57,63	73,96
	0,15-0,30	56,60	54,35	67,14
	průměr	55,83	55,99	70,55
IV	0-0,15	41,59	44,41	29,52
	0,15-0,30	43,97	46,93	41,63
	průměr	42,78	45,67	35,58

Podle zjištěných výsledků se dá konstatovat, že u všech variant s kompostem se hodnoty VPA během let zvyšovaly oproti variantě kontrolní bez kompostu (var. 4). Varianta 1 dle kvalifikační

stupnice se zařazuje v posledním roce řešení do kvality vysoké, var. 2 do kvality střední, var. 3 do kvality velmi vysoké a kontrolní var. 4 do kvality nízké. Nejlépe vychází varianta kompost s Lignohumaxem 20, takže tato forma kompostu příznivě ovlivňuje VPA a tím půdní strukturu, jak je i patrné z hodnocení KS u struktury půdy.

Mnohými autory bylo zjištěno, že lepší půdní agregace zajišťuje větší možnost zachycení srážek, a tím zlepšuje produktivitu obdělávané půdy, stejně jako poskytuje určitou ochranu organického uhlíku proti mikrobiálnímu rozkladu (Kaczyński R., Siebielec G., 2015).

V tab. 4 jsou vyhodnoceny výsledky půdní vlhkosti získané gravimetrickou metodou. Hodnoty jsou zprůměrovány ze třech opakování a za vegetaci (začátek a konec vegetačního období). Zde bylo zjištěno nejnížší hodnoty půdní vlhkosti u var. 4 (kontrolní) a v průměru nejvyšší u var. 1 (kompost+kravský hnůj) a následně var. 3 (kompost+Lignohumax 20). Co se týče půdního profilu, většinou nejvyšší půdní vlhkost byla naměřena ve svrchní vrstvě půdy do hloubky 0,10 m.

Tab. 4: Vlhkosti půdy (průměr za vegetaci) v %hmot.

Varianta	Hloubka (m)	2018	2019	2020
I	0,0-0,10	21,40	17,43	16,37
	0,10-0,20	14,11	20,33	12,31
	0,20-0,30	13,41	15,84	11,86
	průměr	16,31	17,87	13,52
II	0,0-0,10	19,88	19,91	13,06
	0,10-0,20	16,05	15,47	10,08
	0,20-0,30	15,09	13,21	12,83
	průměr	17,00	16,20	11,94
III	0,0-0,10	16,82	21,53	14,25
	0,10-0,20	13,95	18,33	13,64
	0,20-0,30	13,31	16,83	11,99
	průměr	14,69	18,90	13,29
IV	0,0-0,10	23,82	20,80	10,68
	0,10-0,20	13,63	14,27	10,39
	0,20-0,30	12,51	13,61	8,88
	průměr	16,65	16,23	9,98

Výnosy jablek jsou uvedeny v tab. 5. V jabloňovém sadu byla hodnocena odrůda Jonagold. Změny půdních podmínek ovlivněné zapravením kompostů různého složení se projeví i na výnosech jablek. Oproti kontrole došlo k navýšení hmotnosti sklizených plodů u všech variant se zapraveným různým kompostem. Nejvyšších výnosů v následných letech po aplikaci kompostů bylo dosaženo u var. 1 a 3. V roce 2020 byly zjištěny nejvyšší výnosy plodů jablek. Napomohly tomu příznivé vláhové podmínky v tomto roce.

Mnohými autory bylo zjištěno, že dodávání organické hmoty do půdy zvyšuje výnosy ovoce až o 18 %. Např. Baldi a kol. (2010) uvádí, že dávky kompostu nad 10 t.ha⁻¹ mohou u produkčních ovocných výsadb pozitivně ovlivnit výnos plodů. Lee a kol. (2009) uvádí, že aplikace kompostu u hrušní zvýšila půdní obsah organických látek a měla pozitivní vliv na rannější termín sklizně i vyšší jakost plodů. (Sciubba a kol., 2015) uvádí, že používání kompostů přispívá k synchronizaci potřeby stromů s vazbou na uvolňování živin a zlepšuje půdní

úrodnost. Také Jindo a kol. (2016) uvádí, že dlouhodobá aplikace kompostu do půdy v ovocných výsadbách přispívá ke zlepšení půdní úrodnosti i jejich produktivitě.

Tab. 5: Výnosy jablek - Žabonosy, 2018 - 2020

Odrůda: Jonagold

varianta	2018	2019	2020
	Průměrný výnos na jeden strom (kg)		
I	35,1	34,3	34,9
II	29,0	30,5	32,6
III	34,1	35,2	36,3
IV	31,5	30,4	30,2

Závěr

Zjištěné výsledky definují pozitivní význam zapravení kompostu u sledovaných vlastností půdy. Výsledky byly ovlivněny nejen různým složením surovinové skladby kompostů, ale částečně i klimatickými podmínkami daného ročníku. Nejvíce se projevilo zlepšení půdní struktury, vodostálosti půdních agregátů i vlhkosti půdy u varianty kompost s kravským hnojem (var. I) a kompost s Lignohumaxem 20 (var. III). Nejvyšších výnosů ve všech letech bylo dosaženo u varianty kompost s Lignohumaxem 20. Z výsledků plyne, že pravidelně zapravovaný kompost různého složení do půdy působí pozitivně na půdní vlastnosti i produkci.

Použitá literatura

- Badalíková B., Novotná J., Pospíšilová E. (2016). Vliv zapravení organické hmoty na půdní vlastnosti a snížení vodní eroze. Uplatněná certifikovaná metodika 33/16, 41 s.
- Baldi, E., Toselli, M., Marcolini, G., Quartieri, M., Cirillo, E., Innocenti, A., Marangoni, B. (2010): Compost can successfully replace mineral fertilizers in the nutrient management of commercial peach orchard. Soil Use and Management. Special Issue: Soil Quality, 26(3): 346–353.
- Hejátková K. a kol. (2007): Kompostování přebytečné travní biomasy: Metodická pomůcka. Vyd. 1. Náměšť nad Oslavou: ZERA –Zemědělská a ekologická regionální agentura, o.s., 2007. 76 s.
- Hůla J., Badalíková B., Kovaříček P., Vlášková M., Bartlová J. (2012): Úprava fyzikálních vlastností půdy a retenční schopnosti půdy zapravením kompostů z odpadní biomasy. Uplatněná certifikovaná metodika. Praha, VÚZT, v.v.i., 2012, 29 s.
- Jindo, K., Chocano, C., Melgares de Aguilar, J., González, D., Hernandez, T., García, C. (2016): Impact of compost Application during 5 Years on Crop Preoduction. Soil Microbial Activity, Carbon Fraction and Humification Process. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 47(16): 1907–1919.
- Kotoulová Z., Váňa J. (2001): Příručka pro nakládání s komunálním bioodpadem. Praha : Ministerstvo životního prostředí ve spolupráci s Českým ekologickým ústavem, 2001. 70 s.
- Kaczyński R., Siebielec G. (2015). In. Malý S., Siebielec G.: Testování exogenní organické hmoty pro bezpečnou aplikaci na půdu/Zkrácená verze. 14 s.
- Kroulík M., Zábranský P., Brant V., Petrtyl I. (2018): Zlepšování půdních vlastností a eliminace dopadů sucha. Úroda, roč. 66, č. 10, s. 33– 36.
- Kutílek M. a kol. (2000): Hydropedologie. ČVUT, Praha

- Lee, J.A., Kim, W.S., Choi, H.S. (2009): Effects of compost application on soil properties and leaf and bud characteristics of pear trees in orchard farms. *Korean Journal of Organic Agriculture*, 17(4): 567–575.
- 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
- Sciubba, L., Cavani, L., Grigatti, M., Ciavatta, C., Marzadori, C. (2015): Relationships between stability, maturity, water-extractable organic matter of municipal sewage sludge composts and soil functionality. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 22 (17): 13393– 13403.
- Thompson A. M.; Paul A. C.; Balster N. J. (2008). Physical and hydraulic properties of engineered soil media for bioretention basins. *Transactions of the ASABE*, vol. 51, iss. 2, p.499–514.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení DKRVO, reg. č. **MZE-RO1720**, financovaného Ministerstvem zemědělství ČR.

Kontaktní adresa:

Ing. Barbora Badalíková
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko
tel.: 547138 821, e-mail: badalikova@vupt.cz

POMOCNÉ PŮDNÍ LÁTKY JAKO PROSTŘEDEK KE ZLEPŠENÍ PŮDNÍ ÚRODNOSTI

Soil additives as a tool to improve soil fertility

Bilošová H.¹, Mikisková J.¹, Látal O.¹, Novák V.², Mrázková M.¹

¹Agrovýzkum Rapotín s.r.o.

²ČZU Praha, Technická fakulta

Abstrakt

Jednou z možných alternativ zlepšení půdní úrodnosti, s ohledem na zachování zdravé půdy, je využití pomocných půdních látek. V předkládané publikaci jsou shrnuty prvotní informace o vlivu pomocné půdní látky (NeOsol, bentonit a šáma) v kombinaci se strniskovou mezipločinou na vybrané půdní parametry. V rámci prvního roku poloprovozních pokusů situovaných v KÚ Rapotín, byl zjištěn nárůst přístupných živin Ca, Mg, K, P, u variant s aplikací bentonitu + šámy a u varianty s aplikací NeOsolu. Byl zaznamenán pokles objemové hmotnosti u variant ošetřených NeOsolem a u variant bez aplikace pomocné půdní látky, avšak s porostem mezipločiny.

Klíčová slova: pomocné půdní látky, mezipločiny, půdní parametry

Abstract

One of the possible alternatives that may help to improve soil fertility is the use of soil additives. The present publication summarizes the initial information about effect of soil additives (NeOsol, bentonit and carbonation lime) in combination with catch crops on selected soil parameters. During the first year of field experiment in Rapotín, the increase of available nutrients in treatments with application of bentonit + carbonation lime and with application of NeOsol was found. Decrease of bulk density in treatment with application of NeOsol and in treatment with catch crop without application of soil additives was observed.

Keywords: soil additives, catch crops, soil parameters

Úvod

V současné době je všeobecným trendem a snahou omezit půdní degradaci a zlepšit půdní úrodnost v souladu s udržitelným zemědělským managementem. Ke zkvalitnění agroekosystémů by mělo přispět významné omezení syntetických agrochemikálií, jako jsou pesticidy a hnojiva (Rouphael a Colla, 2020). Jednou z možných alternativ podpory a zlepšení půdní úrodnosti, s ohledem na zachování zdravé půdy, je možnost využití tzv. pomocných půdních látek. Ty jsou všeobecně charakterizovány jako látky bez účinného množství živin, které půdu biologicky, chemicky nebo fyzikálně ovlivňují, zlepšují její stav nebo zvyšují účinnost hnojiv.

Pomocné půdní látky bývají aplikovány k ovlivnění pH půdy a kvality humusu (Šařec a kol., 2020), ke zlepšení fyzikálních vlastností půd (Zupanc a kol., 2014), k podpoře mikrobiálního růstu (Liu a kol., 2018) a k vyšší sorpci živin v půdě (Pandey a Singh, 2010; Shahzad a kol., 2017). Jako prostředku k imobilizaci těžkých kovů a podpoře činnosti mikrobiální aktivity v kontaminovaných půdách bylo využito organických aditiv (Hamid a kol., 2020) či doplňkových látek na bázi jílových minerálů – bentonit (Usman a kol., 2005). Tito autoři také vyzdvihli benefit půdních aditiv z pohledu pozitivního dopadu na celkové zdraví půdy.

Při aplikaci pomocných půdních látek je třeba brát v úvahu jejich charakteristiku a efekt, který jejich aplikací sledujeme. Jak uvádí Lošák a kol. (2011) samotné pomocné látky nemusí zajistit zvýšenou zásobenost půdy živinami. V jejich krátkodobém výzkumu bylo využito tří typů

pomocných půdních látek, kdy po dvou letech od aplikace přípravků byl zjištěn u většiny variant výrazný pokles Ca, P a K, což autoři odůvodnili především absencí hnojení i vápnění a ztrátami živin z agroekosystému.

Zajímavé je také využití pomocných půdních látek z pohledu zadržení vody v krajině, především na zemědělsky využívaných plochách, kdy mohou zlepšit retenci vody v půdě (Salaš a kol., 2017). Příkladem aditiva, který dokáže ovlivňovat – zadržovat vodu v půdě je bentonit. Aplikace této látky je vhodná zejména v kombinaci s organickým hnojivem, jako je hnůj či kompost.

Další zajímavou skupinou pomocných půdních látek jsou přípravky, které ovlivňují celé spektrum půdních vlastností. Takovým přípravkem je aktivátor vitálních funkcí půdy – NeOsol, který má pozitivní vliv na půdní strukturu, zvyšuje podíl organické složky a přístupných forem živin v půdě a podporuje aktivitu půdních mikroorganismů. Sedláčková a kol. (2019) sledovali vliv aplikace různých druhů exogenní organické hmoty a zlepšujících přípravků na výnos a kvalitu obilovin. Jako zlepšující přípravky zvolili bentonit, NeOsol a další. U většiny variant vedla aplikace organické hmoty a přípravků ke zvýšení výnosů a zlepšení kvalitativních parametrů obilovin, přičemž výnosy plodin u varianty s aplikací NeOsolu patřily k nejvyšším.

V rámci nastavené cirkulární ekonomiky je snaha o maximální využití bio-materiálů (odpadů ze zemědělství či potravinářské produkce) v podobě hnojiv, půdních substrátů či aditiv. Možnost aplikace cukrovarské šámy jako hnojiva je všeobecně známa a v posledních letech je v důsledku potřeby racionálního řešení dalšího využití odpadů znovu zkoumána (Ławińska a kol., 2020). Cukrovarská šáma vzniká při čištění řepné šťávy působením vápenného mléka a následným vysrážením přebytečného vápna oxidem uhličitým (Pavlík a Opršal, 2016). Chemické vlastnosti šámy umožňují její použití jako doplňkové látky zlepšující půdu z pohledu upravení pH půdy, či jako možného hnojivého substrátu obsahujícího značné množství živin – dusíku, fosforu, sodíku či hořčíku (Paleckienė a kol., 2007; Sims a kol., 2010). Stejně tak jako typ hnojiva či různé pomocné půdní látky, mají nezastupitelný význam z pohledu zlepšování kvality půdy meziplodiny. Meziplodiny se staly oblíbenou alternativou organických hnojiv, ale také vhodným prostředkem k příznivému ovlivnění půdních vlastností (Wanic a kol., 2018). Strniskové meziplodiny významně zhodnocují produkční potenciál stanoviště, prodlužují období ozelenění půdy během vegetace, zvyšují biologickou aktivitu půdy a zlepšují její strukturu (Vach a kol., 2009). V kombinaci s aplikací pomocné půdní látky se tak meziplodiny stávají klíčovým prostředkem k držení nejen půdní úrodnosti, ale také prostředkem vedoucím k udržitelnému hospodaření na půdě. Pro své půdoochranné technologie jsou v ČR hojně využívány strniskové meziplodiny, přičemž nejrozšířenější je hořčice bílá, ředkev olejná a svazenka vratičolistá (Vach a Javůrek, 2010).

Cílem práce je zhodnotit vliv vybraných pomocných půdních látek v kombinaci s pěstováním strniskových meziplodin na základní chemické a fyzikální parametry. Předkládaná práce by měla definovat prvotní trendy ve vztahu meziplodina – pomocná půdní látka – půda.

Materiál a Metody

V roce 2019 byly na pokusných parcelách v KÚ obce Rapotín (GPS: 50.0239611; 17.0476748) založeny pokusy, na kterých byly testovány rozdílné pomocné půdní látky v kombinaci s meziplodinami. Pokus byl založen poloprovozní metodou o průměrné výměře 2 ha na jednotlivou parcelu/variantu. Pokusné plochy byly situovány na půdním typu pseudoglej modální.

Pro testování byly vybrány pomocné půdní látky (složení viz tab. 1): NeOsol a směs bentonitu a cukrovarské šámy.

Tab. 1: Charakteristika pomocných půdních látek

Název	Původ	Složení
NeOsol	PRP SA Francie	sušina 98,9 %; spalitelné látky v sušině 25 %; pH 8-10; CaO 28 %; MgO 15,9 %
bentonit Ekobent B	KERAMOST, a.s. ČR	sušina 95 %; pH 9; zrnitost 0-2 mm; obsah montmorillonitu 70 %; K ₂ O 0,75 %; P ₂ O ₅ 0,1 % a další mikroelementy
šáma	cukrovarská šáma	sušina 65 %; pH ≥ 8; organ. látky 11,4 %; CaO 30 %; MgO 1,4 %; N 0,3 %; P ₂ O ₅ 1,3 %; K ₂ O 0,1 %

Jako strniskové meziplodiny byly vybrány hořčice, svazenka, hrách a jetel. Před setím meziplodin byly na půdní parcely aplikovány pomocné půdní látky: NeOsol v dávce 140 kg/ha a směs bentonitu v dávce 2000 kg/ha a šámy v dávce 5000 kg/ha. Realizovaný oseední postup: pšenice ozimá (2018/2019) – meziplodina (2019) – silážní kukuřice (2020).

Variety (tab. 2) byly založeny v kombinaci meziplodin s doplňkovou půdní látkou a bez aplikace doplňkové půdní látky a kontroly ve třech opakováních.

Tab. 2: Varianty založené na pokusných plochách v Rapotíně

Varianta	Meziplodina	Pomocná půdní látka
kontrola	—	—
meziplodina	hořčice, svazenka, hrách, jetel	—
NeOsol	hořčice, svazenka, hrách, jetel	NeOsol
bentonit a šáma	hořčice, svazenka	bentonit a šáma

Půdní vzorky byly odebrány z hloubky 0-0,3 m na začátku pokusu, tzn. před aplikací pomocné půdní látky a zasetím meziplodiny (2019), poté před zasetím plodiny – kukuřice (2020). Vzorky byly odebrány v neporušené formě pomocí Kopeckého válečku pro stanovení základních fyzikálních parametrů a v porušené formě pro stanovení chemických parametrů. Půdní reakce byla stanovena v 0,01 M CaCl₂ (Zbiral, 2002), obsahy přístupných živin P, K, Ca, Mg dle Mehlich 3 (Zbiral, 2002) a obsah celkového N dle Kjeldahla (Zbiral a kol., 2011).

Ze základních fyzikálních parametrů půd byly zjištěny následující vlastnosti: objemová hmotnost (ρ_d), pórovitost (P), maximální kapilární vodní kapacita (Θ_{KMK}), retenční vodní kapacita (Θ_{RVK}). Fyzikální veličiny byly stanoveny pomocí Kopeckého válečku ve formě neporušeného vzorku zeminy. Zjištěním hmotnosti čerstvého, vodou nasyceného, odsátého a vysušeného vzorku se změřily výše uvedené fyzikální parametry. Analýzy byly realizovány dle Karabcová (2009).

Získaná data byla statisticky vyhodnocena s využitím programu STATISTICA verze 10 (StatSoft, 2011). Získaná data byla vyhodnocena pomocí statistických metod ANOVA, Tukey HSD test.

Výsledky a diskuze

Prvotní výsledky studie zaměřené na zjištění vlivu pomocných půdních látek na kvalitu vybraných půdních parametrů ukazují na trend, kdy pomocné látky zaujímají podstatnou úlohu v koloběhu a sorpci základních živin. V tabulce 3 jsou znázorněny průměrné hodnoty chemických parametrů, a ačkoliv stanovený zásah/varianta neměla statisticky průkazný ($P > 0,05$) vliv na tyto parametry, lze vyčíst rozdíly mezi použitím přípravku, či jeho absencí.

Hodnoty pH se u jednotlivých variant pohybovaly v rozmezí od 4,8 u kontroly až po 5,1 u varianty s meziplodinou. Z hlediska hodnocení výměnného pH daného území, můžeme půdu celé lokality označit jako kyselou.

Tab. 3: Průměrné hodnoty chemických parametrů

Varianta	Chemické parametry					
	pH _(CaCl2)	N _{kjel} (%)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	K (mg/kg)	P (mg/kg)
kontrola	4,8	0,159	1022	100	168	50
meziplodina	5,1	0,163	1270	109	194	64
NeOsol	4,9	0,158	1253	120	200	82
bentonit a šáma	5	0,151	1384	129	235	96
<i>P</i>	0,41	0,74	0,56	0,33	0,46	0,36

Velice zajímavé jsou hodnoty přístupných živin Ca, Mg, K, P, kde v tabulce 3 je patrné, že vyšších hodnot bylo dosaženo u variant s aplikací bentonitu + šámy a u varianty s aplikací NeOsolu. Množství P u kontrolní varianty je dle Sányky a Materny (2004) na limitní hranici 50 mg/kg, která udává deficit tohoto prvku v orné půdě. U všech zbývajících variant došlo k uspokojivému nárůstu koncentrace zmíněného prvku. Jak uvádí Ławińska a kol. (2020), šáma je vhodnou látkou k obohacení půdy o živiny a výborným zdrojem Ca k úpravě pH. Obdobně zareagovala půda s aplikací NeOsolu, kde došlo k nárůstu koncentrace živin. NeOsol je definován jako doplňková půdní látka, která podporuje půdní mikroorganismy, ale také zvyšuje podíl přístupných živin, čímž lze vysvětlit nárůst koncentrace těchto prvků v půdě.

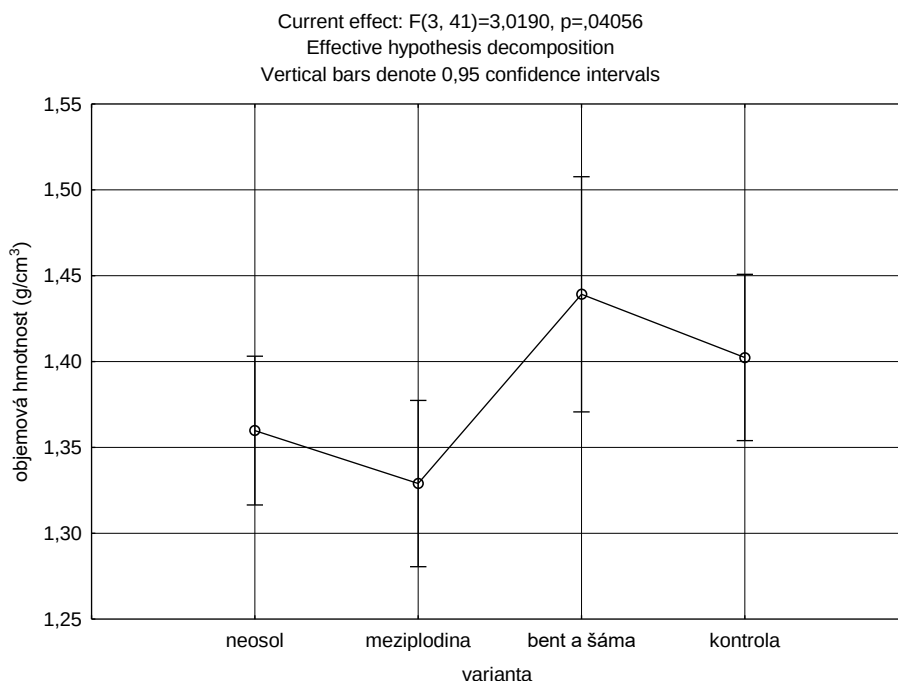
Tab. 4: Průměrné hodnoty fyzikálních parametrů

Varianta	Fyzikální parametry			
	ρ_d (g/cm ³)	P (%)	Θ_{KMK} (%)	Θ_{RVK} (%)
kontrola	1,40	49,60	40,70	36,10
meziplodina	1,33	48,20	40,30	35,90
NeOsol	1,36	50,10	42,20	37,10
bentonit a šáma	1,44	47,30	41,80	37,40
<i>P</i>	0,04	0,85	0,22	0,63

Jako velmi důležitý je uváděn parametr objemové hmotnosti (ρ_d), který udává míru zhutnění půdy. Dle Sányky a Materny (2004) ukazuje hodnota ρ_d 1,4 g/cm³ již na nevyhovující stav z pohledu utuženosti půdy. Tato hodnota byla překročena u varianty s aplikací bentonitu a šámy. Statisticky průkazný ($P = 0,04$) vliv varianty byl zjištěn u objemové hmotnosti (tab. 4), avšak nebyl zjištěn průkazný rozdíl mezi jednotlivými variantami (graf 1). Z uvedeného grafu lze vyčíst pokles objemové hmotnosti u variant ošetřených NeOsolem a u variant bez aplikace pomocné půdní látky, avšak s porostem meziplodiny. Tyto závěry potvrzují různé studie (Wanic a kol., 2018), které vyzdvihují pozitivní vliv meziplodin na zlepšení půdní struktury, respektive minimalizaci zhutnění. Obdobně působí i NeOsol, jako doplňková půdní látka, která podporuje biologickou aktivitu půdy a má tak pozitivní vliv na strukturu půdy, tedy i objemovou hmotnost (Šindelková a Badalíková, 2019). Opačný efekt se objevil u varianty s aplikací bentonitu a šámy, i přes jasné pozitivní působení meziplodiny, vykazuje tato varianta

nejvyšší hodnoty objemové hmotnosti. Zde se nejspíš projevily vlastnosti bentonitu – jílového materiálu, který je spíše vhodný jako příměs do lehčích půd.

Graf 1: Hodnoty objemové hmotnosti (ρ_d) u jednotlivých variant na lokalitě Rapotín



U dalších sledovaných fyzikálních parametrů nebyl zjištěn statisticky průkazný vliv varianty. Pokusné plochy u všech variant můžeme z hlediska pórovitosti (P) dle Sáníky a Materny (2004) označit jako nevyhovující, tzn. pórovitost by se měla pohybovat nad hranicí 46 %. Spíše pozitivně můžeme hodnotit zbylé hydrofyzikální parametry, retenční vodní kapacitu (Θ_{RVK}) a maximální kapilární vodní kapacitu (Θ_{KMK}). Oba parametry se pohybují v optimálním rozpětí hodnot s minimálními rozdíly. Nejnižší průměrná hodnota pórovitosti byla naměřena u varianty s aplikací bentonitu a šámy, což je v souladu se zjištěním nejvyšší naměřené hodnoty objemové hmotnosti.

Různí autoři (Salaš a kol., 2017; Šindelková a Badalíková, 2019; Zupanc a kol., 2014) uvádí pozitivní vliv pomocných půdních látek na strukturní stav půdy. Spolu s pěstováním mezipločin je předpoklad postupného zlepšování těchto ukazatelů půdní úrodnosti. Námi zjištěné hodnoty nebyly u všech variant statisticky průkazné, nicméně prvotní výsledky ukazují na shodu s těmito autory. Aby došlo k potvrzení těchto trendů, bude pokračovat sběr půdních vzorků i v následujícím roce, kdy bude doplněna databáze o další rozborů půdních parametrů.

Závěr

V předkládaném příspěvku jsou shrnuty prvotní informace o vlivu pomocné půdní látky v kombinaci se strniskovou meziplochinou na vybrané půdní parametry. V rámci prvního roku poloprodučních pokusů byl zjištěn nárůst přístupných živin Ca, Mg, K, P, u variant s aplikací bentonitu + šámy a u varianty s aplikací NeOsolu, nicméně tento nárůst nebyl statisticky průkazný. Statisticky průkazný vliv varianty byl zjištěn u objemové hmotnosti, avšak nebyl zjištěn průkazný rozdíl mezi jednotlivými variantami. Byl zaznamenán pokles objemové hmotnosti u variant ošetřených NeOsolem a u variant bez aplikace pomocné půdní látky, avšak s porostem mezipločiny. Sběr půdních vzorků bude pokračovat i v následujícím roce tak, aby byl jasně definován vliv pomocné půdní látky v kombinaci s meziplochinou na půdní parametry.

Dedikace

Příspěvek vznikl za finanční podpory MZE-RO1218 a data byla poskytnuta z projektů TJ02000270 a IGA TF 2020: 31180/1312/3103.

Použitá literatura

- Hamid, Y., Tang, L., Hussain, B., Usman, M., Lin, Q., Rashid, M. S., He, Z., Yang, X. (2020): Organic Soil Additives For The Remediation Of Cadmium Contaminated Soils And Their Impact On The Soil-Plant System: A Review. *Science Of The Total Environment*, 707, 136121.
- Karabcová, H. (2009): Metodické Postupy A Zásady Vyhodnocování Fyzikálních Parametrů Půd Pod Trvalými Travními Porosty. Agrovýzkum Rapotín S.R.O., ISBN:978-80-87144-07-7
- Ławińska, K., Szufa, S., Obraniak, A., Olejnik, T., Siuda, R., Kwiatek, J., Ogrodowczyk, D. (2020): Disc Granulation Process Of Carbonation Lime Mud As A Method Of Post-Production Waste Management. *Energies*, 13(13), 3419.
- Liu, H., Xiong, W., Zhang, R., Hang, X., Wang, D., Li, R., Shen, Q. (2018): Continuous application of different organic additives can suppress tomato disease by inducing the healthy rhizospheric microbiota through alterations to the bulk soil microflora. *Plant and soil*, 423(1-2), 229-240.
- Lošák, T., Hlušek, J., Jandák, J., Salaš, P., Straková, M., Janků, L., Knotová, D., Lošák, M. (2011): Efekt půdní aplikace zeolitu, agrisorbu a lignitu na změny vybraných agrochemických vlastností lehké půdy v aridních podmínkách jižní Moravy. Salaš, P. (ed): Rostliny v podmínkách měnícího se klimatu. Lednice 20.- 21.10. 2011, *Úroda, vědecká příloha*, 2011, s. 330-335, ISSN 0139-6013
- Paleckienė, R., Sviklas, A. M., Šlinkšienė, R. (2007): The Role of Sugar Factory Lime on Compound Fertilizer Properties. *Polish Journal of Environmental Studies*, 16(3).
- Pandey, V. C., Singh, N. (2010): Impact of fly ash incorporation in soil systems. *Agriculture, ecosystems & environment*, 136(1-2), 16-27.
- Pavlik, P., Opršal, Z. (2016): Ecosystem Services and Sugar Beet. *Listy Cukrovarnické a Řepářské*, 132(5-6), 182.
- Rouphael, Y., Colla, G. (2020). Biostimulants in Agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 11.
- Salaš, P., Rožnovský, J., Pekař, M., Vlk, R. (2017): Přirozená infiltrace – pomocné půdní látky jako cesta k jejímu zlepšení. *Zadržování vody v krajině*, 49-54. ISBN 978-80-270-1479-8
- Sánka, M., Materna J. (2004): Indikátory kvality zemědělských a lesních půd ČR. MŽP.
- Sedláčková, I., Hambálková, M., Bílovský, J., Látal, O. (2019): Vliv aplikace biologicky transformované organické hmoty a biouhlu na výnosy a kvalitu obilovin. *Obilnářské listy*, 3-4, 57-61.
- Sims, A. L., Windels, C. E., Bradley, C. A. (2010): Content and potential availability of selected nutrients in field-applied sugar beet factory lime. *Communications in soil science and plant analysis*, 41(4), 438-453.
- Shahzad, S. M., Arif, M. S., Riaz, M., Ashraf, M., Yasmeen, T., Zaheer, A., Bragazza, L., Buttler, A., Robroek, B. J. (2017): Interaction of compost additives with phosphate solubilizing rhizobacteria improved maize production and soil biochemical properties under dryland agriculture. *Soil and Tillage Research*, 174, 70-80.
- Šařec, P., Látal, O., Novák, P., Holátko, J., Novák, V., Dokulilová, T., Brtnický, M. (2020): Changes in soil properties and possibilities of reducing environmental risks due to the

- application of biological activators in conditions of very heavy soils. *Agronomy Research* 18, <https://doi.org/10.15159/ar.20.196>.
- Šindelková, I., Badalíková, B. (2019): Aplikace půdních bio-stimulantů a jejich vliv na změny půdních vlastností v suché oblasti jižní Moravy. Rožnovský, J., Litschmann, T. (eds): Hospodaření s vodou v krajině. Třeboň 13.-14. 6. 2019, ČHMÚ Praha, ISBN 978-80-87577-88-2
- Usman, A., Kuzyakov, Y., Stahr, K. (2005): Effect of clay minerals on immobilization of heavy metals and microbial activity in a sewage sludge-contaminated soil. *Journal of soils and sediments*, 5(4), 245-252.
- Zbíral, J. (2002): Analýza půd I. Jednotné pracovní postupy. ÚKZÚZ, ISBN: 80-86548-15-5
- Zupanc, V., Kastelec, D., Lestan, D., Grcman, H. (2014): Soil physical characteristics after EDTA washing and amendment with inorganic and organic additives. *Environmental pollution*, 186, 56-62.
- Vach, M., Haberle, J., Procházka, J., Procházková, B., Hermuth, J., Květoň, V., Javůrek, M., Káš, M., Svoboda, P., Dvořáček, V. (2009): Pěstování strniskových meziplodin. VÚRV, v.v.i., Praha, ISBN: 978-80-7427-009-3
- Vach, M., Javůrek, M. (2010): Předpoklady pro netradiční technologie zakládání porostů polních plodin. Metodika pro praxi. VÚRV, v.v.i., Praha. ISBN: 978-80-7427-050-5
- Wanic, M., Zuk-Golaszewska, K., Orzech, K. (2018): Catch crops and the soil environment – a review of the literature. *Journal of Elementology* 24 (1): 31-45.
- Zbíral, J., Malý S., Váňa, M. (2011): Analýza půd III. Jednotné pracovní postupy. ÚKZÚZ.

Kontaktní adresa:

Mgr. Hana Bilošová, Ph.D.
Agrovýzkum Rapotín s.r.o.
Výzkumníků 267, Rapotín
e-mail: hana.bilosova@vuchs.cz
tel.: 583 392 166

PĚSTOVÁNÍ OLEJNÉHO LNU V EKOLOGICKÉM ZEMĚDĚLSTVÍ

Linseed growing in the organic farming

Bjelková M.

Agritec Plant Research s.r.o.

Abstrakt

Příspěvek charakterizuje výsledky pěstování olejného lnu v ekologickém systému hospodaření. Len (*Linum usitatissimum* L.) je víceúčelová plodina, u níž je rozmanitost a užitnost produktů akceptovatelná v průmyslových, nutričních a farmaceutických oborech. Výsledky experimentu ukázaly, že téměř všechny sledované parametry prokázaly sníženou kvantitu i kvalitu produkce olejného lnu v ekologickém pěstitelském systému oproti konvenčnímu.

Klíčová slova: olejný len, výnos, ekologické zemědělství

Abstract

Post describes the results of linseed cultivation in organic farming system. Linseed (*Linum usitatissimum* L.) is a multipurpose crop, in which the diversity and usefulness of products acceptable in industrial, nutraceutical and pharmaceutical industries. The results of the experiment showed that almost all of the monitored parameters showed a reduced quantity and quality of production of the linseed in organic growing systems compared to conventional.

Keywords: linseed, yield, organic farming

Úvod

V České republice došlo v posledních letech k masivnímu rozvoji ekologického zemědělství, ve kterém jsou nejvíce pěstovány obilniny. S rozšiřující se plochou ekologického způsobu hospodaření dochází také k rozšiřování sortimentu pěstovaných plodin, mezi které je možno zařadit i olejný len. Studie provedené i v zahraničí prokázaly, že inovativní plodiny lze pěstovat i jako alternativní v ekologickém systému hospodaření (Bilalis et al, 2017). Pěstování polních plodin v ekologických podmínkách je závislé především na znalosti a dodržování určitých zásad spjatých s tímto systémem.

Materiál a metody

Byly založeny v letech 2018 a 2019 experimenty s olejným lnem, odrůd Natural, Raciol a Libra, v ekologickém systému hospodaření (Bozetice a Bartošovice) a v kontrastu pro srovnání výsledků i v podmínkách konvenčního zemědělství (tato data nejsou samostatně prezentována). Pěstitelská technologie byla pro oba systémy vedena dle platné metodické příručky pro pěstování olejného lnu (zdroj Agritec). V ekologickém systému oproti konvenčnímu systému nebyly provedeny operace spojené s ošetřením porostů během vegetace proti škodlivým činitelům živočišného a rostlinného původu. Před sklizní nebyla provedena desikace porostu, protože porosty dozrály přirozeně v obou variant. Před samotnou sklizní byl proveden odběr vzorků rostlin a tyto byly podrobeny laboratorním analýzám, kde byly hodnoceny technologické parametry. Sklizený semenný materiál byl vyčištěn, byla u něho stanovena vlhkost, výnosový potenciál z jednotky plochy a vzorky semen byly analyzovány na obsah mastných kyselin a obsah tuků (Analýza obsahu oleje v semenech byla provedena dle interní metodiky, založené na normě ČSN EN ISO 659: „Olejnatá semena – Stanovení obsahu oleje“. Metodika je validovaná s pravidelnou účastí mezilaboratorního porovnání, pořádanou ÚKZÚZ. Analýza poměrového zastoupení mastných kyselin byla stanovena podle normy ČSN EN ISO 5508: „Analýza methylesterů MK plynovou chromatografií“.).

Výsledky a diskuze

Lokalita Bozetice:

Průběh vývoje porostů na této lokalitě nebyl na počátku vegetace poškozen, ale v pozdějších vývojových fázích se projevil místní nedostatek srážek, který se meziročně lišil. V žádném roce nebyl zjištěn výskyt dřepčíka lnového (*Longitarsus parvulus*) a dřepčíka pryšcového (*Aphthona euphorbiae*). Také výskyt plevelných společenstev vlivem nadlimitního sucha se vyskytoval pouze sporadicky a spíše na počátku vegetace. Byl zjištěn výskyt dvouděložných a jednoděložných plevelů heřmánkovce přímořský nevonný (*Matricaria maritima* L. subsp. *inodora* (L.) Soó), pýr plazivý (*Elytrigia repens* (L.) Desv.). Sklizeň na lokalitě Bozetice proběhla vždy ve druhém srpnovém týdnu a bez problémů. Sklízelo se samojízdnou žací mlátičkou NEW Holland TX66. Průměrná délka strniště byla v obou letech 10 cm (10 - 15 cm v prvním roce a 6 – 12 cm po 4x100 měření ve druhém roce a to od každé odrůdy). Výška strniště byla velmi nízká z důvodu přítomnosti krátkých rostlin, které by jinak nebylo možno sklídit. Po sklizni byla semenná produkce těchto dvou odrůd olejních lnů převezena na sušící zařízení a profoukávána studeným vzduchem. Vlivem silného sucha byl porost obou odrůd olejních lnů krátký a nasazení tobolek bylo minimální a nebylo výjimkou, že byly přítomny rostliny i s jednou tobolkou. Průměrná celková výška rostlin byla 50 cm a technická délka 38,5 cm. Tato krátká délka rostlin měla za důsledek vcházení malého objemu hmoty do sklizeče a toto bylo důvodem nedostatečného vymláčení tobolek ve všech letech. Průměrný výnos semen bez ohledu na odrůdu byl 0,550 t.ha⁻¹ a výnos stonku byl 1,143 t.ha⁻¹. Obsah tuku byl vyšší u odrůdy Libra oproti odrůdě Natural a Raciol s odrůdovým průměrem 43,65 %.

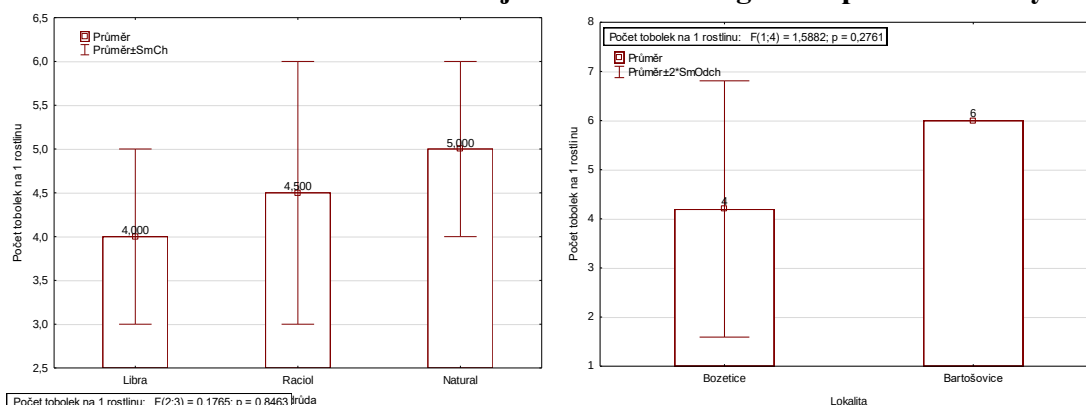
Lokalita Bartošovice

Bylo znatelné, že lokalita je obohacena spodní vodou. V růstové fázi stromečku bylo přistoupeno k vláčení porostu za účelem snížení plevelných rostlin. Tím byly i částečně eliminovány rostliny olejného lnu. V prvotních fázích růstu byly přítomny plevele: heřmánkovce přímořský nevonný (*Matricaria maritima* L. subsp. *indologa* (L.) Soó), ježatka kuří noha (*Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv.), pýr plazivý (*Elytrigia repens* (L.) Desv.), pcháč rolní (oseť) (*Cirsium arvense* (L.) Scop.), merlík bílý (*Chenopodium album* L.), rozrazil perský (*Veronica persica* Poir. in Lam.) a violka rolní (*Viola arvensis* Murray). V následných fázích růstu lnu se některé plevele mírně rozrůstaly, ale vlivem sucha jejich rozšíření nebylo dramatické a v plné zralosti olejného lnu nepřerůstaly oproti kulturní plodině. Sklizeň byla odzkoušena obilním sklízěčem Claas. Celková délka rostlin na lokalitě Bartošovice byla 65 cm a technická 47 cm, výnos semen činil 1,5 t.ha⁻¹ a výnos stonku 1.853 t.ha⁻¹. Obsah tuku ve výši 40,6 % byl nižší oproti lokalitě Bozetice.

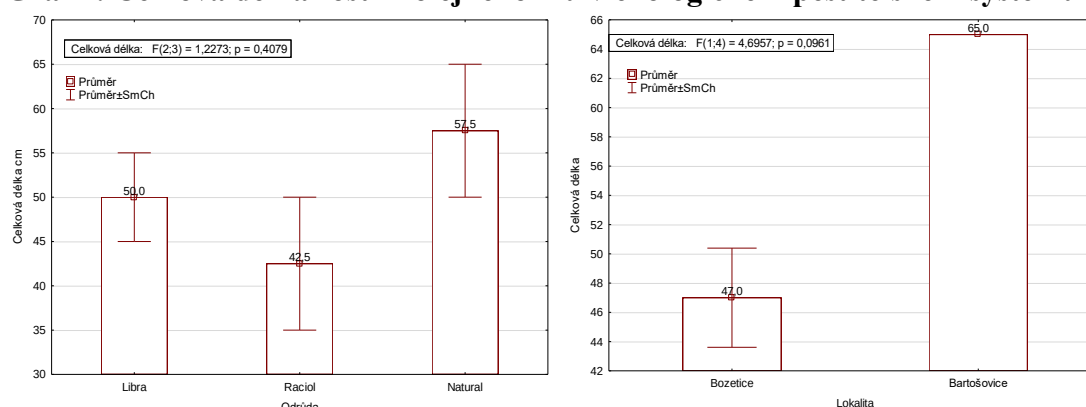
Vzájemné zhodnocení pěstování olejného lnu na ekologicky hospodařících lokalitách

Při vzájemném vyhodnocení morfologického znaku počtu tobolek na rostlinu bylo zjištěno, že v rámci odrůd nebyly zjištěny difference, ale tyto se vyskytly na úrovni lokalit. Celková i technická délka rostlin byla ovlivněna nejen odrůdou, ale také lokalitou. Samotná lokalita a její klimatické a půdní podmínky budou hrát rozhodující vliv na tyto technologické parametry, které přímo určují podmínky při technologii a průběhu sklizně, podobně jako u Bilalis et al, 2017. Jak prokázaly výsledky a vizuální pozorování sklizňových technik, příliš málo hmoty způsobené především velmi krátkou délkou stonku, jsou přímým důsledkem nemožnosti sklizně nebo nedokonalým vymláčením tobolekové části rostliny a směřující pak ke snížení výnosu a zvýšení ztrát.

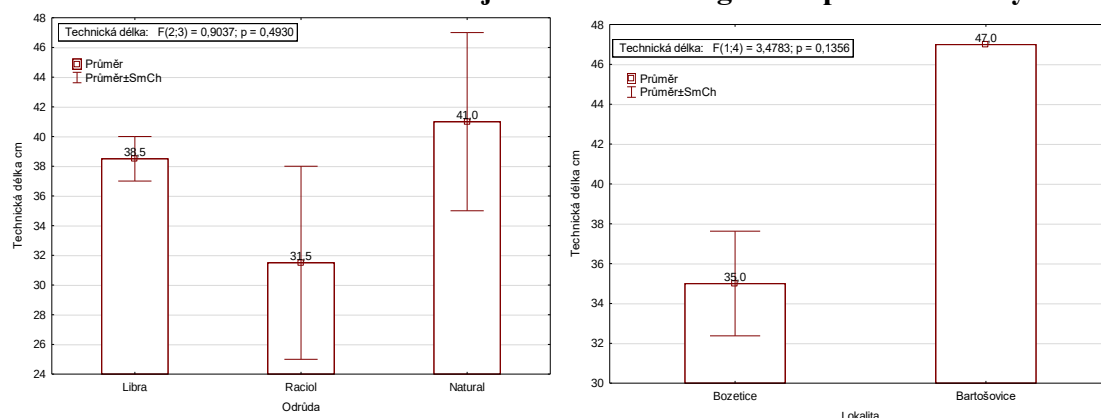
Graf 1: Počet tobolk na rostlinu olejného lnu v ekologickém pěstitelském systému



Graf 2: Celková délka rostlin olejného lnu v ekologickém pěstitelském systému

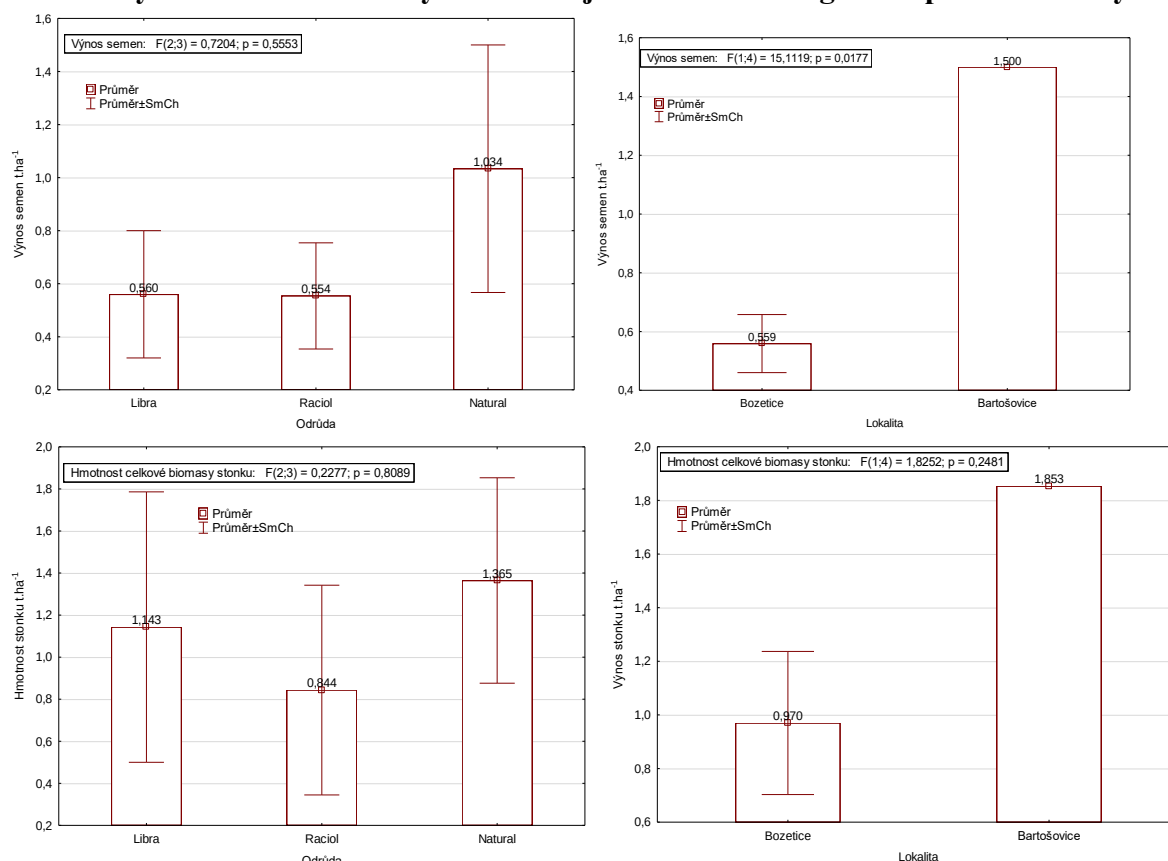


Graf 3: Technická délka rostlin olejného lnu v ekologickém pěstitelském systému



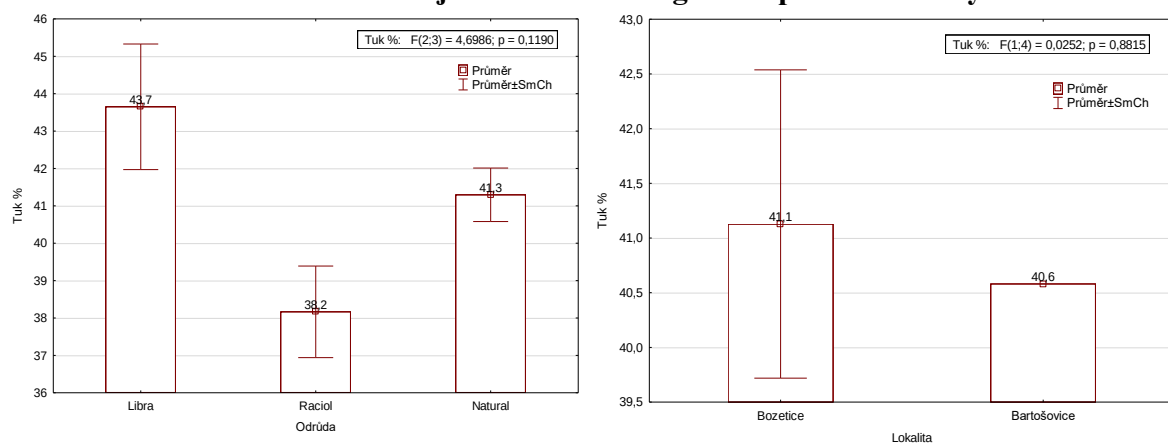
Z pohledu výnosu hlavního produktu, semen, není zřejmý vliv odrůdy, ale podobně jako v případě morfologických znaků je hlavním aspektem lokalita a její půdní a klimatický vliv. Průměrné výnosy semen a stonku byly 0,716 t.ha⁻¹ v případě produkce semen a v produkci stonku byla hodnota 1,117 t.ha⁻¹. Odrůda Libra měla produkci semen (0,560 t.ha⁻¹ a Raciol 0,554 t.ha⁻¹. Vyšší byl také výnos stonku u odrůdy Libra oproti odrůdě Raciol. Obsah tuku byl vyšší u odrůdy Libra (43,7 %) oproti odrůdě Raciol (38,1%). Výnos semen v této výši není ekonomický. Při reálném posouzení jednotlivých agrotechnických vstupů je nákladovost pěstování v ekologickém systému na úrovni cca 20000 Kč.ha⁻¹ a při realizační ceně za produkt, která se v současnosti pohybuje kolem 18000 Kč .t⁻¹ zcela jasně vyplývá ekonomická ztráta.

Graf 4: Výnos semen a biomasy stonku olejného lnu v ekologickém pěstitelském systému



Obsah tuku (graf 5) byl vyšší u odrůdy Libra, ale je zřejmé, že je to schopnost dané odrůdy. Na obsahu tuku se projevila lokalita a jak ukazují grafy 5, je viditelné, že stresové podmínky lokality Bozetice (vyšší teplota při dozrávání porostu) měly vliv na jeho zvýšení.

Graf 5: Obsah tuku u odrůd olejného lnu v ekologickém pěstitelském systému

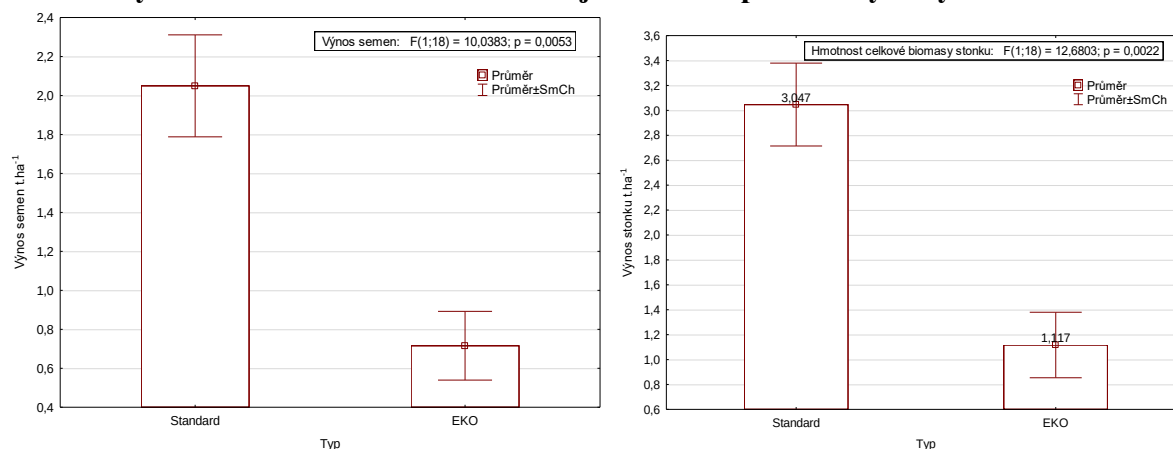


Vzájemné vyhodnocení pěstování olejného lnu v ekologickém a konvenčním (standardním) systému

Nejdůležitějším parametrem, proč zařadit olejný len do pěstitelských systémů ekologického hospodářství, je jeho produkce semen. Pro dokreslení situace předkládám vzájemné vyhodnocení obou pěstitelských systémů, z důvodu velkých rozdílů produkce. Ze vzájemného zhodnocení obou pěstitelských technologií vyplývá, že průměrný výnos semen v konvenčním systému byl 2,050 t.ha⁻¹, naproti tomu v ekologickém systému byla produkce semen pouze 0,716 t.ha⁻¹. Tento propad v ekologickém systému činil 65 % produkce ve konvenčních (standardních) podmínkách. Podobným výsledkem je možno hodnotit také výnos

stonku z pohledu možného druhotného produktu při pěstování olejného lnu. Výnos stonku v konvenčních podmínkách činil 3,047 t.ha⁻¹ a v ekologickém systému 1,117 t.ha⁻¹.

Graf 6: Výnos semen a stonku u odrůd olejného lnu v pěstitelských systémech



Pozn.: Standard – trvale udržitelný pěstitelský systém

EKO – ekologický systém

Shrnutí

Ekologický systém pěstování olejného lnu je možno uskutečnit pouze v některých oblastech, kde předpokladem bude velmi nízké zatížení ploch plevelnými druhy a písčitohlinitá půda, ale i tak je nutno počítat s velkou ztrátou produkce semen oproti konvenční zemědělské produkci. S ohledem na pokusy vedené v ekologickém systému bylo pěstování olejného lnu pod hranicí zisku. Získaná produkce semen s ohledem na vysokou vlhkost při sklizni získanou plevelným zatížením a tím se zvyšující i sklizňovou teplotu bude materiálem, který při zaváhání ohledně další úpravy, bude snadněji poškoditelný a v potravinářství následně nepoužitelný.

Použitá literatura

- Klimek-Kopyra A., Zajac T., Oleksy A., Kulig B. 2016. Signifikance of mixed intercropping of spring wheat and linseed as a potential component of plant cultivation in sustainable agriculture, EJP AU 19(4), #05.
Available Online: <http://www.ejpau.media.pl/volume19/issue4/art-05.html>
- Dimitrios Bilalis, Ioannis Roussis, Francisco Fuentes, Ioanna Kakabouki, Ilias Travlos, 2017. Organic Agriculture and Innovative Crops under Mediterranean Conditions. Not Bot Horti Agrobo, 45(2):323-331. DOI:10.15835/nbha4521086
- S.K. Singh, Manibhushan and Ajay Kumar, 2018. Organic linseed (Tisi) farming: a step towards doubling farmers' income. Indian Farming 68(01): 55–58.
- Klein, J., Zikeli, S., Claupein, W. a kol., 2017. Linseed (*Linum usitatissimum*) as an oil crop in organic farming: abiotic impacts on seed ingredients and yield. Org. Agr. 7, 1–19. <https://doi.org/10.1007/s13165-016-0146-6>.

Dedikace

Príspevek vznikl v rámci řešení výzkumného projektu MZe RO1019

Kontaktní adresa:

Ing. Marie Bjelková, Ph.D., Agritec Plant Research s.r.o., Zemědělská 2520/16, Šumperk
e-mail: bjelkova@agritec.cz

PROJEVY ZHUTNĚNÍ PŮDY A MOŽNOSTI NÁPRAVY

Pedocompaction and possible remedies

Boturová K., Záhora J., Pospíšilová L., Vlček V.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Práce se zabývá hodnocením změn základních fyzikálních vlastností půdy (pórovitost, specifická a objemová hmotnost) vlivem utužení. Jsou uvedeny různé příčiny a projevy zhutnění orné půdy a s tím spojené důsledky a rizika. Experimentální část je zaměřena na rozbor neporušených půdních vzorků a vyhodnocení limitních hodnot u vybraných parametrů. Výsledky výzkumu ukazují překročení agroekologických limitů u objemové hmotnosti půdy a pórovitosti. Závěrem uvádíme možnosti nápravy takto znehodnocené půdy. Zhutnění má negativní dopad především půdní život, protože narušuje vodní a vzdušný režim. Za nejvhodnější možnost nápravy zhutnělé půdy považujeme biologickou cestu, vysazení melioračních mezplodin na neobhospodařovaném pozemku, a to po dobu nejméně pěti let.

Klíčová slova: utužení, základní fyzikální vlastnosti

Abstract

The work deals with changes in basic soil physical properties (porosity, density, bulk density,) as a result of pedocompaction. General descriptions of different reasons and associated risks of pedocompaction are given. Experiments are aimed at evaluation of non-disturbed soil samples in physical cores. Agroecological limits for porosity and bulk soil density are discussed. Obtained results confirmed that pedocompaction in this place affects negatively air and water regime, and soil life. Moreover, the work describes the possibilities of remediation and soil properties improving. As the most appropriate option is considered the biological measures, planting of ameliorative catch crops or fallow lands for at least five years.

Keywords: compaction, basic physical properties

Úvod

Půda je jedním z nejcennějších složek prostředí, které určují kvalitu života člověka, a proto je velmi důležité dbát na její ochranu. V rámci zemědělských operací však dochází k výraznému stresování půdy. Mezi výrazný projev stresování půdy patří zhutnění neboli pedokompakce. Zhutnění půdy se v různém stupni vyskytuje prakticky na všech zemědělských půdách. Podle Lhotský a kol. (1984 a,b) může se jednat o primární (= přirozené, genetické) zhutnění, anebo sekundární, které je způsobeno antropogenní činností (= technogenní zhutnění). Souvisí především s narušením půdní struktury, která se projevuje změnou pórovitosti, měrné hmotnosti, schopnosti infiltrace, propustnosti a snížením retenční kapacity (Singer, 2006, www.eagri.cz; Šarapaka, 2014). Jednoznačně vede k narušení biologických parametrů a stresování půdy. Omezení utužení lze docílit dodržováním několika zásad. Jedná se o snížení počtu pojezdů, šetrné oševní postupy, organické hnojení a vápnění, provádění agrotechnických zásahů při vhodné vlhkosti a vhodné jsou také speciální technologie jako flotační pneumatiky nebo pasová technika. U již utužených půd tato opatření ztrácí účinnost a je tedy potřeba uplatnit speciální meliorační opatření, které zahrnuje hlubší meliorační orbu (Šarapaka, 2014).

Materiál a metody

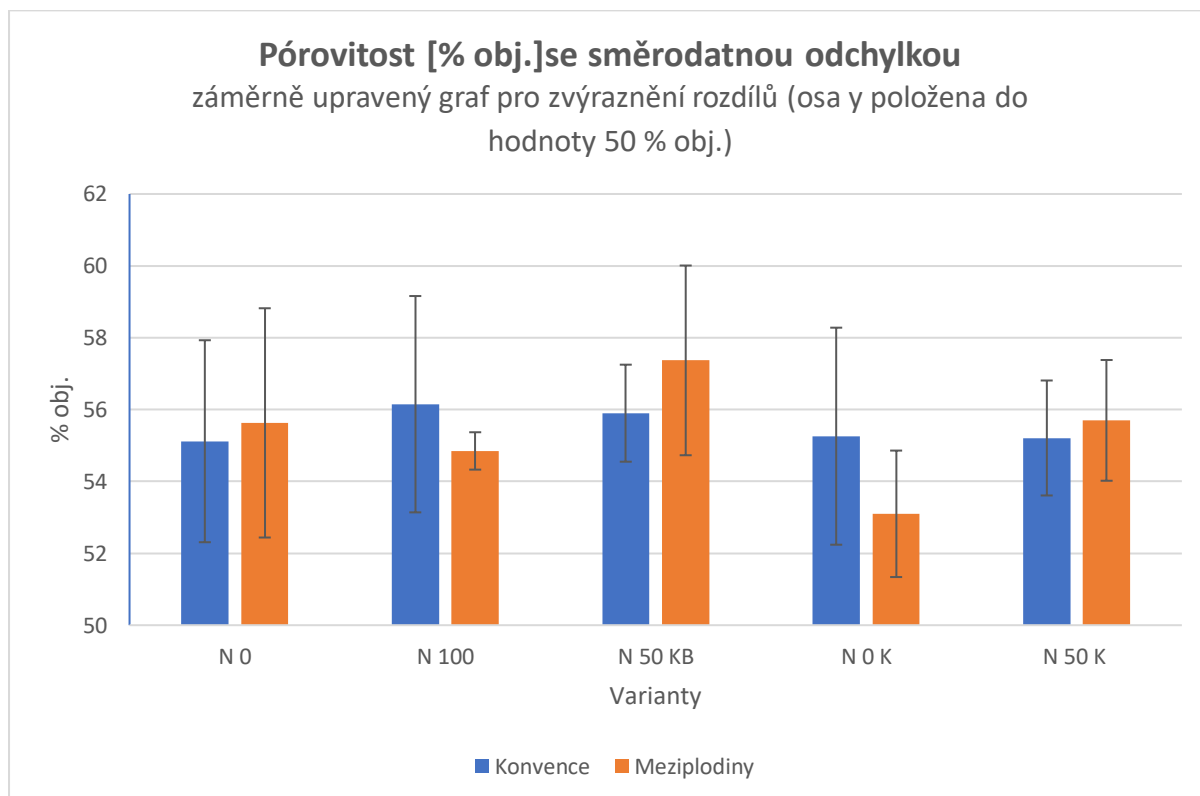
Dlouhodobé pokusy probíhají na lokalitě Březová nad Svitavou. Zde byly odebrány půdní vzorky z 11 variant, které byly následně v laboratoři zpracovávány. Ve variantě konvenčního zemědělství byly odebrány varianty N 0, N 100, N 50 KB, N 0 K a N 50 K. U varianty s minimalizačními technologiemi doplněnou o pěstování mezipločin pak varianty N 0, N 100, N 50 KB, N 0 K, N 50 K. Hnojeno bylo minerálním dusíkem. Kdy 100 % dávky minerálního dusíku je $140 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ N a 50 % je pak $70 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ N. U varianty 0 nedošlo k přidavku organické hmoty, u varianty K byl aplikován kompost a u varianty KB byl aplikován kompost v základce obohacený o biouhel. U všech vzorků byla stanovována měrná hmotnost, vypočítávána objemová hmotnost redukována, pórovitost a zastoupení jednotlivých pórů. Stanovením měrné hmotnosti zjistíme hmotnost jednotky objemu tuhé fáze půdy bez pórů. Měrná hmotnost, též udávaná jako hustota tuhé půdní fáze je určena hmotností 1 cm^3 půdy, z níž byla úplně odstraněna plynná i kapalná fáze. Tento uměle vyvolaný stav se u sypkých materiálů stanovuje pyknometrickou metodou. Objemová hmotnost redukována se zjišťována u vysušené půdy a je přímo ovlivňována různým zastoupením pórů a také aktuálním obsahem vody a vzduchu. Výsledky jsou vypočítávány jako podíl hmotnosti vzorku po vysušení a objemu odebraného vzorku (objem Kopeckého válečku). Jako poslední se počítala pórovitost a zastoupení jednotlivých pórů. Pro výpočet se využívá měrná hmotnost (ρ_s) a objemová hmotnost redukována (ρ_d) $(\rho_s - \rho_d) / (\rho_s) \cdot 100$ (% obj.). Zastoupení jednotlivých pórů se provádí výpočtem pro naměřené hodnoty při odsávání vody ze vzorků. Výsledky byly statisticky zpracovány a vyhodnoceny podle Stávková a Dufek (2000). Byl stanoven aritmetický průměr, směrodatná odchylka, variační koeficient a Studentův t -test ($\alpha = 0,05$) – viz cit.vfu.cz (2020).

Výsledky a diskuze

Objemová hmotnost redukována indikuje kyprost a ulehlost půdy. Je definována jako hmotnost jednotkového objemu vysušené půdy. Její agroekologické limity dle Lhotského a kol. (1984a) uvádíme v Tab. 1. Z naměřených hodnot objemové hmotnosti půdy (Graf 1 a Tab. 2) vyplývá, že se objemová hmotnost ve svrchní vrstvě pohybuje v rozmezí $1000\text{--}1250 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$. Nejvyšší hodnoty byly zjištěny u varianty bez hnojení minerálním dusíkem a organickou hmotnou (N 0) v konvenci a u varianty bez hnojení minerálním dusíkem, ale s dávkou kompostu (N 0 K) u mezipločin. Nejnižších hodnot dosažených v rámci kultury konvence bylo na půdě hnojené $70 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ N s přidavkem kompostu, který byl v základce obohacen o biouhel a v rámci varianty na půdě hnojené $140 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ N. Nejnižších hodnot dosažených v rámci kultury mezipločin bylo na půdě hnojené $70 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ N s přidavkem kompostu, který byl v základce obohacen o biouhel a v rámci varianty $70 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ N s přidavkem kompostu. Studentovým t -testem bylo provedeno testování jednotlivých variant a jejich vzájemného působení. Z výsledků plynou statisticky průkazné rozdíly (tj. p -hodnoty, jsou ve většině případů větší než hladiny významnosti; taktéž se hodnoty statistiky nacházejí mimo interval, což značí statisticky vysoce významný rozdíl mezi variantami N 0, N 50 KB, N 50 K při $p > 0,01$). U varianty N 0 K byl zjištěný rozdíl pouze statisticky významný ($p > 0,05$) a varianta N 100 udržovaná v konvenčním hospodaření nebyla statisticky rozdílná od varianty s použitím mezipločiny. Na základě statistického vyhodnocení dat lze konstatovat, že vliv doporučeného dávkování hnojení minerálním dusíkem ve výši $140 \text{ kg N} \cdot \text{ha}^{-1}$ je natolik významným vlivem, že se zastírá pozitivní vliv mezipločin.

Tab. 1: Ulehlost půdy ornice v závislosti na objemové hmotnosti redukované (Lhotský a kol., 1984)

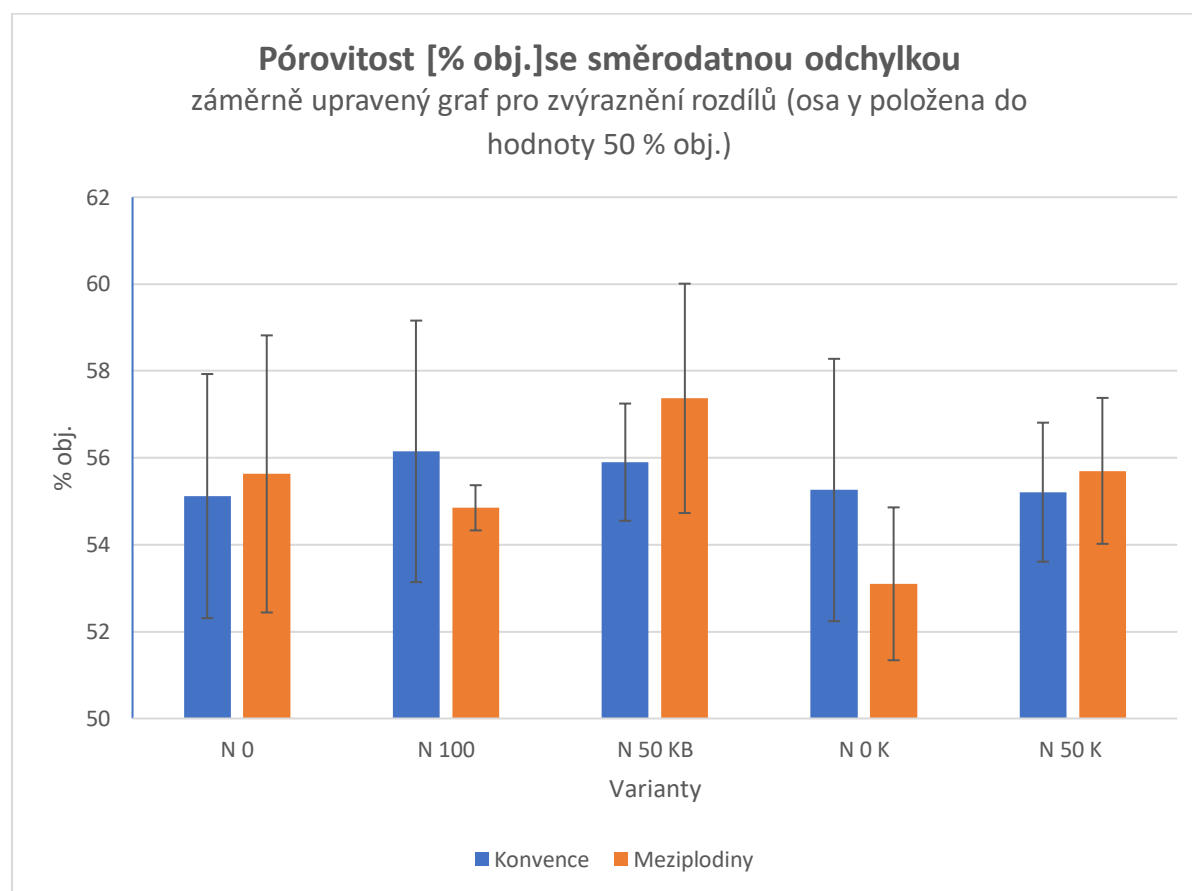
Stav	Objemová hmotnost redukována
Čerstvě nakypřená	< 0,95
Kyprá	0,95 - 1,15
Slabě ulehlá	1,15 - 1,25
Silně ulehlá	> 1,25

Graf 1: Výsledky variant objemové hmotnosti redukované se směrodatnou odchylkou

V rámci polního pokusu byly odebrány půdní vzorky z 11 variant. Hnojeno bylo minerálním dusíkem v dávkách 100 % ($140 \text{ N kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$) a 50 % ($70 \text{ N kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$). Varianty 0 byly bez aplikace organické hmoty. Varianty K, zde byl aplikován kompost. U varianty KB byl aplikován kompost v základce obohacený o biouhel. Půda byla obhospodářována jak klasickými (konvenčními) zemědělskými postupy (graf 1 modré sloupce), tak minimalizačními technologiemi s meziplodinou (graf 1 oranžové sloupce). Mezi významné ukazatele dobrého fyzikálního stavu půdy patří vedle objemové hmotnosti také pórovitost. Pórovitost charakterizuje celkový objem pórů v okamžitém zastoupení, který je vztažen k celkovému objemu půdy. Povrchové horizonty u minerálních půd dosahují hodnot mezi 40 a 60 %. Agroekologický limit pro hlinité půdy je 45 %. Vypočítané hodnoty pórovitosti půdy odebrané ze svrchních vrstev půdy jsou v rozmezí od 51 do 60 objemových procent. Průměrné hodnoty se ve všech variantách pohybovaly kolem hodnoty 55 (viz Graf 2). Z těchto dat vyplývá, že je půda v dobrém strukturním stavu. Pórovitost se na sledovaných variantách zpracování půdy téměř neliší přes to, že průměrná vlhkost půdy byla pro konvenci 22 obj. % a na minimalizaci

27,58 obj. %. Předpokládáme, že při orbě a kypření půdy došlo ke zvýšení počtu nekapilárních pórů, čímž také se mírně zvýšila pórovitost. Na variantě konvence je průměr průměru pórovitosti 55,5 obj. %. Na variantě minimalizace dosahuje pórovitost 55,2 obj. %. Nejvyšší je na variantě 70 kg N .ha⁻¹.rok⁻¹ s přidavkem kompostu a biouhlu. Výsledky Studentova *t*-testu ukazují statistické rozdíly mezi variantami. Na základě *p*-hodnoty, která je ve většině případů větší než hladiny významnosti a také s tím, že se hodnoty statistiky nacházejí mimo interval, což znamená, že mezi variantami existuje rozdíl, a to ve variantách N 0 K, N 100, N 50 KB, N 50 K dokonce statisticky vysoce významný (*p*>0,01) a varianta N 0 udržovaná v konvenčním hospodaření nebyla statisticky rozdílná od varianty s použitím meziplodiny.

Graf 2: Výsledky variant pórovitosti se směrodatnou odchylkou



Nejvyšší hodnoty objemové hmotnosti byly zjištěny u varianty bez hnojení minerálním dusíkem a organickou hmotnou (N 0) v konvenci i na minimalizaci bez hnojení minerálním dusíkem, ale s dávkou kompostu (N 0 K). Zjištěné hodnoty objemové hmotnosti při porovnání ulehlosti půdy ornice uváděné Lhotským a kol. (1984 a,b), potvrzují, že horizont ornice na pokusné parcele byl méně utužen v případě minimalizace. Data potvrzují, že způsob zpracování půdy má vliv na utužení půdy ve svrchních vrstvách. Podobné výsledky uvádějí také Czyz and Dexter (2009). Při posuzování hodnot pórovitosti jsme došli k podobným závěrům. Zjištěné průměrné hodnoty objemové hmotnosti byly v limitu dle Lhotského (1984 a,b).

Tab. 2: Ulehlost půdy jednotlivých průměrů všech variant

Varianta	Konvenční zpracování	Meziplodiny
N 0	1,17	1,12
N 100	1,13	1,14
N 50 KB	1,13	1,09
N 0 K	1,15	1,17
N 50 K	1,15	1,10
N 0 KB	-	1,13

Závěr

Výsledky výzkumu ukázaly, že hodnoty objemové hmotnosti splňují agroekologické limity dle Lhotského (1984 a,b). Lepší výsledky objemové hmotnosti byly dosaženy na minimalizaci s aplikací dusíku v dávce $70 \text{ N kg} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{rok}^{-1}$ s přidavkem kompostu a biouhlu. Bez aplikace dusíku byly hodnoty objemové hmotnosti nepatrně vyšší. Na základě statistického zpracování dat lze konstatovat, že vliv doporučeného dávkování hnojení minerálním dusíkem je vlivem natolik významným, že se zastírá pozitivní vliv meziplodin. Výsledky práce tak potvrdily, že minimalizační technologie a meziplodiny zlepšují fyzikální stav půdy. V rámci celkového srovnání obou způsobů hospodaření lze tedy konstatovat, že ulehlost půdy byla celkově nižší u minimalizačních technologií doplněných o meziplodiny. Za nejvhodnější metodu regenerace půdy se tedy dá označit osev melioračními meziplodinami (deset a více druhů) s dobou neobhospodařování nejméně 5 let. Výrazně se tak přispívá k obnově půdní struktury a umožňuje se navrácení půdního života, který je pro půdu nepostradatelný.

Poděkování

Práce byla podpořena projektem MZE Země NAZV QK 1810233 „Kvantifikace dopadů hospodaření na erozi, kvalitu půd a výnosy pěstovaných plodin s návrhem pěstebních technologií šetrných k životnímu prostředí.“

Použitá literatura

- Czyz, E.A., Dexter, A.R. 2009: Soil physical properties as affected by traditional, reduced and no-tillage for winter wheat. International agrophysics, Vol. 23, pp. 319-326
- Jandák, J., Prax, A., Pokorný, E. (2001): Půdoznalství. 1. vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 140 s. ISBN 80-7157-559-3
- Lhotský, J. a kol., 1984a: Soustava opatření k zúrodňování zhutnělých půd. Metodika ÚVTIZ Praha, 39 s
- Lhotský, J., Váchal, J., Ehrich, P. 1984b: Soustava opatření k zúrodňování zhutnělých půd, Metodika ÚVTIZ

- Singer M. J. 2006: Physical degradation of soil, s. 224 – 229. In: Certini G., Scalenghe R.: Soils: Basic Concepts and Future Challenges. Cambridge: Cambridge University Press. ISBN 978-1-107-40643-8
- Stávková, J., Dufek, J. 2000: Biometrika. 1 vyd. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita. 194 s. ISBN 80-7157-486-4
- Charakteristiky variability souboru
<https://cit.vfu.cz/statpotr/POTR/Teorie/Predn1/variabil.htm>
- Šarapatka B. 2014: Pedologie a ochrana půdy. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 232 s. ISBN 978-80-244-3736-1
- Degradace půdy In: Půda [online], eagri.cz (Mze) 2020: [vid. 25.2.2020], dostupné na: <http://eagri.cz/public/web/mze/puda/ochrana-pudy-a-krajiny/degradace-pud/>

Kontaktní adresa:

Ing. Kateřina Boturová
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1665/1
613 00 Brno
Česká republika
e-mail: xboturo1@mendelu.cz
+420 732 184 106

OVLIVNĚNÍ PŮDNÍ RESPIRACE PŘÍDAVKEM DIGESTÁTU S RŮZNÝM OBSAHEM SÍRY

Effect on soil respiration by the amendment of digestate with different sulfur content

Brtnický M.^{1,2}, Hammerschmiedt T.^{1,2}, Škarpa P.¹, Brtnická H.¹, Holátko J.²

¹Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Česká republika

²Ústav geologie a pedologie, Lesnická a dřevařská fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Česká republika

Abstrakt

Digestát je zbytkový produkt anaerobního procesu výroby bioplynu, který slouží jako účinné organické hnojivo, bohaté na řadu živin (zejména dusík, draslík, fosfor). Pro zvýšení obsahu síry v digestátu byla použita jemně mletá elementární síra. Digestát zároveň představuje vhodné médium pro její aplikaci ve formě suspenze. Mikrobiální společenstvo digestátu může zrychlit proces přeměny na sírany. V rámci nádobového pokusu s žitem setým (*Secale cereale*) byl testován vliv digestátu inkubovaného 6 týdnů ve směsi s elementární sírou na respirační aktivitu celkové půdní mikroflóry a funkčních skupin. Zatím co přídavek síry snížil celkovou (bazální) respiraci, respirační aktivita indukovaná některými přídávky zdrojů uhlíku a dusíku byla zvýšena ve variantě s vysokou dávkou síry.

Klíčová slova: mikrobiální aktivita, nádobový pokus, MicroResp

Abstract

Digestate is a residual product of the anaerobic biogas production, it is used as an organic fertilizer, rich in many nutrients (i.e. nitrogen, potassium, phosphorus). Finely ground elemental sulfur was used to increase the sulfuric content in digestate. Moreover, digestate is a suitable medium for sulfur application in the form of a suspension. The microbial community of digestate can accelerate the conversion to sulfates. The digestate mixed with elemental sulfur was incubated for 6 weeks and tested in pot experiment with rye (*Secale cereale*) for its effect on the respiratory activity of the total soil microbiom and functional groups. While the amendment of sulfur decreased overall respiration, the induced respiratory activity due to additions of carbon and nitrogen sources increased in the high sulfur amended variant.

Key words: microbial activity, pot experiment, MicroResp

Úvod

Digestát je zbytkový odpadní materiál z anaerobní výroby bioplynu, využitelný jako hnojivo bohaté na sloučeniny dusíku (zejména ve formě amoniaku), fosfor (degradační procesy během anaerobní digesce zlepšují dostupnost fosforu pro rostliny (Masse a kol. 2011)), draslík, síru, vápník, hořčík a mikroprvky. Použití digestátu v zemědělství má prokazatelně pozitivní efekt na růst a produkci plodin (Liedl a kol. 2004). Aplikace digestátu má i další příznivé účinky na půdu: snížení objemové hmotnosti, zvýšení hydraulické vodivosti, vodní retenční kapacity půdy (Garg a kol. 2005) a stability agregátů (Erhart a kol. 2014). Digestát má potenciál zvýšit obsah organické hmoty (humusu) (Erhart a kol. 2014) a podporuje mikrobiální aktivity v půdě srovnatelně se statkovými hnojivy (prasečí kejda, kravský hnůj) (Galvez a kol. 2012).

Elementární síra (S) může být zdrojem živin pro rostliny i mikroorganismy, lze ji použít k regulaci pH v procesu kompostování (Roig a kol. 2004) i k úpravě čistírenských kalů určených k hnojení. Protože elementární síra není rozpustná ve vodě, musí ji půdní bakterie

oxidovat na sírany, aby ji mohly rostliny využít k výživě. Jedná se tak o hnojivo s velmi pomalým uvolňováním a proces její oxidace je vhodné urychlit postupem použitým před aplikací do půdy.

Obsah síry může být v některých typech digestátu nízký, pak je jejich využití nevhodné pro na síru náročné plodiny (např. řepku). Aplikace fertilizační dávky elementární síry do digestátu v postfermentační fázi se jeví jako výhodný postup pro zvýšení obsahu živin i iniciaci biologických procesů oxidace síry a snížení emisí amoniaku způsobeného acidifikací (Mahimairaja a kol. 1994).

Cílem této práce bylo otestovat vliv výsledného směsného hnojiva digestát + elementární síra (ve dvou odlišných dávkách) na půdní respiraci a porovnat výsledky s efektem kontrolního výchozího digestátu. Fungicidní účinky elementární síry jsou známy, hypotéza tedy předpokládá snížení aktivity půdního společenstva zejména v případě vysoké dávky síry.

Materiál a metody

Postfermentační inkubace digestátu byla provedena v těsně uzavíratelných nádobách o objemu 50 dm³, do kterých bylo přidáno (podle pokusných variant): (1) 10 dm³ digestátu; (2) 10 dm³ digestátu + 14 g elementární síry; (3) 10 dm³ digestátu + 140 g elementární síry. Digestát (DG) byl dobře promíchán (síra byla rovnoměrně vmísena do digestátu), nádoby uzavřeny a ponechány 6 týdnů při teplotě 17,4-20,2 °C. Všechny varianty byly provedeny ve třech opakováních.

Digestát (vyrobený anaerobní fermentací z gastroodpadu) byl získán z bioplynové stanice ECR Rapotín, která pracuje v kontinuálním mezofilním režimu (okolo 40 °C). Elementární síra byla získána jako produkt odsiřování bioplynu. Chemické složení digestátu z pokusných variant (1)-(3) je v Tab. 1.

Tab. 1 Chemické složení kontrol. digestátu a digestátů s nízkou/vysokou sírou

varianta	Ca	P	S	N-NO ₃	N-NH ₄ ⁺	N _{an} -100%	NL	
	g·kg ⁻¹	g·kg ⁻¹	g·kg ⁻¹	g·kg ⁻¹	g·kg ⁻¹	g·kg ⁻¹	%	
(1)	19,24	12,76	14,30	2,20	5,17	122,75	26,92	
(2)	28,94	17,44	10,40	1,64	5,45	122,16	25,39	
(3)	17,24	14,11	28,80	2,16	6,10	121,51	27,14	
varianta	Na	K	Mg	Cu	Zn	Fe	Mn	Bor
	g·kg ⁻¹	g·kg ⁻¹	g·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹	mg·kg ⁻¹
(1)	5,99	22,61	1,55	31,78	66,99	1,25	67,0	43,76
(2)	6,02	36,55	2,12	25,12	142,8	1,23	52,0	43,76
(3)	6,00	19,30	1,55	29,26	186,9	1,30	88,0	74,12

Po ukončení inkubace digestátů variant (1)-(3) bylo 5 dm³ z každé nádoby odebráno do šroubovacích nádob a uloženo ve 4 °C až do aplikace v nádobovém pokusu.

Účinek těchto digestátů byl testován v nádobovém pokusu s žitem setým (*Secale cereale*). Pokusné nádoby o objemu 2 dm³ byly naplněny 2 kg pokusné půdy. Jejím základem byla ornice (0–15 cm) z lokality v blízkosti obce Troubsko (49 ° 10'28 „N 16 ° 29'32“ E). Před použitím byla půda proseta přes síto o velikosti 2,0 mm a smíchána s jemným křemičitým pískem (0,1–1,0 mm) - 1:1 (hm.).

Varianty nádobového pokusu odpovídaly variantám použitého upraveného digestátu, se shodným množstvím jeho přídatku (85 ml - vyjádřeného jako polní aplikační dávka na hektar): (1) kontrola - digestát (50 m³·ha⁻¹); (2) digestát (50 m³·ha⁻¹) + nízká síra (70 kg·ha⁻¹); (3) digestát (50 m³·ha⁻¹) + vysoká síra (700 kg·ha⁻¹). Digestát byl před aplikací rozmíchán v destilované

vodě (150 ml). Do naplněných květináčů bylo zaseto vždy 20 zrn žita. Sazenice byly po 21 dnech vyjednoceny. Nádobový pokus probíhal po dobu 12 týdnů v řízených podmínkách pokusného skleníku: dvanáctihodinová fotoperioda, bílé osvětlení, teplota den/noc 20/12 °C. Každá varianta byla provedena v 5 květináčích.

Na konci pokusu byly z každé varianty odebrány půdní vzorky, u kterých byly dále analyzovány následující parametry: pH (měřené v extraktu CaCl_2) podle metodiky (ISO_10390 2005), půdní bazální a substrátem indukovaná respirace pomocí metody MicroResp® (Technical Manual v2.1, The James Hutton Institute a Campbell a kol. 2003).

Porovnání souborů dat bylo provedeno jednosměrnou analýzou rozptylu (ANOVA) a hodnota $p \leq 0,05$ byla považována za statisticky významný rozdíl v hodnocených soborech. Všechna data byla analyzována s použitím softwarového balíčku Statistica ver. 13.4.0.14.

Výsledky a diskuze

Výsledky ANOVA analýzy rozdílů v souborech naměřených hodnot ukázaly signifikantní rozdíly mezi pokusnými variantami v parametrech: pH, bazální respirace (BR), substrátem indukovaná respirace (SIR) pro glukosou (Glc)-SIR, kys. citronovou (Cit)-SIR, trehalosu (Tre)-SIR, N-acetyl- β -D-glukosamin (NAG)-SIR, alanin (Ala)-SIR, lysin (Lys)-SIR, arginin (Arg)-SIR - viz Tab. 2.

Tab. 2 Výsledky jednosměrné analýzy rozptylu (ANOVA) vlastností půd s přidavky digestátu (1), digestátu + nízké síry (2) a digestátu + vysoké síry (3)

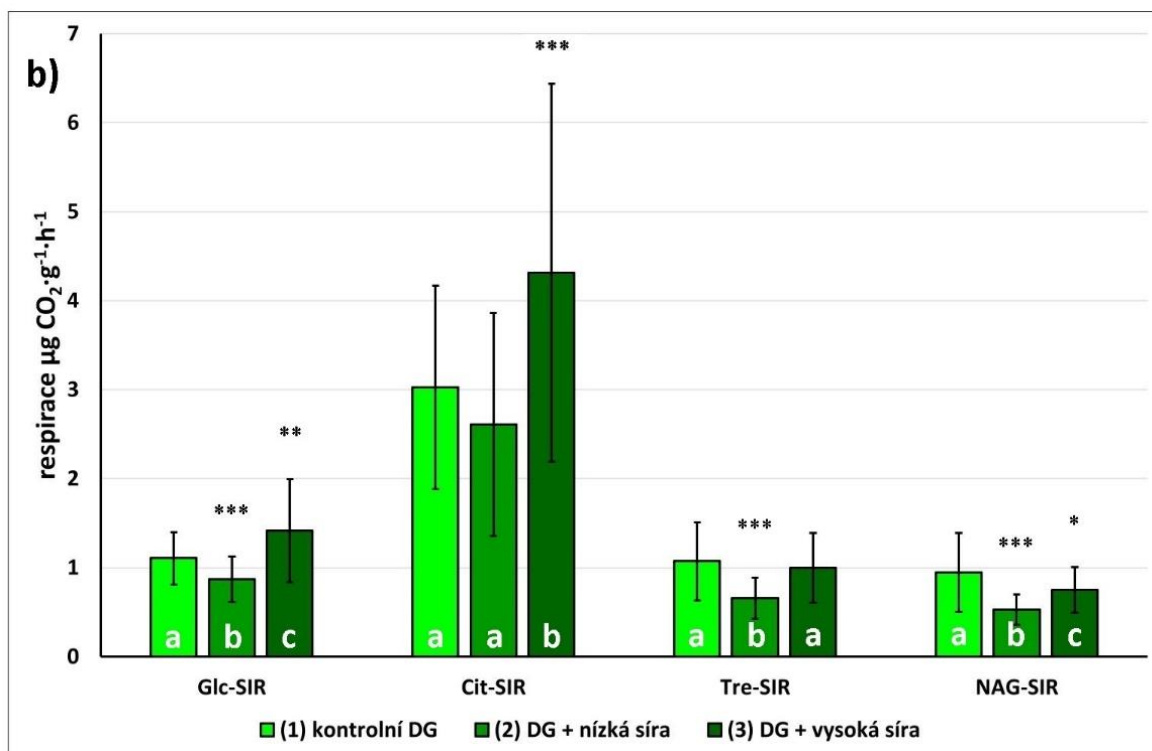
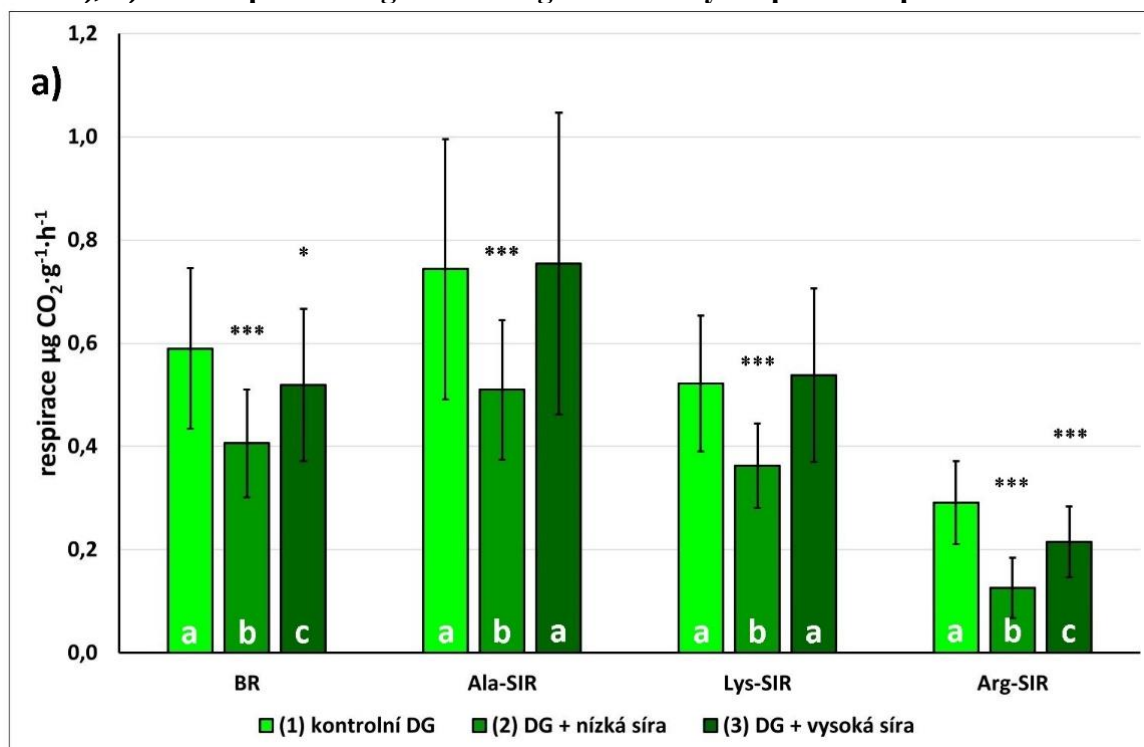
Faktor	F	F krit	Hodnota p
pH	244,182	3,065	$\leq 0.001^{***}$
glukosa-SIR	20,463	3,065	$\leq 0.001^{***}$
kys. citronová-SIR	14,163	3,065	$\leq 0.001^{***}$
trehalosa-SIR	16,244	3,065	$\leq 0.001^{***}$
NAG-SIR	19,876	3,065	$\leq 0.001^{***}$
alanin-SIR	15,078	3,065	$\leq 0.001^{***}$
lysin-SIR	23,633	3,065	$\leq 0.001^{***}$
arginin-SIR	62,269	3,065	$\leq 0.001^{***}$

Půdní reakce (tj. pH) se statisticky průkazně lišila mezi jednotlivými variantami, s největší (průměrnou) hodnotou 7,55 u varianty (2) DG + nízká síra. Překvapivě bylo i u varianty (3) DG + vysoká síra pH půdy vyšší (průměr 7,52) než u kontrolní varianty (1) (průměr 7,40), nedošlo tedy k výrazné (nežádoucí) acidifikaci půdy v důsledku aplikace elementární síry.

Půdní bazální a substrátem indukované respirace udávají množství CO_2 vyprodukovaného v souvislosti s aerobní biologickou aktivitou půdních organismů. BR je komplexním indikátorem respirace celkového půdního mikrobiálního společenstva (Anderson a kol. 1982), SIR ukazuje na respirační aktivitu vybrané frakce půdního mikrobiomu v souvislosti s přidavkem určitého typu energetického substrátu (Anderson and Domsch 1978). SIR umožňuje kvantifikovat katabolické aktivity funkčních skupin mikroorganismů v závislosti na jejich metabolické specifitě a poskytuje obraz metabolické diverzity půdní mikrobioty. BR, NAG-SIR a Arg-SIR byly statisticky průkazně nejvyšší v kontrolní variantě (1) v porovnání s ostatními dvěma variantami (2) a (3) s přidavky síry –Graf 1 a), b). Ačkolí BR a šest SIR parametrů (vyjma Cit-SIR) byla ve variantě (2) DG + nízká síra signifikantně snížena oproti kontrole (1) i variantě (3), tak právě varianta s DG + vysoká síra (3) vykazovala ve srovnání

s kontrolou (1) jak statisticky se nelišící hodnoty Tre-SIR, Ala-SIR a Lys-SIR, tak i signifikantně vyšší hodnoty Glc-SIR a Cit-SIR – Graf 1 a), b).

Graf 1a), b) Vliv aplikace digestátu a digestátu + síry na půdní respiraci



Sloupcový graf se směrodatnou odchylkou. Různá písmena označují statisticky významné rozdíly při: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Přídavkem digestátu s vysokou dávkou elementární síry ($700 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) byla tedy v pěti z osmi půdních respiračních ukazatelů mikrobiální aktivity prokázána stejná nebo dokonce zvýšená (v případě univerzálních uhlíkatých zdrojů energie) respirační kapacita půdní mikroflóry, než jaká byla dosažena aplikací neošetřeného kontrolního digestátu. Lze tedy předpokládat, že přídavek elementární síry ve spojení s fertilizací digestátem nemá na půdní mikrobiom negativní účinky a inhibice respirace ve variantě (2) s nízkou dávkou elementární síry ($70 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) nebyla přímým důsledkem biocidního účinku síry v půdě této varianty.

Závěr

Hodnocením účinku přídavku kontrolního digestátu (1), digestátu s nízkou ($70 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) dávkou elementární síry (2) a digestátu s vysokou ($700 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$) dávkou elementární síry (3) na vlastnosti půdy v nádobovém experimentu s žitem setým (*Secale cereale*) bylo zjištěno signifikantní zvýšení pH obou variant (2) a (3) v porovnání s kontrolou (1). Respirace byly v porovnání s kontrolou (1) sníženy signifikantně u varianty (2), a to výrazně větší měrou než u varianty (3), u které byly navíc Glc-SIR a Cit-SIR signifikantně vyšší než u kontroly (1). Pozorované snížení respiraci nenastalo pravděpodobně v souvislosti s biocidním účinkem elementární síry. Nebyla potvrzena hypotéza negativního biocidního působení elementární síry na půdní mikrobiální aktivitu. Na základě výsledků lze naopak předpokládat dílčí stimulační účinek digestátu s vysokou dávkou elementární síry na půdní mikrobiom, tento předpoklad bude ověřen vyhodnocením dalších půdních biologických parametrů i dalšími experimenty.

Dedikace

Tato práce byla finančně podpořena z projektů TAČR TH04030142 „Využití odpadu produkovaného při výrobě bioplynu ke zlepšení půdních vlastností a zvýšení obsahu síry v rostlinách“ a TH04030132 „Systémy aplikace tekutých organických hnojiv jako prostředek ke zlepšení půdního prostředí, zvýšení využitelnosti živin rostlinami a jako prostředek k minimalizaci dopadů na životní prostředí“.

Použitá literatura

- Anderson JPE, Domsch KH (1978) A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 10 (3):215-221. doi:[https://doi.org/10.1016/0038-0717\(78\)90099-8](https://doi.org/10.1016/0038-0717(78)90099-8)
- Anderson JPE, Page AL, Miller RH, Keeney DR (1982) Soil Respiration. In: Page AL (ed) *Methods of Soil Analysis, Part 2*, vol 2. 2nd edn. ASA and SSSA, Madison, pp 831-871
- Campbell CD, Chapman SJ, Cameron CM, Davidson MS, Potts JM (2003) A Rapid Microtiter Plate Method To Measure Carbon Dioxide Evolved from Carbon Substrate Amendments so as To Determine the Physiological Profiles of Soil Microbial Communities by Using Whole Soil. *Appl Environ Microbiol* 69 (6):3593-3599. doi:10.1128/aem.69.6.3593-3599.2003
- Erhart E, Siegl T, Bonell M, Unterfrauner H, Peticzka R, Ableidinger C, Haas D, Hartl W (2014) Fertilization with liquid digestate in organic farming - effects on humus balance, soil potassium contents and soil physical properties. May 01, 2014
- Galvez A, Sinicco T, Cayuela ML, Mingorance MD, Fornasier F, Mondini C (2012) Short term effects of bioenergy by-products on soil C and N dynamics, nutrient availability and biochemical properties. *Agric Ecosyst Environ* 160:3-14. doi:10.1016/j.agee.2011.06.015
- Garg RN, Pathak H, Das DK, Tomar RK (2005) Use of flyash and biogas slurry for improving wheat yield and physical properties of soil. *Environ Monit Assess* 107 (1-3):1-9. doi:10.1007/s10661-005-2021-x
- ISO_10390 (2005) Soil quality - Determination of pH.

- Liedl BE, Bombardiere J, Williams ML, Stowers A, Postalwait C, Chatfield JM (2004) Solid Effluent from Thermophilic Anaerobic Digestion of Poultry Litter as a Potential Fertilizer. Hortscience 39 (4):877-877
- Mahimairaja S, Bolan NS, Hedley MJ, Macgregor AN (1994) LOSSES AND TRANSFORMATION OF NITROGEN DURING COMPOSTING OF POULTRY MANURE WITH DIFFERENT AMENDMENTS - AN INCUBATION EXPERIMENT. Bioresour Technol 47 (3):265-273. doi:10.1016/0960-8524(94)90190-2
- Masse DI, Talbot G, Gilbert Y (2011) On farm biogas production: A method to reduce GHG emissions and develop more sustainable livestock operations. Anim Feed Sci Technol 166-67:436-445. doi:10.1016/j.anifeedsci.2011.04.075
- Roig A, Cayuela ML, Sanchez-Monedero MA (2004) The use of elemental sulphur as organic alternative to control pH during composting of olive mill wastes. Chemosphere 57 (9):1099-1105. doi:10.1016/j.chemosphere.2004.08.024

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Brtnický,
Mendelova univerzita v Brně,
Zemědělská 1, 613 00 Brno;
e-mail: martin.brtnicky@mendelu.cz

UPLATNĚNÍ TECHNOLOGIE AEROPONIE U BRAMBOR, ZELENINY A JAHOD

Application of aeroponic technology in potatoes, vegetables and strawberries

Čížek M., Komárková Z., Krpálková A.

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod

Abstrakt

Aeroponie je alternativní metoda pěstování rostlin bez použití substrátu v prostředí s řízeným růstem. Zelenina a ovoce pěstované ve skleníku založeném na aeroponii je zdravé, nutričně bohaté, čerstvé a chutné (Gopinath a kol., 2017). Produkce minihlíz brambor prostřednictvím aeroponie se praktikuje po celém světě. V Asii, Evropě, Latinské Americe také pro výzkumné účely a komerční produkci sadby (Mateus-Rodriguez a kol., 2013). V tomto příspěvku jsou představeny zkušenosti s využitím technologie aeroponie pro produkci sadbových minihlízek bramboru, zeleniny, bylin a jahod. Mezi lety 2019 a 2020 byl zjištěn statisticky průkazný vliv složení živného roztoku na počet hlíz. Průkazný vliv byl zjištěn i u odrůd Ornella a Zuza pěstovaných ve speciálním roztoku pro aeroponii v roce 2019. V roce 2020 byla zjištěna statistická průkaznost odrůdy Adéla k odrůdě Ornella vyživovaných speciálním roztokem pro aeroponii a statistická průkaznost odrůdy Ornella oproti odrůdám Zuza a Adéla u živného roztoku dle Otazú. U dynamiky růstu kořenů byl zjištěn statisticky průkazný vliv složení živného roztoku v roce 2019 (odrůdy Adéla a Ornella); mezi roky 2019 a 2020 pouze u speciálního roztoku pro aeroponii, u roztoku dle Otazú jen u odrůdy Zuza. U ostatních rostlin byl statisticky průkazný vliv složení živného roztoku zjištěn pouze u máty a hlávkového salátu. **Klíčová slova:** aeroponie, minihlízky, kořeny, stolony, zelenina, byliny, jahody

Abstract:

Aeroponics is an alternative method of growing plants without the use of substrate in a controlled growth environment. Vegetables and fruits grown in an aeroponics-based greenhouse are healthy, nutritionally rich, fresh and tasty (Gopinath a kol., 2017). The production of potato mini tubers through aeroponics is practiced all over the world. In Asia, Europe, Latin America also for research purposes and commercial seedling production (Mateus-Rodriguez a kol., 2013). This paper presents the experience with the use of aeroponics technology for the production of mini-tubers of potatoes, vegetables, herbs and strawberries. Between 2019 and 2020, a statistically significant effect of the composition of the nutrient solution on the number of tubers was found. A significant effect was also found for the Ornella and Zuza varieties grown in a special solution for aeroponics in 2019. In 2020, the statistical significance of the Adéla variety to the Ornella variety fed with a special solution for aeroponics and the statistical significance of the Ornella variety compared to the Zuza and Adéla varieties in the nutrient solution according to Otazú were determined. For the dynamics of root growth, a statistically significant effect of the composition of the nutrient solution in 2019 (Adéla and Ornella varieties) was found; between 2019 and 2020 only for a special solution for aeroponics, for the solution according to Otazú only for the Zuza variety. For other plants, a statistically significant effect of the composition of the nutrient solution was found only for mint and lettuce. **Keywords:** aeroponics, minitubers, roots, stolons, vegetables, herbs, strawberries

Úvod

Aeroponické systémy mají řadu výhod: snižují mzdové náklady, spotřebovávají méně vody o 98 %, hnojiv o 60 %, pesticidů a herbicidů o 100 % a maximalizují výnosy rostlin o 45 % až 75 % oproti hydroponii (NASA, 2006). Další výhodou je možnost vícenásobné sklizně jedné plodiny a zrychleného kultivačního cyklu díky zvýšené rychlosti růstu a zrání (Lakhia a kol., 2018). 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 porostu rostlin a intervaly sklizně a přerušení dodávky živin (Farran a Mingo-Castel, 2006). Délka pěstebního cyklu u brambor je odrůdově specifická, minimálně 4 měsíce. Je přibližně o 1 - 2 měsíce delší, než při pěstování v polních podmínkách (Otažů, V., 2010). Gopinath a kol. (2017) uvádí, že u vybraných druhů listové zeleniny a bylin dochází v aeroponii ke zvýšení výnosů o 19 – 50 % ve srovnání s pěstováním v půdě. Zkušenosti s pěstováním jahod v aeroponických systémech uvádějí např. Kanechi a kol. (2017), El - Behairy a kol. (2003), Ameri a kol. (2012), Anna, F. D. a kol. (2019), Schmitt, O. J. et. al. (2016), Mattner, S. W. (2017) a Sheel a kol. (2019).

Materiál a metody

Vstupním rostlinným materiálem u brambor byly v letech 2019 a 2020 ve Výzkumném ústavu bramborářském tkáňové kultury tří odrůd brambor. Jedná se o odrůdy Adéla (raná, dále R), Ornella (polopozdní, dále PP) a Zuza (poloraná, dále PR). 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 27 ks každé odrůdy (21 - 26 dní po vysazení). V aeroponické jednotce byly sklizeny hlízy o hmotnosti nad 1 g (velikosti 1 – 3 cm) až do doby přestárnutí porostů (104 – 130 dní po sázení). V obou letech byly k bramborám aplikovány speciální roztoky živin určené přímo pro aeroponii (roztok 1), pro porovnání pak byl připraven živný roztok, jehož složení bylo upraveno dle Otažů, V., 2010 (roztok 2). Vliv odrůdy a živných roztoků byl sledován u počtu minihlízek (ks) a u kořenů (délka a dynamika růstu ve stupních bodové stupnice).

U zeleniny (2018-19) a bylin (2019-20) byly rostliny pěstovány v tzv. aeroponických sloupech (rostliny v řadách nad sebou, v květináčích vyplněných keramzitem, ve kterém byly rostliny upevněny). V roce 2019 byly rostliny vypěstovány ze semínek, v roce 2020 byly použity zakořeněné řízků. Na kořeny rostlin byl vstřikovány různé živné roztoky. Do aeroponických sloupů byly rostliny přesazeny po předpěstování v substrátu. Sklizeň proběhla cca po 35 – 40 dnech. Během vegetace byla sledována délka stonku (m) a hmotnost celé rostliny (g).

Pro jahody byly v roce 2020 využity menší horizontální aeroponické jednotky, kde rostliny byly umístěny vedle sebe v pravidelném sponu. Každá rostlina byla upevněna v košíčku vyplněném keramzitem. Na kořeny rostlin byly vstřikovány různé živné roztoky. První sklizeň proběhla po 25 dnech, poslední po 67 dnech. Hodnocen byl počet zralých plodů (ks).

Výsledky a diskuse

Brambory

Počet minihlíz: V roce 2019 (Obr. 1 a) tvořily rostliny vyživované speciálním roztokem pro aeroponii více hlíz na rostlinu (Adéla 5,3 ks/rostlina, Zuza 7,2 ks/rostlina, Ornella 4,2 ks/rostlina) oproti rostlinám vyživovaných roztokem dle Otažů (Adéla 2,4 ks/rostlina, Zuza 3,8 ks/rostlina, Ornella 2,5 ks/rostlina). Tento rozdíl byl statisticky průkazný. Mohlo to být způsobeno opožděným vývojem rostlin vyživovaných roztokem dle Otažů (roztok 2), kdy z důvodu kratší sezóny (108 dní) nedošlo k vývoji a dozrání části hlíz. Odrůda Zuza vyživovaná roztokem 1 vykazovala průkazně vyšší počet hlíz oproti odrůdě Ornella. Odrůdy vyživované roztokem 2 nevykazovaly statisticky významné rozdíly v počtu hlíz mezi sebou.

V roce 2020 (Obr. 1 b) se pohyboval počet hlíz na rostlinu od 14,4 ks u odrůdy Ornella v roztoku 2 po 19,5 u odrůdy Ornella v roztoku 1. U odrůdy Adéla byl počet hlíz na rostlinu v roztoku 2 14,7 ks, ve speciálním roztoku 19,2 ks, odrůda Zuza měla počty hlíz 17,7 ks (roztok 1) a 18,5 ks (roztok 2). Statisticky průkazný vliv živného roztoku na počet hlíz byl prokázán u odrůdy Ornella u obou živných roztoků. V roce 2020 se podařilo prodloužit sezónu o cca 30 dní, proto mohlo dojít i k dozrání většího počtu hlíz, a to i u odrůdy Ornella. Statistická průkaznost byla dále zjištěna u roztoku 1 u odrůdy Adéla k odrůdě Ornella a u roztoku 2 u odrůdy Ornella k odrůdám Zuza a Adéla.

Při porovnání vlivu složení živného roztoku na počet hlíz mezi lety (2019 a 2020, Obr. 1 c) byl prokázán statisticky průkazný vliv obou živných roztoků v roce 2020 oproti roku 2019. V roce 2020 bylo dosaženo výrazného nárůstu počtu hlíz u všech hodnocených odrůd bramboru. Kromě prodloužení sezóny mělo vliv i zvýšení konduktivity živných roztoků na 2,0 mS/cm, v roce 2019 to bylo 1,7 mS/cm.

Délka kořenů: Mezi roky 2019 a 2020 a mezi živnými roztoky v jednom roce nebyl nalezen žádný průkazný statistický rozdíl v délce kořenů. Délka kořenů tedy nemá vliv na počet hlíz. Dynamika růstu kořenů: V roce 2019 (Obr. 2 a) byl nalezen statisticky průkazný vliv složení živného roztoku na dynamiku nárůstu kořenů. Rostliny bramboru vyživované roztokem 1 vykazovaly rychlejší růst kořenů oproti roztoku 2 u odrůd Adéla a Ornella.

V roce 2020 (Obr. 2 b) nebyl statisticky prokázán vliv složení živného roztoku na rychlost růstu kořenů rostlin bramboru v aeroponii. Statistická průkaznost byla zjištěna u roztoku 2 u odrůdy Adéla oproti odrůdám Ornella a Zuza a u živného roztoku 1 u odrůdy Adéla oproti odrůdě Ornella.

Při srovnání dynamiky nárůstu kořenů mezi roky 2019 a 2020 (Obr. 2 c) byl prokázán statisticky významný vliv ročníku 2019 oproti roku 2020 a to u živného roztoku 1 (všechny odrůdy). U živného roztoku 2 byla statistická průkaznost zjištěna pouze u odrůdy Zuza mezi roky. Kořeny rostlin bramboru rostly rychleji v roce 2019, v roce 2020 byl zaznamenán pomalejší (opožděný) růst kořenů z důvodu chladnější sezóny (měsíce červen a červenec), vliv měla i teplota živného roztoku.

Zelenina a byliny

Bazalka (Obr. 3): V obou hodnocených letech (2019, 2020) nebyl nalezen statisticky průkazný vliv živného roztoku na délku stonku bazalky. V roce 2019 tvořila bazalka delší a celkově statnější rostliny. Tento jev byl zřejmě způsoben použitím zakořeněných řízků v roce 2020, kdy byly řízků poměrně krátké a rostliny celkově hůře prospívaly, přestože byla zvýšena konduktivita roztoku na 1,8 mS/cm. Pro aeroponii je tedy nutné použít kvalitní, zdravý a přiměřeně vzrostlý výchozí materiál.

Máta (Obr. 4): Délka stonku máty v roce 2019 se pohybovala v rozmezí 0,3 – 0,4 m, v roce 2020 se pohybovala v rozmezí 0,4 až 0,6 m. U délky stonku byl nalezen statisticky průkazný vliv pouze u roztoku 1 mezi roky 2019 a 2020, u ostatních roztoků tento vliv nebyl zjištěn. V roce 2020 byl stonek máty průkazně delší u roztoku 1 oproti roztokům 2 a 3.

Salát hlávkový (Obr. 5): V letech 2018 a 2019 byl pěstován salát hlávkový v aeroponickém sloupu se stejným živným roztokem, ale s jinou odrůdou. Hodnocena byla hmotnost rostlin salátu, která byla statisticky průkazně vyšší v roce 2018, kdy byla použita odrůda salátu vhodnější pro pěstování ve skleníku. V roce 2019 byly použity i další živné roztoky, ale jejich složení nemělo průkazný vliv na hmotnost rostlin salátu.

Pak choi zelené (Obr. 6): Bylo pěstováno v roce 2019 ve třech aeroponických sloupech s použitím tří živných roztoků. Délka rostlin pak choi byla v rozmezí 0,53 – 0,58 m. V rámci hodnocení jednotlivých roztoků nebyl nalezen statisticky průkazný vliv živného roztoku na délku rostliny pak choi.

Jahody (Obr. 7)

Jahody byly pěstovány v horizontálních aeroponických jednotkách v roce 2020 s použitím různých živných roztoků určených pro pěstování v aeroponii. Vliv složení živného roztoku na počet zralých plodů nebyl statisticky prokázán. Pouze u roztoku č. 2 došlo k mírně vyššímu počtu plodů než u roztoků 1 a 3. Tento výsledek je ale pouze orientační, protože i v následujícím roce se bude pokračovat v dalším pozorování. Sheel a kol. (2019) uvádí, že horizontální systémy pěstování u jahod vykazují vyšší výnosy plodů jahod.

Závěr

Technologie aeroponie je dle Wang a kol. (2017) nejlepší dostupnou technologií pro produkci sadbových hlíz (minihlízek). V technologii aeroponie dochází ke zvýšení výnosů u vybraných druhů listové zeleniny a bylin (Gopinath a kol., 2017). V letech 2019 a 2020 byl prokázán statisticky průkazný vliv složení živného roztoku na počet hlíz a dynamiku růstu kořenů rostlin bramboru v aeroponii. Důležité bylo sledovat konduktivitu a teplotu živného roztoku a prodloužení pěstitelské sezóny v roce 2020 o 25 dní. To vedlo k dozrání hlíz i u pozdní odrůdy brambor Ornella. U ostatních plodin se neprokázal vliv složení živného roztoku na délku stonku, hmotnost rostlin (salát) a počet plodů (jahody) s výjimkou máty, kdy u živného roztoku 1 byla nalezena statistická průkaznost mezi roky 2019 a 2020.

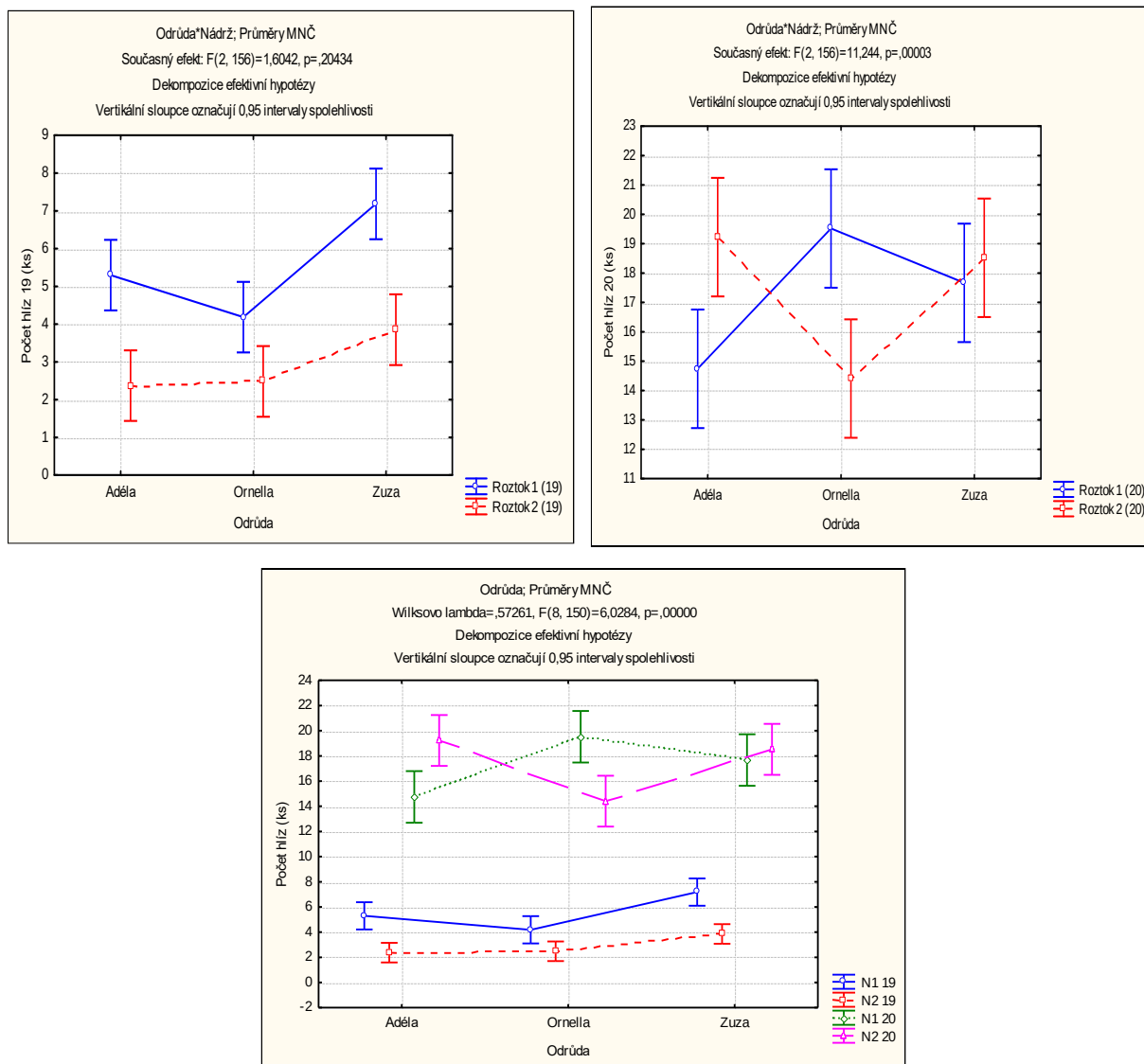
Poděkování

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

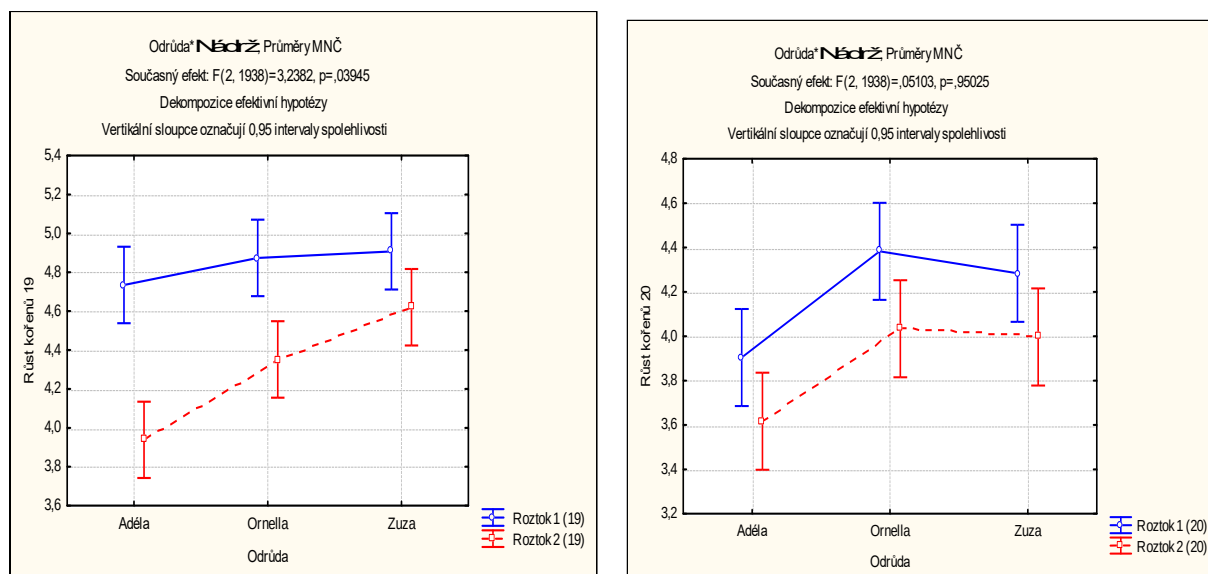
Literatura

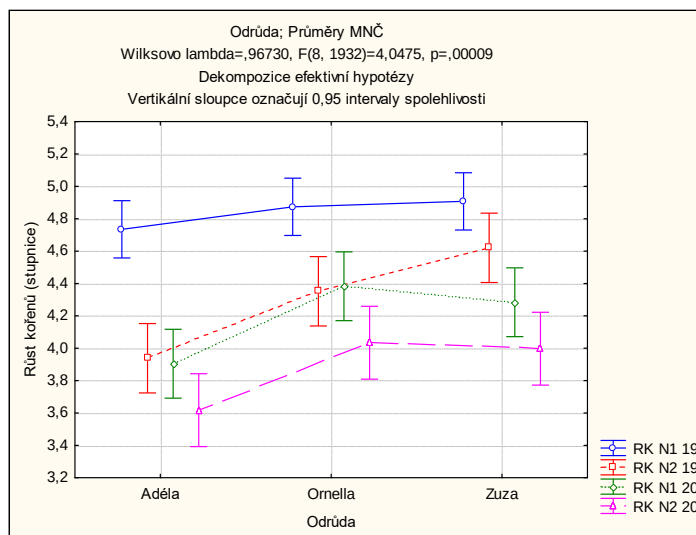
- Farran, I., and A. M. Mingo-Castel. 2006. Potato Minituber production using Aeroponics: Effect of plant density and harvesting intervals. *American Journal of Potato Research* 83: 47–53.
- Gopinath, P., Vethamoni, P. I., Gomathi, M. 2017. Aeroponics Soilless Cultivation System for Vegetable Crops. *Chem Sci Rev Lett*, 2017, 6 (22), 838-849.
- Mateus-Rodriguez, J., de Haan, S., Andrade-Piedra, J., Maldonado, L., Hareau, G., Barker, I., Chuquillanqui, C., Otazú, V., Frisancho, R., Bastos, C.: Technical and economic analysis of aeroponics and other system for potato mini-tuber production in latin America. *Am. J. Potato Res.* 2013, 90, 357–368.
- NASA Spinoff. 2006. Progressive plant growing has business blooming. In: *Environmental and Agricultural Resources*. New York: NASA Spinoff; p. 64–77.
- Imran Ali Lakhari, Jianmin Gao, Tabinda Naz Syed, Farman Ali Chandio, Noman Ali Buttar. 2018. Modern plant cultivation technologies in agriculture under controlled environment: a review on aeroponics. *Journal of Plant Interactions*, VOL. 13, NO. 1, 338–352.
- Otaú, V., 2010: Manual on quality seed potato production using aeroponics. International Potato Center (CIP), Lima, Peru. 44 p.
- Sheel M; Mamun S.M.A. and Islam M.M. (2019). Evaluation of soilless strawberry (*fragaria ananassa* duch.) cultivation using alternative growing devices. *Khulna University Studies* Volume 16(1 & 2): 33-40.
- 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. 1 a, b, c: Počet minihlíz bramboru v technologii aeroponie (2019, 2020, 2019 a 2020, ks)

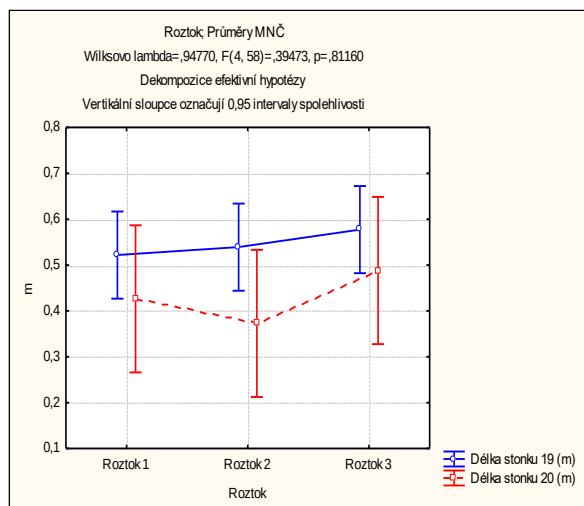


Obr. 2 a, b, c: Dynamika růstu kořenů brambor v aeroponii (2019, 2020, 2019 a 2020)

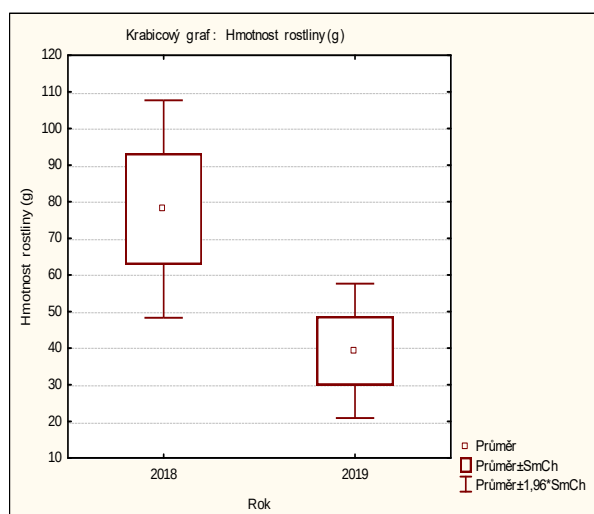




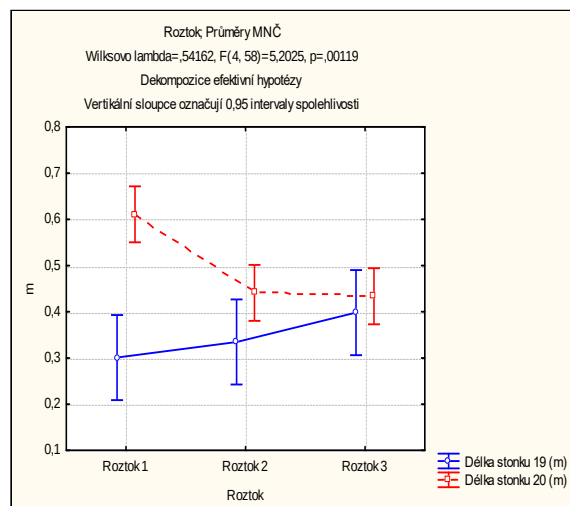
Obr. 3: Vliv živného roztoku v technologii aeroponie na délku stonku bazalky (m)



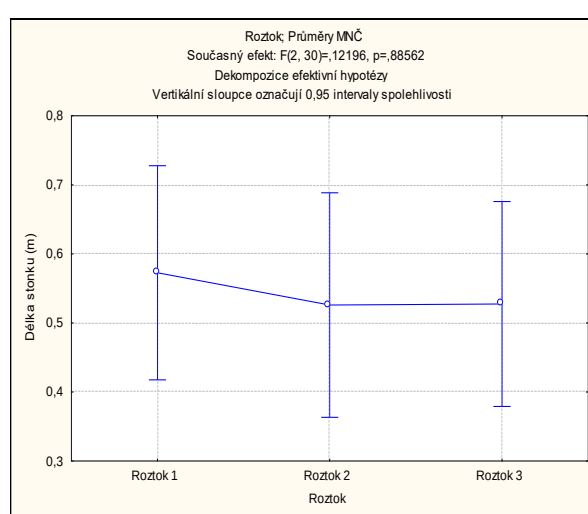
Obr. 5: Vliv živného roztoku v technologii aeroponie na hmotnost rostliny (salát, g)



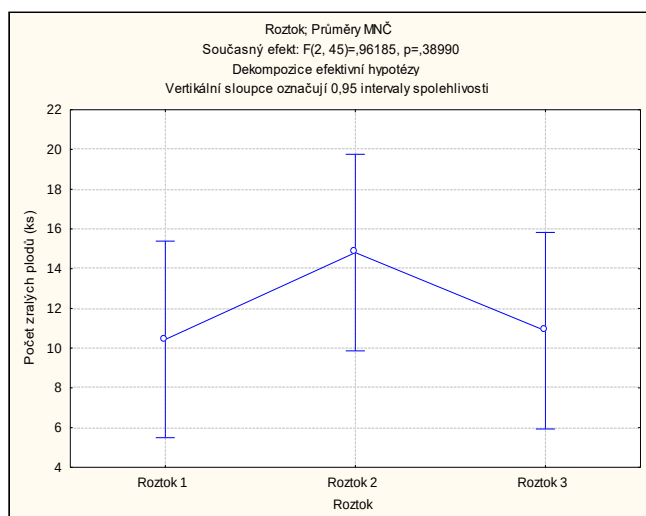
Obr. 4: Vliv živného roztoku aeroponie na délku stonku máty (m)



Obr. 6: Vliv živného roztoku v technologii aeroponie na délku stonku pak choi (m)



Obr. 7: Vliv živného roztoku v technologii aeroponie na počet plodů jahod (ks)



Stupnice pro hodnocení rostlin v aeroponii (délka kořenů, 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 VLIVU PŮDOZPRACUJÍCÍCH TECHNOLOGIÍ VE VINICÍCH NA PŮDNÍ SMYV

Evaluation of the influence of soil-processing technologies in vineyards on soil washdown

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

Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta Lednice

Abstrakt

Experimentální měření realizovaná v průběhu roku 2019 a 2020, ve vinici v k. ú. Lednice na Moravě, byla zaměřena na hodnocení účinku vybraných způsobů kultivace půdy na velikost půdního smyvu. Svažitost pozemku činila 15 %. Povrch meziřadí na experimentální ploše byl před zahájením měření zpracován pomocí radličkového kypřiče do hloubky 50 mm a pomocí talířového podmítače do hloubky 120 mm. Na kontrolním úseku meziřadí vinice zůstal půdní povrch bez zpracování. Pro simulace dešťových srážek byl použit dešťový simulátor srážek typu VÚZT, simulace byly provedeny pomocí trysky FullJet se širokým čtvercovým rozptylem, zvolená intenzita zadešťování odpovídala hodnotě $60 \text{ mm} \cdot \text{h}^{-1}$. Získané výsledky naznačují, že nejvyšší kumulativní hodnoty sušiny půdního smyvu byly naměřeny u kontrolní varianty A ($95,92 \text{ ml} \cdot \text{m}^{-2}$), naopak nejnižší u varianty C ($10,63 \text{ ml} \cdot \text{m}^{-2}$). Získané výsledky tak potvrdily vliv různých metod povrchové úpravy půdy na povrchový odtok a smyv půdních částic ve vinicích.

Klíčová slova: vinice, vinohrady, kultivace půdy, smyv půdy, simulátor deště, vodní eroze

Abstract

The experimental measurements carried out during the 2019 and 2020 in a vineyard in the cadastral region Lednice na Moravě, were focused on evaluating the effect of selected methods of soil cultivation on the size of soil washdown. The slope of the land was 15 %. Prior to the start of the measurement, the surface of the inter-row on the experimental surface was treated with a ploughshare cultivator to a depth of 50 mm and with a disc stubble cultivator to a depth of 120 mm. In the control section of the vineyard inter-row, the soil surface remained without treatment. A rainfall simulator type VÚZT was used for rainfall simulations, the simulations were performed using a FullJet nozzle with a wide square scatter, the selected raining intensity corresponded to 60 mm/h . The obtained results indicate that the highest cumulative values of soil washdown were measured in control variant A (95.92 ml/m^2), while the lowest in variant C (10.63 ml/m^2). The obtained results thus confirmed the influence of different methods of surface treatment of soil on surface runoff and soil washdown of soil particles in vineyard.

Keywords: vineyard, soil tillage, soil washdown, rainfall simulation, water erosion

Úvod

Mezi trvalými kulturami, představují vinice díky intenzivním pěstitelským postupům, svažitosti pozemků a často nižší úrodnosti půdy, zemědělské kultury s vyšším rizikem degradace vodní erozí (Novara, 2019). Obdobně také Biddoccu a kol., (2013) uvádí, že jeden z nejvýznamnějších proměnných při pozorování erozních procesů v podmínkách evropského vinohradnictví jsou množství dešťových srážek, svažitost terénu vinohradů, způsob zpracování půdy a její fyzikální vlastnosti. Gabarrón-Galeote a kol. (2013) uvádí, míra vodní eroze závisí především na fyzikálních, chemických a mineralogických půdních vlastnostech. Rovněž utužování podorníčí vedoucí ke snižování propustnosti vody půdou vede ke zvýšení odtoku

srážkových vod po povrchu a tím ke zvýšení eroze půdy (Gabarrón-Galeote a kol., 2013). Assouline a Ben-Hur (2006) označují vodní erozi jako oddělení nejúrodnější vrstvy půdního povrchu, působením dešťových kapek, a jeho následný transport odtokem po povrchu, což vede ke snížení půdní úrodnosti jako celku. Z těchto důvodů je naprosto nezbytná kontrola půdní eroze, úrovně rizika a hodnocení zranitelnosti pozemků pomocí experimentů s využitím srážkových simulátorů a následná standardizace pěstitelských postupů v oblasti ochrany půd (Ries a kol., 2013).

Danou problematikou minimalizace nejen vodní eroze se zabývala již řada autorů (Ramos a Martínez-Casasnovas, 2006; Hůla a kol., 2017). Dle získaných experimentálních výsledků lze říci, že vhodně zvoleným způsobem zpracování půdy, spolu se správným výběrem kultivačních nástrojů, lze dosáhnout pozitivních účinků na snížení eroze (Rawls, 2002). Působením kultivačních nástrojů při agrotechnickém zásahu do půdy, totiž dochází v různé míře k řezání, drobení a stlačování půdy a následkem kypření k obracení a přemísťování částic. Především na svažitých pozemcích může nesprávný výběr kultivačních nástrojů vyvolat plošnou erozi na horní části svahu a ve středních a nižších částech přecházet ve velice závažnou rýhovou nebo výmlovou erozi. V takovém případě dochází ke snížení půdní úrodnosti při každém větším dešti vlivem smyvu úrodných půdních částic (Hůla a kol., 2017).

Cílem práce je ověření různých způsobů zpracování půdy v meziřadí vinic na smyv půdních částic při simulovaném zadešťování.

Materiál a metody

Charakteristika pokusného stanoviště

Experimentální měření byla prováděna v roce 2019 a 2020 v katastrálním území Lednice na Moravě, která se nachází v Mikulovské vinařské podoblasti. Půdním typem v experimentální vinici je černozem na spraších, půda je klasifikována jako hlinitopísčité. Svažitost pozemku činí 15 %. Meziřadí vinice je zatravněno ob jeden řádek. Vinice je vysázena ve sponu 2,5 x 0,9 m s východní orientací řádků.

Pokusné varianty

Horní vrstva půdního profilu v meziřadí vinic byla zpracována dle variant. Kontrolní varianta (var. A) byla ponechána bez kultivace. Varianta B byla zpracována pomocí radličkového kypřiče Braun Vario 1,6 do hloubky 50 mm půdního profilu. Třetí varianta (var. C) byla kultivována do hloubky 120 mm talířovým podmiťáčem typ Agrisem 1600.

Konstrukce dešťového simulátoru a parametry zadešťování

Při experimentu by použit dešťový simulátor typ VÚZT (Výzkumný ústav zemědělské techniky, v. v. i.) vybaven dávkovací tryskou FullJet typ HH 17WSQ, pracující s tlakem 1,0 bar. Tento typ trysky vytváří kapky o velikosti ($VDM = 2 \text{ mm}$), odpovídající přirozeným dešťovým kapkám při běžných srážkách. Intenzita deště byla s ohledem na půdní podmínky stanoviště stanovena na odpovídající úhrn srážek 60 mm.h^{-1} . Tryska byla umístěna ve výšce 1,0 m nad povrchem každého pokusného meziřadí, kolmo k povrchu. Každá varianta byla zadešťována ve dvou opakováních.

Hodnocení fyzikálních vlastností půdy

Na stanovišti byl proveden odběr neporušených půdních vzorků pomocí Kopeckého fyzikálních válečků, z hloubky 0,1; 0,2 a 0,3 m. Vzorky byly v každé hloubce odebrány ve třech opakováních. Analýzy půdních vzorků byly stanoveny dle Pospíšilové a kol. (2016). Z hloubky

0,0–0,15 m a 0,15–0,30 m byly odebrány vzorky pro stanovení půdní struktury. U vzorků byl stanoven koeficient strukturnosti půdy, dle metodiky, kterou uvádí Badalíková a Kňákal (2001)

Měření povrchového odtoku a infiltrace

Od počátku každého měření byl přesně zaznamenán čas, ve kterém započal povrchový odtok, dále byl využit konstantní časový krok v délce 3 minut. Objem povrchového odtoku (suspense) byl evidován a shromažďován v 3 minutových intervalech do odběrných nádob. Celková doba trvání simulací činila 30 minut do ustálení povrchového odtoku. Výsledný objem povrchového odtoku byl po odečtení objemu sušiny smyvu stanoven jednotlivých intervalech společně s kumulativním objemem povrchového odtoku. Pevné částice byly získány druhý den po slití, vysušení a následném zvážení. Voda infiltrovaná do půdy byla stanovena z rozdílu simulované dešťové srážky (konstantně nastavená intenzita po celou dobu měření) a z časového průběhu naměřeného objemu povrchového odtoku vody z měřicí plochy.

Měření půdního smyvu

Hodnota půdního smyvu je získána sedimentací a následným vysoušením půd odebraných vzorků z povrchového odtoku v pevně stanovených časových intervalech. Vysušené vzorky jsou zváženy a získané hodnoty v gramech jsou následně pomocí měrné hmotnosti půdy převedeny na objem smyté půdy a kumulativní objem smyté půdy.

Metody statistického vyhodnocení

Pro statistické vyhodnocení naměřených hodnot byl využit software 'Statistica 12.0' (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA). Z metod byla využita analýza variance (ANOVA) s následným testováním pomocí Tukeyova testu na hladině významnosti $\alpha=0.05$.

Výsledky a diskuze

Odběr neporušených půdních vzorků byl realizován bezprostředně před zahájením experimentálních měření pro vyhodnocení základních fyzikálních vlastností půdy na stanovišti. Přehled výsledných průměrných hodnot základních fyzikálních vlastností půdy uvádí Tab. 1.

Tab. 1: Přehled fyzikálních vlastností půdy

Hloubka (m)	Objemová hmotnost redukováná (g·cm ⁻³)	Pórovitost (%)	Momentální obsah		Maximální kapilární kapacita	Minimální vzdušná kapacita
			vody	vzduchu		
			(% obj.)			
2019						
0.0–0.1	1.35 ± 0.01	46.07 ± 0.12	23.04 ± 0.57	23.04 ± 2.14	32.41 ± 1.22	13.71 ± 2.47
0.1–0.2	1.37 ± 0.07	51.19 ± 0.08	26.99 ± 1.10	28.21 ± 2.76	35.16 ± 1.01	15.66 ± 2.33
0.2–0.3	1.39 ± 0.04	53.06 ± 0.10	31.12 ± 0.99	42.62 ± 0.22	35.89 ± 0.77	27.81 ± 2.06
2020						
0.0–0.1	1.34 ± 0.02	46.29 ± 0.06	23.64 ± 3.62	18.84 ± 6.66	31.57 ± 3.24	12.49 ± 1.41
0.1–0.2	1.36 ± 0.01	48.69 ± 0.04	26.81 ± 2.14	24.09 ± 6.41	33.12 ± 1.31	15.46 ± 1.73
0.2–0.3	1.38 ± 0.01	57.62 ± 0.12	27.57 ± 1.37	36.52 ± 3.02	33.97 ± 2.44	19.48 ± 2.89

Výsledné hodnoty objemové hmotnosti redukováne byly ve všech odebraných hloubkách příznivé a nepřesáhly mezní hodnotu 1,45 g·cm⁻³, kterou uvádí Lhotský (2000). Také hodnoty pórovitosti odpovídají limitním hodnotám. Např. Kutílek (1978) uvádí, že dobrý stav má pórovitost v rozmezí 46–54 %, Sáníka a Materna (2004) uvádí pro ornici hodnotu 47,08 %. Za příznivé lze považovat také hodnoty maximální kapilární kapacity (kritická hodnota nad 36%) a hodnoty minimální vzdušné kapacity, které nebyly pod mezní hodnotou 10 % obj. (Lhotský, 2000).

Půdní struktura hodnocená metodou suché agregace, je vyjádřena koeficientem strukturnosti. Čím je koeficient nižší, tím je půdní struktura horší a naopak se zvyšujícím se koeficientem se zlepšuje strukturotvornost půdy. Jako mezní hranice koeficientu strukturnosti se udává hodnota 1 (Badalíková a Kňákal, 2001). Výsledky uvedené v tabulce 2 naznačují příznivé hodnoty koeficientu strukturnosti ve všech sledovaných hloubkách, za hodnocené období.

Tab. 2: Zastoupení strukturních elementů

Hloubka (m)	Strukturní elementy (% hm.)							Koeficient strukturnosti
	< 0.25	0.25–0.5	0.5–1.0	1.0–5.0	5.0–10.0	10.0–20.0	>20.0	
2019								
0.0–0.15	29.63	28.14	19.39	15.01	4.38	3.45	0.00	2.02
0.15–0.30	28.33	30.10	20.79	16.55	2.00	2.23	0.00	2.27
Průměr	28.98	29.12	20.09	15.78	3.19	2.84	0.00	2.15
2020								
0.0–0.15	27.97	30.79	21.39	16.68	2.62	0.55	0.00	2.51
0.15–0.30	27.68	31.06	22.34	15.53	2.13	1.26	0.00	2.46
Průměr	27.83	30.93	21.87	16.11	2.38	0.91	0.00	2.48

Vodní eroze je velmi složitý jev, na jehož vzniku a průběhu se podílí celá řada faktorů. Po stránce kvalitativní je ji možno charakterizovat úbytkem půdní hmoty, tzv. půdním smyvem na plošné jednotce povrchu půdy za určitý časový úsek (Toman, a kol. 1994). Výsledné průměrné kumulativní hodnoty povrchového odtoku a hodnoty kumulativního půdního smyvu, vyjádřené v objemových jednotkách, jsou pro jednotlivé pokusné varianty uvedeny v tabulce č. 3. Získané výsledky naznačují výrazně vyšší hodnoty u povrchového odtoku i půdního smyvu u kontrolní varianty A (42301,02 a 51484,08 ml/m²; 71,29 a 95,92 ml/m²), nejnižší hodnoty půdního smyvu byly naměřeny u var. C (1116,87 a 22959,67 ml/m²; 10,63 a 25,31 ml/m²). Např. Govers a kol. (1999) uvádí, že přemísťování půdních částic pracovními operacemi a stroji využívanými při zpracování půdy patří k nedostatečně prozkoumané oblasti výzkumu půdní eroze. Současně uvádí, že změna půdní struktury po zpracování půdy dále přináší změnu hydraulické vodivosti a propustnosti pro vodu, teplo a vzduch. Zde je patrný vliv pórovitosti. Intenzita zpracování půdy proto odráží orientaci půdní struktury, respektive pórů. Lobb a kol. (1995) uvádí, že neexistuje dostatečný popis vlivu jednotlivých skupin strojů a jejich náradí na půdu s ohledem na translokaci půdních částic, které mohou být přemístěny jak ve směru pohybu stroje, tak v příčném směru s následnou erozivní zranitelností.

Tab. 3: Výsledky povrchového odtoku a sušiny smyvu

Experimentální varianta	Průměrná kumulativní hodnota	
	povrchového odtoku (ml·m ⁻²)	sušiny smyvu (ml·m ⁻²)
Rok	2019	
Var. A (kontrola)	42301.02 ± 185.23 ^b	71.29 ± 0.57 ^c
Var. B (radličkový kypřič)	23421.24 ± 120.11 ^{ab}	47.19 ± 0.35 ^b
Var. C (talířový podmláček)	22959.67 ± 101.44 ^a	25.31 ± 0.04 ^a
Rok	2020	
Var. A (kontrola)	51484.08 ± 369.63 ^c	95.92 ± 0.37 ^c
Var. B (radličkový kypřič)	17134.18 ± 189.62 ^b	35.82 ± 0.38 ^b
Var. C (talířový podmláček)	1116.87 ± 12.57 ^a	10.63 ± 0.07 ^a

Legenda: Data vyjadřují průměr $\pm$ směrodatnou odchylku, rozdílná písmena ve stejných sloupcích vyjadřují průkazný rozdíl ($P < 0.05$).

Z hodnot uvedených v Tab. 3 je zřejmý statisticky průkazný rozdíl v hodnotách kumulativního objemu povrchového odtoku i půdního smyvu mezi všemi hodnocenými variantami. V případě povrchového odtoku dochází u var. C k jeho snížení na 2,2 % (54,3% v roce 2019) a u var. B na 33,3 % (55,4% v roce 2019) v porovnání s kontrolní variantou A. U půdního smyvu dochází u var. C k jeho snížení na 11,1 % (35,5% v roce 2019) a u var. B na 37,3 % (66,2% v roce 2019) v porovnání s kontrolní variantou A.

Závěr

Realizované experimenty byly zaměřeny na simultánní měření objemu povrchového odtoku i půdního smyvu ve vinicích při uplatnění rozdílných způsobů zpracování půdy. Výsledné hodnoty a provedená statistická analýza naměřených dat potvrzují pozitivní účinek různých variant zpracování půdy v mezířadí vinic pomocí rozdílných typů mechanizačních prostředků, jejichž pracovní orgány mají schopnost kypřit půdu rozdílnou intenzitou a v rozdílných hloubkách. Celkově získané výsledky naznačují, že vhodně zvolený způsob zpracování půdy v mezířadí vinic může být účinným opatřením vedoucím k omezení odtoku vody a smyvu půdy. V reálných podmínkách vinohradnické praxe bude nutné přistupovat k hodnocení a výběru vhodné půdozpracující technologie s ohledem na půdní druh, půdní typ, svažitost pozemku při současném zohlednění intenzity dešťových srážek.

Použitá literatura

- Assouline, S., Ben-Hur, M. 2006. Effects of rainfall intensity and slope gradient on the dynamics of interrill erosion during soil surface sealing. *Catena*, 66(3): 211–220.
- Badalíková, B., Kňákal, Z. 2001. Vliv zpracování půdy na půdní strukturu. *Úroda* [Online]. Dostupné z: <http://uroda.cz/vliv-zpracovani-pudy-na-pudni-strukturu>.
- Biddoccu, M., Ferrari, S., Cavallo, E., Opsi, F., Prevati, M., Canone, D. 2013. Hillslope vineyard rainfall-runoff measurements in relation to soil infiltration and water content. *Procedia Environmental Sciences*, 19: 351–360.
- Gabarrón-Galeote, M.A., Murillo-Martinez, J.F., Quesada, M.A., Sinoga-Ruiz, J.D. 2013. Seasonal changes in the soil hydrological and erosive response depending on aspect, vegetation type and soil water repellency in different Mediterranean microenvironments. *Solid Earth*, 4(2): 497–509.
- Govers, G., Lobb, D.A., Quine, T.A. 1999. Tillage erosion and translocation: emergence of a new paradigm in soil erosion research. *Soil and Tillage Research*, 51(3–4): 167–174.
- Hůla, J., Mašek, J., Novák, P. 2017. Zpracování půdy po plodinách sklizených v letním období. *Mechanizace zemědělství*, 67(8): 36–38.
- Kutílek, M. 1978. Vodohospodářská pedologie. 2. přeprac. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1978. 295 str.
- Lhotský, J. 2000. Zhutňování půd a opatření proti němu. ÚZPI, Praha, 63 str.
- Lobb, D.A., Kachanoski, R.G., Miller, M.H. 1995. Tillage translocation and tillage erosion on shoulder slope landscape positions measured using 137 Cs as a tracer. *Canadian Journal of Soil Science*, 75: 211–218.
- Novara, A., Stallone, G., Cerda, A., Gristina, L. 2019. The Effect of Shallow Tillage on Soil Erosion in a Semi-Arid Vineyard. *Agronomy*, 9(5): 257.
- Pospíšilová, L., Vlček, V., Hybler, V., Hábová, M., Jandák, J. 2016. Standardní analytické metody a kritéria hodnocení fyzikálních, agrochemických, biologických a hygienických parametrů půd: původní vědecká práce. 1. vyd., Brno: Mendelova univerzita v Brně: Folia Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis.

- Ramos, M.C., Martínez-Casasnovas, J.A. 2006. Impact of land levelling on soil moisture and runoff variability in vineyards under different rainfall distributions in a Mediterranean climate and its influence on crop productivity. *Journal of Hydrology*, 321(1–4): 131–146.
- Ries, J.B., Iserloh, Z., Seeger, M., Gabriels, D. 2013. Rainfall simulations - constraints, needs and challenges for a future use in soil erosion research. *Zeitschrift für Geomorphologie, Supplementary Issues*, 57: 1–10.
- Sáňka, M., Materna, J. 2004. Indikátory kvality zemědělských a lesních půd ČR. Praha: Edice Planeta. 46 s.
- Toman, F., Sanetník, J., Filip, J. 1994. Potenciální eroze půdy v povodí Fryšávky. In *Strategie trvale udržitelného žití. Skalský dvůr u Bystrice nad Pernštejnem: Nadace prameny Vysočiny*, s. 24–26.

Dedikace

Příspěvek vychází z řešení projektu IGA-ZF/2020–DP001” Hodnocení vlivu půdopracujících operací na ohroženost vinohradnických pozemků vodní erozí” a projektu OP VVV reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002334 Výzkumná infrastruktura pro mladé vědce.

Kontaktní adresa:

Ing. Alice Čížková
Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta, Ústav zahradnické techniky
Valtická 337
691 44 Lednice, Česká republika
tel.: + 420 519 367 265
e-mail: alice.cizkova@mendelu.cz

DLOUHODOBÝ STACIONÁRNÍ POLNÍ POKUS V ŽABČICÍCH 50. VÝROČÍ TRVÁNÍ POKUSU

Long-term field experiment in Žabčice - 50th anniversary of experiment establishment

Dryšlová T., Smutný V.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Pokus (dlouhodobý stacionární polní pokus) na lokalitě Žabčice byl založen na podzim r. 1969 a v roce 1970 proběhla první sklizeň, v roce 2020 si tedy připomínáme její 50. výročí. Cílem založení pokusu byl „Výzkum agroekologických činitelů ječmene jarního“, výzkum řešící optimalizaci vegetačních činitelů a produktivnost osevních postupů jako celku a vztahy produkce a změn půdního prostředí. Hlavní experimentální faktory se opírají o opatření základní agrotechniky, zejména různou koncentrací obilnin a technologie zpracování půdy, ale také např. o management hospodaření se slámou. Cílem příspěvku je představit výnosovou úroveň pěstovaných obilnin v rámci pokusu a vliv vybraných faktorů na výnos zrna. Průměrná výnosová úroveň ozimé pšenice v pokusných letech 2018-2020 byla 7,55 (t/ha), u zrnové kukuřice 8,90 (t/ha) a 6,35 (t/ha) u jarního ječmene. V daných pokusných letech se na výši výnosu zrna všech plodin nejvíce projevil vliv ročníku.

Klíčová slova: dlouhodobý stacionární polní pokus; kukuřičná výrobní oblast; obilniny; výnos zrna

Abstract

The experiment (long-term field experiment) at the Žabčice locality was established in the autumn of 1969, and the first harvest was conducted in 1970, so in 2020 we remember its 50th anniversary. The aim of the experiment was "Research of agroecological factors of spring barley", research addressing the optimization of vegetation factors and productivity of sowing procedures as a whole and the relationships between production and changes in the soil environment. The main experimental factors are based on the measures of basic agricultural technology, especially the different concentration of cereals and tillage technology, but also, for example, on the management of straw management. The aim of the paper is to present the yield level of cultivated cereals in the experiment and the influence of selected factors on grain yield. The average yield level of winter wheat in the experimental years 2018-2020 was 7.55 (t/ha), for grain maize 8.90 (t/ha) and 6.35 (t/ha) for spring barley. In the evaluated experimental years, the influence of the year had the greatest effect on the amount of grain yield of all crops.

Keywords: long-term field experiment; maize-grow region; cereals; grain yield

Úvod

Pokus na lokalitě Žabčice byl založen na podzim r. 1969 a v roce 1970 proběhla první sklizeň, v roce 2020 si tedy připomínáme její 50. výročí. Cílem založení pokusu byl „Výzkum agroekologických činitelů ječmene jarního“, výzkum řešící optimalizaci vegetačních činitelů a produktivnost osevních postupů jako celku a vztahy produkce a změn půdního prostředí. Hlavní experimentální faktory se opírají o opatření základní agrotechniky, zejména různou koncentrací obilnin a technologie zpracování půdy, ale také např. o management hospodaření se slámou. Myšlenku na založení stacionárního polního pokusu přinesl profesor Šimon (prof. Ing. Jaroslav Šimon, DrSc.), působící v té době na VŠZ v Brně. Člověk, který byl jednou z předních

osobností v oboru rostlinné produkce v celé Československé republice. V druhé polovině šedesátých let se rozhodl tuto myšlenku realizovat a spolu s ním se na realizaci podílela řada specialistů z různých úseků rostlinné produkce. Historie vzniku a původní koncepce jsou plně uvedeny v publikaci profesora Krejčíře (Krejčíř, 1996). V původní koncepci jako hlavní sledovaná plodina byl stanoven jarní ječmen, vzhledem k *tradici hanáckého ječmenářství*. Dále bylo navrženo několik osevních postupů s tzv. různou koncentrací obilnin (50; 62,5 a 100 %), u jarního ječmene pak koncentrace od 25-ti do 100 % (25; 37,5; 50; 62,5 %) vždy v rámci jednoho osevního postupu. Zaměření na ječmen bylo logické, a jak již bylo řečeno, jarní ječmen zaujímal v hodnocení pokusu vždy stěžejní postavení. Jedná se o tradiční plodinu pěstovanou v České republice a zvláště v minulém století bylo významné české šlechtění sladovnických odrůd využívaných na výrobu piva (Valtický, dále Diamant), které daly základ dalším desítkám odrůd nejen u nás, ale i v dalších zemích na celém světě.

V současné podobě stacionárního polního pokusu jsou vedeny tři monokultury polních plodin a jeden osevní postup, založený na principech norfolkského osevního postupu. Unikátem tohoto pokusu je monokultura jarního ječmene (*Hordeum volugare* L.) založená na jaře roku 1970. Polní pokus byl v následujících letech úspěšně realizován a stal se experimentálním zázemím dvou hlavních kateder tehdejší VŠZ v Brně, katedry rostlinné výroby a katedry základní agrotechniky. A právě katedra základní agrotechniky, dnes Ústav agrosystémů a bioklimatologie zajišťuje současný chod pokusu.

Dlouhodobý stacionární polní pokus je významnou součástí Polní pokusné stanice v Žabčicích (49°01'20"N, 16°37'55"E), která se nachází v kukuřičné výrobní oblasti, na zrnitostně těžších půdách fluvizemního typu, přibližně 25 km od města Brna, v nadmořské výšce 179 m. Polní pokusná stanice v Žabčicích je výzkumným zařízením Mendelovy univerzity v Brně. Průměrná roční teplota vzduchu zde dosahuje 9,2 °C a třicetiletý průměr ročních úhrnů srážek zde činí 480 mm. Z tohoto hlediska patří tato lokalita k nejteplejším a zároveň nejsušším oblastem v České republice.

Jak již bylo řečeno unikátem stacionárního pokusu je monokultura jarního ječmene, od roku 1970 vedená téměř v původní koncepci. Přibližně *před dvaceti roky pak byly navrženy menší změny v uspořádání pokusu* a byly založeny další monokultury, a to s pěstováním ozimé pšenice a zrnové kukuřice; záměr byl zdůraznit nezastupitelný význam osevních postupů i současném zemědělství. Ke změnám v zařazení plodin došlo i u osevního postupu, a to zejména ve vztahu k produkčním podmínkám kukuřičné výrobní oblasti. Kromě monokultur, které jsou a vždy byly považovány za krajní možnost v principech střídání polních plodin, je dalším pilířem čtyřhonný osevní postup vedený na principech osevního postupu norfolkského typu – v něm vedle typických obilnin jarního ječmene a ozimé pšenice byly v rámci změn zařazeny plodiny odpovídající kukuřičné výrobní oblasti. A tak oproti původní koncepci, namísto cukrové řepy byla zařazena zrnová kukuřice a vojtěška místo jetele či jetelotrávy.

Stěžejními výstupy nejsou pouze hodnocení výnosu a kvality produkce, ale rovněž hodnocení vybraných parametrů půdního prostředí, problematika zaplevelení porostů a potenciálního zaplevelení, a samozřejmě v návaznosti na nově řešené výzkumné úkoly jsou sledovány aktuálně parametry, které aktuálně doplňují historický význam dlouhodobého polního pokusu vedeného na lokalitě Žabčic.

Materiál a Metody

U všech plodin je po celou dobu vedení pokusu sledován *vliv zpracování půdy* a osevního postupu (I. tradiční zpracování půdy, tj. orba do hloubky 0,22 m a II. minimalizační zpracování půdy, tj. mělké zpracování půdy talířovým nářadím do hloubky 0,12 - 0,15 m). U plodiny jarního ječmene je navíc sledován *vliv tří úrovní minerálního hnojení*, diferencovaných zejména dávkami dusíku

(1. 30 kg; 2. 60 kg; 3. 90 kg N na hektar). U monokultury jarního ječmene jsou vedeny *tři varianty hospodaření se slámou*: 1. sláma sklizená, 2. sláma zapravovaná do půdy, 3. sláma pálená.

Výsledky a diskuze

V předkládaném příspěvku jsou uvedeny výsledky hodnocení vlivu zpracování půdy (jsou uvedeny tříleté výnosové výsledky, r. 2018, 2019 a 2020) na výnos zrna u všech pěstovaných obilnin (rozsáhlejší analýza historických dat je současně připravována k publikování; pokus byl součástí mnoha řešených výzkumných úkolů). U ječmene jarního pro srovnání výnosů zrna z monokultury a z osevního postupu byla vyhodnocena pouze varianta s dávkou dusíku 60 kg na hektar u slámy sklizené (varianty u ječmene z osevního postupu nejsou plně odpovídající variantě u monokultury). Dosažené výsledky byly statisticky zhodnoceny pomocí analýzy variance s následným testováním dle Tukeye na hladině pravděpodobnosti 95 % a jsou uvedeny v přehledné tabulce (Tab. 1).

Tabulka 1 Průměrné výnosy zrna ozimé pšenice, kukuřice a jarního ječmene (t/ha) – Žabčice 2018-2020

Rok		Osevní postup		Zpracování půdy	
Ozimá pšenice					
2018	7,04 ^b	Norfolk Monokultura	7,60 ^a	Orba Mělké kypření	7,53 ^a
2019	6,46 ^a		7,51 ^a		7,58 ^a
2020	9,15 ^c				
Kukuřice					
2018	6,60 ^a	Norfolk Monokultura	9,85 ^b	Orba Mělké kypření	8,60 ^a
2019	7,74 ^b		7,95 ^a		9,20 ^b
2020	12,36 ^c				
Jarní ječmen					
2018	4,66 ^a	Norfolk Monokultura	6,43 ^a	Orba Mělké kypření	6,26 ^a
2019	6,68 ^b		6,29 ^a		6,45 ^b
2020	7,72 ^c				

Pozn. Odlišná písmena (a, b, c) označují signifikantní rozdíly

Je známou skutečností a praxí ověřenou pravdou, že při pěstování polních plodin, zvláště při dnešní struktuře plodin, hrají nezastupitelnou roli osevní postupy. Z našich výsledků však vyplývá, že u všech tří plodin v daných hodnocených letech statisticky významný vliv mělo zpracování půdy, osevní postupy svým vlivem zauímají druhé místo (z dřívějších hodnocení ale víme, že oba dva faktory se často projevují střídavě ve vazbě na průběh počasí). A jednoznačným závěrem pak zůstává fakt, že v daných podmínkách kukuřičné výrobní oblasti sehrál nejvýznamnější vliv na výši výnosů průběh povětrnostních podmínek v ročníku (analýza variance potvrdila v uvedených třech letech statisticky vysoce významný vliv u všech hodnocených let u všech plodin). Podobná zjištění jsou uváděna v řadě publikací věnujících se výsledkům z dlouhodobých pokusů.

Závěr

Ústav agrosystémů a bioklimatologie AF MENDELU se dlouhodobě zabývá návrhy vhodných způsobů hospodaření na půdě, s důrazem sladění produkčního využívání půdy s potřebou chránit půdu i zachovat její mimoprodukční funkce. Existence a výsledky dlouhodobých pokusů jsou cenným zdrojem informací, zejména v současném období probíhající klimatické změny, která výrazně ovlivňuje hospodaření na zemědělské půdě. Tyto pokusy jsou využívány v různých oblastech výzkumu, ale i ve výuce studentů Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně.

Dedikace

Príspevek vznikl za podpory projektu s číslem QK1910334 a s názvem „Inovace šetrných systémů pěstování kukuřice s využitím podsevných plodin k omezení degradace půdy a zlepšení hospodaření s vodou v podmínkách měnícího se klimatu“ a projektu s číslem QK1810186 a s názvem "Zlepšení stability půdní struktury a zvýšení infiltrace pomocí agrotechnických postupů".

Použitá literatura

- Dryšlová T., a kol., 2018.: Optimalizace agrotechnických opatření při hospodaření v suchých oblastech. Certifikovaná metodika, 56 s. ISBN 978-80-7509-629-6
- Hrubý J., 1997: Vliv rozdílné intenzity zpracování půdy na výnosy a technologickou kvalitu zrna ozimé pšenice. Rostl. Výr., 33: 459-469.
- Hrubý J., Procházková, B., 1991: Výnos a kvalita ozimé pšenice ve vztahu k různým agrotechnickým opatřením. Rostl. Výr., 37: 481-490.
- Hůla J., Procházková, B., a kol., 2008: Minimalizace zpracování půdy. Praha: Profi Press, s.r.o., 248 s.
- Krejčíř J., 1996: Koncepce a metodika dlouhodobého stacionárního polního pokusu v Žabčicích a problematika jeho hodnocení. In Sborník Význam a perspektivy dlouhodobých polních pokusů v České republice, s. 43.
- Křen J., Lipavský J. (Eds.), 1996: Význam a perspektivy dlouhodobých polních pokusů v České republice. Sborník referátů. Brno, 2016 s.
- Procházková B., Málek J., Dovrtěl J., 2002: Effect of different straw management practices on yields of continuous spring barley. Rostl. Výr., 48, 1: 27-32.
- Smutný V., a kol. 2015: Význam technologií zpracování půdy a dalších agrotechnických opatření při pěstování obilnin. Certifikovaná metodika, 57 s. ISBN 978-80-7509-369-1
- Smutný V., Neudert L., Dryšlová T., 2016: Vliv předplodin a zpracování půdy na výnosy ozimé pšenice. Úroda, 12: 66-68.

Kontaktní adresa:

Ing. Tamara Dryšlová, Ph.D.
Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1, 613 00 BRNO
e-mail: tamara.drysova@mendelu.cz;
tel. +420 545 133 118

ZAKLÁDÁNÍ POROSTŮ TRAV PĚSTOVANÝCH NA SEMENO DO KRYCÍCH PLODIN

Establishing of grasses grown for seed of cover crops

Frydrych J., Bradáčová L., Volková P.

OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Zubří

Abstrakt

V tříletých pokusech v letech 2015–2017 na stanovišti v Zubří bylo ověřeno zakládání kostřavy luční do netradičních krycích plodin: hořčice bílé, máku setého a s jarním podsevem trav do ozimé pšenice. Při hledání netradiční krycí plodiny je velice důležitá ochrana proti plevelům. Použité herbicidy nesmí poškozovat krycí plodinu ani vyvíjející se podsev trávy. Na základě výsledků výzkumu v minulosti i praktických zkušeností je doporučeno v současnosti zakládat porosty trav pěstované na semeno do pšenice jarní se sníženým výsevkem. Na základě výsledků výzkumu v letech 2015–2017 lze kostřavu luční zakládat do netradičních krycích plodin hořčice bílé a máku setého. U obou plodin byl nižší výnos kostřavy luční oproti pšenici jarní. V obou plodinách lze přizpůsobit travě i herbicidní ochranu. V hořčici bílé s podsevem trav na semeno lze použít přípravky Galera v dávce $0,35 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$, v máku přípravky s účinnou látkou fluroxypyr (Starane, Tomigan), případně Callisto 480 SC v dávce $0,2 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Klíčová slova: tráva pěstovaná na semeno, krycí plodiny, výsevek, herbicid, plevel

Abstract

In three-year experiments in the years 2015–2017 at the site in Zubří, the establishment of meadow fescue in non traditional cover crop was verified: white mustard, poppy seeds and with spring grass sowing into winter wheat. Weed protection is very important when looking for a non traditional cover crop. The herbicides used must not damage the cover crop or the developing grass underlay. Based on the results of past research and practical experience, it is currently recommended to establish grasses grown for seed in spring wheat with reduced seed rate. Based on the results of research in the years 2015–2017, the fescue can be established in non traditional cover crop into white mustard and poppy seeds. In both crops was a lower yield of meadow fescue compared to wheat. Herbicide protection can also be adapted to grasses in both crops. Galera in a dose of $0.35 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$ can be used in white mustard with a grass seedling for seed, in poppy preparations with the active substance fluroxypyr (Starane, Tomigan) or Callisto 480 SC in a dose of $0.2 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Keywords: grass grown for seed, non traditional cover crop, sowing, herbicide, weeds

Úvod

OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. v Zubří společně se Zemědělským výzkumem, spol s r.o. v Troubsku, Mendelovou zemědělskou univerzitou v Brně a Sdružením pěstitelů travních a jetelových semen v Zubří řešila v letech 2015–2017 projekt Inovace postupů zakládání, ošetřování a ochrany semenářských porostů víceletých píceň. Projekt řešil problematiku semenářství víceletých píceň, které jsou nepostradatelné pro udržitelný rozvoj zemědělství. Cílem projektu bylo navrhnout optimální postup při zakládání víceletých píceň a dále navrhnout či zlepšit některé stávající prvky integrované ochrany víceletých píceň na orné půdě a na trvalých travních porostech. Trávy pěstované na semeno lze zakládat jako čistosevy (bez krycí plodiny) nebo jako podsev do krycí plodiny. Bez krycí plodiny se zakládají zejména jílky v letních měsících. Krycí plodiny chrání zejména rostliny trav před erozí, zastíňují trávy

před silným slunečním zářením a zabraňují nadměrnému zaplevelení porostu trávy pěstované na semeno. Současně přináší krycí plodina v roce založení alespoň částečný ekonomický efekt s ohledem na tržní výnos osiva víceletých trav v následujících letech. Problémem v roce založení porostu je zejména použití herbicidu tolerantního k podsevu trav a současně ke krycí plodině.

V dlouhodobých pokusech na Výzkumné stanici travinářské se jako krycí plodina nejlépe osvědčila pšenice jarní (Cagaš a kol., 2010), a to jak sklizená na zrna (zejména v nižších polohách s dřívější zralostí), tak i případně sklizená na GPS (vhodná pro vyšší polohy s pozdějším dozráváním pšenice). U lipnice luční a kostřavy červené se osvědčily i podzimní podsevy trav do ozimů, za účelem eliminace jarních přísušků, které se v poslední době často vyskytují (Macháč a kol., 2018). Pro jarní výsev jsou však vhodnější jarní obiloviny. Z nich nejméně vhodný je jarní ječmen, jehož vysokou odnožovací schopnost nelze eliminovat ani sníženým výsevkem. Poněkud lepší je v tomto směru oves, ale jen v oblastech s dostatečným množstvím srážek, neboť oves více odčerpává z půdy vodu. Jak již bylo uvedeno, nejlepší krycí plodinou je pšenice jarní se sníženým výsevním množstvím. Její výhodou je, že snížené výsevní množství nekompensuje zvýšeným odnožováním, má nižší nároky na vodu než oves, skýtá podsevu výborné mikroklima a chrání porost před letními úpaly. Hlavní nevýhodou jarní pšenice je její nízký výnos s ohledem na ekonomiku pěstování porostu trávy na semeno současně s krycí plodinou. Z hlediska inovace zakládání travosemenných porostů do krycích plodin bylo ověřeno založení kostřavy luční do hořčice bílé, máku setého a jarním výsevem do ozimé pšenice.

Materiál a metody

V letech 2015 a 2016 byly založeny v Zubří pokusy s kostřavou luční ('Rožnovská' 20 kg.ha⁻¹), jako podsev do krycích plodin (pšenice jarní 'Epos' (120 kg.ha⁻¹) – kontrola, mák setý 'Orbis' (1 kg.ha⁻¹), hořčice bílá 'Elendil' (10 kg.ha⁻¹), ozimá pšenice 'Artist' (180 kg.ha⁻¹). Před setím bylo hnojeno 60 kg N a fosforem a draslíkem dle půdní zásoby. Po sklizni krycí plodiny byly porosty trav přihnojeny dusíkem v dávce 30 kg.ha⁻¹ a na podzim dusíkem v dávce 50 kg N.ha⁻¹ a fosforem a draslíkem dle půdní zásoby. Bylo vyhodnoceno zapojení a stav porostu trav založených do rozdílných krycích plodin před zimou a po zimě. V prvním užitkovém roce 2016 a 2017 byl stanoven u kostřavy luční výnos semen a výnosotvorné prvky. Z osiva byly odebrány vzorky na HTS. Před přímou sklizní parcel byly z každé parcely odebrány rostlinné vzorky. U rostlinných vzorků byla stanovena hmotnost celého vzorku v g na 1 m², délka stébla po klas v cm, délka klasu v mm, počet fertilních stébel na 1 m², počet semen na latu a HTS.

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 diskuze

Pokus založený v roce 2015 se sklizní kostřavy luční v roce 2016

Tab. 1 Hodnocení zapojenosti a stavu porostu před zimou v roce 2015

Travní druh	Krycí plodina	Zapojenost %	Stav porostu (9–1)
kostřava luční	pšenice jarní	83	6
	mák setý	80	5
	hořčice bílá	90	6
	pšenice ozimá	75	5

Stav kostřavy luční před zimou byl hodnocen 5–6, zapojení porostu bylo největší po krycí plodině hořčici (90 %), nejnižší po krycí plodině pšenici ozimé (75 %).

Tab. 2 Hodnocení zapojenosti a stavu porostu po zimě v roce 2016

Travní druh	Krycí plodina	Zapojenost (%)	Stav porostu (9–1)
kostřava luční	pšenice jarní	75	5,50
	mák setý	75	5,75
	hořčice bílá	74	5,50
	pšenice ozimá	68	4,75

Na základě jarní inventarizace (Tab. 2) byl nejlepší stav porostu a nejvyšší zastoupení u kostřavy luční (zapojení 68–75 %) a stav 4,75–5,75. Nejvyšší zapojení bylo po pšenici jarní (75 %) a máku setém (75 %). Nejnižší zapojení bylo po pšenici ozimé (68 %).

Tab. 3 Hodnocení výnosu semene a výnosotvorných prvků v roce 2016

Krycí plodina	Hmotnost rostlinného vzorku (g na 1 m ²)	Délka stébla (cm)	Délka klasu (mm)	Počet fertilních stébel (m ²)	Počet semen na latu	HTS (g)	Výnos semen z parcely (g)
pšenice jarní	725	82,25	49,25	921	54	2,7103	506
hořčice bílá	687	87,25	47,75	1030	42	2,5202	437
mák setý	754	86,25	48,50	1154	34	2,4449	424

Na semeno v roce 2016 byla sklizena kostřava luční zakládána do pšenice jarní, máku setého a hořčice bílé. Varianta založená do pšenice ozimé sklizena nebyla. U kostřavy luční byly vyhodnoceny tyto znaky (Tab. 3): hmotnost rostlinného vzorku, délka stébla po klas, délka klasu, počet fertilních stébel, počet semen na latu, hmotnost tisíce semen, výnos semen z parcely. Z hlediska znaku hmotnost celého vzorku a počtu fertilních stébel dosahuje nejvyšší hodnoty varianta sklizená po krycí plodině máku setém. Délka stébla je nejvyšší po krycí plodině hořčici bílé. Z hlediska znaku délka klasu, počtu semen na latu, HTS a výnosu semen z parcely dosahuje nejlepších hodnot varianta sklizená po krycí plodině pšenici jarní.

Pokus založený v roce 2016 se sklízí v roce 2017

Tab. 4 Hodnocení zapojenosti a stavu porostu před zimou 2016

Travní druh	Krycí plodina	Zapojenost (%)	Stav porostu (9–1)
kostřava luční	pšenice jarní	89	7,75
	mák setý	81	6,75
	hořčice bílá	93	8,00
	pšenice ozimá	53	5,00

Stav košťavy luční před zimou v roce 2016 byl charakterizován hodnotami 5–8 u všech krycích plodin, zapojení porostu bylo největší po krycí plodině hořčici (93 %) stejně jako v roce 2015, nejnížší po krycí plodině pšenici ozimé (53 %).

Demela (1976) upozorňuje na nutnost sledování travního porostu po zasetí a uvádí, že až do sklizně krycí plodiny může nastat pro porost mnoho kritických okamžiků, které mohou být příčinou jeho pozdější zaorávky. V kypré ornici se neblaze projevuje vliv jarních přísušků. Ty se zpravidla dostavují a způsobují v travách značné škody. Sucho se nepříznivě projevilo zejména na vzcházení a zapojení košťavy luční založené v roce 2015 nižším zapojením porostu na podzim oproti roku 2016.

Tab. 5 Hodnocení zapojenosti a stavu porostu po zimě v roce 2017

Travní druh	Krycí plodina	Zapojenost (%)	Stav porostu (9-1)
košťava luční	pšenice jarní	93	7,50
	mák setý	83	6,00
	hořčice bílá	94	7,75
	pšenice ozimá	61	5,25

Na základě jarní inventarizace (Tab. 4) stav porostu 5,25–7,75 zastoupení u košťavy luční (zapojení 61–94 %). Nejvyšší zapojení bylo po hořčici bílé (94 %)

Tab. 6 Hodnocení výnosu semene a výnosotvorných prvků v roce 2017

Krycí plodina	Hmotnost rostlinného vzorku (g na 1 m ²)	Délka stébla (cm)	Délka klasu (mm)	Počet fertlních stébel m ²	Počet semen na latu	HTS (g)	Výnos semen z parcely (g)
pšenice jarní	854	137,75	20,25	1188	38	2,3786	606
hořčice bílá	703	134,00	20,00	928	40	2,3162	474
mák setý	1044	135,50	20,50	1472	28	2,3511	435
pšenice ozimá	456	124,25	19,75	693	25	2,2955	405

V roce 2017 hmotnost rostlinného vzorku, délka klasu a počet fertlních stébel byl nejvyšší u varianty po krycí plodině máku setém. Nejvyšší délka stébla, HTS a výnos semen z parcely byl nejvyšší po krycí plodině pšenici jarní.

Tab. 7 Statistické vyhodnocení průměrného výnosu semen roce 2016 a 2017 (kg.ha⁻¹)

Krycí plodina	Výnos semene 2016–2017 kg.ha ⁻¹	% na kontrolu	Průkaznost
pšenice jarní	556	100,00	
hořčice bílá	456	82,01	--
mák setý	436	78,42	--

ANOVA md 0,05: 64,542

md 0,01: 97,735

- průkazný rozdíl

-- vysoce průkazný rozdíl

Nejvyšších průměrných výnosů semen v roce 2016 a 2017 dosáhla košťava luční po krycí plodině pšenici jarní. Pšenici jarní jako krycí plodinu doporučuje pro trávy pěstované na semeno Macháč a kol. (2018). Nově lze zakládat podsevy košťavy luční do hořčice bílé i máku setého.

Uvedené krycí plodiny nedosahovaly výnosů semene kostřavy luční jako po krycí plodině pšenici jarní.

V obou plodinách lze přizpůsobit travě i herbicidní ochranu. V hořčici bílé s podsevem trav na semeno lze použít přípravek Galera v dávce $0,35 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$, v máku přípravky s účinnou látkou fluroxypyr (Starane, Tomigan), případně Callisto 480 SC v dávce $0,2 \text{ l} \cdot \text{ha}^{-1}$. Kostřava luční patří k druhům, které jsou citlivější k herbicidům (Macháč, 2018). Uvedené herbicidy lze současně použít do krycí plodiny i podsevu kostřavy luční.

Pokusy založené v krycí plodině pšenici jarní prokázaly vhodnost této plodiny pro zakládání travních porostů pěstovaných na semeno. Kostřava luční dosahovala po této krycí plodině vysoké zapojení porostu na podzim i na jaře. Byl dosažen nejvyšší výnos semen u porostů založených do této krycí plodiny u kostřavy luční. V pšenici jarní s podsevem kostřavy luční na semeno na semeno je možné použít zejména přípravky na bázi clopyralidu, fluroxypyru a MCPA, přípravek Arrat v dávce $0,2 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$.

Porosty kostřavy luční byly na základě výsledků pokusů nejlépe zapojeny na podzim i na jaře právě po krycí plodině hořčici. Na základě výsledků pokusů v Zubří lze kostřavu luční do krycí plodiny hořčice bílé zakládat. Zakládání do máku setého lze doporučit v podmínkách, kde je ověřena technologie pěstování máku v provozních plochách a výnosy máku dosahují příznivých výsledků současně s ohledem i na prioritní podmínky pro pěstování trav na semeno. Pokud se týká zapojení porostu kostřavy luční, před zimou a na jaře ve sledovaných pokusech bylo zapojení srovnatelné s krycí plodinou pšenici jarní. Rovněž výnosotvorné prvky byly srovnatelné nebo vyšší u hořčice bílé a máku setého porovnáno s kontrolou pšenici jarní. Zakládání porostů trav na semeno do ozimé pšenice na jaře nelze doporučit z důvodů poměrně silné konkurence rostlin ozimé pšenice, která se po přezimování v jarních měsících nachází ve fázi BBCH 21–25. Rostliny ozimé pšenice po přezimování a následném přihnojení vytvoří silný konkurenční porost. Dalším negativním jevem potlačující vzejití a vzcházení následného porostu trav na semeno je zaplevelení, a to zejména jednoduchými a částečně i dvouděložnými plevely, které rovněž vytvářejí silnou konkurenci vzcházejícímu travnímu porostu. U porostů založených do pšenice ozimé se projevilo nejnižší zapojení zejména na podzim u porostů kostřavy luční. Pokus kostřavy luční v pšenici ozimé byl sklizen pouze v roce 2017. V roce 2016 byl pokus z důvodů silného potlačení kostřavy luční konkurenční pšenici neskliditelný.

Závěr

V letech 2015–2017 na stanovišti v Zubří bylo ověřeno zakládání kostřavy luční do netradičních krycích plodin: hořčice bílé, máku setého a s jarním podsevem trávy do ozimé pšenice. Tyto plodiny byly porovnány s krycí plodinou pšenici jarní, která je využívána zejména v současné době v zemědělské praxi. Při hledání netradiční krycí plodiny je velice důležitá ochrana proti plevelům. Použité herbicidy nesmí poškozovat krycí plodinu ani vyvíjející se podsev trávy. Na základě výsledků výzkumu v letech 2015–2017 lze kostřavu luční zakládat do nových krycích plodin hořčice bílé a máku setého. U obou plodin byl nižší výnos kostřavy luční oproti pšenici jarní. V obou plodinách lze přizpůsobit travě i herbicidní ochranu. Na základě výsledků pokusů kostřavu luční nelze doporučit zakládat do ozimé pšenice na jaře z důvodů poměrně silné konkurence rostlin ozimé pšenice, která se po přezimování v jarních měsících nachází ve fázi BBCH 21–25 a současně i pro konkurenční zaplevelení jednoduchými a dvouděložnými plevely.

Použitá literatura

Demela, J. (1976): Travní semenářství. Praha, SZN, 1976, s. 175.

Cagaš B. a kol. (2010): Trávy pěstované na semeno. 1.vyd. Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, 2010. 276 s. ISBN 978-80-87091-11-1.

Macháč R. a kol. (2018): Zakládání porostů trav na semeno. Certifikovaná metodika 1/2018, Zubří, 20 s. ISBN 978-80-905808-4-8.

Macháč R. (2018): Ochrana trav na semeno vůči plevelům. Certifikovaná metodika 2/2018, Zubří, 25 s. ISBN 978-80-905808-5-5.

Dedikace

Publikace je realizována na základě finanční podpory MZe v rámci institucionální podpory na rozvoj výzkumné organizace OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří MZE-RO1820

Kontaktní adresa:

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

VÝZKUM A VYUŽITÍ TRAV JAKO MEZIPLODIN

Research and use of grasslands of intercrop

Frydrych J.¹, Lošák M.¹, Hermuth J.², Bradáčová L.¹

¹ OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Zubří

² Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

Abstrakt

V podmínkách OSEVA vývoje a výzkumu s.r.o. Zubří byly testovány v letech 2017 až 2019 vybrané druhy trav jako meziplodiny. Do sledování byl zařazen jílek vytrvalý 'Kentaur', kostřava červená 'Zulu', kostřava rákosovitá 'Kora' a ve směsích s využitím jako meziplodiny. Současně byly testovány i plodiny vhodné do suchých podmínek, například bery odrůda 'Ruberit' a 'Rucereus'. U všech testovaných plodin byl stanoven výnos zelené a suché hmoty. U bery 'Rucereus' byly v roce 2019 provedeny tři zásevy v červnu, červenci a srpnu. Současně byly odzkoušeny dva zásevy travních směsí na přelomu května a června, koncem srpna a v měsíci říjnu v letech 2017–2018.

Klíčová slova: jílek vytrvalý, kostřava červená, kostřava rákosovitá, ber vlašský (italský)

Abstract

In the conditions of OSEVA Development and Research Ltd. in Zubří were tested from 2017 to 2019 selected grass species as intercrops. The monitoring included the, perennial ryegrass 'Kentaur', red fescue 'Zulu', tall fescue 'Kora' and in mixtures used as a crop. At the same time, crops suitable for dry conditions were tested, such as the foxtail millet variety 'Ruberit' and 'Rucereus'. Green and dry matter yields were determined for all crops tested. For 'Rucereus', in 2019, three sowings were carried out in June, July and August. At the same time two grass mixtures were tested at the turn of May and June, at the end of August and in the month of October in the years 2017–2018.

Keywords: perennial ryegrass, red fescue, tall fescue, foxtail millet

Úvod

Meziplodiny jsou plodiny, které lze na základě jejich biologických vlastností využít pro vytvoření vegetačního pokryvu půdy v mezuporostním období. Cílem pěstování meziplodin je podpora mimoprodukčních a produkčních funkcí zemědělství. Mimoprodukční a produkční funkce meziplodin v systémech hospodaření na půdě nelze z hlediska jejich vzájemného propojení od sebe jednoznačně oddělit. Přesto je možné mimoprodukční funkce meziplodin vnímat zejména ve vztahu k zachování a ochraně přírodních zdrojů a jako prostředek stabilizace toků energie a hmoty v krajinném prostoru. Produkční funkce jsou spojovány s integrovanými systémy hospodaření na orné půdě, které zajišťují efektivní využívání přírodních podmínek a energomateriálových dodatků, s cílem dosáhnout požadovaného výnosu a kvality rostlinných produktů při současném zefektivnění dodatkových vstupů energie. (Brant, 2008).

Význam víceletých pícnin na orné půdě se zvyšuje v souvislosti s udržitelným systémem hospodaření v českém zemědělství. V posledních 20 letech došlo ke snížení stavu víceletých pícnin na současných 10–15 % na orné půdě a ke zvýšení ploch kukuřice. Trávy samotné, tak i jejich směsi s nejrůznějšími druhy jetelovin splňují základní požadavky kladené na trvalý pokryv půdy, snížení rizika eroze, omezení druhotného zaplevelení, zlepšení fyzikálního a chemického stavu půdy, podporu biologického života v půdě a v neposlední řadě i okamžitou pohotovost k převodu těchto ploch do běžné zemědělské výroby. Ve větší či menší míře se

mohou trávy a jeteloviny podílet na krátkodobých úhorech 1–3 roky, dlouhodobém zatravnění a vytvoření produkce obnovitelných zdrojů energie (Vrkoč, 1996). Zařazením vhodných mezplodin tzn. směsí trav s jinými plodinami případně jetelovinami a jiných plodin do osevních postupů se sníží negativní dopad menší plochy víceletých píceň na orné půdě a zlepši celkový stav půdy ve vztahu k půdní úrodnosti.

Charakteristika testovaných druhů plodin v podmínkách OSEVY vývoje a výzkumu s.r.o. v Zubří

Jílek vytrvalý – vyznačuje se rychlým vývinem po zasetí. Je nižšího vzrůstu, ale s dobrou konkurenční schopností. Patří mezi volně trstnaté trávy ozimého charakteru. Poskytuje velmi kvalitní píci. Snáší dobře sešlapávání a intenzivní spásání. Má velmi dobrou regenerační schopnost. Je základem všech směsí pro rychlou obnovu ploch a regenerační přisevy, kde se uplatní jeho rychlý vývoj po zasetí. Do výzkumu byl zařazen jílek vytrvalý odrůda 'Kentaur'.

Kostřava červená – pícní odrůdy kostřavy červené náleží převážně k výběžkaté formě a uplatňují se v extenzivně obhospodařovaných trvalých lučních i pastevních porostech na extrémnějších stanovištích (ve vyšších polohách, chudších půdách) zaplňují v nich spodní patro porostu a zvyšují stabilitu drnu. Kostřava červená se šlechtí především pro trávníkové a doplňkově pro pícninářské využití. Nabídka zejména trávníkových odrůd ve světě je velmi bohatá ve třech morfologicky odlišných formách: trstnaté, krátce výběžkaté a dlouze výběžkaté. Pro výzkum byla využita odrůda kostřavy červené 'Zulu'.

Kostřava rákosovitá – zpočátku byla využívána pouze jako vysoce produkční pícní tráva. Kostřava rákosovitá je vhodná pro luční i pastevní využití. Je odolná proti napadení plísní sněžnou, je vytrvalá a zimovzdorná. Dobře snáší letní přísušky i zamokření. Nyní převládá využití jejich mimořádných vlastností v trávníkářství. Tomu odpovídá i velký nárůst počtu trávníkových odrůd, které převažují nad pícními. Vzhledem k vysoké adaptabilitě druhu vůči různým nepříznivým faktorům se uplatňuje v hrubších, ne příliš nízko kosených zatěžovaných trávnících (dostihové dráhy, výběhy, letištní plochy), v užitkových trávnících veřejné zeleně, v extenzivních trávnících krajinného charakteru na výsušných i mokřích stanovištích, k zatravnění meziřadí ovocných sadů a vinic. Jemnější trávníkové odrůdy se stále častěji uplatňují v hřišťových trávnících. Pro výzkum byla využita pícní odrůda kostřavy rákosovité 'Kora'.

Rostliny do podmínek měnícího se klimatu

Bér vlašský (italský) odrůda 'Ruberit' a 'Rucereus'

V České republice se šlechtění provádí pouze ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby v.v.i. (VÚRV, v.v.i.) v Praze. V Genové bance (GB), která je součástí VÚRV v.v.i., se nachází kolekce genetických zdrojů béru. Pro jeho šlechtění je využívána selekce. Plodiny jako jsou bér italský, širok zrnový a např. laskavec řadíme k plodinám s takzvanou rychlou (C₄) fotosyntézou, která se velmi dobře uplatňuje v podmínkách měnícího se klimatu v ČR. Tyto plodiny lépe hospodaří s vodou a zaručují stabilní výnosy a multifunkční využití i při horších podmínkách (teplo, sucho) v průběhu vegetace. Obě prezentované odrůdy jsou vzájemně odlišné z pohledu ranosti a morfologie.

Materiál a metody

Travní směsi a jílek vytrvalý byly vysety v polních maloparcelních pokusech s různými způsoby, resp. termíny zakládání v parcelkách o velikosti 10 m² s meziřádkovou vzdáleností 21 cm. Současně byly odzkoušeny dva zásevy travních směsí na přelomu května a června, koncem srpna a v měsíci říjnu v letech 2017 a 2018. Jílek vytrvalý byl odzkoušen v zásevu na přelomu

srpna a září a října v obou testovaných letech 2017 a 2018. Plodiny byly nahnojeny před setím dávkou 40 kg dusíku na hektar. Ve sklizňových letech 2018 a 2019 byly pokusy přihnojeny dávkou 54 kg dusíku na hektar v měsíci dubnu. V roce 2017 a 2018 byly zařazeny do výzkumu jílek vytrvalý 'Kentaur', kostřava červená 'Zulu' a kostřava rákosovitá 'Kora'.

V roce 2018 a 2019 byly založeny pokusy s béry 'Ruberit' a 'Rucereus' na přelomu měsíce května a června. 'Rucereus' dále v roce 2019 v polovině června, v červenci a polovině měsíce srpna. Běry byly založeny do pokusu o velikosti parcel 10 m². Byly přihnojeny dávkou před setím 40 kg dusíku a v průběhu vegetace dávkou 100 kg dusíku na hektar. Veškeré travní směsi, jílek vytrvalý i bery byly sklizeny jako celé rostliny v první seči sklízěčem zelené píce a byl stanoven výnos zelené hmoty a suché hmoty. Trávy a travní směsi byly sklizeny v měsíci červnu 2018 a 2019. Bery byly sklizeny v první dekádě měsíce října v roce 2018 a 2019.

Popis pokusné lokality

Pozemky Osevy vývoj a výzkum s.r.o. v Zubří 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 diskuze

V maloparcelkových pokusech byly založeny směsi trav s jíllem vytrvalým 'Kentaur' a kostřavou rákosovitou 'Kora' v dávce 10 a 20 kg na hektar a směs jílu vytrvalého 'Kentaur' a kostřavy červené 'Zulu' v dávce 10 a 20 kg na hektar na přelomu měsíce května a června 2017 a 2018 a přelomu měsíce srpna a září 2017 a 2018. Na přelomu měsíce srpna a září 2017 a 2018 byl rovněž založen jílek vytrvalý v dávce 20 kg na hektar v obou zkušebních letech 2017 a 2018. V říjnu 2017 a 2018 byla založena směs jílu vytrvalého 'Kentaur' a kostřavy rákosovité 'Kora' s výsevem 20 kg na hektar a jílu vytrvalého s výsevem 20 kg na hektar. Celkově byly srovnány zásevy travních směsí ve třech výsevních termínech v letech 2017 a 2018 a zásev jílu vytrvalého v letech 2017 a 2018 ve dvou termínech. Na podzim v letech 2017 a 2018 bylo vyhodnoceno zapojení porostu a pokryvnost před zimou. V měsíci červnu 2018 a 2019 ve dvou sklizňových letech byly pokusy sklizeny na výnos zelené hmoty a suché hmoty. U prvního zásevu na přelomu května a června 2017 a 2018 se projevila odolnost kostřavy rákosovité a její přizpůsobivost vůči zejména deficitu srážek v letních měsících, kdy směs jílu vytrvalého 'Kentaur' a kostřavy rákosovité 'Kora' ve výsevním množství 20 kg na hektar dosáhla vyššího zapojení oproti směsi s kostřavou červenou a jíllem vytrvalým pokryvnosti a nejlepšího zapojení ze všech testovaných směsí. U zásevu na přelomu srpna a září 2017 a 2018 nejlepší pokryvnosti dosáhl jílek vytrvalý z výsevu 20 kg na hektar. Zde se projevila charakteristická vlastnost jílků poměrně rychlé vzcházení a zapojení porostu oproti pomalejšímu vývoji u směsi s kostřavou rákosovitou. Tato vlastnost u jílu se projevila i u posledního zásevu v měsíci říjnu 2017 a 2018 oproti směsi jílu vytrvalého s kostřavou rákosovitou. U polovičních zásevů 10 kg všech směsí byla pokryvnost o 10–15 % nižší oproti výsevům v množství 20 kg na hektar.

Tab. 1 Průměrné zapojení a pokryvnost porostu na podzim u testovaných směsí v letech 2017 a 2018 a průměrný výnos zelené a suché hmoty v testovaných letech 2018 a 2019

Hodnocení	1 – Směs JV + KR 20 kg.ha ⁻¹	2 – Směs JV + KR 10 kg.ha ⁻¹	3 – Směs JV + KR 20 kg.ha ⁻¹	4 – Směs JV + KR 10 kg.ha ⁻¹	5 – Směs JV + KR 20 kg.ha ⁻¹
	I. termín výsevu	I. termín výsevu	II. termín výsevu	II. termín výsevu	III. termín Výsevu
Zapojení	9	8	7	7	*
Pokryvnost	95	85	75	65	*
Výnos ZH	39,4	36,1	35,6	32,8	18,5
Výnos SH	15,2	13,9	13,7	12,8	6,9

Směs JV + KR – směs jílku vytrvalého a kostřavy rákosovité

Výnos ZH – výnos zelené hmoty v t.ha⁻¹; Výnos SH – výnos suché hmoty v t.ha⁻¹

* – znatelné řádky, vzcházející porost

Tab. 2 Průměrné zapojení a pokryvnost porostu na podzim u testovaných směsí v letech 2017 a 2018 a průměrný výnos zelené a suché hmoty v testovaných letech 2018 a 2019

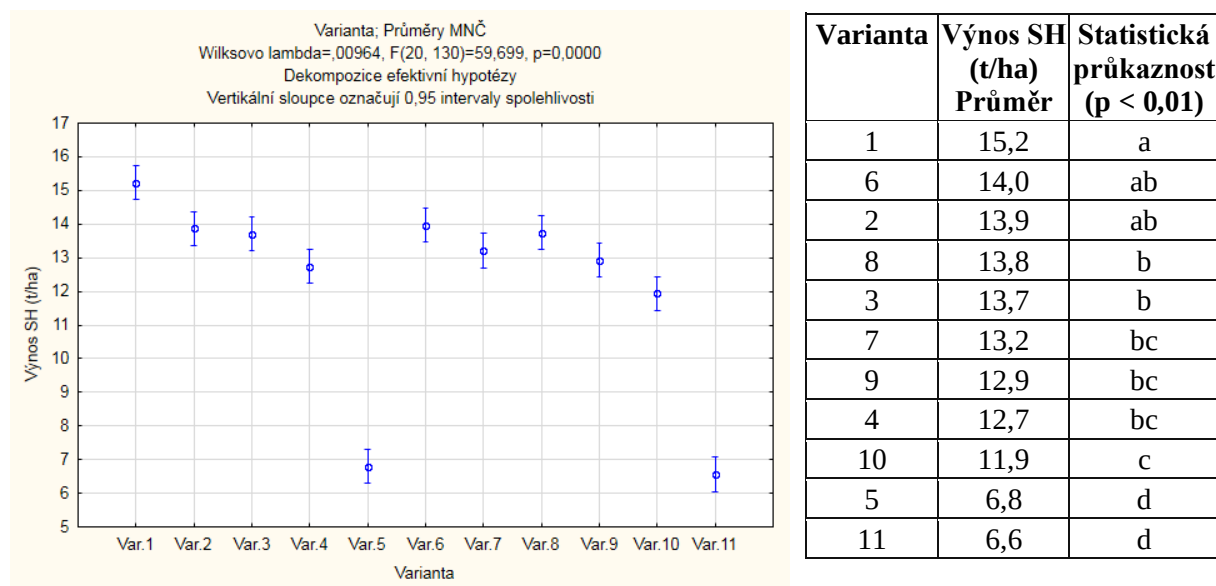
Hodnocení	6 – Směs JV + KČ 20 kg.ha ⁻¹	7 – Směs JV + KČ 10 kg.ha ⁻¹	8 – Směs JV + KČ 20 kg.ha ⁻¹	9 – Směs JV + KČ 10 kg.ha ⁻¹	10 JV 20 kg.ha ⁻¹	11 JV 20 kg.ha ⁻¹
	I. termín výsevu	I. termín výsevu	II. termín Výsevu	II. termín výsevu	II. termín Výsevu	III. termín výsevu
Zapojení	8	7	8	6	8	*
Pokryvnost	85	75	75	60	85	*
Výnos ZH	37,1	35,4	35,2	33,9	31,4	17,9
Výnos SH	14,0	13,2	13,8	12,9	12,0	6,6

Směs JV + KČ – směs jílku vytrvalého a kostřavy červené

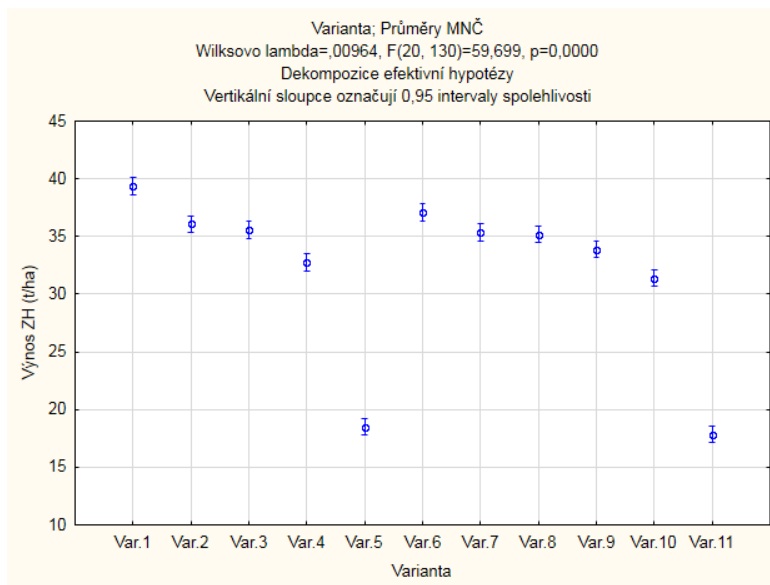
JV – jilek vytrvalý

Výnos ZH – výnos zelené hmoty v t.ha⁻¹; Výnos SH – výnos suché hmoty v t.ha⁻¹

* – znatelné řádky, vzcházející porost

Statistické zhodnocení výnosů suché a zelené hmoty testovaných směsí (průměr roků 2018 a 2019)

Komentář: mezi hodnocenými směsmi byly nalezeny statisticky vysoce významné rozdíly ($p < 0,01$) v produkci suché hmoty. Významně vyšší produkci suché hmoty se vyznačovala směs č. 1. Směsi č. 5 a 11 měly naopak významně nižší produkci suché hmoty než ostatní testované směsi.



Varianta	Výnos ZH (t/ha) Průměr	Statistická průkaznost ($p < 0,01$)
1	39,4	a
6	37,1	b
2	36,1	b
3	35,6	bc
7	35,4	bc
8	35,2	bc
9	33,9	cd
4	32,8	de
10	31,4	e
5	18,5	f
11	17,9	f

Komentář: mezi hodnocenými směsmi byly nalezeny statisticky vysoce významné rozdíly ($p < 0,01$) v produkci zelené hmoty. Statisticky významně vyšší produkci zelené hmoty se vyznačovala směs č. 1. Směsi č. 5 a 11 měly naopak statisticky významně nižší produkci zelené hmoty než ostatní testované směsi.

Statistické vyhodnocení provedeno v programu Statistica CZ 12 pomocí analýzy rozptylu a statistická významnost rozdílů středních hodnot byla zhodnocena Tukey HSD testem na hladině významnosti $\alpha = 0,01$.

V roce 2018 a 2019 byly odzkoušeny dvě odrůdy bérů italského využitelné jako meziplodiny v podmínkách OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. v Zubří. V roce 2018 a 2019 byl bér odrůdy 'Ruberit' a 'Rucereus' založen v měsíci červnu a sklizen v první dekádě října v obou testovaných letech. V roce 2019 byl bér italský odrůdy 'Rucereus' založen třemi zásevy v měsíci červnu, červenci a srpnu. Zásev ve třech termínech v letním období bude opakován i v následujících letech vzhledem k současným meteorologickým podmínkám měnícího se klimatu a možnosti produkce zejména biomasy využitelné v období letních měsíců jako zdroj krmiva případně jako obnovitelného zdroje energie. Obě odrůdy bérů italského byly založeny výsevem 20 kg na hektar v obou testovaných letech a v roce 2019 bér 'Rucereus' u všech tří zásevů.

Tab. 3 Průměrný výnos zelené a suché hmoty bérů 'Ruberit' a 'Rucereus' v roce 2018 a 2019 založeném v červnu u obou testovaných let a sklizeném v první dekádě října (t.ha⁻¹)

Parametry	Ruberit	Rucereus	Průměr
Zelená hmota	25,5	23,9	24,7
Suchá hmota	11,0	10,2	10,6

Největší pěstitelský potenciál ve využití odrůd bérů italského 'Ruberit' a 'Rucereus' pro podmínky českého zemědělství je jako suchu odolné strniskové meziplodiny. V posledních letech dochází v důsledku časnějších termínů sklizně zrnin vyvolaných především nedostatkem vody ke vzniku delšího mezíporostního období vhodného pro pěstování strniskových

meziplodin. Posunutí termínu výsevu meziplodin mnohdy již do července či začátku srpna je jednoznačně spojeno s prodloužením období využití slunečního záření a s nárůstem délky periody s vyšší teplotou vzduchu a půdy. Časnější termíny výsevu rovněž prodlužují dobu vegetace strniskových meziplodin na základě oddálení ukončení růstu porostů s příchodem nízkých teplot či přízemních mrazků. Na druhou stranu se prodlužuje období vegetace, kde je limitujícím faktorem voda. Kombinace vyšších teplot vzduchu a půdy při současném vysokém riziku působení vodního stresu na rostliny po delší dobu vegetace je důvodem pro hledání nových druhů využitelných jako strniskové meziplodiny, především ve skupině rostlin s C₄ typem fotosyntézy. Výše jmenované odrůdy беру velmi pozitivně reagují na teplý průběh počasí a vykazují rostoucí dynamiku produkce biomasy i při nižší míře dostupnosti vody. Jejich využití však není spojeno jen s produkcí nadzemní biomasy, ale nabízejí i velmi dobré prokořenění půdy a produkci nadzemní biomasy. S narůstající výškou porostů a dostatečnou produkcí nadzemní biomasy lze uvažovat o využití meziplodiny pro produkci biomasy, např. pro krmení hospodářských zvířat. Využitelnost těchto druhů je rovněž spojována s možností omezení rozvoje chorob a škůdců na základě přímého alelopatického působení, tak na základě působení chemických látek uvolňujících se z mrtvé biomasy rostliny. Porosty výše jmenovaných odrůd vytvářejí v letním období také úkryt pro polní zvěř (koropty, bažanti, zajáci). Přínos zmiňovaných odrůd pro zemědělskou praxi a ochranu životního prostředí byl v roce 2019 na 46. ročníku mezinárodního agrosalonu Země živitelka oceněn hlavní cenou „Zlatý klas s kytičkou“.

Závěr

Byly ověřeny možnosti zakládání trav jako meziplodin ve třech termínech založení. Trávy a jejich směsi jsou využitelné jako meziplodiny. Směsi jílů zejména s kostřavou rákosovitou a jílů s kostřavou červenou lze doporučit pro výsev meziplodiny založené v pozdním jarním období a na počátku léta. Kostřava rákosovitá 'Kora' se vyznačuje značnou přizpůsobivostí různým stanovištním podmínkám a patří mezi trávy s nejširší stanovištní amplitudou. To platí zejména o nárocích na vláhu. Kostřava rákosovitá snáší dobře přísušky i vlhčí stanoviště. U jílu vytrvalého se projevil rychlý počáteční vývoj oproti kostřavě rákosovité. Jílky a jejich směsi lze doporučit jako meziplodiny v pozdním létě a na počátku podzimu. Běry nabývají v současnosti na významu zejména s ohledem na oteplování klimatu a s tím spojené sucho v jarním a letním období. V současnosti bude probíhat jejich další výzkum a ověřování v podmínkách marginální oblasti v Zubří.

Použitá literatura

- Brant V. a kol. (2008): Meziplodiny. České Budějovice: Kurent, 2008. 86 s. ISBN 978-80-87111-10-9.
- Cagaš B. a kol. (2010): Trávy pěstované na semeno. 1. vyd. Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, 2010. 276 s. ISBN 978-80-87091-11-1.
- Hermuth J. (2017): Meziplodiny jsou stabilizačním prvkem v osevních postupech. Farmář, č. 4, s. 26–28.
- Hermuth J. (2019): Odrůdy беру italského a čiroku zrnového jako řešení problémů současných klimatických změn. Kategorie: Zajímavosti. Zveřejněno: 9. září 2019 ČTPRB. Dostupné z: <http://www.rostlinyprobudocnost.eu/ctprb/novinky/zajimavosti/102-odrudy-beru-italskeho-a-ciroku-zrnoveho-jako-reseni-problemu-soucasnych-klimatickych-zmen-prinesly-vurv-v-v-i-oceneni-zlaty-klas-s-kytickou.html>.
- Hermuth J., Janovská D., Prohasková A. (2015): Bér vlašský *Setaria italica* (L.) Beauv. plodina vhodná do měnícího se klimatu České republiky. Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha – Ruzyně, 2015. 36 s. ISBN 978-80-7427-175-5.

- Hermuth J., Michalová A., Dotlačil L. (1997): Netradiční a perspektivní meziplodiny. *Úroda*, roč. 45, č. 4, s. 14.
- Vrkoč F. a kol. (1996): Restrukturalizace a extenzifikace rostlinné výroby. *Metodika ÚZPI*, 3/1996, s. 25–32. ISBN 80-85120-72-0.

Dedikace

Publikace je realizována na základě finanční podpory MZe v rámci institucionální podpory na rozvoj výzkumné organizace OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří MZE-RO1820 a finanční podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora organizace Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha MZE-RO0418.

Kontaktní adresa:

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

VYUŽITÍ PROJEVŮ SUCHA U PLODIN PRO MONITORING PROSTOROVÉ VARIABILITY PŮD

The utilization of drought effects for monitoring of soil spatial variability

Haberle J., Křížová K., Svoboda P., Lukáš J., Raimanová I., Stehlík M.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha

Abstrakt

Na čtyřech pozemcích byly u ozimé pšenice a hrachu, v letech 2017-2019, na celkem šedesáti bodech sledovány znaky rostlin a půdy. Daná oblast se vyznačuje velkou prostorovou variabilitou půdy, která se projevuje zvláště v obdobích sucha, kdy odlišná vodní kapacita půdy (PVK) způsobuje rozdíly v růstu a výnosu, a zprostředkovaně i v odběru a bilanci N. Reakce rostlin na sucha, výška rostlin, žloutnutí a zasychání listů, dobře identifikuje lokální rozdíly v PVK. Prostorové rozdíly ve vodní kapacitě půdy a jejich dopad na porost korelovaly průkazně s jednoduchým indexem získaným z RGB leteckých snímků a RGB snímků pořízených z dronu. Tyto vztahy umožnily na základě snímků mapovat bilanci N na celé ploše pokusných pozemků.

Klíčová slova: vodní stress; vodní kapacita půdy; snímkování; bilance dusíku; precizní zemědělství

Abstract

In four fields, in the years 2017-2019, the characteristics of winter wheat and peas plants and soil were monitored at sixty points. The area is characterized by great spatial variability of soil, which manifests itself especially in periods of drought, when different soil water capacity (PVK) causes differences in growth and yield, and the uptake and balance of N. Plant response to drought, plant height, yellowing and drying of leaves, accurately identifies local differences in PVK. Spatial differences in soil water capacity and their impact on crops correlated significantly with a simple index obtained from RGB aerial photographs and RGB images taken from a drone. These relationships made it possible to map the N balance over the entire area of the experimental plots on the basis of images.

Keywords: water stress; soil water capacity; aerial images; nitrogen balance; precision agriculture

Úvod

V precizním zemědělství (PA) je zohledněna prostorová variabilita porostu a podmínek na daném pozemku; PA optimalizuje agrotechnické zásahy pro jednotlivé části pozemků, management zóny. Jeden z hlavních faktorů jsou půdní podmínky (např. Lukas a kol. 2018), variabilita zrnitostního složení a dostupné zásoby vody v kořenové zóně, které přímo ovlivňují nejen růst a tvorbu výnosu, ale i dynamiku živin a jejich příjem. Zrnitost určuje vodní kapacitu půdy, vyjádřenou hodnotou retenční vodní kapacity. Praxi bližší je používání polní vodní kapacity (PVK), množství vody, které je půda schopna po nasycení udržet delší dobu. Spolehlivé určení prostorové variability vodní kapacity půdy vyžaduje náročné laboratorní stanovení u velkého počtu vzorků; to není, zvláště u hlubších podorničních vrstev, v praxi reálné. I použití pedotransferových funkcí pro výpočet PVK vyžaduje odběry a analýzy zrnitostního složení, nejlépe doplněné určením obsahu humusu, potřeby vápnění nebo kationtové výměnné kapacity.

Zóny s nízkou PVK a zvýšenou infiltrací jsou zranitelnější, z hlediska dopadů nízkých srážek za vegetace a současně i rizika vyplavení živin při vyšších srážkách, než hluboké střední a těžší

půdy s vysokou PVK (Duffková a kol. 2012). Vysoká propustnost půd vede, při nesprávné aplikaci dusíkatých hnojiv nebo vysokém obsahu reziduálního nitrátového dusíku, k vyplavování nitrátů a následnému zatížení povrchových a spodních vod (Haberle a kol. 2018, Kvítek a kol. 2017). Riziko vyplavení je v našich klimatických podmínkách nejvyšší v mimo vegetačním období (pozdní podzim až časně jaro), kdy dochází díky nižší evapotranspiraci k nasycení půdy vodou až na maximální úroveň, kterou je daná půda schopna zadržet (úroveň PVK). Vyplavení v průběhu růstu plodin lze pozorovat výjimečně, při vysokých srážkách (2020) a na extrémně propustných půdách (písčité, mělké, kamenité). Riziko vyplavení existuje při aplikaci nadměrného množství závlahové vody, které neodpovídá potřebě plodin, vodní kapacitě půdy a meteorologickým podmínkám. Protože doplňková závlaha se v naprosté většině aplikuje paušálně, bez ohledu na prostorovou variabilitu půdy, dochází na uvedených zranitelných půdách k rychlejšímu průsaku a vyplavení nitrátů a dalších živin. Nitrátový dusík vyplavený (posunutý) do hlubších vrstev mimo dosah kořenů je pro danou plodinu ztracený (Svoboda a kol. 2018). Zvláště některé zeleniny a rané brambory pěstované pod závlahou mají mělký kořenový systém, nižší osvojovací schopnost a přitom vysokou potřebu dusíku. Identifikace infiltračních zón je proto jedním z předpokladů pro cílený zemědělský management s využitím postupů precizního zemědělství (Brom a kol. 2017, Duffková a kol. 2019, Haberle a kol. 2018), včetně precizního zavlažování (Neupane, Guo 2019). Variabilita vodní kapacity půdy se při nedostatku vody v kořenové zóně projevuje na rostlinách řadou fyziologických a morfologických změn. To vedlo k využití těchto změn indikovaných zbarvením porostu, spektrálními vlastnostmi nebo změnami teploty povrchu rostlin pro identifikaci variability půdy, včetně aplikace metod dálkového průzkumu Země (Duffková a kol. 2012, Brom a kol. 2017, Haberle a kol. 2018, Křížová a kol. 2018).

Vysoká variabilita půdních vlastností je u nás typická pro pozemky na kvarterních sedimentech v nivách řek využívaných pro pěstování zavlažované zeleniny a raných brambor. Jde o lehké propustné půdy, často s vysokým podílem skeletu v podorníci (Kadlecová a kol. 2018). Vzhledem k vysoké potřebě dusíku a malé efektivnosti jejího využití u zeleniny a raných brambor zde existuje i vysoké riziko vyplavení nitrátů do spodních vod (Bruthans a kol. 2019, Svoboda a kol. 2017). Projevy prostorové variability pozemků jsou více či méně úspěšně maskovány závlahou a vysokými dávkami živin, ale v některých letech jsou na těchto pozemcích pěstovány i plodiny bez závlahy. To nabízí možnost využít projevy nedostatku vody jako indikátoru prostorové variability vodní kapacity půd (Duffková a kol. 2012).



Obr. 1: Ukázky prostorové variability dopadů sucha na porost hrachu (vlevo nahoře) a pšenice

V tomto příspěvku prezentujeme výsledky pozemního monitoringu porostů nezavlažované pšenice a hrachu a využití leteckých a UAV (dron) snímků v oblasti dolního Pojizeří. Zájmové území zahrnuje zdrojovou oblast vodárny v Káraném, kde je podzemní voda získávána (kromě umělé infiltrace a několika artéských studní) ze zdrojů břehové infiltrace, kterou zajišťuje přes 600 studní podél řeky Jizery, od Sojovic po Benátky n. Jizerou. V čerpané vodě je v různém podílu zastoupena voda z Jizery a bližšího i širšího (až několik kilometrů vzdáleného) zázemí, která má vyšší obsah nitrátů (Kadlecová a kol. 2018, Bruthans a kol. 2019). Jedním ze zdrojů nitrátů může být i lokálně zvýšený průsak a nižší využití dusíku (v důsledku nižších výnosů a vyplavení) v zónách s nízkou vodní kapacitou. Nezavlažované plodiny v těchto kritických zónách pravidelně dosahují nízké výnosy, odebírají méně dusíku s dopady na efektivnost využití N z hnojiv a půdní zásoby. Zbytkový, reziduální N, představuje zvýšené riziko vyplavení nitrátů. Projevy sucha, horší růst, menší výška rostlin a pokryvnost listů, žloutnutí listů a předčasné prosychání porostů jsou dobře patrné ze vzduchu, na snímcích z dronů (obr. 1).

Cílem práce bylo ověřit možnost indikace zón s nízkým využitím dusíku na základě leteckých snímků pozemků s vysokou prostorovou variabilitou půdy.

Materiál a metody

Výzkum probíhal na čtyřech pozemcích, poblíž obce Sojovice a Kochánky, v jižní části okresu Mladá Boleslav. Klimatický region oblasti je teplý mírně suchý (T2), dlouhodobý průměr srážek je 530–546 mm, z toho za vegetaci 335 mm, průměrná teplota je okolo 7,2–7,4 °C, pozemky leží v nadmořské výšce 180–260 metrů. V oblasti jsou pěstovány zavlažované rané brambory, zelenina. Z klasické polní výroby je zde zastoupena nezavlažovaná potravinářská pšenice, v menší míře cukrová řepa, jarní pšenice, hrách a další plodiny. Hlavním půdním typem regozemě a fluvizemě, lokálně (i na stejném DPB) luvizemě, kambizemě a hnědozemě. Vyskytují se zde lehké půdy a střední (hlavně písčitohlinité) půdy, s často písčitým nebo šterkovitým podložím. Pozemky jsou vesměs rovinaté, místy mírně svažité. Celé zájmové území spadá do oblasti vymezené jako zranitelné nitráty.

Na vybraných pozemcích byl v síti odběrových míst prováděn terénní průzkum půdy a porostů. Pro tuto práci byla použita vegetační sledování v letech 2017–2019 a snímky z roku 2016 a 2017. V Kochánkách byl zařazen hrách (2017) a pšenice (2018–2019), v Sojovicích se na uvedených třech pozemcích (označených jako So5, So7 a So9) střídala nezavlažovaná pšenice a zavlažované brambory; zde byla použita data z roku 2017, kdy byla na všech třech DPB ozimá pšenice. V odběrových bodech byl na celkem 61 bodech stanoven výnos zrna, obsah N a diskriminace ^{13}C ($\Delta^{13}\text{C}$) v zrně. Dále bylo určeno zrnitostní složení vrstev půdy, 0–30 cm, 30–60 cm, 60–90 cm. Na základě jednoduchých pedotrasferových funkcí (Váša 1960, Novotný a kol. 2000) byla pro každé odběrové místo vypočtena polní vodní kapacita (PVK) vrstev půdy. Data terénního výzkumu a snímkování z dronu a leteckých snímků prokázala průkazný vztah půdních podmínek, zrnitostního složení a vodní kapacity, k dopadům sucha (biomasa a výnos, výška rostlin) (Haberle a kol. 2020a, Haberle a kol. 2018). Průkazné silné vztahy diskriminace ^{13}C , ukazatele dostupnosti vody (Šantrůček a kol. 2018, Raimanová a kol. 2016), k výnosu a PVK prokázaly, že variabilita výnosů byla převážně důsledkem odlišné dostupnosti vody v průběhu růstu (Haberle a kol. 2020). Projevy vodního stresu na porosty plodin byly na sledovaných pozemcích velmi výrazné, suché a teplé podmínky posledních ročníků poskytly vhodné podmínky pro identifikaci těchto zón u nezavlažovaných plodin (Obr. 1).

Postup generování map bilance N

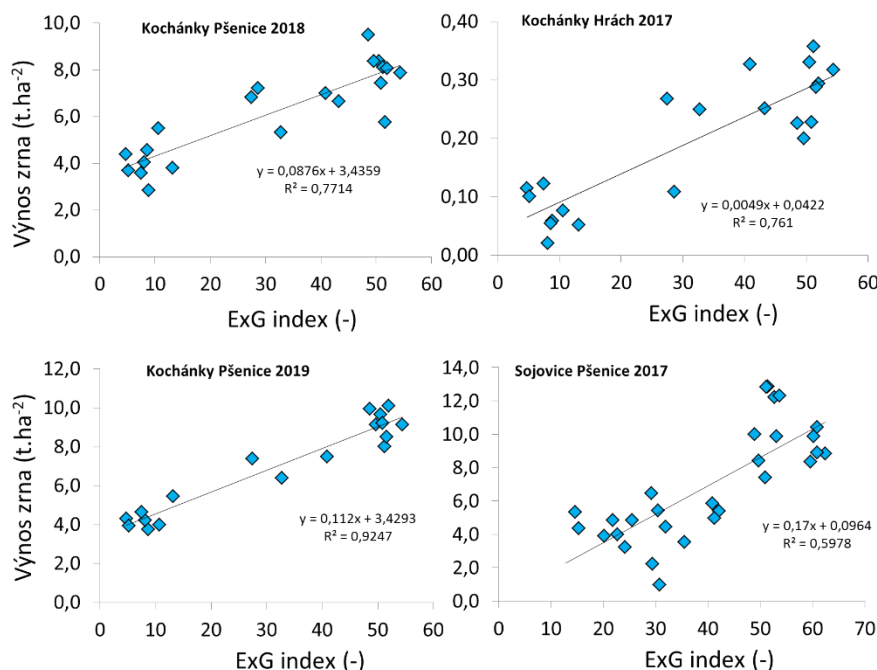
Bilance N byla vypočtena z výnosu a obsahu N v zrně pšenice a hrachu. Sláma zůstává na pozemcích, proto je bilance počítána pouze z výnosu N v zrně exportovaném z pole. Jako input byla počítána celková dávka N v minerálních hnojivech.

Byly využity RGB letecké snímky (Kochánky 2016) a snímky z dronu (Sojovice 2017) porostů v průběhu růstu (snímkování proběhlo vždy jen v jednom termínu). V Kochánkách byly použity letecké snímky porostu cukrovky z roku 2016. Využití starších snímků umožnily prostorově velmi stabilní projevy nedostatku vody na tomto pozemku i v Sojovicích, jako důsledek vztahu k zrnitosti půdy a PVK (Haberle a kol. 2018, 2020a).

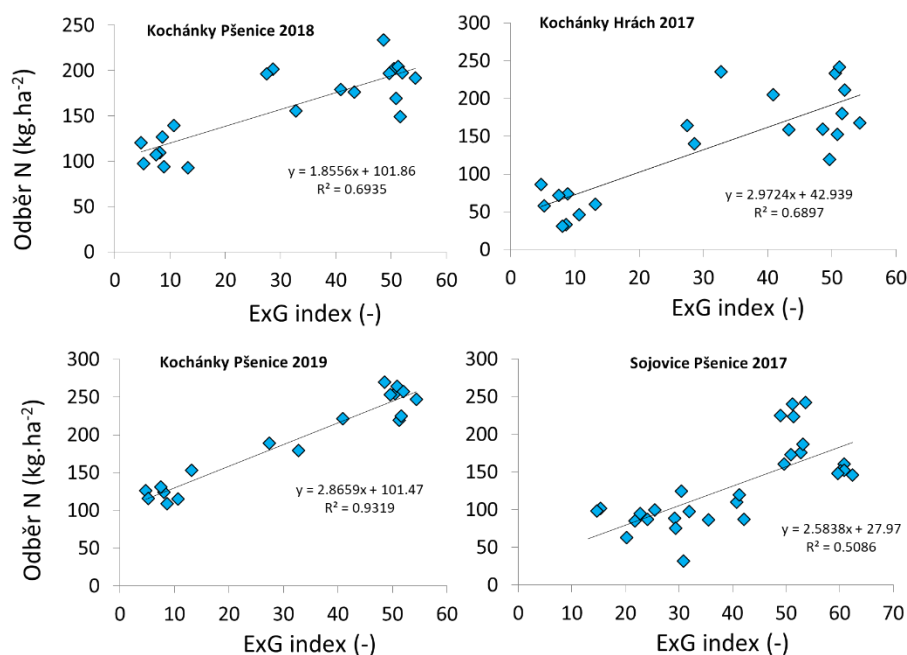
Z RGB snímků porostů byl vypočten index ExG (Excess Green), jako $ExG = 2 \cdot R - G - B$ (Woebbecke a kol. 1995, Hamuda a kol. 2016). ExG index zde tedy slouží jako indikátor půdních podmínek (zrnitostní složení), které se v letech prakticky nemění. Následně byly vypočteny pro každý monitorovaný bod na uvedených pozemcích průměrné hodnoty indexu pro zónu o průměru 2 m a 5 m. Byly vypočteny regresní koeficienty rovnic vztahu ExG a bilance N z údajů v monitorovaných bodech. Vypočtené koeficienty byly na základě snímků použity pro generování map bilance N pro celou plochu pozemků.

Výsledky a diskuze

Hodnoty vegetačního indexu ExG z okolí odběrových bodů (mezi hodnotou ExG z 2m a 5m nebyly významné rozdíly) korelovaly průkazně s hodnotou průměrné vodní kapacity půdy (PVK) ve vrstvě 0–90 cm v Kochánkách ($r=0,90$) a v Sojovicích ($r=0,85$). Nejsilnější vztah indexu RGB byl nalezen k hodnotám PVK ve vrstvě 0–90 cm, slabší vztah byl při použití vodní kapacity půdy pouze z orniční vrstvy 0–30 cm ($r<0,59$). To prokazuje význam vodní kapacity podorničních vrstev pro zásobení rostlin vodou v obdobích s nízkými srážkami. Důvodem slabšího vztahu v Sojovicích jsou zřejmě rozdíly v agrotechnice, které modifikují dopady prostorové variability zrnitostního složení (PVK) a projevů sucha na sledovaných třech pozemcích. Hodnoty PVK korelovaly průkazně se sklizňovou biomasou, výnosem a $\Delta^{13}C$ zrna ($r = 0,8$ až $0,9$) (Haberle a kol. 2018, 2020a, b). Tím se prokázal vztah reakce porostu na půdní podmínky podmiňující zranitelnost suchem a v důsledku i riziko vyplavení nitrátů.



Obr. 2: Vztah RGB indexu porostů a výnosu v Kochánkách a Sojovicích

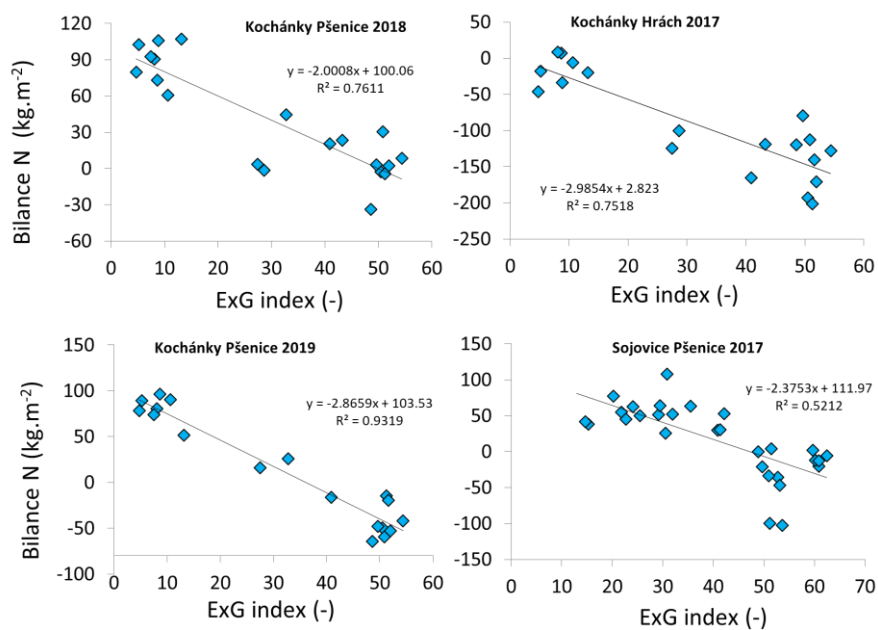


Obr. 3: Vztah RGB indexu porostů a odběru N v Kochánkách a Sojovicích

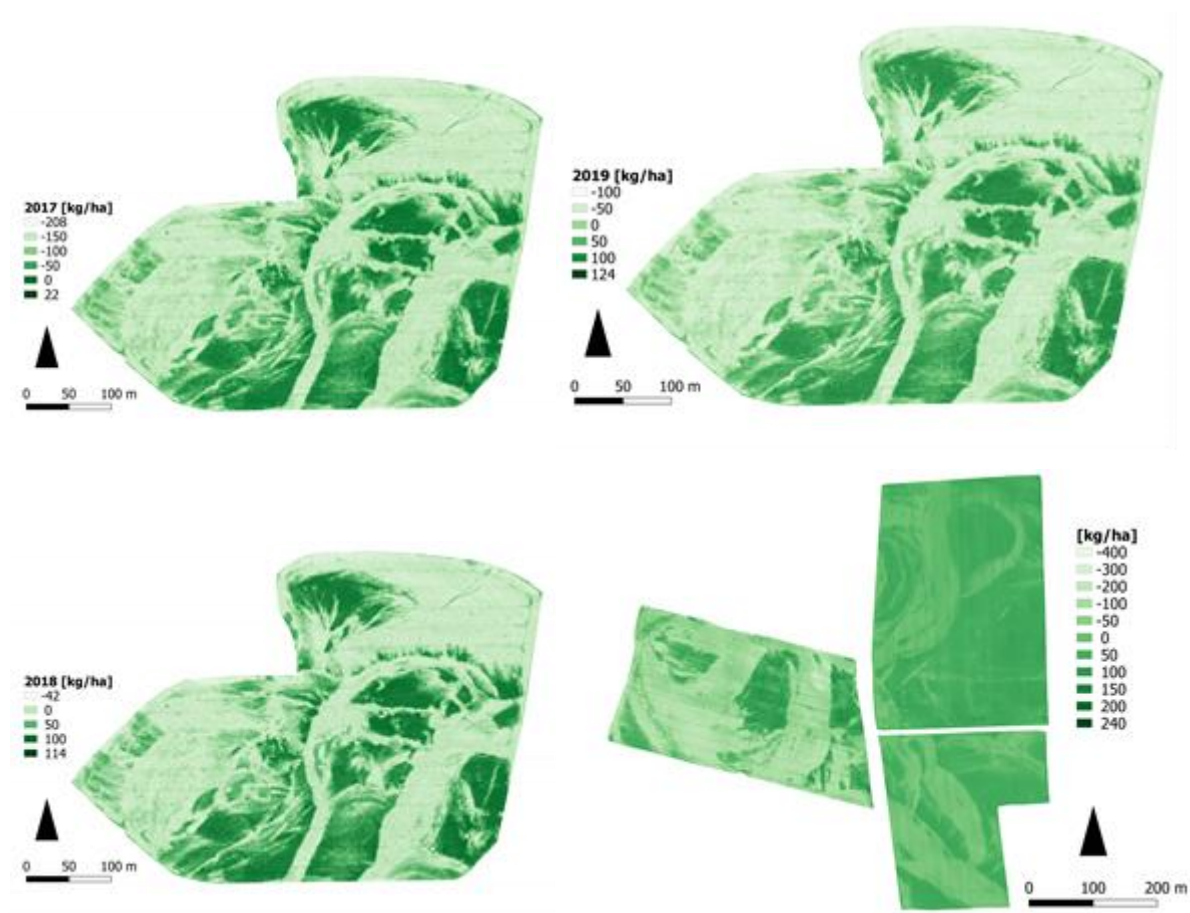
Variabilita výnosu zrna (Obr. 2) generovala velké rozdíly ve výnosu dusíku v zrně, zvláště v Sojovicích (Obr. 3). Vztah výnosu a odběru dusíku zrnem je ovlivněn i dostupností vody, při jejím nedostatku je u pšenice většinou vyšší obsah N (přijatý dusík není nařazen dostatečným růstem). Přesto byla hodnota korelace podobná jako v případě korelace ExG a výnosu. Uvedené vztahy indexu ExG k výnosu a odběru N generovaly průkazný vztah indexu ExG k bilanci N (Obr. 4). Těsnost vztahu je o něco menší než u vztahu ExG a PVK nebo výnosu, ale v případě Kochánek koreluje stav porostu, dopad půdních podmínek, sucha, na cukrovku v roce 2016 s výnosem a odběrem N u hrachu a pšenice v následujících letech. V Sojovicích využíváme snímky porostu tří půdních bloků ve stejném roce, ale jde o různé odrůdy a celkové dávky N. Část plochy bloků So5 a So9 v Sojovicích je mírně svažité (sklonitost 1,6°), což může při silných srážkách ovlivnit stékání vody. Některá odběrová místa na obou lokalitách se protínala s kolejovými řádky, kde opakované pojezdy ovlivňují půdní vlastnosti (Chyba a kol. 2017). Tyto faktory ovlivňují jak hodnotu indexu ExG tak odběr N a snižují těsnost vztahů.

Výsledkem jsou mapy ukazující zóny s nízkou nebo zápornou bilancí N (export N v hospodářském výnosu je vyšší než N dodaný v hnojivech) a naopak kladnou bilanci (export N je menší než dávka N) (Obr. 4). Velmi vysoký rozsah hodnoty bilance N na pozemku So7 je způsoben vysokou hodnotou indexu na zaplevelených místech okolo pat sloupů vysokého napětí a vyústění zavlažovacího systému; část porostu pšenice měla také díky vysokému obsahu dostupného dusíku v půdě a optimálním podmínkám velkou hustotu a výšku rostlin, k polehnutí tak došlo dlouho před snímáním, takže snímaný povrch představovaly ve větší míře listy. Snímání porostů na prostorově variabilních pozemcích, u plodin postižených suchem, lze využít pro indikaci zón s výrazně pozitivní bilancí N (přebytkem dusíku). Tyto informace jsou podkladem pro postupy precizního zemědělství, úpravu případného přihnojení meziplodin, dávky N na slámu a zpřesnění hnojení k následné plodině (např. Anonym 2012).

Prostorová variabilita PVK indikuje současně riziko vyplavení nitrátového N, a tento faktor je nutné zohlednit. Jak naznačuje monitoring obsahu minerálního N před nástupem zimy, zóny s lepší půdou zadržují více dusíku (nepublikováno), zatímco dusík z míst s propustnou půdou se vyplavuje již v průběhu dozrávání a v následném období. To znamená, že pro využití údajů o prostorově variabilní bilanci dusíku je potřeba odhadnout i možné ztráty N v průběhu růstu a v následném období po sklizni.



Obr. 4 Vztah bilance N a ExG indexu v Kochánkách a Sojovicích



Obr. 5. Mapy bilance N v Kochánkách (2017, 2018, 2019) a v Sojovicích (2017)

Závěr

Jednoduché RGB snímkování porostu, v podmínkách, kde prostorová variabilita výnosů a odběru N je hlavně výsledkem dopadů sucha v zónách s odlišnou vodní kapacitou kořenové zóny, umožňuje určit části pozemků s vysokým bilančním přebytkem dusíku.

Dedikace

Příspěvek byl podpořen projekty Technické agentury ČR TH02030133 a projektem Ministerstva zemědělství ČR RO0418.

Použitá literatura

- Anonym 2012: Impact of the Drought on Next Year's Fertilizer Rates. <https://ipm.missouri.edu/ipcm/2012/8/Impact-of-the-Drought-on-Next-Years-Fertilizer-Rates/> (ověřeno 15.10.2020)
- Brom J., Nedbal V., Duffková, R., Fučík, P., Křováková K. 2017: Identifikace kritických zdrojových lokalit pro oblast Kojčice. Soubor specializovaných map s odborným obsahem. VÚMOP, v.v.i., Praha, 28 s. ISBN 978-80-7394-683-8
- Bruthans J., Kůrková I., Kadlecová R. 2019: Factors controlling nitrate concentration in space and time in wells distributed along an aquifer/river interface (Káraný). Hydrogeology Journal 27: 1-16.
- Duffková R. a kol. 2020: Metodika hodnocení vláhových potřeb zemědělských plodin pro účely závlah. Certifikovaná metodika. VÚMOP, v.v.i., Praha, 88 s. ISBN 978-80-88323-12-9
- Duffková R., Lukas V., Fučík P., Marval Š. 2019: Může precizní zemědělství zvýšit účinnost dusíkatých hnojiv? Úroda 67 (12): 18-22.
- Duffková R., Brom J., Žížala D., Zemek F., Procházka J., Nováková E., Zajíček A., Kvítek T. 2012: Určení infiltračních oblastí pomocí vodního stresu vegetace na základě dálkového průzkumu Země a pozemních měření. Certifikovaná metodika. VÚMOP, v.v.i., Praha: 64 s. ISBN: 978-80-87361-15-3
- Haberle J., Kurešová G., Křížová K., Lukáš V., Svoboda P., Raimanová I., Stehlík M. 2020a: Mapy prostorové variability vodní kapacity půdy. In: Hospodaření s vodou v krajině, Rožnovský a kol. (eds.), Třeboň 9-10.9.2020, 14 s. (CD).
- Haberle J., Duffková R., Raimanová I., Fučík P., Svoboda P., Lukas V., Kurešová G. 2020b: The ¹³C discrimination of crops identifies soil spatial variability related to water shortage vulnerability. Agronomy (v tisku)
- Haberle J., Svoboda P., Šimon T., Kurešová G., Henzlová B., Klír J. 2018a: Distribution of mineral nitrogen in soil in relation to risk of nitrate leaching in farms with irrigated vegetables and early potatoes. Journal of Horticultural Research 26: 47-54.
- Haberle J., Svoboda P., Lukáš J., Duffková R. 2018b: Identifikace kritických zdrojových lokalit pro oblast Kochánek a Sojovic. Soubor specializovaných map. VÚRV, v.v.i., Praha-Ruzyně. ISBN 978-80-7427-302-5
- Hamuda E., Glavin M., Jones E. 2016: A survey of image processing techniques for plant extraction and segmentation in the field. Computers and Electronics in Agriculture 125: 184–99.
- Chyba J., Kroulík M., Křištof, K.; Misiewicz, P. 2017: The influence of agricultural traffic on soil infiltration rates. Agronomy Research 15: 664–673.
- Kadlecová R., Bruthans J., Grundloch J., Gvoždík L., Haberle J., Klír J., Kůrková I., Milický M., Růžek P., Herčík L. 2018: Kvartérní sedimenty, podzemní voda a zemědělství. Čes. geol. služba, Praha, 85 s. ISBN 978-80-7075-936-3
- Křížová K., Haberle J., Kroulík M., Kumhálová J., Lukáš, J. 2018: Assessment of soil electrical conductivity using remotely sensed thermal data. Agronomy Research 16 (3): 784–793.

- Kvítek T. (ed.) 2017: Retence a jakost vody v povodí vodárenské nádrže Švihov na Želivce. Povodí Vltavy, stát. podnik, 272 s. ISBN 978-80-270-2488-9
- Lukas V., Novák J., Neudert L., Paulová N., Širůček P. 2018: Metody analýzy a interpretace půdních vlastností pro tvorbu aplikačních map v precizním zemědělství. *Úroda* 66 (12): 319-324.
- Neupane J., Guo W. 2019: Agronomic basis and strategies for precision water management? A review. *Agronomy* 9: 87.
- Novotný M., Kervališvili D.M., Šanta M. 2000: Závlaha poľných a špeciálnych plodín. 1. vydání, Bratislava, PRÍRODA: 312 s.
- Šantrůček J., Šantrůčková H. a kol. 2018: Stabilní izotopy biogenních prvků - Použití v biologii a ekologii. Věda. Academia, 176 s. ISBN 978-80-200-2772-6
- Shahandeh H., Wright A., Hons F.M. 2011: Use of soil nitrogen parameters and texture for spatially-variable nitrogen fertilization. *Precision Agriculture* 12: 146-163.
- Svoboda P., Kurešová G., Neumannová A., Haberle J. 2017: Riziko vyplavení nitrátů u zelenin a plodin s různou hloubkou kořenů. *Úroda* 65 (12): 4 s. (CD).
- Svoboda P., Kurešová G., Raimanová I., Haberle J. 2018: Root depth of field crops and vegetables in the Czech Republic. In: 15th ESA Congress, Ženeva, srpen 2018 (CD): 2 s.
- Váša J. 1960: Půdní vláhové charakteristiky. *Vodohospodářský časopis SAV* 8: 235- 243.
- Woebbecke D., Meyer G., VonBargen K., Mortensen D. 1995: Color indices for weed identification under various soil, residue, and lighting conditions. *Transaction of ASAE* 38 (1): 271–281.

Kontaktní adresa:

Ing. Jan Haberle, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně
e-mail: haberle@vurv.cz, +420 702 087697

VLIV OBOHACENÉHO DIGESTÁTU NA PŮDNÍ RESPIRACI

Effect of Enriched Digestate on Soil Respiration

Hammerschmiedt T.^{1,2}, Brtnický M.^{1,2}, Holátko J.², Hammerschmiedt M.¹, Látal O.¹

¹Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta

²Mendelova univerzita v Brně, Lesnická a dřevařská fakulta

Abstrakt

Digestát je hojně používaným hnojivem obsahujícím značné množství minerálních látek (N, P, K), jejich využití může být zefektivněno obohacením digestátu biouhlem nebo huminovými látkami. Navíc mají tyto přídavné látky pozitivní účinky na fyzikální, chemické i biologické parametry půdy. Cílem této studie bylo porovnat vliv neupraveného a biouhlem nebo huminovými látkami obohaceného digestátu na bazální a substráty indukované půdní respirace v rámci nádobového pokusu s žitem setým (*Secale cereale*). Nulová hypotéza, která předpokládala pozitivní ovlivnění respirací přídavkem obohaceného digestátu v porovnání s digestátem bez úpravy, byla potvrzena. Obohacení digestátu o biouhel či huminové látky vedlo ke zvýšení substrátem indukovaných respirací, lze tedy předpokládat lepší využití živin na bázi dusíku a labilního uhlíku v půdě z důvodu zvýšené aktivity půdního mikrobiálního společenstva.

Klíčová slova: biouhel, huminové látky, Humac, nádobový pokus, MicroResp

Abstract

Digestate is a widely used fertilizer containing a significant amount of minerals (N, P, K). The use efficacy of these minerals can be enhanced by enrichment of digestate with biochar or humic substances. Moreover, these additives have positive effects on the physical, chemical and biological parameters of the soil. The aim of this study was to compare the effect of untreated and biochar- or humic-enriched digestate on basal and substrate-induced soil respiration in a pot experiment with rye (*Secale cereale*). The null hypothesis, which assumed a positive effect of the addition of enriched digestate on respiration in comparison with a digestate without modification, was confirmed. The enrichment of digestate with biochar or humic substances led to an increase in substrate-induced respiration, i.e. to a presumably higher rate of utilization of nutrients containing nitrogen and labile carbon in the soil, and to the increased activity of the soil microbial community.

Key words: biochar, humic substances, Humac, pot experiment, MicroResp

Úvod

Digestát je odpadním produktem z výroby bioplynu, který je nejčastěji využíván v zemědělství jako hnojivo obsahující značné množství minerálních látek, především N, P, K (Koszel a Lorencowicz, 2015). Aplikace digestátu na zemědělskou půdu však přináší i potenciální rizika jako je vyplavování živin, fytotoxicita, zvýšená salinita nebo zvýšené emise amoniaku (Barzee a kol., 2019). Tyto negativní účinky mohou být zmírněny koaplikací půdních přípravků na bázi huminových kyselin či biouhlu jejichž pozitivní účinky na fyzikální, chemické i biologické parametry půd uvádí mnoho autorů (např. Lehmann a Joseph, 2015; Liu a kol., 2016; Al-Maliki a kol., 2018; Li a kol., 2019). Navíc může obohacení digestátu biouhlem nebo huminovými látkami pomoci vyššímu využití živin v něm obsažených.

O zdraví a vitalitě půdy významně vypovídá půdní respirace, která odráží mikrobiální aktivitu sledované půdy (Haney a kol., 2018). Bazální respirace bývá za přirozených podmínek velmi nízká, ale přidáním různých oxidovatelných substrátů lze výrazně stimulovat katabolismus

specifických funkčních skupin půdních mikroorganismů (Chen a kol., 2007). K určení funkční diverzity půdního společenstva je vhodné zvolit substráty, které se přirozeně vyskytují v půdě např. ve formě kořenových exudátů nebo složek humusu. Mezi takovéto substráty patří např. aminokyseliny (alanin, lysin, arginin), org. kyseliny (citronová) či sacharidy (glukóza, trehalóza, glukosamin), (Campbell a kol., 2003).

Cílem této studie je porovnat vliv neupraveného a biouhlem nebo huminovými látkami obohaceného digestátu na bazální a substráty indukované půdní respirace. Nulová hypotéza předpokládá pozitivní ovlivnění respirací přidavkem obohaceného digestátu v porovnání s digestátem bez úpravy. Jedná se o nový přístup vedoucí k lepšímu využití a zvýšení hnojivého potenciálu digestátu, který bývá hojně aplikován na zemědělskou půdu.

Materiál a metody

Obohacený digestát byl připraven společným zráním s přidavnými látkami (biouhel, Humac) dle variant v **Tab. 1**. Použitý biouhel byl vyroben pyrolýzou při 400 °C ze zemědělského odpadu společnosti Sonnenerde GmbH (Rakousko). Použitý pomocný půdní přípravek na bázi huminových látek od společnosti EnviProdukt (ČR) nese obchodní název Humac Agro.

Kontrolní a obohacený digestát byl uzavřen v těsných nádobách (vždy 3 opakování na variantu) a ponechán bez míchání po dobu 6 týdnů při laboratorní teplotě. Takto připravený digestát byl následně důkladně promíchán a aplikován do nádobového pokusu s žitem setým (*Secale cereale*).

Tab. 1: Testované varianty obohaceného digestátu

Varianta	Dávkování pro zrání			Hnojivá dávka		
	Digestát [dm ³]	Humac [kg]	Biouhel [kg]	Digestát [m ³ ·ha ⁻¹]	Humac [t·ha ⁻¹]	Biouhel [t·ha ⁻¹]
Kontrola	10	-	-	50	-	-
Humac	10	0,1	-	50	0,5	-
Biouhel	10	-	4	50	-	20

Jako pěstební substrát sloužila v nádobovém pokusu směs půdy přesáté skrze síto o velikosti ok 2 mm a jemného křemičitého písku. Použitá půda byla odebrána z hloubky 0-15 cm na pokusných polích nedaleko obce Troubsko, jednalo se o středně těžkou hnědozem modální. Do každého z 15 květináčů (5 na variantu) o objemu 2 dm³ byly naváženy 2 kg tohoto substrátu. Do vrchních 5 cm byl zapraven obohacený digestát dle variant (Tab. 1) v dávce odpovídající 50 m³·ha⁻¹ a následně bylo do každého květináče zaseto 20 zrn žita. Takto připravené květináče byly nahodile rozmístěny do pokusného skleníku na Ústavu agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin na Agronomické fakultě Mendelovy univerzity v Brně. Po dobu pokusu byla nastavena dvanáctihodinová fotoperioda s teplotou 20/12 °C (den/noc). Po 3 týdnech byl počet rostlinek v každém květináči snížen na 10.

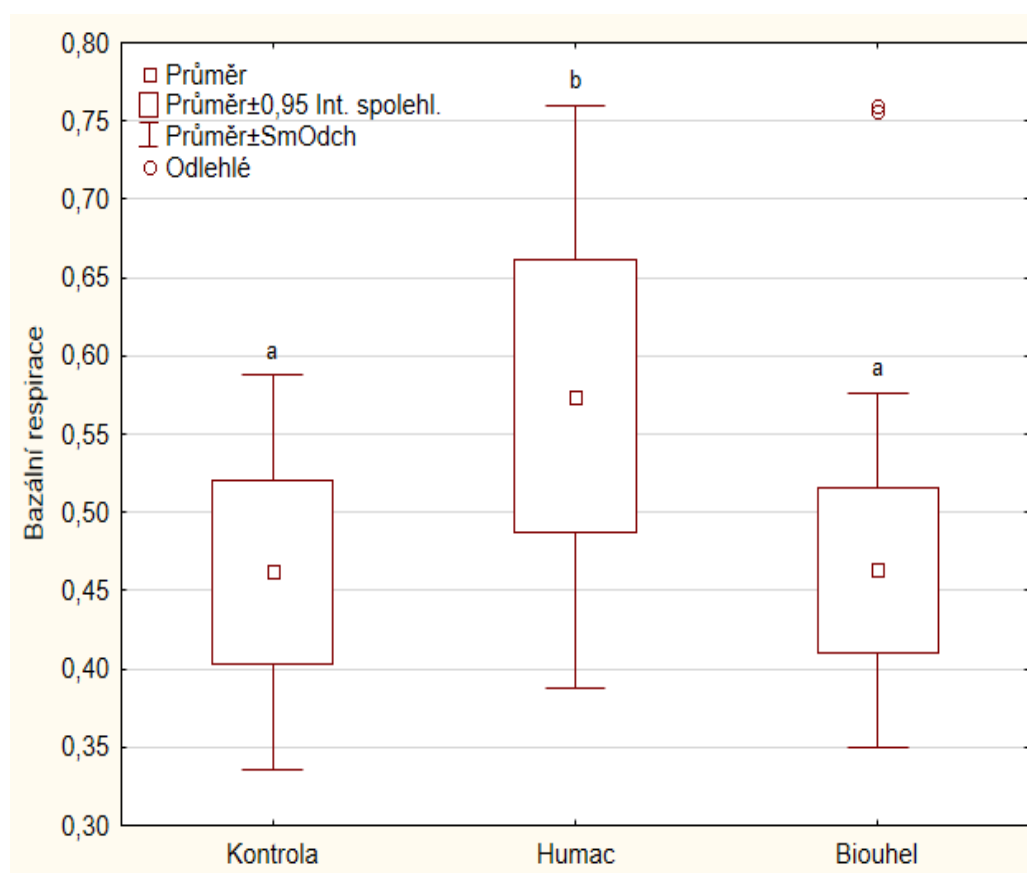
Pokus byl ukončen po 12 týdnech od výsevu. Z každého květináče byl odebrán směsný půdní vzorek, který byl uchován při teplotě 4 °C. Po 2 týdnech byl půdní vzorek zanalyzován pomocí zařízení MicroResp dle oficiálního návodu dodávaného výrobcem (Technical Manual v2.1, The James Hutton Institute) a dle metodiky, kterou uvádí Campbell a kol. (2003). Stanovena byla bazální respirace bez přidání zdroje energie a substrátem indukované respirace (IR), k jejichž stanovení byly použity specifické energetické zdroje (D-glukóza, kyselina citronová, D-trehalóza, N-acetyl-β-D-glukosamin, L-alanin, L-lysin, L-arginin). Každý vzorek byl změřen ve 4 opakováních. Výsledná respirace je vyjádřena v μg CO₂·g⁻¹·h⁻¹.

Ke statistickému vyhodnocení a grafickému znázornění výsledků byl použit software Statistika verze 12. Výsledky Tukeyova HSD testu, tedy statisticky významné rozdíly ($p < 0,05$) mezi variantami, jsou vyjádřeny rozdílnými písmeny (a, b) v grafech.

Výsledky a diskuze

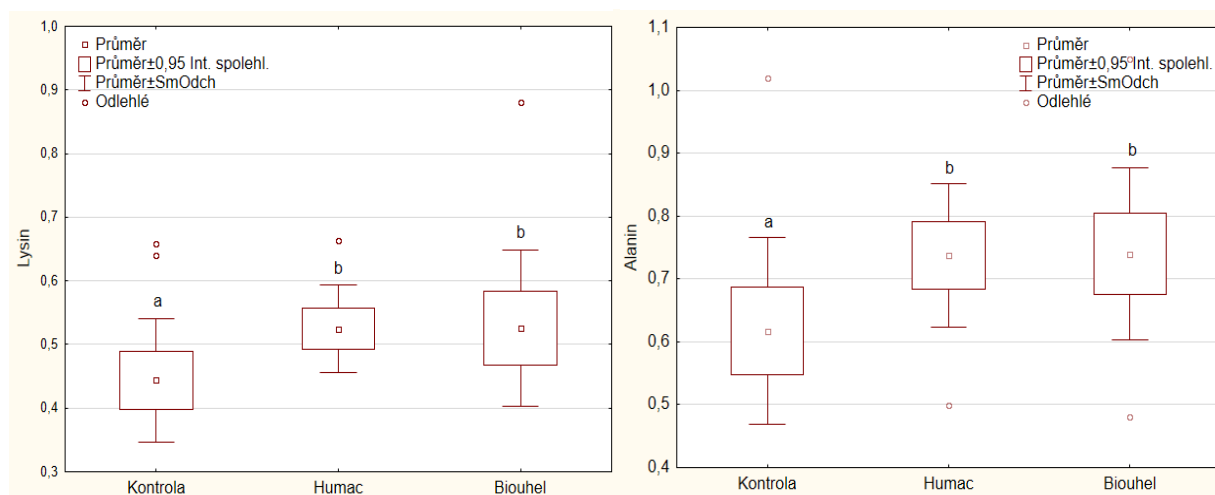
Bazální respirace (Graf 1) byla vůči kontrole (neobohacenému digestátu) pozitivně ovlivněna pouze přidavkem Humacu. Což je v souladu s předchozími studiemi, které uvádějí pozitivní vliv přidavku huminových látek na biologické, fyzikální i chemické vlastnosti půd a růst rostlin (Al-Maliki a kol., 2018; Li a kol., 2019). Na druhou stranu vliv přidavku biouhlu na půdní respiraci se v literatuře značně liší a pohybuje se od negativního ke kladnému, jak shrnují Lehmann a Joseph (2015). V případě naší studie biouhel bazální respiraci statisticky významně neovlivnil.

Graf 1: Bazální respirace [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]



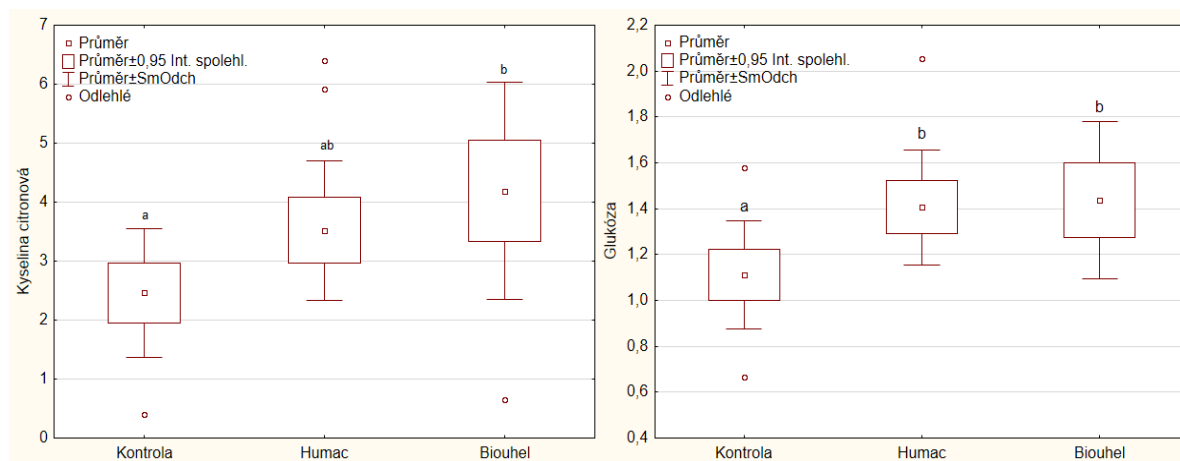
Oproti tomu došlo ke statisticky významnému zvýšení substrátem indukované respirace v případě sledovaných aminokyselin, lysinu a alaninu, (Graf 2) po obohacení digestátu oběma přidavnými látkami. Obě tyto aminokyseliny jsou snadno mineralizovatelnou součástí půdních huminových látek (Ding a kol., 2001) a míra jejich mineralizace v půdě zrcadlí proces přeměny dusíkatých látek v daném prostředí. Z dosažených výsledků lze vyvodit, že obohacení digestátu biouhlem či huminovými látkami vede k vyšší míře využití živin na bázi dusíku půdní mikroflórou. Což se shoduje s předchozími studiemi, které uvádějí vyšší míru využití živin po aplikaci biouhlu (Liard a kol., 2010) a huminových látek (Suman a kol., 2017) do půdy.

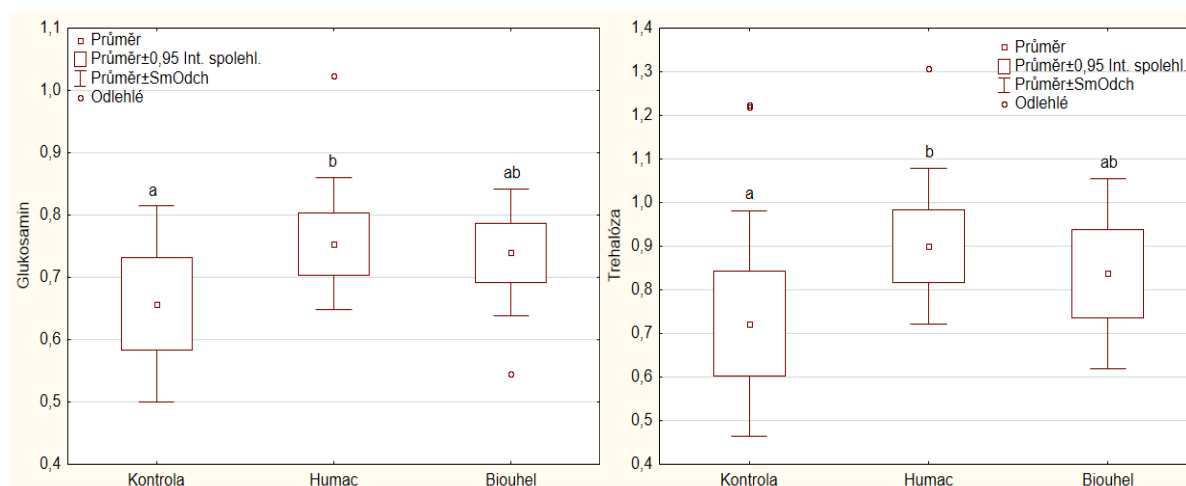
Graf 2: Obohacení Lysinem a alaninem IR [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]



Biouhel (Lehmann a kol., 2006) i Humac (Kontchou & Blondeau, 1990) jsou zdrojem stabilního uhlíku a vytváří pro půdní mikrobiální společenstvo vhodné prostředí, ale ani jeden nepředstavuje primární zdroj energie. Ovšem po přidání uhlíkatých substrátů došlo ke zvýšení substrátem indukované půdní respirace (Graf 3 a Graf 4), a tedy k vyšší míře mineralizace uhlíkatých látek, u obou obohacených digestátů. Míra mineralizace glukózy, dalšího snadno využitelného energetického zdroje, se statisticky průkazně zvýšila po přidavku obou obohacených digestátů. Avšak pozorované zvýšení mineralizace dalších uhlíkatých substrátů bylo statisticky průkazné pouze pro biouhel v případě kyseliny citronové, a naopak pouze pro Humac v případech trehalózy a glukosaminu. Glukosaminem IR a částečně též trehalosou IR indikuje aktivitu půdních hub. Na základě dosažených výsledků (Graf 4) lze tedy říci, že přidavek Humacu má statisticky významný pozitivní účinek na tuto část půdního mikrobiálního společenstva, což uvádí také Li, a kol., (2019).

Graf 3: Obohacení kyselinou citronovou a glukózou IR [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]



Graf 4: Obohacení glukosaminem a trehalózou IR [$\mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]

Závěr

Cílem této studie bylo porovnat vliv neupraveného a biouhlem nebo huminovými látkami obohaceného digestátu na bazální a substráty indukované půdní respirace, které reflektují aktivitu půdního mikrobiálního společenstva. Nulová hypotéza, která předpokládala pozitivní ovlivnění respirací přidavkem obohaceného digestátu v porovnání s digestátem bez úpravy, byla potvrzena. Obohacení digestátu o biouhel či huminové látky vedlo v rámci nádobového pokusu s žitem setým (*Secale cereale*) ke zvýšení půdních substrátem indukovaných respirací. Z dosažených výsledků lze vyvodit, že obohacení digestátu oběma výše uvedenými přídatnými látkami vedlo k podpoře aktivity půdního mikrobiálního společenstva a k vyšší míře využití živin na bázi dusíku a labilního uhlíku v půdě.

Použitá literatura

- Al-Maliki, S., AL-Mammory H. & J. Scullion (2018). Interactions between humic substances and organic amendments affecting soil biological properties and growth of *Zea mays* L. in the arid land region. *Arid Land Research and Management*, 32(4): 455-470.
- Barzee, T. J., Edalati, A., El-Mashad, H., Wang, D., Scow, K. & R. Zhang (2019). Digestate Biofertilizers Support Similar or Higher Tomato Yields and Quality than Mineral Fertilizer in a Subsurface Drip Fertigation System. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 3: článek č. 58
- Campbell, C. D., S. J. Chapman, C. M. Cameron, M. S. Davidson & J. M. Potts (2003). A Rapid Microtiter Plate Method To Measure Carbon Dioxide Evolved from Carbon Substrate Amendments so as To Determine the Physiological Profiles of Soil Microbial Communities by Using Whole Soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(6): 3593-3599.
- Ding G., Mao J. & B. Xing (2001). Characteristics of amino acids in soil humic substances. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 32 (13-14):1991-2005.
- Haney, R. L., Haney, E. B., White, M. J. & D. R. Smith (2018). Soil CO₂ response to organic and amino acids. *Applied Soil Ecology*, 125: 297-300.
- Chen, J., Xie, H., Zhuang, X., Zhuang, G., Bai, Z. & H. Zhang (2007). Substrate-induced changes in microbial community-level physiological profiles and their application to discriminate soil microbial communities. *Journal of Environmental Sciences*, 20: 725-731.
- Kontchou, C. Y. & R. Blondeau (1990). Effect of heterotrophic bacteria on different humic substances in mixed batch cultures. *Canadian Journal of Soil Science*, 70: 51-59.

- Koszel, M. & E. Lorencowicz (2015). Agricultural use of biogas digestate as a replacement fertilizers. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 7: 119-124.
- Laird, D., Fleming, P., Wang, B., Horton, R. & D. Karlen (2010). Biochar impact on nutrient leaching from a Midwestern agricultural soil. *Geoderma*, 158: 436-442.
- Lehmann, J. & Joseph, S. (eds) (2015) *Biochar for environmental management: Science, Technology and Implementation*. 2. vydání. London, New York: Routledge, Taylor & Francis Group. ISBN 978-0-415-70415-1.
- Lehmann, J., Gaunt, J., & M. Rondon (2006). Biochar sequestration in terrestrial ecosystems – a review. *Mitigation and Adaption Strategies for Global Change*, 11: 395-419.
- Li, Y., Fang, F., Wei, J., Wu, X., Cui, R., Li, G., Zheng, F. & D. Tan (2019). Humic Acid Fertilizer Improved Soil Properties and Soil Microbial Diversity of Continuous Cropping Peanut: A Three-Year Experiment. *Scientific Reports*, 9: článek č. 12014.
- Liu, Y., Lu, H., Yang, S. & Y. Wang (2016). Impacts of biochar addition on rice yield and soil properties in a cold waterlogged paddy for two crop seasons. *Field Crops Research*, 191: 161-167.
- Suman, S., Spehia, R. S. & V. Sharma (2017). Humic acid improved efficiency of fertigation and productivity of tomato. *Journal of plant nutrition*, 40(3): 439–446.

Dedikace

Tato studie byla podpořena z projektů TAČR TH03030319 „Podpora funkční diverzity půdních organismů aplikací klasických a modifikovaných stabilních organických hmot při zachování produkčních vlastností půd“ a TH04030132 „Systémy aplikace tekutých organických hnojiv jako prostředek ke zlepšení půdního prostředí, zvýšení využitelnosti živin rostlinami a jako prostředek k minimalizaci dopadů na životní prostředí“.

Kontaktní adresa:

Ing. Tereza Hammerschmiedt
Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta
Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin
Zemědělská 1, 613 00 Brno
e-mail: tereza.hammerschmiedt@mendelu.cz

VLIV POMOCNÝCH PŮDNÍCH LÁTEK NA MNOŽSTVÍ A SLOŽENÍ PŮDNÍ MIKROFLÓRY

Effect of Soil Amendments on Soil Microbial Biomass and Composition

Holátko J.¹, Hammerschmidt T.^{1,2}, Kintl A.^{2,3}, Látal O.^{2,4}, Brtnický M.^{1,2}

¹Mendelova univerzita v Brně, Lesnická a dřevařská fakulta

²Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta

³Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko

⁴Agrovýzkum Rapotín s.r.o.

Abstrakt

Aplikace pomocných půdních látek (sorbenty, minerální přípravky, organické látky) může ovlivnit fyzikálně-chemické vlastnosti, obsah živin, biologickou bohatost a aktivitu v půdě. Množství a složení půdního mikrobiálního společenství určuje kvalitu půdy. Proto byly v tříletém polním experimentu testovány 3 typy pomocných půdních látek (bentonit, NeOsol, saturační kaly). V rámci maloparcelkového pokusu byl sledován jejich účinek na mikrobiální vlastnosti půdy v porovnání s kontrolní neošetřenou půdou. Všechny 4 varianty vykazovaly: rozdíly v celkové, bakteriální a fungální biomase, stanovené jako obsah fosfolipidových mastných kyselin a jako obsah bakteriální (16S) a fungální (18S) rDNA, a také rozdíly v biomase bakterií oxidujících amoniak (AOB). Nejvyšší obsah mikroorganismů (16S, PLFA, AOB) byl u varianty s aplikací přípravku NeOsol.

Klíčová slova: bakterie, houby, bakterie oxidující amoniak, fosfolipidické mastné kyseliny

Abstract

The application of soil amendments (sorbents, mineral preparates, organic matter) may serve to affect physico-chemical properties, nutrient content, biological abundance and activity in soil. The abundance and composition of soil microbial community is a determinant of soil quality. Therefore, 3 types of amendments (bentonite, NeOsol, sugar production sludge) were tested in the 3-year small-scale-plot field experiment. Their effect on microbial soil properties was monitored and compared to the control unamended soil. All 4 variants exerted differences: in the total, bacterial, fungal biomass determined by phospholipidic fatty acid content and by bacterial (16S) and fungal (18S) rDNA content, as well as in the ammonia-oxidizing bacteria (AOB) biomass. The highest microbial abundance (16S, PLFA, AOB) showed the variant amended with NeOsol.

Key words: bacteria, fungi, ammonia-oxidizing bacteria, phospholipidic fatty acids

Úvod

Hnojení v zemědělství ovlivňuje kvalitu a úrodnost půdy. Nadměrné používání chemických minerálních hnojiv vede ke snižování kvality půdy a změnám v půdní mikrobiotě. (Geisseler a Scow 2014). K zachování skladby a obsahu půdního mikrobiomu lze použít tzv. pomocné půdní látky různých typů (Bell 1996; Rashid a kol. 2017), např. na organo-minerální (saturační kaly, bentonit) nebo minerální bázi (NeOsol), s potenciálem pozitivního ovlivnění struktury půdy, využití živin a také množství biomasy bakterií, hub a dalších (funkčních) skupin mikroorganismů. Např. bentonit zlepšuje fyzikální, chemické a biologické vlastnosti půd (Sequi 1989) a zvyšuje půdní enzymatické aktivity (Mi a kol. 2018). Také odpadní produkty zpracování cukrové řepy a třtiny představují zajímavou alternativu ke konvenčním půdním přísadám. Několik studií popisuje zlepšení kvality půdy aplikací nefermentovaných (Silvia a kol. 2014) nebo fermentovaných odpadů z výroby cukru (Alguacil a kol. 2006).

Cílem práce bylo v časovém horizontu 3 let ověřit v maloparcelových pokusech vliv aplikace 3 typů pomocných půdních látek, na obsah a skladbu půdního mikrobiálního společenství v ornici, za podmínek konvenčního hnojení NPK hnojivy a osevních a agrotechnických postupů v místě obvyklých. Testovali jsme hypotézu, že aplikace pomocných půdních látek zvýší obsah biomasy sledovaných skupin mikroorganismů v porovnání s kontrolní půdou bez aplikace.

Materiál a metody

Pokus byl proveden v letech 2014-2017 na lokalitě „Postoupky“ (220 m n. m., 49.3181369N, 17.3588228E), okr. Kroměříž. Půdní druh: písčito-hlinitý. Varianty pokusu: (1) pouze NPK (minerální hnojivo) jako kontrola, (2) NPK + bentonit ($6 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$), (3) NPK + saturační kaly ($30 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$), (4) NPK + NeOsol ($450 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$). Aplikace minerálního hnojení NPK hnojivy v letech 2014 – 2017 byla dle příslušných normativů k dané plodině v rámci osevních a agrotechnických postupů v místě obvyklých: 1. sezóna (2015) = silážní kukuřice (*Zea mays*) FAO 250 hybrid LAVENA – N $185 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, P $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, K $190 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$; 2. sezóna (2016) = jarní ječmen (*Hordeum vulgare*) KWS IRINA – N $140 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, P $30 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, K $80 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$; 3. sezóna (2016/2017) = pšenice ozimá (*Triticum aestivum*) FAKIR - N $180 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, P $35 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$, K $95 \text{ kg} \cdot \text{ha}^{-1}$. Bentonit byl aplikován jednorázově na podzim v roce 2014, ostatní 2 pomocné půdní látky byly aplikovány poměrnou částí každý rok – saturační kaly (před orbou) a NeOsol (před setím). U variant je uvedena celková aplikovaná dávka.

Výrobce aplikovaného bentonitu (Ekobent B), KERAMOST, a.s. (ČR), deklaruje následující vlastnosti: sušina 95 %; pH 9,0; zrnitost 0–2 mm; obsah montmorillonitu ~70 %; SiO_2 ~53,5 %; Al_2O_3 ~2,4 %; Na_2O ~0,25 %; K_2O ~0,75 %; Li_2O ~0,1 %; P_2O_5 ~0,1 %; H_2O^+ ~5,8 %. NeOsol (PRP SA, Francie) je pomocný půdní přípravek na bázi uhličitánů vápenatého a hořečnatého s příměsí makro- a mikroelementů, o následujících vlastnostech: sušina 98,9 %; spalitelné látky v sušině 25,0 %; pH 8,0 – 10,0; vápník (jako CaO) 28,0 %; hořčík (jako MgO) 15,9 %. Saturační kaly byly vyrobeny v ČR jako vedlejší produkt při zpracování řepy, jeho vlastnosti a složení byly: sušina 65 %; pH $\geq 8,0$; 11,4 % organické látky; 30,0 % CaO; 1,4 % MgO; 0,3 % N; 1,3 % P_2O_5 ; 0,2 % S; 0,1 % K_2O .

Experimentální plocha byla rozdělena na 12 maloparcelek ($10 \times 10 \text{ m}$), tedy tři maloparcelky na každou ze čtyř pokusných variant. Půdní vzorky byly odebrány bezprostředně po sklizni pšenice ozimé v roce 2017. Z každé experimentální varianty byly z hloubky 0-15 cm (ornice) odebrány půdním vrtákem 3 směsné vzorky. Každý směsný vzorek se skládal z pěti homogenizovaných dílčích vzorků. Vzorky byly transportovány do laboratoře, homogenizovány prosátím přes 2 mm síto za sterilních podmínek a lyofilizovány.

Vzorky pro kvantifikaci mikrobiální biomasy analýzou PLFA byly extrahovány ze směsi pufru chloroform-methanol-fosfát (1:2:0,8) (Bligh a Dyer 1959). Fosfolipidy byly odděleny pomocí kolonek pro extrakci na pevné fázi (LiChrolut Si 40, Merck, USA). Vzorky byly poté podrobeny mírné alkalické methanolýze a extrahovány do hexanu jako finálního rozpouštědla (Oravec a kol. 2004). Volné methylestery fosfolipidových mastných kyselin byly analyzovány pomocí plynové chromatografie-hmotnostní spektrometrie (Agilent 7890A s detektorem FID, Agilent Technologies, USA). Methylované mastné kyseliny byly identifikovány podle jejich hmotnostních spekter a za použití směsi chemických standardů získaných od Sigma Aldrich (Merck, USA) / Matreya LLC (USA). Bakteriální biomasa byla kvantifikována jako součet $i14:0$, $i15:0$, $a15:0$, $16:1\omega7$, $16:1\omega9$, $16:1\omega7$, $10\text{Me}-16:0$, $i17:0$, $a17:0$, $cy17:0$, $17:0$, $10\text{Me}-17:0$, $10\text{Me}-18:0$ a $cy19:0$ (BPLFA). Biomasa aerobních mikroorganismů (PLFA_{aerob}) byla kvantifikována jako součet $16:1\omega5$, $16:1\omega7$, $17:0\omega6$, $17:1\omega9$, $18:1\omega9$, $18:2\omega6$ (Vestal a White 1989), biomasa anaerobních bakterií (PLFA_{anaer}) byla kvantifikována jako $cy17:0$ a $cy19:0$ (Vestal a White 1989). Mastné kyseliny vyskytující se v bakteriích i houbách, $15:0$, $16:0$ a $18:1\omega7$, byly z analýzy vyloučeny. Celkový obsah všech molekul PLFA (PLFAT) byl použit jako indikátor celkové mikrobiální biomasy.

DNA pro qPCR kvantifikaci byla extrahována z 0,3 g půdy pomocí sady E.Z.N.A.® Soil DNA Kit (Omega Bio-tek, USA). Celkové bakterie byly stanoveny kvantifikací parciální 16S rDNA (primery 1108F a 1132R (Amann a kol. 1995)), celkové houby kvantifikací 18S rDNA (primery FF390 a FR1 (Vainio a Hantula 2000)) a bakterie oxidující amoniak (AOB) byly kvantifikovány pomocí specifické 16S podle protokolu (Hermansson a Lindgren 2001) (primery CTO189FA/B, CTO189FC, RT1R). Použita byla platforma SYBR-Green na přístroji CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad Laboratories, USA).

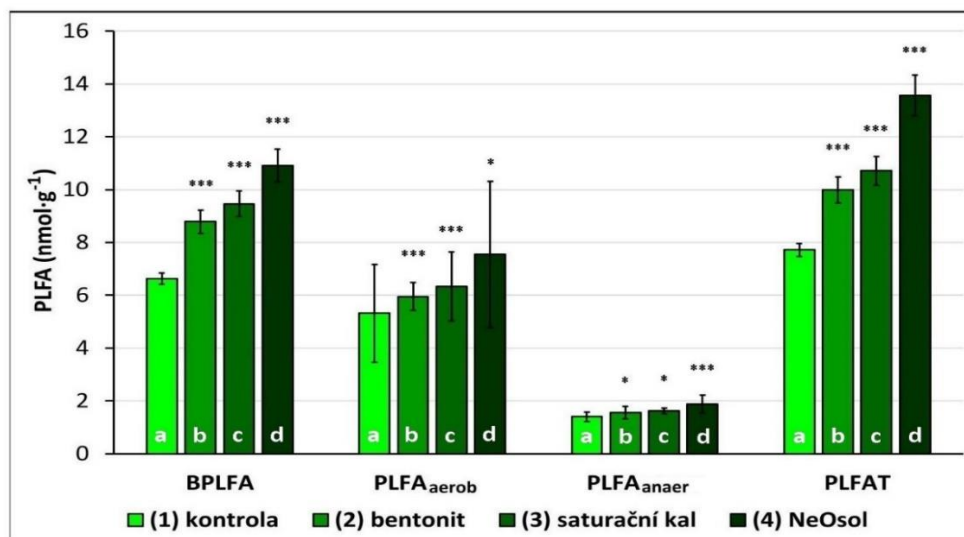
Porovnání souborů dat bylo provedeno jednosměrnou analýzou rozptylu (ANOVA) a srovnávacími metodami. Byl použit Tukey's HSD posthoc test a $p < 0,05$ byl považován za statisticky významný. Všechna data byla analyzována s použitím softwarového balíčku Statistica ver. 13.4.0.14.

Výsledky a diskuze

Výsledky hodnocení mikrobiální biomasy stanovené jako celkový obsah fosfolipidických mastných kyselin ukázal signifikantní rozdíly mezi všemi pokusnými variantami v porovnání s kontrolní variantou i mezi sebou navzájem (Graf 1).

Statisticky průkazně byl nejvyšší obsah půdních bakteriálních PLFA, PLFA aerobních mikrobů, anaerobních bakterií i celkové mikroflóry (PLFAT) u varianty (4) NeOsol. V porovnání s kontrolou (1) byl dále statisticky významně zvýšen obsah fosfolipidických FA všech uvedených skupin mikroorganismů v půdě s aplikací bentonitu (2) a saturačních kalů (3). Tyto výsledky potvrdily náš předpoklad dlouhodobého pozitivního účinku užití pomocných půdních látek na mikrobiální biomasu v testované půdě, což je ve shodě s již dříve publikovanými výsledky prokazující prospěšné působení přísad typu montmorillonitu (Abbate a kol. 2009), odpadů z výroby cukru (Yang a kol. 2013) a minerálních vápenno-horečnatých materiálů (Balland-Bolou-Bi a Poszwa 2012) na množství, aktivitu a funkční složení bakterií a dalších mikroorganismů v hospodářsky využívané půdě.

Graf 1: Vliv pomocných půdních látek na obsah půdní mikrobiální biomasy (PLFA)



Sloupcový graf se směrodatnou odchylkou. Různá písmena označují statisticky významné rozdíly při: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

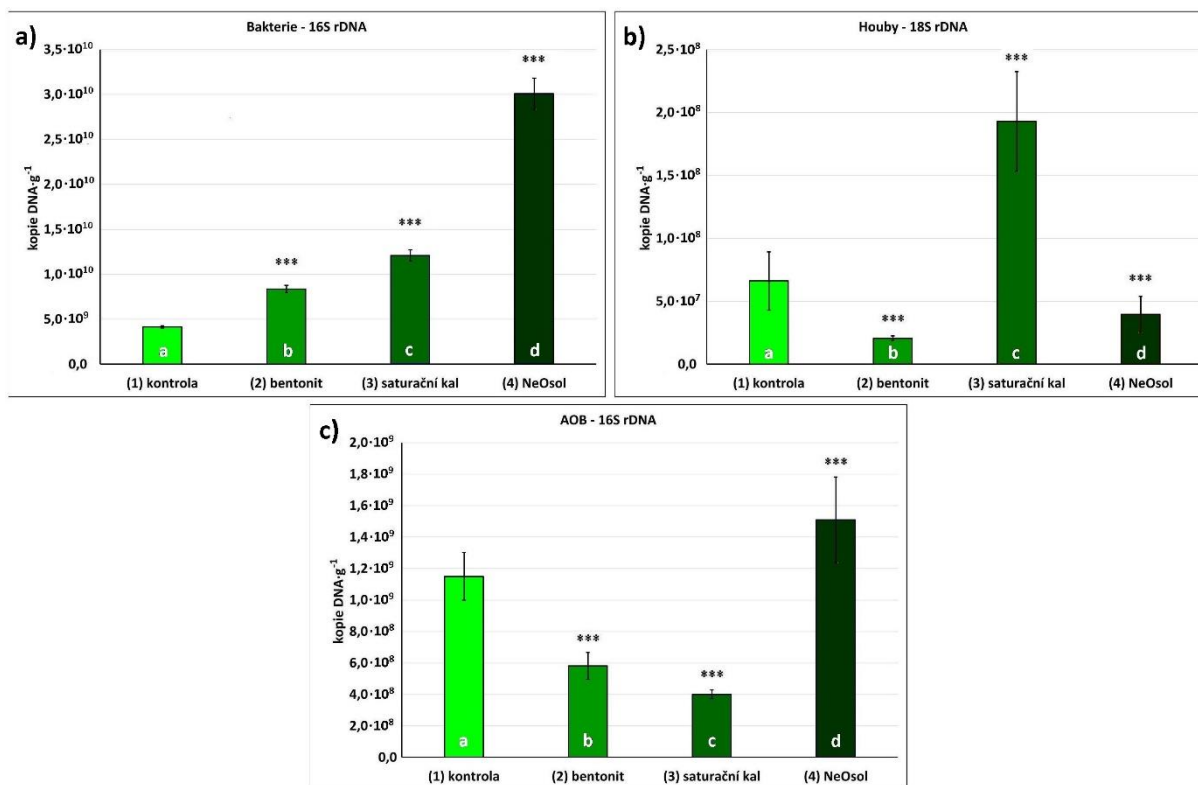
Množství specifické DNA extrahované z půdní mikrobiální biomasy bylo statisticky významně rozdílné u všech pokusných variant v porovnání s kontrolní variantou i mezi jednotlivými variantami navzájem (Graf 2).

Výsledky stanovení mikrobiální biomasy kvantifikací bakteriální 16S rDNA podpořily výsledky zjištěné stanovením obsahu půdních mikrobiálních PLFA. Signifikantně nejvyšší obsah celkové bakteriální biomasy byl zjištěn u varianty (4) NeOsol ($3,01 \cdot 10^{10}$ kopií 16S rDNA $\cdot g^{-1}$ půdy), v porovnání s kontrolou (1) byl statisticky významně zvýšený obsah bakterií i v půdě s aplikací bentonitu (2) a saturačních kalů (3) – Graf 2a.

Obsah fungální biomasy byl v kontrolní variantě (1) neočekávaně vysoký, dokonce signifikantně vyšší než obsah fungální biomasy ve variantách s aplikací bentonitu (2) a přípravku NeOsol (4) – Graf 2b. Avšak signifikantně nejvyšší obsah celkové houbové biomasy byl zjištěn ve variantě (3) s aplikací saturačních kalů ($1,93 \cdot 10^8$ kopií 18S rDNA $\cdot g^{-1}$ půdy). Pozorovaný prospěšný vliv přidavku saturačních kalů na obsah houbových organismů v půdě je pravděpodobně důsledkem vyššího obsahu zdrojů organického uhlíku.

Bakterie oxidující amoniak (AOB) byly signifikantně nejhojněji zastoupeny ve variantě (4) s aplikací NeOsolu ($1,51 \cdot 10^9$ kopií 16S rDNA AOB $\cdot g^{-1}$ půdy), ostatní dvě varianty (2) a (3) obsahovali méně půdních AOB než vzorky kontrolní varianty (1) – Graf 2c. NeOsol, má podle výrobce potenciál zvyšovat využitelnost půdního dusíku, tento předpoklad potvrzuje signifikantně kladný efekt na obsah bakterií oxidujících amoniak. Vliv vápenno-horečnatých přísad do půdy na dlouhodobé zvýšení nitrifikační aktivity a obsah AOB byly prokázány v kyselých půdách (Zhang a kol. 2017), pozorovaný efekt ve studované slabě kyselé půdě je nový a významný.

Graf 2: Vliv pomocných půdních látek na obsah půdní mikrobiální biomasy (DNA)



Sloupčové grafy (se směrodatnou odchylkou): a) obsahu bakteriální biomasy (16S rDNA), b) obsahu fungální biomasy (18S rDNA), c) obsahu biomasy bakterií oxidujících amoniak (AOB - 16S rDNA) v půdě pokusných variant (1) až (4). Různá písmena označují statisticky významné rozdíly při: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Ve shodě s řadou studií dokazujících významnou roli obsahu a složení půdního mikrobiomu na stabilizaci a kvalitu půdy (Schloter a kol. 2003; Six a kol. 2004), procesy ovlivňující dostupnost

živin rostlinám (Bulgarelli a kol. 2013) i environmentální funkci a biodiverzitu (Bardgett a van der Putten 2014) lze vyvodit, že užití uvedených pomocných půdních látek je vhodné pro racionalizovaný a udržitelný agromanagement.

Závěr

Shrnutím uvedených výsledků lze předpokládat, že ošetření půdy všemi 3 typy testovaných pomocných půdních látek vedlo za popsáných podmínek aplikace NPK hnojiv, osevních a agrotechnických postupů v průběhu 3 let, ke zvýšení obsahu celkových bakterií (PLFA i DNA), aerobních, anaerobních i celkových mikroorganismů (PLFA) a v případě přidavku NeOsol i bakterií oxidujících amoniak (DNA) v půdě v porovnání s půdou bez přidavku pomocných látek. Rovněž obsah fungální biomasy v půdě byl aplikací saturačních kalů signifikantně zvýšen, zvýšení množství půdních houbových mikroorganismů vlivem ostatních 2 typů přidavků v porovnání s kontrolou nebylo prokázáno.

Použitá literatura

- Abbate C, Arena M, Baglieri A, Gennari M (2009) Effects of organoclays on soil eubacterial community assessed by molecular approaches. *J Hazard Mater* 168 (1):466-472. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.02.050>
- Alguacil MM, Caravaca F, Azcón R, Pera J, Díaz G, Roldán A (2006) Improvements in soil quality and performance of mycorrhizal *Cistus albidus* L. seedlings resulting from addition of microbially treated sugar beet residue to a degraded semiarid Mediterranean soil. *Soil Use and Management* 19:277-283. doi:10.1111/j.1475-2743.2003.tb00316.x
- Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiological reviews* 59 (1):143-169
- Balland-Bolou-Bi C, Poszwa A (2012) Effect of calco-magnesian amendment on the mineral weathering abilities of bacterial communities in acidic and silicate-rich soils. *Soil Biology & Biochemistry* 50:108-117. doi:10.1016/j.soilbio.2012.02.034
- Bardgett RD, van der Putten WH (2014) Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515 (7528):505-511. doi:10.1038/nature13855
- Bell FG (1996) Lime stabilization of clay minerals and soils. *Eng Geol* 42 (4):223-237. doi:10.1016/0013-7952(96)00028-2
- Bligh EG, Dyer WJ (1959) A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* 37 (8):911-917. doi:10.1139/o59-099
- Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, van Themaat EVL, Schulze-Lefert P (2013) Structure and Functions of the Bacterial Microbiota of Plants. In: Merchant SS (ed) *Annual Review of Plant Biology*, Vol 64, vol 64. *Annual Review of Plant Biology*. Annual Reviews, Palo Alto, pp 807-838. doi:10.1146/annurev-arplant-050312-120106
- Geisseler D, Scow KM (2014) Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms - A review. *Soil Biology & Biochemistry* 75:54-63. doi:10.1016/j.soilbio.2014.03.023
- Hermansson A, Lindgren P-E (2001) Quantification of Ammonia-Oxidizing Bacteria in Arable Soil by Real-Time PCR. *Appl Environ Microbiol* 67 (2):972-976. doi:10.1128/aem.67.2.972-976.2001
- Mi J, Gregorich EG, Xu S, McLaughlin NB, Liu J (2018) Effects of a one-time application of bentonite on soil enzymes in a semi-arid region. *Canadian Journal of Soil Science* 98 (3):542-555. doi:10.1139/cjss-2018-0011
- Oravec O, Elhottová D, Kristůfek V, Sustr V, Frouz J, Tríska J, Márialigeti K (2004) Application of ARDRA and PLFA analysis in characterizing the bacterial communities of

- the food, gut and excrement of saprophagous larvae of *Penthetria holosericea* (Diptera: Bibionidae): a pilot study. *Folia microbiologica* 49 (1):83-93. doi:10.1007/bf02931652
- Rashid ASA, Latifi N, Meehan CL, Manahiloh KN (2017) Sustainable Improvement of Tropical Residual Soil Using an Environmentally Friendly Additive. *Geotech Geol Eng* 35 (6):2613-2623. doi:10.1007/s10706-017-0265-1
- Sequi P (1989) Le funzioni agronomiche della sostanza organica. In: Patron (ed) *Chimica del suolo*. Bologna, Italy, pp 279–292
- Schlöter M, Dilly O, Munch JC (2003) Indicators for evaluating soil quality. *Agriculture Ecosystems & Environment* 98 (1-3):255-262. doi:10.1016/s0167-8809(03)00085-9
- Silvia S, Miura T, Kaneko N, Fujie K, Hasanuddin U, Niswati A, Haryani S (2014) Soil Microbial Biomass and Diversity Amended with Bagasse Mulch in Tillage and No-tillage Practices in the Sugarcane Plantation. *Procedia Environmental Sciences* 20:410-417. doi:10.1016/j.proenv.2014.03.052
- Six J, Bossuyt H, Degryze S, Denef K (2004) A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil Tillage Res* 79 (1):7-31. doi:10.1016/j.still.2004.03.008
- Vainio E, Hantula J (2000) Direct analysis of wood-inhabiting fungi using denaturing gradient gel electrophoresis of amplified ribosomal DNA. *Mycological Research* 104:927-936. doi:10.1017/S0953756200002471
- Vestal JR, White DC (1989) Lipid Analysis in Microbial Ecology: Quantitative approaches to the study of microbial communities. *BioScience* 39 (8):535-541. doi:10.2307/1310976
- Yang SD, Liu JX, Wu J, Tan HW, Li YR (2013) Effects of Vinasse and Press Mud Application on the Biological Properties of Soils and Productivity of Sugarcane. *Sugar Tech* 15 (2):152-158. doi:10.1007/s12355-012-0200-y
- Zhang MM, Alves RJE, Zhang DD, Han LL, He JZ, Zhang LM (2017) Time-dependent shifts in populations and activity of bacterial and archaeal ammonia oxidizers in response to liming in acidic soils. *Soil Biology & Biochemistry* 112:77-89. doi:10.1016/j.soilbio.2017.05.001

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem TH02030169 „Vliv aplikace biologicky transformované organické hmoty a biouhlu na stabilitu produkčních vlastností půd a snížení environmentálních rizik“.

Kontaktní adresa:

Mgr. Jiří Holátko, Ph.D.,
Mendelova univerzita v Brně, Lesnická a dřevařská fakulta
Ústav geologie a pedologie
Zemědělská 1, 613 00 Brno
e-mail: jiri.holatko@mendelu.cz

HODNOTENIE STAVU VÝŽIVY PLODÍN POMOCOU BEZPILOTNÉHO PRIESKUMU PRE LOKÁLNE CIELENÉ HOSPODÁRENIE NA PÔDE

Evaluation of crop nutrition status using an unmanned aerial survey for site specific land management

Horniaček I.¹, Lukas V.¹, Neudert L.¹, Duffková R.², Smutný V.¹

¹Mendelova univerzita v Brně

²Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, Praha

Abstrakt

Táto štúdia popisuje overovanie bezpilotného multispektrálneho snímkovania pro diagnostiku stavu ozimnej pšenice v precíznom poľnohospodárstve formou poľného experimentu v roku 2018 a 2019 na pozemkoch ZD Kojčice (Pelhřimov, Česká republika) s celkovou výmerou 36 ha a 41,38 ha. V dôležitých vegetačných fázach pre aplikáciu dusíkatých hnojív (steblovania - BBCH 31 a metania - BBCH 51) boli odobraté rastlinné vzorky pre stanovenie obsahu dusíka a celkového množstva nadzemnej biomasy so súčasne uskutočňovaným bezpilotným (UAV) multispektrálnym snímkaním. Štatistické vyhodnotenie korelačnou a regresnou analýzou ukázalo významný vzťah medzi parametrami plodín a vegetačnými indexmi z UAV prieskumu, pre odhad množstva rastlinnej biomasy vykázal NDVI lepšie korelačné hodnoty, zatiaľ čo najcitlivejším pre odhad obsahu dusíka v rastlinách bol NDRE index. Dá sa teda povedať, že tradičné terénne monitorovanie by bolo možné nahradiť UAV prieskumom aj pri nízkom počte kalibračných bodov.

Kľúčové slová: precízne poľnohospodárstvo, diaľkový prieskum, vegetačné indexy, UAV

Abstract

This study describes the verification of unmanned multispectral imaging for the diagnosis of winter wheat in precision agriculture in the form of a field experiment in 2018 and 2019 on the land of ZD Kojčice (Pelhřimov, Czech Republic) with a total area of 36 ha and 41.38 ha. In important vegetation phases for the application of nitrogen fertilizers (stem elongation - BBCH 31 and heading - BBCH 51), plant samples were taken to determine the nitrogen content and the total amount of aboveground biomass with simultaneous unmanned multispectral imaging (UAV). Statistical evaluation by correlation and regression analysis showed a significant relationship between crop parameters and vegetation indices from the UAV survey, NDVI showed better correlation values for estimating the amount of plant biomass, while the NDRE index was the most sensitive for estimating nitrogen content in plants. Thus, it can be said that traditional field monitoring could be replaced by UAV survey even with a low number of calibration points.

Key words: precision agriculture, remote sensing, vegetation indices, UAV

Úvod

Presné poľnohospodárstvo je taký spôsob riadenia poľnohospodárstva, ktorý využíva nové technológie na zvyšovanie efektívnosti výroby potravín. Je to progresívna, neustále sa rozvíjajúca oblasť, prostredníctvom ktorej sa modifikujú už použité prístupy, metódy a technológie používané pri riadení procesov poľnohospodárskej výroby. Zahŕňa veľké množstvo technických prostriedkov a programových vstupov. Dôležitou vlastnosťou precízneho poľnohospodárstva je dôsledné používanie systémového prístupu a intelektu vzhľadom na celkovú vyššiu úroveň a zložitosť celého procesu (Nozdrovický 2008).

Jednou z najdôležitejších mapovacích techník v precíznom poľnohospodárstve je diaľkový prieskum, ktorý je založený na meraní odrazu viditeľného a blízkeho infračerveného svetla od plodín alebo pôdy. Diaľkové snímanie primárne nevyžaduje priamy kontakt medzi snímačom a plodinami. Spravidla sa to dosahuje pomocou kamier namontovaných na diaľkovo pilotovaných leteckých systémoch (UAV), lietadlách a satelitoch (Mulla a Khosla 2015).

Vývoj bezpilotného leteckého prieskumu pomocou UAV posunul diaľkový prieskum a presné poľnohospodárstvo o krok ďalej. Použitie systému UAV na monitorovanie plodín ponúka veľké možnosti zberu údajov z polí rýchlym, jednoduchým a lacným spôsobom v porovnaní so známymi konvenčnými metódami monitorovania. Schopnosť systému UAV lietať v nízkych nadmorských výškach vedie k ultravysokému priestorovému rozlíšeniu zaznamenaných obrázkov. UAV sú navyše ľahko ovládateľné a sú oveľa lacnejšie ako lietadlá s kompletnou posádkou. Okrem toho sú efektívnejšie ako pozemné systémy, pretože dokážu v krátkom čase a nedeštruktívnym spôsobom pokryť veľké pole, čo je veľmi dôležité pre následné sledovanie a prácu s vegetáciou (Tsouros et. al. 2019).

Cieľom tejto štúdie bolo overiť použitie bezpilotného leteckého multispektrálneho snímkovania na odhad agronomicky relevantných parametrov plodín porastu obilnín s cieľom zlepšiť efektívnosť postupov starostlivosti o plodiny.

Materiál a metódy

Experimentálna oblasť

Údaje pre štúdiu boli zhromaždené v rokoch 2018 a 2019 na lokalite Kojčice (Pelhřimov, Česká republika, 49,473S, 15,254J) na troch vybraných poliach s ozimnou pšenicou a jarným jačmeňom. V roku 2018 to boli polia „Kazy“ o výmere 10,2 ha, prevýšenie 550 m n. m. a priemerný sklon 2,75 ° a „Vrcha“ s rozlohou 26,2 ha, prevýšenie 515 m n.m. a priemerný sklon 4,35 °, obe s úrodou ozimnej pšenice. V roku 2019 sa štúdia uskutočnila na poli s jarným jačmeňom „Mokřiny-Štětky“ o výmere 41,3 ha, prevýšením 530 m n.m. a priemerný sklon 2,6 °.

Odber vzoriek rastlín

Terénne monitorovanie pozostáva z odberu vzoriek v nepravidelnej mriežke (viz Obrázok 1) a z ich následnej analýzy v laboratóriu. Spracovanie údajov v laboratóriu sa zameriava na hodnotenie hodnôt nadzemnej biomasy porastu (suchej) a koncentrácií dusíka v rastlinách. Toto hodnotenie sa uskutočňuje z hľadiska dvoch dôležitých vegetačných stupňov, a to - steblovania (BBCH 31) a metania (BBCH 51). Na sledovaných poliach bolo v rokoch 2018 a 2019 rozmiestnených celkom 109 odberných miest. V roku 2018 bolo na pozemku „Kazy“ 23 odberných miest a na pozemku „Vrcha“ 33 odberných miest, v roku 2019 boli na 53 odberných miestach odobraté vzorky z plodiny jarného jačmeňa na poli „Mokřiny-Štětky“. Rastlinné vzorky sa odobrali z dvoch štvorcov 0,5 x 0,5 m na jedno miesto odberu. Vzorky rastlín boli analyzované v laboratóriu na stanovenie obsahu dusíka [%] a celkového množstva nadzemnej suchej biomasy [t.ha⁻¹]. Tieto dva parametre boli vstupom pre výpočet dusíkatého výživového indexu (NNI) na základe výpočtu Lemaire (2008). NNI predstavuje stav dusíka rastlín, NNI <1 naznačuje nedostatočné hnojenie N, NNI > 1 nadmerné hnojenie dusíkom (Klem 2014).

Bezpilotný prieskum pomocou UAV

Súčasne so vzorkovaním rastlín realizovala spoločnosť Skymaps s.r.o. (Brno, Česká republika) multispektrálne letecké snímkovanie pomocou bezpilotných prostriedkov s multispektrálnymi kamerami Micasense RedEdge-M (2018) a Parrot Sequioa (2019). Obidva fotoaparáty zaznamenávajú obrazové dáta vo viditeľnej (RGB), Red Edge (RE) a v blízkej infračervenej (NIR) oblasti spektra, ale tiež merajú prichádzajúci jas pomocou senzora prichádzajúcej radiácie (DLS) pre normalizáciu svetelných podmienok. Snímky boli spracované fotorametrickým softvérom na získanie výslednej ortomosaiky s priestorovým rozlíšením 18 cm na pixel. Sada ôsmich indexov širokopásmovej vegetácie bola vypočítaná z rastrových

údajov v ESRI ArcGIS, táto štúdia zahŕňa hlavne tri z nich: NDVI, GNDVI a NDRE. Z dôvodu vysokého priestorového rozlíšenia obrázkov bola vypočítaná priemerná hodnota všetkých pixelových hodnôt vo vnútri 2 m nárazníkovej zóny okolo každého bodu vzorkovania. Štatistické vyhodnotenie vzťahu medzi parametrami rastlín a leteckým prieskumom bolo vykonané korelačnou analýzou a výpočtom regresnej rovnice v softvérovom štatistickom balíku Excel.

Výsledky a diskusia

Popisná štatistika výsledkov laboratórnej analýzy vzoriek rastlín odobratých zo sledovaných polí (Kazy, Vrcha, Mokřiny-Štětky) a fenologických stupňov (BBCH 33 a 51) je uvedená v tabuľke 1. Najvyššiu variabilitu ukazujú koeficienty variability (CV) v poli „Mokřiny-Štětky“, čomu zodpovedá aj vyššia plocha tohto poľa (41,3 ha) v porovnaní s poľami „Kazy“ (10,2 ha) a „Vrcha“ (26,2 ha). Vyššia variabilita parametrov rastlín bola dosiahnutá v štádiu metania (BBCH 51), hlavne pre nadzemnú biomasu, so zvýšením až 7% CV na poli Kazy a 1% na poli Vrcha. Priemerná hodnota NNI bola na pozorovaných poliach podobná pre oba vegetačné stupne rastu plodín, rozsah hodnôt je na približne rovnakej úrovni. To platí pre ozimnú pšenicu (2018), kde sa stav výživy indikovaný NNI zvýšil v štádiu metania (BBCH 51). V prípade jarného jačmeňa NNI poklesol v BBCH 51, čo zodpovedá požiadavke na nižšiu koncentráciu dusíka v zrne na udržanie vysokej kvality zrna na sladovnícke účely.

Tabuľka 1 Popisná štatistika sledovaných lokalít

Mokřiny-Štětky 2019	BBCH 31			BBCH 51		
	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI
Average	2.21	2.76	0.72	691.02	1.25	0.55
Median	2.17	2.74	0.72	683.14	1.21	0.54
Std.	0.49	0.49	0.12	119.77	0.20	0.09
Min.	0.68	2.05	0.51	344.58	0.95	0.40
Max.	3.31	4.93	1.03	952.30	2.06	0.78
Count	51	51	51	53	53	53
CV [%]	22.56	17.64	17.13	17.33	15.68	16.81
Vrcha 2018	BBCH 31			BBCH 51		
	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI
Average	1.83	2.85	0.69	7.39	1.94	0.88
Median	1.76	2.81	0.70	7.68	1.87	0.90
Std.	0.39	0.35	0.13	1.68	0.24	0.17
Min.	1.03	2.17	0.47	4.14	1.55	0.63
Max.	2.71	3.86	1.06	9.84	2.39	1.18
Count	33	33	33	33	33	33
CV [%]	21.39	12.19	18.14	22.79	12.33	19.01
Kazy 2018	BBCH 31			BBCH 51		
	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI
Average	1.69	3.10	0.73	6.53	2.28	0.98
Median	1.69	3.11	0.75	6.38	2.27	0.95
Std.	0.23	0.16	0.07	1.14	0.18	0.13
Min.	1.31	2.77	0.63	5.10	1.97	0.76
Max.	2.05	3.34	0.86	9.48	2.65	1.29
Count	23	23	23	23	23	23
CV[%]	13.89	5.25	9.42	17.41	8.07	13.68

Vzťah medzi sledovanými parametrami plodín a indexmi vypočítanými z diaľkového prieskumu bol stanovený na základe vyhodnotenia korelačnou analýzou (tabuľka 2). Monitorovala sa citlivosť jednotlivých vegetačných indexov na parametre plodín, hlavne index NNI, zmeny rastu plodín medzi vegetačnými stupňami a rozdiely medzi sledovanými poliami. V prvom období vzorkovania (BBCH 31) sa najvyššia korelácia medzi vegetačnými indexmi a NNI dosiahla pomocou indexu NDRE (Kazy. $R = 0,60$), (Mokřiny-Štětky. $R = 0,70$) a indexu jednoduchého pomeru (SRI) pri mieste (Vrcha. $R = 0,64$). Hodnoty korelačných koeficientov s ostatnými parametrami plodín ukazujú rozdielnú citlivosť vegetačných indexov vo vzťahu k množstvu nadzemnej biomasy alebo obsahu dusíka. Vidíme však, že citlivosť vegetačných indexov nie je medzi sledovanými lokalitami jednotná.

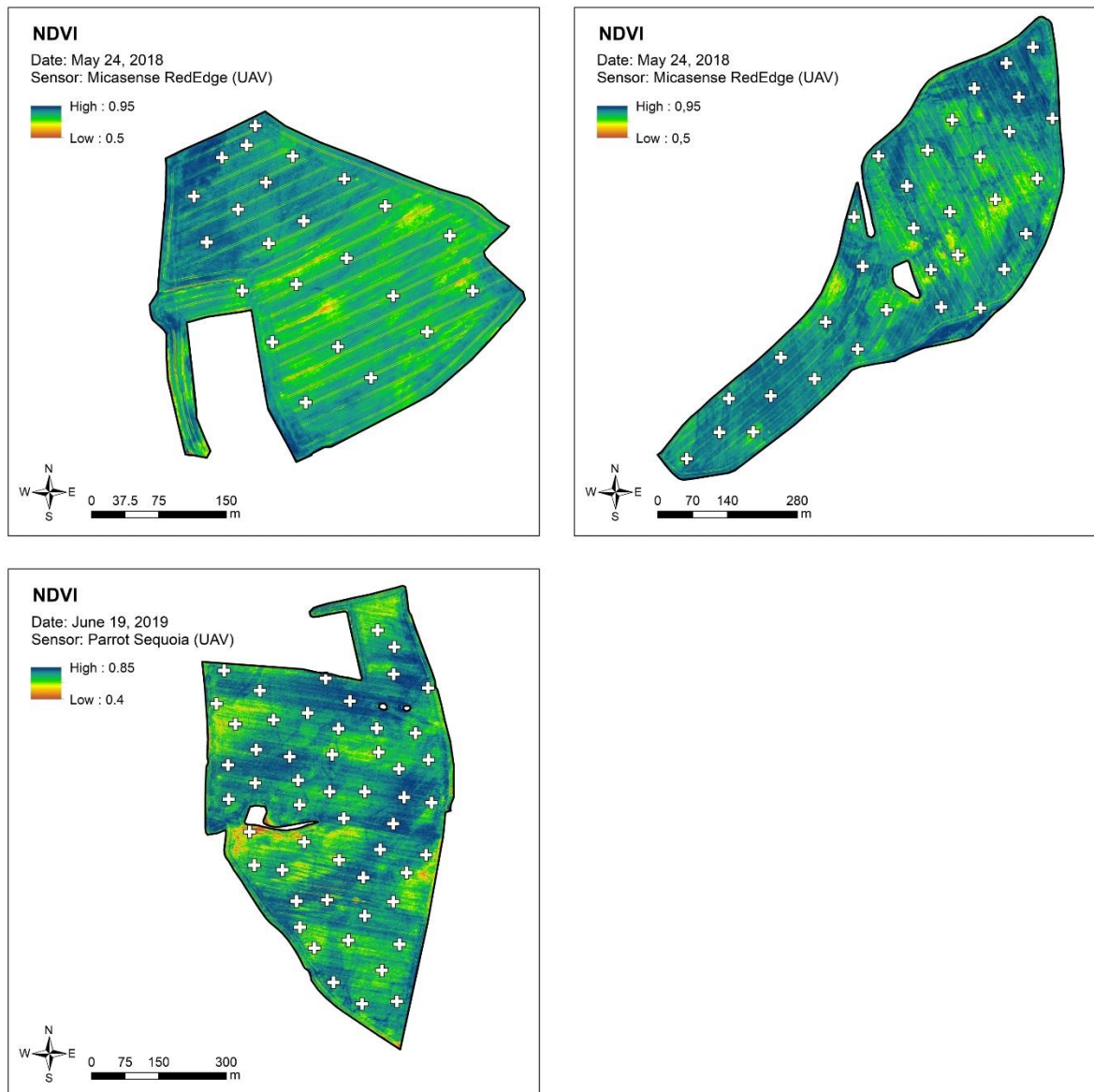
Tabuľka 2 Korelačné koeficienty medzi parametrami plodín a vegetačnými indexmi vypočítané z leteckého prieskumu bez posádky. Farebné pozadie zobrazuje úroveň korelácie (minimálne-maximálne hodnoty ako červeno-zelený gradient).

Mokřiny-Stetky 2019	BBCH 31			BBCH 51		
	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI
EVI2	0.34	0.07	0.33	0.36	0.23	0.41
GNDVI	0.71	0.19	0.69	0.62	0.26	0.56
MSAVI2	0.58	0.10	0.51	0.50	0.19	0.44
NDRE	0.68	0.23	0.70	0.58	0.29	0.57
NDVI	0.71	0.03	0.54	0.55	0.11	0.39
NRERI	0.63	0.25	0.69	0.56	0.30	0.57
SAVI	0.38	0.08	0.36	0.39	0.22	0.41
SRI	0.74	0.13	0.66	0.61	0.18	0.49
Vrcha 2018	BBCH 31			BBCH 51		
	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI
EVI2	0.33	0.17	0.30	0.68	0.53	0.69
GNDVI	-0.15	-0.07	0.15	0.78	0.60	0.70
MSAVI2	0.35	0.30	0.40	0.69	0.53	0.69
NDRE	0.39	0.19	0.35	0.61	0.54	0.78
NDVI	0.39	0.34	0.45	0.68	0.50	0.70
NRERI	0.10	-0.07	0.01	0.62	0.54	0.81
SAVI	0.32	0.18	0.31	0.64	0.54	0.68
SRI	0.58	0.47	0.64	0.79	0.59	0.74
Kazy 2018	BBCH 31			BBCH 51		
	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI	Biom_D [t.ha-1]	N [%]	NNI
EVI2	-0.17	-0.43	-0.35	0.79	0.69	0.77
GNDVI	-0.02	-0.35	-0.21	0.81	0.60	0.76
MSAVI2	-0.03	-0.35	-0.22	0.80	0.66	0.77
NDRE	0.54	0.43	0.60	0.76	0.59	0.73
NDVI	0.35	-0.11	0.17	0.77	0.55	0.72
NRERI	0.31	0.49	0.48	0.77	0.57	0.67
SAVI	-0.18	-0.43	-0.36	0.75	0.50	0.77
SRI	0.35	-0.10	0.18	0.66	0.50	0.76

V druhom odberovom období (BBCH 51) dosiahol najvyššie hodnoty index EVI2 (Kazy. $R = 0,774$), NRERI (Vrcha. $R = 0,813$) a NDRE (Mokřiny-Stetky. $R = 0,567$). Vysoké hodnoty korelačnej analýzy na všetkých troch sledovaných lokalitách v druhom polroku boli dosiahnuté indexom

GNDVI, a preto ich možno odporučiť pre komplexnú diagnostiku stavu výživy rastlín na poliach v hlavnom vegetačnom stupni.

Obrázok 1 Mapy experimentálnych lokalít „Kazy“ (hore v ľavo), „Vrcha“ (hore v pravo) a „Mokřiny-Štětky“ (dole), zozbierané z bezpilotného leteckého prieskumu, biele krížiky znázorňujú odberné miesta.



Obrázok 1 znázorňuje letecké snímky z bezpilotného prieskumu prepočítané na vegetačný index NDVI, ktoré dokumentujú nevyrovnanosť porastov na sledovaných pozemkoch. Snímky sú z obdobia BBCH 51, pre rok 2018 zhotovené s multispektrálnym snímačom Micasense RedEdge a pre rok 2019 snímačom Parrot Sequoia. Na snímkach sú krížikmi vyznačené body odberov rastlín.

Záver

Výsledky tejto štúdie ukázali, že multispektrálne zobrazovanie pomocou bezpilotného leteckého prieskumu je vhodné na identifikáciu stavu dusíka v poliach. Vzťah medzi parametrami plodín a vegetačnými indexmi nebol konzistentný vo vegetačných stupňoch a tiež na všetkých poliach. Vyššie korelačné koeficienty v ranom období pozorovania (BBCH 31)

dosiahli index NDRE (pre pole Kazy, Mokřiny-Stetky) alebo SRI (pre pole Vrchy). zatiaľ čo vo fáze metania (BBCH 51) bola pomocou indexu vegetácie GNDVI detegovaná vyššia citlivosť na zmeny NNI. Tieto výsledky dokazujú, že v prípade leteckého snímkovania bežnými multispektrálnymi kamerami je užitočný výpočet súboru vegetačných indexov. Najmä výpočet z časti elektromagnetického spektra označovanej ako red-edge, ktorý sľubuje vysokú citlivosť na obsah chlorofylu, teda aj N-stav rastlín. Vysoké priestorové rozlíšenie snímok UAV poskytuje veľmi podrobné informácie o poškodení plodín alebo iných miestnych problémových oblastiach poľa, ktoré by mohli byť užitočné pri poľnej kontrole. Vo väčšine prípadov však takáto úroveň priestorových detailov zvyčajne nie je potrebná pre aplikáciu s premenlivým dávkovaním pri pestovaní plodín špecifických pre dané miesto z dôvodu obmedzeného riadenia sekcí aplikátorov hnojív (rozmetadlá a postrekovače).

Dedikácie

Táto štúdia bola podporená Internou grantovou agentúrou Agronomickej fakulty Mendelovej univerzity v Brne ako výskumný projekt AF-IGA2020_IP063. Experimentálna časť práce je taktiež súčasťou riešenia výskumného projektu TAČR TH02030133.

Použitá literatúra

- Klem, K., Miša, P., Miša, M., Křen, J. Využití měření spektrální odrazivosti a odvozených specializovaných vegetačních indexů v pěstební technologii jarního ječmene (Metodika pro zemědělskou praxi). Kroměříž; Brno: Agrotest fyto ; Mendelova univerzita v Brně, 2014, 44 s. ISBN 9788087555125
- Lemaire, G., Jeuffroy, M. H., Gastal, F. Diagnosis tool for plant and crop N status in vegetative stage. Theory and practices for crop N management. European Journal of Agronomy. 2008, vol. 28, no. 4, pp. 614-624. ISSN 11610301
- Mulla, D., Khosla, R. 2015. Historical Evolution and Recent Advances in Precision Farming. In Soil-Specific Farming. CRC Press, pp. 1-35.
- Nozdrovický, L. Presné pôdohospodárstvo: Implementácia s podporou informačných technológií a techniky. Nitra: Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2008. ISBN 978-80-552-0123-8.
- Tsouros, D., Bibi, S., Sarigiannidis, P., A Review on UAV-Based Applications for Precision Agriculture. Information. 2019, 26. Dostupné z: doi:10.3390

Kontaktní adresa:

Ing. Igor Horniaček
Mendelova univerzita v Brně,
Agronomická fakulta, Ústav agrosystémů a bioklimatologie,
Zemědělská 1, 613 00 Brno,
telefon: +420 778 747 058,
e-mail: igor.horniacek@mendelu.cz

OBHOSPODAŘOVÁNÍ NA FYTOCENOLOGICKOU DYNAMIKU A FYTOPATOLOGICKÉ ASPEKTY HORSKÝCH TRAVNÍCH POROSTŮ

The influence of management on phytocenological dynamics and phytopathological aspects of mountain grasslands.

Hoštičková I., Kobes M., Tonka T.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

Abstrakt

V letech 2000-2011 byly v oblasti Šumavy (Zhůří – Huťská hora, 1160 – 1180 m n. m.) sledována dynamika vegetace a výskyt patogenních mikroorganismů u trav a dalších hostitelských rostlin. V průběhu pokusného období došlo vlivem odlišného obhospodařování, nebo při ponechání porostu ladem k diferenciaci porostových typů z původně jednoho s dominantní košťavou červenou (*Festuca rubra*) a psinečkem tenkým (*Agrostis capillaris*), asociace *Agrostideto-Festucetum rubrae*, na tři porostové typy: *Agrostideto-Deschampsietum* u koseného porostu, *Deschampsietum* u porostu mulčovaného a *Holcetum molli* u porostu ponechaného ladem. U dominantních druhů trav v porostech byly původcem houbového onemocnění *Monographella nivalis* a *Fusarium solani*. Největší rozvoj hub rodu *Fusarium* byl zaznamenán u nesklizeného porostu, kde byla takto výrazně potlačována košťava červená.

Klíčová slova: Horské louky, management, sečení, mulčování, botanická skladba, houbové choroby

Abstract

In the years 2000 – 2011 vegetation dynamics and the occurrence of pathogenic microorganisms as agents of fungi diseases on grasses and other host plant of permanent grassland in mountain area of central Šumava mountains (localities Zhůří – Huťská Hora, 1160 – 1180 m a.s.l.) were evaluated. During the experimental period differentiation was observed due to different management types and intensity. Stand changed from original with dominant *Festuca rubra* and *Agrostis capillaris*, association *Agrostideto-Festucetum rubrae*, to three different stand types: *Agrostideto-Deschampsietum* in mown stand, *Deschampsietum* in mulched stand and *Holcetum molli* in fallow stand. *Monographella nivalis* and *Fusarium solani* were the most often detected agents of fungal diseases. The largest development of *Fusarium* fungi was detected in fallow stand, where *Festuca rubra* was strongly suppressed.

Key words: Mountain meadows, management, mowing, mulching, botanical composition, fungal diseases

Úvod

Trvalé udržení bezlesí a travních porostů ve vyšších až horských polohách je závislé na pravidelném a vhodném způsobu péče o travní porosty, které zde výrazně zvyšují biologickou diverzitu rostlinného krytu, respektive krajiny, při minimálních nákladech na jejich údržbu. Travní porosty (bezlesí vyšších poloh) jsou tvořeny řadou porostových typů, které je možné podle míst výskytu a ovlivnění vodním režimem rozdělit do dvou rámcových skupin. První jsou travní porosty na lokalitách ovlivněných pouze srážkovou vodou (náhorní a svahové louky) a druhá skupina je ovlivněna výrazněji též podzemní vodou (nivní a prameništění louky). Zejména první skupina porostů je náročná na údržbu, bez které většinou rychle dochází ke zhoršení porostové skladby a k náletu dřevin. Příznivá druhová skladba trvalých travních porostů

horských poloh ovšem závisí na vhodném způsobu obhospodařování a na zdravotním stavu travní komponenty v porostu. Fytocenologická dynamika trav v horských polohách je ovlivněna výskytem řady patogenních mikroorganismů (zejména houbových chorob) a při poškození a úbytku kulturních trav v porostech pak dochází k nadměrnému šíření nehodnotných trav nebo plevelných či dokonce jedovatých druhů v porostech.

Materiál a metody

V letech 2000-2015 byly v horské oblasti centrální Šumavy (Zhůří – Hutská hora, 1160 – 1180 m n. m.) sledovány fytocenologická dynamika a výskyt patogenních mikroorganismů – houbových chorob u trav a hostitelských rostlin. Na lokalitě Zhůří u původně jednoho porostového typu s dominantní kostřavou červenou (*Festuca rubra*) a psinečkem tenkým (*Agrostis capillaris*), porostový typ *Agrostideto-Festucetum rubrae* byl sledován vliv sečení, mulčování a ponechání porostu ladem. Pokusný travní porost Zhůří s celkovou výměrou 17,5 ha se nachází v horní části Hutské hory na mírném až středním svahu (svažitost 10,5 – 16,5°) s orientací na západ. V této ploše byly vyčleněny 3 bloky o výměře 3,5 ha, které jsou koseny nebo mulčovány běžnou zemědělskou technikou (1 blok ponechán ladem) a v rámci těchto bloků jsou vlastní pokusné parcely (3 opakování na každou variantu, velikost jedné parcely - opakování 34 m²). Byl tedy minimalizován okrajový efekt jak s ohledem na šíření semen (diaspor) vyšších rostlin, tak s ohledem na výskyt a šíření patogenních hub. Při hodnocení produkce biomasy byla u koseného a mulčovaného porostu vážena biomasa z celé parcely, u porostu ponechaného ladem byla vysečena plocha 1 m² ve 3 opakováních každý rok v jiném místě parcely. Sledování výskytu houbových chorob na travách a hostitelských rostlinách bylo prováděno ve třech termínech v každém roce: v první a druhé dekádě května, poslední dekádě července a v první dekádě v říjnu. Sledování druhové skladby bylo prováděno vždy před sečí v poslední dekádě v červenci.

Výsledky

V průběhu pokusného období došlo vlivem odlišného obhospodařování, nebo vlivem ponechání porostu ladem k diferenciaci porostových typů z původně jednoho typu s dominantní kostřavou červenou (*Festuca rubra*) a psinečkem tenkým (*Agrostis capillaris*), asociace *Agrostideto-Festucetum rubrae*, na tři porostové typy. Při sečení porostu 1x ročně v poslední dekádě července se udržely v dominantním zastoupení kostřava červená a psineček tenký (tab. 2), postupně se zvýšila také pokryvnost metlice trsnaté (*Deschampsia caespitosa*) – vznikl porostový typ *Agrostideto-Deschampsietum*. Přechodně se zvýšila i pokryvnost medýňku měkkého (*Holcus mollis*), který z porostu později ustoupil. V jednosečném porostu se udržují v malé míře též jeteloviny (2 – 14 % D), převážně jetel plazivý (*Trifolium repens*). Pokryvnost trav se postupně snižovala (s výjimkou metlice trsnaté) a současně se zvyšovala pokryvnost dvouděložných bylin a jetelovin, což svědčí o poklesu obsahu dostupných živin v půdě. Z dvouděložných bylin byla nejvíce zastoupena třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*), pryskyřník prudký (*Ranunculus acris*), ptačinec trávolistý (*Stellaria graminea*) a řebříček obecný (*Achillea millefolium*). Počet druhů vyšších rostlin v jednosečném porostu mírně vzrostl – z původních 27 druhů cévnatých rostlin (v roce 2000) vykazoval na konci období sledování (2015) porost 32 druhů cévnatých rostlin. Trvalý travní porost na lokalitě Zhůří lze z ekologického hlediska označit jako travní společenstvo extenzivně využívaných zemědělských kultur, mezofilní louka se střední až vyšší biodiverzitou (Salašová, 2009) a s výskytem vzácných a ohrožených druhů vyšších rostlin - zvonečníku černého (*Phyteuma nigrum*), zvonečníku klasnatého (*Phyteuma spicatum*), lilie cibulkonosné (*Lilium bulbiferum*). Z pícninářského hlediska udrží sečení porostu 1x ročně v nadmořské výšce nad 1000 m průměrně kvalitní až mírně podřadný porost. S ohledem na výskyt třezalky tečkované a zvýšení

pokryvnosti metlice trsnaté by bylo eventuálně vhodné provést ještě 2. seč nebo mulčování porostu v září, případně aplikovat hnojení porostu. Produkce biomasy byla u horské louky vzhledem k vysoké nadmořské výšce nízká (tab. 1) a odpovídala extenzivním košťavovým, pohánkovým nebo smilkovým porostům. Při mulčování horské louky 1x ročně v červenci došlo k poklesu pokryvnosti košťavy červené a psinečku tenkého a ke zvýšení zastoupení metlice trsnaté (z výchozích 14 % D na 23 – 30 % D) a medynku měkkého (tab. 3). Porost lze hodnotit jako porostový typ metlicový nebo medynku měkkého a metlice trsnaté (*Deschampsietum*, nebo *Holceto-Deschampsietum*). Jeteloviny vykazovaly v porostu převážně nízké zastoupení. Pokryvnost trav celkově mírně klesala a podíl bylin se slabě zvyšoval. Z dvouděložných bylin byla nejvíce zastoupena třezalka tečkovaná. Z pícninářského hlediska došlo ke zhoršení porostu (podřadné druhy metlice trsnatá a medyněk měkký, úbytek jetelovin). Počet druhů cévnatých rostlin v porostu se udržel ve shodné výši jako před zahájením mulčování. Obdobně jako u sečeného porostu docházelo u mulčovaného porostu v některých letech k nadměrnému zvýšení pokryvnosti třezalky tečkované. Produkce biomasy byla vyšší v porovnání s 1x koseným porostem, vlivem návratu živin a vlivem větší reziduální listové plochy po mulčování porostu (tab. 1).

Při ponechání porostu ladem došlo již v průběhu prvních pěti let k výraznému zhoršení porostové skladby (tab. 4). Pokryvnost dominantní košťavy červené se snížila až o 36 % D, pokryvnost psinečku tenkého o 4 – 7 % D. Z porostu ustupuje též metlice trsnatá a výrazně se zvyšuje pokryvnost medynku měkkého (až o 32 % D). Vznikl zde porostový typ medynku měkkého – *Holcetum molli*. Jedná se o nehodnotnou travu zvyšující v porostu množství stařiny a prázdných míst, pokrytých jen stařinou, kde docházelo nejdříve k náletu dřevin (smrk ztepilý, javor klen). Pícninářské vlastnosti byly u porostu ponechaného ladem výrazně zhoršené. Došlo k úplnému vymizení jetelovin, ke zvýšení podílu třezalky tečkované a k úbytku počtu druhů v porostu (o 2 – 6 druhů). Produkce biomasy zpočátku vzrostla, v závěru období (2010, 2015) ale klesala s hromaděním stařiny a řidnutím porostu. Kulturní druhy trav z porostu ustoupily též vlivem vyššího výskytu patogenních hub, úbytek pokryvnosti košťavy červené úzce koreloval s výskytem fusarióz (plísňě sněžné) *Monographella nivalis* a *Fusarium solani* a nárůstem pokryvnosti medynku měkkého. U sledovaných druhů trav (*Deschampsia cespitosa*, *Festuca rubra*, *Holcus mollis*) byl zaznamenán největší rozvoj hub rodu *Fusarium* u nesklizeného porostu, kde byla takto výrazně potlačována košťava červená, což značně zhoršuje podmínky pro následné pícninářské využití porostů. Naopak nejmenší napadení dominantních druhů trav bylo zjištěno u porostu koseného. Nejmenší škodlivý výskyt fusarióz byl zaznamenán u metlice trsnaté, a naopak nejzávažnější poškození vykazovala košťava červená. Z hlediska časové dynamiky rozvoje fusarióz byl zaznamenán největší rozvoj onemocnění na počátku druhé (roky 2001, 2005, 2006, 2009, 2011, 2015) a první (roky 2000, 2002, 2003, 2004, 2007, 2008, 2010, 2012, 2013, 2014) dekády měsíce května. U ověřovaných dominant byl určen původce houbového onemocnění – *Monographella nivalis* a *Fusarium solani*. V letním a podzimním termínu byl zaznamenán nižší výskyt houbových chorob. Houbové choroby byly zaznamenány i na dvouděložných bylinách. V letních měsících (červenec) bylo zjištěno napadení kontryhele obecného (*Alchemilla vulgaris*) rzí kontryhelovou (*Trachyspora intrusa* (Grev.) Arthur, Syn. *Trachyspora alchemillae* Fuckel). Na psárce luční byla u všech variant pozorována při podzimním hodnocení (říjen) rez psárková – urediové stadium (*Puccinia perplexans* Plow.). Vyšší výskyt byl zaznamenán v kosené variantě s vyšším výskytem psárky luční. V jarním období (květen) byla na lokalitě Zhůří zjištěna v některých letech i na mezihostitelské rostlině pryskyřníku prudkém (*Ranunculus acris*) její aecidiová stadia (aecidie). Tyto houbové choroby měly na pokryvnost trav v porostech již menší vliv. Při nevhodném obhospodařování nastává ochuzování druhové diverzity na úrovni rostlin (producentů), ale i na úrovni dalších navazujících konzumentů a rozkladačů (Rychnovská, Vrzalová, 2009). Ústup kvalitních kulturních trav z porostů za těchto podmínek bývá často

spojen s jejich napadením houbovými chorobami. Kromě těchto růstových změn ve složení pratocenózy jsou změny způsobeny také změnami prostředí, ve kterém je společenstvo utvořeno (Ellenberg 1964, Květ a kol. 1996, Květ a kol., 1995, Klimeš 1997, 1999). Jednotlivé složky fytocenologické dynamiky travních porostů, zejména změny, spojené s náhlými extrémními výkyvy vnějších podmínek stanoviště, ekologické fluktuace a do určité míry i ekologická sukcese a některé změny cyklické i adaptační bývají často spjaty (a tím zároveň i ve svém důsledku směřovány) s napadením některých rostlinných druhů patogeny (Klimeš 1997, Čermák a kol., 2000, Voženílková, Čermák 1999, Voženílková, Klimeš 2001). Takto mohou být chorobami poškozovány prakticky všechny rostlinné druhy v travních porostech (Cagaš a kol., 1989, Voženílková 2000a), přičemž míra poškození jednotlivých druhů úzce souvisí s ekologickými podmínkami jednotlivých lokalit nebo jejich náhlými změnami, věkovou strukturou populací jednotlivých druhů (Klimeš 1987), vyhraněností konkurenčních vztahů ve společenstvu (Klimeš, 2000), ale i způsobem obhospodařování a využívání travních porostů (Klimeš 1997, 2000, Klimeš, Kobes 1999, Voženílková, Čermák 1999, Voženílková, Klimeš 2001, Voženílková a kol., 2006). Nemalou měrou se v tomto směru uplatňuje též infekční tlak prostředí (Voženílková, 2000b), funkce vektorů (Cagaš a kol., 1989, Cagaš a kol., 2010, Voženílková 2000c), jakož i přirozená rezistence jednotlivých ekotypů. Napadení rostlinných druhů v travních porostech chorobami má vedle dopadů na kvantitativní a kvalitativní stránku produkce (redukce fotosyntetického aparátu, obsah mykotoxinů aj.) i řadu negativních dopadů na životní prostředí (Klimeš a kol., 2004, Voženílková, Klimeš, 2001). Např. malá odolnost lipnice obecné (*Poa trivialis*) a medynku vlnatého (*Holcus lanatus*) k napadení houbovými chorobami (především *Monographella nivalis*, *Epichloë typhina* aj.) je důvodem jejich flukтуаčního charakteru, kdy jejich rychlý ústup z porostů, po výraznějším napadení, může zvláště při jejich vyšší dominanci vést ke vzniku rozsáhlých prázdných míst v porostech, které se tak stávají do doby, než se porost opět zapojí, zároveň i rizikem pro erozní ohrožení, ale v mnoha případech i zaplevelení či náletu dřevin (Klimeš, Voženílková 2001). Jako příklad přímého vlivu obhospodařování a využívání travních porostů na rozvoj napadení dominantních druhů trav v travních porostech plísni sněžnou (*Monographella nivalis*) lze uvést výsledky sledování fytocenologické dynamiky a dynamiky rozvoje houbových patogenů a stupně napadení vybraných druhů trav v trvalých travních porostech v oblasti centrální Šumavy (lokality Zhůří), při jejich sečení 1x ročně, mulčování 1x ročně a při jejich ponechání bez využití (Voženílková, Čermák 1999, Voženílková, Klimeš 2001, Voženílková a kol., 2006).

Tab. 1. Průměrná produkce biomasy na lokalitě Zhůří v letech 2000 – 2015 v t.ha⁻¹ sušiny.

Varianta	Rok, produkce sušiny (průměr 3 opakování)							
	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
K 1x	0,55	0,59	0,70	0,61	2,09	1,20	0,48	0,33
M 1x	0,54	0,61	1,05	0,64	1,56	1,40	0,92	0,78
L	0,58	0,70	0,58	0,67	1,42	1,26	0,80	0,69
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015
K 1x	0,56	0,49	0,84	0,61	0,74	1,23	0,78	0,41
M 1x	0,81	0,76	0,90	0,78	0,95	1,34	1,01	0,59
L	0,71	0,67	0,63	0,62	0,78	1,06	0,95	0,65

K – kosení, M – mulčování, L – ponechání porostu ladem

Tab. 2. Vývoj porostové skladby, vyjádřený projektivní dominancí (% D) druhů a agrobotanických skupin, varianta sečená 1x za vegetaci (3- leté intervaly 2000 – 2015)

Druhy s pokryvností ≥ 1 Agrobotanická skupina	Rok, % D					
	2000	2003	2006	2009	2012	2015
Kostřava červená (<i>Festuca rubra</i>)	36	32	10	25	19	14
Lipnice luční (<i>Poa pratensis</i>)	+	+	+	+	4	+
Medyněk měkký (<i>Holcus mollis</i>)	9	9	26	7	+	4
Metlice trsnatá (<i>Deschampsia caespitosa</i>)	14	14	14	15	17	18
Psárka luční (<i>Alopecurus pratensis</i>)	1	+	+	.	+	+
Psineček tenký (<i>Agrostis capillaris</i>)	15	17	28	18	12	7
Tomka vonná (<i>Anthoxanthum odoratum</i>)	1	+	.	1	+	1
Trávy celkem	77	73	78	66	52	54
Jetel luční (<i>Trifolium pratense</i>)	.	.		.	5	2
Jetel plazivý (<i>Trifolium repens</i>)	3	3	2	4	9	5
Jeteloviny celkem	3	3	2	4	14	7
Kokrhel luštinec (<i>Rhinanthus alectorolophus</i>)	1	+	2	1	2	4
Kontryhel obecný (<i>Alchemilla vulgaris</i>)	+	+	+	1	1	4
Pcháč různolistý (<i>Cirsium heterophyllum</i>)	+	1	+	.	1	+
Pryskyřník plazivý (<i>Ranunculus repens</i>)	+	1	+	+	1	+
Pryskyřník prudký (<i>Ranunculus acris</i>)	.	.	+	2	6	5
Ptačinec trávolistý (<i>Stellaria graminea</i>)	+	+	.	1	1	7
Rozrazil douškolistý (<i>Veronica serpyllifolia</i>)	1	1	1	2	4	+
Řebříček obecný (<i>Achillea millefolium</i>)	1	2	1	6	6	+
Smetánka lékařská (<i>Taraxacum</i> sect. <i>ruderalia</i>)	2	1	2	1	+	.
Třezalka skvrnitá (<i>Hypericum maculatum</i>)	8	10	7	10	10	10
Zvonečník černý (<i>Phyteuma nigrum</i>)	.	.	.	.	.	3
Zvonek okrouhlolistý (<i>Campanula rotundifolia</i>)	2	4	1	2	2	+
Ostatní byliny celkem	15	20	14	26	34	37
Prázdná místa	5	4	6	4	.	4
Celkový počet druhů (% D $\leq \geq 1$)	27	27	26	27	29	32

Tab. 3. Vývoj porostové skladby, vyjádřený projektivní dominancí (% D) druhů a agrobotanických skupin, varianta mulčovaná 1x za vegetaci (3- leté intervaly 2000 – 2015)

Druhy s pokryvností ≥ 1 Agrobotanická skupina	Rok, % D					
	2000	2003	2006	2009	2012	2015
Kostřava červená (<i>Festuca rubra</i>)	36	21	2	16	12	13
Lipnice luční (<i>Poa pratensis</i>)	+	+	.	+	1	+
Medyněk měkký (<i>Holcus mollis</i>)	9	11	38	9	12	16
Metlice trsnatá (<i>Deschampsia caespitosa</i>)	14	26	15	30	24	23
Metlička křivolaká (<i>Deschampsia flexuosa</i>)	+	+	.	4	6	8
Psárka luční (<i>Alopecurus pratensis</i>)	1	+	.	.	+	+
Psineček tenký (<i>Agrostis capillaris</i>)	15	22	24	9	12	6
Tomka vonná (<i>Anthoxanthum odoratum</i>)	2	2	.	1	+	.
Trávy celkem	77	82	79	67	67	66
Bika ladní (<i>Luzula campestris</i>)	+	+	+	1	.	.
Bika mnohokvětá (<i>Luzula multiflora</i>)	+	+	2	+	+	+
Sítinovité a šáchorovité celkem	+	+	2	1	+	+
Jetel plazivý (<i>Trifolium repens</i>)	3	+	+	1	6	1

Pokračování tab. 3

Jeteloviny celkem	3	+	+	1	6	1
Bedrník obecný (<i>Pimpinella saxifraga</i>)	.	.	.	+	.	3
Knotovka lesní (<i>Melandrium rubrum</i>)	+	+	.	1	+	5
Kokrhel luštinec (<i>Rhinanthus alectorolophus</i>)	1	+	+	.	+	3
Kontryhel obecný (<i>Alchemilla vulgaris</i>)	+	+	+	+	+	1
Mochna nátržník (<i>Potentilla erecta</i>)	.	.	.	+	.	5
Pryskyřník prudký (<i>Ranunculus acris</i>)	.	.	+	+	6	+
Ptačinec trávolistý (<i>Stellaria graminea</i>)	+	1	.	+	.	2
Rdesno hadí kořen (<i>Polygonum bistorta</i>)	.	.	2	2	+	1
Rozrazil douškolistý (<i>Veronica serpyllifolia</i>)	1	+	2	1	3	+
Řebříček obecný (<i>Achillea millefolium</i>)	1	2	1	2	5	+
Smetánka lékařská (<i>Taraxacum</i> sect. <i>ruderalia</i>)	2	+	.	+	.	.
Třezalka skvrnitá (<i>Hypericum maculatum</i>)	8	11	12	20	9	9
Zvonek okrouhlostý (<i>Campanula rotundifolia</i>)	2	3	1	1	4	+
Ostatní byliny celkem	15	17	18	27	27	30
Prázdná místa	5	1	1	4	.	3
Celkový počet druhů (% D ≤ ≥ 1)	27	27	19	28	24	28

Tab. 4. Vývoj porostové skladby vyjádřený projektivní dominancí (% D) druhů a agrobotanických skupin, varianta ponechaná ladem (3-leté intervaly 2000 – 2015).

Druhy s pokryvností ≥ 1	Rok, % D					
	2000	2003	2006	2009	2012	2015
Agrobotanická skupina						
Kostřava červená (<i>Festuca rubra</i>)	36	15	1	7	4	2
Medyněk měkký (<i>Holcus mollis</i>)	9	28	43	33	30	41
Metlice trsnatá (<i>Deschampsia caespitosa</i>)	15	14	15	15	10	4
Metlička křivolaká (<i>Deschampsia flexuosa</i>)	+	+	.	+	5	8
Psárka luční (<i>Alopecurus pratensis</i>)	1	.	+	.	.	+
Psineček tenký (<i>Agrostis capillaris</i>)	15	18	19	8	12	11
Tomka vonná (<i>Anthoxanthum odoratum</i>)	1	+	.	2	+	+
Trávy celkem	77	74	78	65	67	66
Bika mnohokvětá (<i>Luzula multiflora</i>)	+	+	+	1	1	5
Sítinovité a šáchorovité celkem	+	+	+	1	1	5
Jetel plazivý (<i>Trifolium repens</i>)	3	+	.	.	.	.
Jeteloviny celkem	3	+	.	.	.	.
Knotovka lesní (<i>Melandrium rubrum</i>)	+	2	1	1	+	+
Kokrhel luštinec (<i>Rhinanthus alectorolophus</i>)	1	1	+	+	+	1
Pryskyřník prudký (<i>Ranunculus acris</i>)	.	+	+	1	2	+
Ptačinec trávolistý (<i>Stellaria graminea</i>)	+	.	.	+	+	2
Rdesno hadí kořen (<i>Polygonum bistorta</i>)	.	.	1	1	+	+
Rozrazil douškolistý (<i>Veronica serpyllifolia</i>)	1	2	.	1	1	+
Řebříček obecný (<i>Achillea millefolium</i>)	1	2	.	2	4	2
Smetánka lékařská (<i>Taraxacum</i> sect. <i>ruderalia</i>)	2	+	.	+	.	.
Třezalka skvrnitá (<i>Hypericum maculatum</i>)	8	11	6	23	25	18
Zvonek okrouhlostý (<i>Campanula rotundifolia</i>)	2	3	1	2	+	.
Ostatní byliny celkem	15	21	15	31	32	23
Prázdná místa	5	5	7	3	.	3
Celkový počet druhů (% D ≤ ≥ 1)	27	22	16	23	23	23

Závěr

Vlivem diferencované pratotechniky došlo ke změně původního porostového typu kostřavy červené s psinečkem tenkým (*Agrostidetum-Festucetum rubrae*) na porostové typy s dominantní metlicí trsnatou (sečení 1x, porostový typ *Festuceto-Deschampsietum*), (mulčování 1x, porostový typ *Holceto-Deschampsietum*) a medýňku měkkého (porost ponechaný ladem, *Holcetum molli*). Pícninářské vlastnosti porostu se rychleji zhoršovaly u mulčovaného a nesklízeného porostu. Výnosy sušiny byly u všech variant nízké, odpovídající extenzivní úrovni pratotechniky. Kulturní druhy trav z porostu ustoupily též vlivem vyššího výskytu patogenních hub, úbytek pokryvnosti kostřavy červené úzce koreloval s výskytem fusarióz (plísň sněžné) *Monographella nivalis* a *Fusarium solani* a nárůstem pokryvnosti medýňku měkkého. U sledovaných druhů trav (*Deschampsia cespitosa*, *Festuca rubra*, *Holcus mollis*) byl zaznamenán největší rozvoj hub rodu *Fusarium* v nesklízeném porostu.

Literatura:

- Cagaš, B. - Macháč, J. - Šrámek, P. - Folta, J. - Tvrz, V.: Semenářství trav. Oseva, KVŠÚP - Výzkumná stanice Rožnov se sídlem v Zubří, SEVT Praha, 1989, 150 s.
- Cagaš, B. a kol.: Trávy pěstované na semeno, Vydavatelství Baštan, Olomouc, 2010, 276 s.,
- Čermák, B., Voženílková, B., Kadlec, J.: Mykotoxiny v krmivu. Ochrana zvířat a welfare 2000, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, 2000: 158 - 161.
- Ellenberg, H.: Stickstoff als Standortsfaktor. Ber. Deutsch. Bot. Ges. 77, 1964: 82-92.
- Klimeš, F.: Systémové řešení optimální skladby a výživy dočasných travních porostů. In: Acta scientifica, řada obhájených vědeckých úkolů, AF VŠZ. Č. Budějovice, 1987: 106.
- Klimeš, F.: The development of Biodiversity of Grasslands with Different Trophic Regimes. Grassland Science in Europe. 2, 1997: 329-334.
- Klimeš, F.: Phytocoenologic relationships in pasture stands. Rostlinná výroba, 45, 1999: 5: 205-211.
- Klimeš, F.: Dynamics of species richness of floodplain meadows. Rostl. výroba, 46, 2000: 5: 199-208.
- Klimeš, F., Kobes, M.: Methodological tasks of evaluation of homogeneity of grazing stands. Scientia Agriculturae Bohemica, Praha, 30, 1999: 2: 81 – 82.
- Klimeš, F., Voženílková, B.: Dynamics of species richness of extensive pastures in different zones of landscape relief. Grassland Science in Europe, Vol. 6, 2001: 232 - 236
- Klimeš, F., Kolář, L., Kobes, M., Kužel, S., Voženílková, B.: A possibility to control of ground water contamination with nitrates by suitable grassland management. In: Collection of Scientific Papers Faculty of Agriculturae in České Budějovice, Series for Crop Science, 21, (1), 2004: 41-43.
- Květ, J., Klimeš, F., Černý, R.: Přístupy k rozvoji druhové pestrosti lučních porostů na Třeboňsku. In: Zemědělství v marginálních podmínkách. ZF JU, Č. Budějovice 1995: 271-278.
- Květ, J., Tetter, M., Klimeš, F., Suchý, K.: Grassland productivity as a basis for agricultural use of the Lužnice floodplain. In: Prach, K. - Jeník, J. - Large, A., R., G. (ed.): Floodplain ecology and management. Amsterdam, SPB Academic Publishing bv 1996: 245-249.
- Rychnovská, M., Vrzalová, J., 2009: Od funkce produkční k ekologické. In: Úroda. LVII (12): 31 – 32.
- Salašová, A.: Trvalé travní porosty v ochraně krajinného rázu. In: Trávníky 2009, Agentura Bonus, 2009: 28 – 34.
- Voženílková, B., Čermák, B.: Fungi Diseases of Selected Grasses under Various Methods of their Management. Collection of Scientific Papers, Faculty of Agriculture in České Budějovice, Series for Crop Sciences, 17, 1999: 117-122.

- Voženílková, B.: The extent of attack of selected grass species by the *Fusarium* fungi. Napadení vybraných druhů trav houbami rodu *Fusarium*. International Conference. Ecophysiology of plant production processes in stress conditions, 2000a: 53.
- Voženílková, B.: Vliv rozdílného ošetření travních porostů na potlačení hub rodu *Fusarium*. XV. Česká a Slovenská konference o ochraně rostlin. Brno. 2000b: 215-216.
- Voženílková, B.: Výskyt *Puccinia perplexans* na psárce luční při různém způsobu obhospodařování travních porostů. Collection of Scientific Papers, Faculty of Agriculture in České Budějovice, Series for Crop Sciences, 2000c: 17, 2: 105-109.
- Voženílková, B., Klimeš, F.: The Extent if Damage of Dominant Grass Species Attacked by *Fusarium* spp. Fungi 13th International Reinhardsbrunn Symposium. May 14th – May 18th 2001, Friedrichroda, Germany, 2001: 63.
- Voženílková, B., Klimeš, F., Kobes, M.: Napadení *Festuca rubra* houbami rodu *Fusarium*. In: Šetrné čerpání přírodních zdrojů a údržba krajiny pomocí chovu krav bez tržní produkce mléka. VUCHS Rapotín, 2006: 13 – 16.

Kontaktní adresa:

Ing. Milan Kobes, Ph.D.,
Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích,
Na Sádkách 1780, 370 05 České Budějovice
e-mail: kobes@zf.jcu.cz

VÝNOS ZELENÉ HMOTY SVAZENKY SHLOUČENÉ V ZÁVISLOSTI NA HMOTNOSTI VÝSEVKU

Green matter yield of *Phacelia congesta* depending on the seed weight

Hutyrová H.¹, Pelikán J.², Kubíková Z.¹

¹Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko

²Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r. o., Troubsko

Abstrakt

V letech 2018, 2019 a 2020 byl u svazenky shloučené (*Phacelia congesta* Hook.), odrůdy Fiona sledován vliv výsevu na výnos zelené hmoty a sena. Pokusy byly založeny metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních. Byly zkoušeny tři výsevy – 3,5 MKS (mil. klíčivých semen)/ha, 7 MKS/ha a 10,5 MKS/ha. V roce 2018 činil výnos zelené hmoty 18,35 – 18,86 t/ha, v roce 2019 bylo sklizeno 23,97 – 26,66 t/ha a v roce 2020 bylo množství zelené hmoty od 47,66 do 51,05 t/ha. V roce 2018 činil výnos sena 4,34 – 4,47 t/ha, v roce 2019 byl výnos sena 2,88 – 3,2 t/ha a v roce 2020 bylo množství sena od 3,83 do 4,09 t/ha. Velikost výsevu neměla průkazný vliv na výnos. Výnosy zelené hmoty se však průkazně lišily mezi sledovanými ročníky. V roce 2020 byly výnosy průkazně vyšší než v letech 2018 a 2019. V roce 2018, s výjimkou výsevu 3,5 MKS, byl výnos zelené hmoty průkazně nižší než v roce 2019.

Klíčová slova: *Phacelia congesta*, výnosy, zelená hmota, seno

Abstract

In the years 2018, 2019 and 2020 were tested the yield characteristics of green matter and hay of *Phacelia congesta*, the Fiona variety. Three seeding sizes were used – 3,5 MGS (million germinating seeds)/ha, 7 MGS/ha and 10,5 MGS/ha. In 2018 the yield of green matter was 18.35 - 18.86 t/ha, in 2019 was harvested 23.97 - 26.66 t/ha and in 2020 the amount of green matter was from 47.66 to 51.05 t/ha. In 2018 the hay yield was 4.34 - 4.47 t/ha, in 2019 the hay yield was 2.88 - 3.2 t/ha and in 2020 the amount of hay was from 3.83 to 4.09 t/ha. There were no statistically significant difference in green and hay yields between individual sowings. However, green matter yields were statistically significantly different between the monitored years. In 2020, yields were significantly higher than in 2018 and 2019. In 2018, with the exception of 3.5 MKS sowing, the yield of green matter was significantly lower than in 2019.

Keywords: *Phacelia congesta*, yield, green matter, dry matter

Úvod

Produkce biomasy rostlin kolísá v závislosti na rostlinném druhu, termínu výsevu, povětrnostních podmínkách a délce vegetace (Brant a kol., 2008).

Svazenka shloučená je jednoletá (v původním areálu rozšíření i dvouletá) bylina rostoucí do výšky 30–90 cm. Areál jejího přirozeného výskytu je v Severní Americe, kde roste ve větších koloniích na přímém slunci, nebo v částečném stínu na suchých půdách prérií, loukách, pastvinách (Atwood 1975). Je podobná svazence vratičolisté (Hutyrová-Marková a kol., 2009a). Oproti svazence vratičolisté má pomalejší růst a vývoj a s tím spojený pozdnější nástup kvetení a také delší dobu kvetení (Kubíková a kol., 2017), proto je vhodnou plodinou pro potřeby včelařů (Hutyrová a kol., 2018).

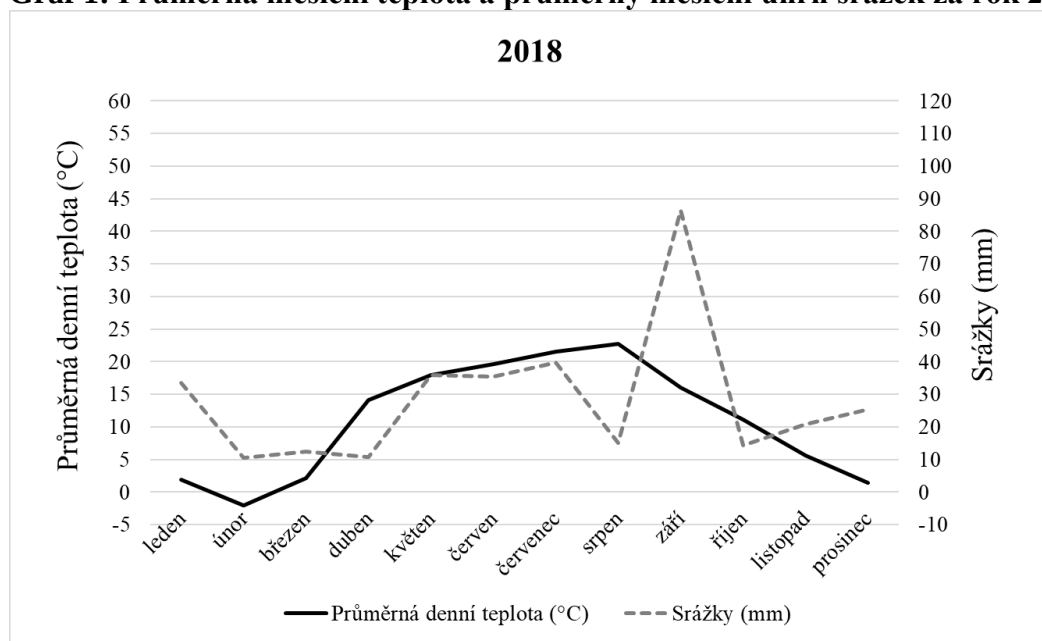
Materiál a metody

Pokusy byly založeny metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních. Velikost parcely činila 10 m². Byly použity tři velikosti výsevu – 3,5 MKS (mil. klíčivých semen), 7 MKS a 10,5 MKS na 1 hektar. Sklizeň zelené hmoty proběhla na začátku kvetení, kdy bylo rozkvetlých 10% rostlin na parcele. Termíny začátku kvetení se mírně lišily v závislosti na termínu výsevu

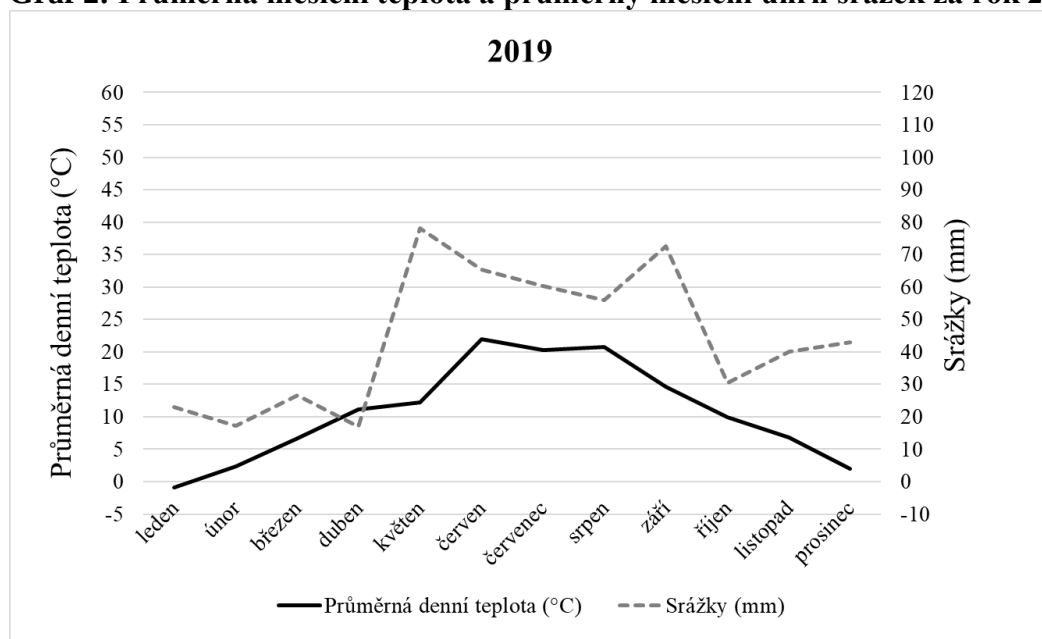
a průběhu počasí v jednotlivých letech. V roce 2018 byl výsev proveden 24.4.2018 a sklizeň zelené hmoty proběhla 14.6.2018. V roce 2019 byly termín výsevu 16.4.2019 a sklizeň proběhla 27.6.2019. V roce 2020 proběhl výsev 22.4.2020, sklizeň byla realizována 14.7.2020. Získané výsledky byly vyhodnoceny analýzou rozptylu dvojnásobného třídění. Statistická významnost rozdílů středních hodnot u všech porovnávaných skupin byla zhodnocena pomocí Tukeyova HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

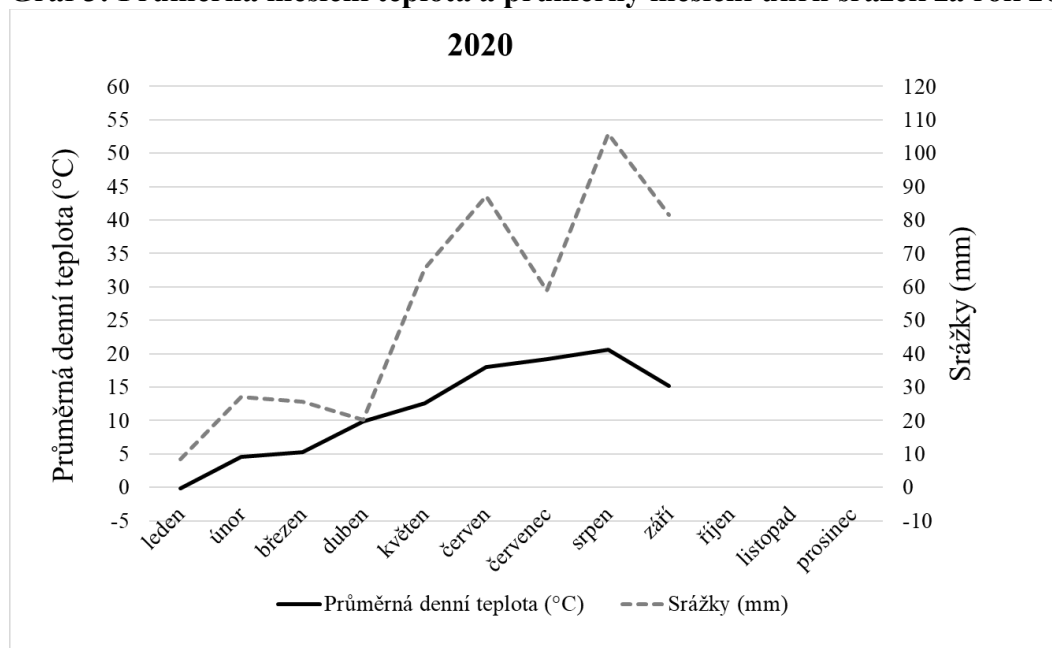
Rok 2018 byl teplý a extrémně suchý. Za vegetační sezónu (duben až srpen) spadlo pouze 136,8 mm srážek. To se také podepsalo na intenzitě růstu a výnosech zelené hmoty. Rok 2019 byl teplý a srážkově bohatší. Za sezónu spadlo celkem 276,7 mm srážek. Rok 2020 byl chladnější s poměrně velkým množstvím srážek, 337,8 mm od dubna do srpna. Průběh počasí v jednotlivých letech znázorňuje graf 1, 2 a 3.

Graf 1: Průměrná měsíční teplota a průměrný měsíční úhrn srážek za rok 2018



Graf 2: Průměrná měsíční teplota a průměrný měsíční úhrn srážek za rok 2019



Graf 3: Průměrná měsíční teplota a průměrný měsíční úhrn srážek za rok 2020

Výsledky a diskuse

V roce 2018 byly zjištěny nejnižší výnosy zelené hmoty i sena. Výnos zelené hmoty činil 18,35 – 18,86 t/ha, v roce 2019 bylo počasí příznivější a výnosy se pohybovaly v rozmezí 23,97 – 26,66 t/ha a v roce 2020 bylo poměrně vlhké počasí s dostatkem srážek a množství zelené hmoty se pohybovalo od 47,66 do 51,05 t/ha. Výnos sena v roce 2018 činil 4,34 – 4,47 t/ha, v roce 2019 byl výnos sena 2,88 – 3,2 t/ha a v roce 2020 bylo množství sena od 3,83 do 4,09 t/ha.

Z výsledků je patrné, že v suchém roce 2018 byl poměrně nízký výnos čerstvé zelené hmoty, ale sklizená hmota měla vysoký obsah sušiny a celkový výnos sena byl v tomto roce nejvyšší. Naopak ve vlhkém roce 2020 by velmi vysoký výnos zelené hmoty. Rostliny v tomto roce dosahovaly v době kvetení až 1 m, ale obsah sušiny v rostlinách byl poměrně nízký a celkový výnos sena byl nižší než v roce 2018. V letech 2018 a 2019 byl nejvyšší výnos zelené hmoty i sena zjištěn u standartního výsevu (7 MKS). V roce 2020 byl nejvyšší výnos zelené hmoty i sena zjištěn u nejvyššího výsevu. V žádném ze sledovaných ročníků nebyly zjištěny mezi výsevky statisticky průkazné rozdíly (viz tabulka 1). Výnosy zelené hmoty se mezi jednotlivými ročníky statisticky průkazně lišily. Rok zásevu 2020 statisticky překonal rok založení 2018 a 2019. V roce 2018, s výjimkou výsevu 3,5 MKS/ha, byl výnos zelené hmoty statisticky průkazně nižší než v roce 2019 (viz tabulka 2). Ve výnosech sena nebyly zjištěny rozdíly ani mezi výsevky ani mezi jednotlivými ročníky.

Podobný trend ve výnosech svazenky vratičolisté, která je habitem podobná svazence shloučené (Hutyrová-Marková a kol., 2009a) zaznamenala i Hutyrová-Marková a kol. (2009b), kdy srážkový deficit v průběhu vegetace měl za následek pokles výnosu zelené hmoty. Výnosy zelené hmoty u odrůd svazenky vratičolisté sledoval také Pelikán (1998). Výnosové charakteristiky zelené hmoty a sena u letních výsevů svazenky vratičolisté sledoval ve státních odrůdových zkouškách Zehnálek (2007, 2009, 2011, 2012, 2013, 2015, 2016, 2017).

Tab. 1: Statistické porovnání výnosů zelené hmoty a sena svazenky shloučené, odrůdy Fiona mezi třemi variantami výsevků

výsevek	2018		2019		2020	
	zelená hmota	seno	zelená hmota	seno	zelená hmota	seno
7 g	18,67 ^a	4,41 ^a	23,97 ^a	2,88 ^a	47,66 ^a	3,83 ^a
14 g	18,86 ^a	4,47 ^a	26,66 ^a	3,20 ^a	50,29 ^a	4,02 ^a
21 g	18,35 ^a	4,34 ^a	24,97 ^a	3,01 ^a	51,05 ^a	4,09 ^a
D _T (0,05)	1,86	0,42	3,04	0,37	3,78	0,27
D _T (0,01)	3,58	0,82	5,86	0,72	7,3	0,52

Tab. 2: Statistické porovnání výnosů zelené hmoty a sena svazenky shloučené, odrůdy Fiona mezi sledovanými roky výsevu

	zelená hmota			seno		
	výsevek 7 g	výsevek 14 g	výsevek 21 g	výsevek 7 g	výsevek 14 g	výsevek 21 g
2018	18,67 ^b	18,86 ^c	18,35 ^c	4,41 ^a	4,47 ^a	4,34 ^a
2019	23,97 ^b	26,67 ^b	24,97 ^b	2,88 ^a	3,20 ^a	3,01 ^a
2020	47,66 ^a	50,29 ^a	51,05 ^a	3,83 ^a	4,02 ^a	4,09 ^a
D _T (0,05)	9,48	5,76	6,5	1,86	1,53	1,45
D _T (0,01)	18,29	11,11	12,55	3,59	2,94	2,79

Z rozdílů mezi výnosy zelené hmoty v jednotlivých ročnících je zřejmé, že svazence shloučené vyhovuje vlhčí počasí. Velmi dobře reaguje na dostatek srážek a vytváří větší množství zelené hmoty. Ovšem počasí také nepříznivě ovlivňuje obsah sušiny a na výnos sena neměl vlhčí ročník vliv.

Závěr

Ze zjištěných výsledků vyplývá, že nejvyšší výnosy zelené hmoty i sena byly dosahovány buď u standardního nebo u zvýšeného výsevu. Nejnížší hodnoty byly zjištěny u sníženého výsevu, s výjimkou roku 2018, kde bylo nejnížších výnosů sena i zelené hmoty dosaženo u zvýšeného výsevu. Rozdíly mezi zjištěnými hodnotami však nebyly statisticky průkazné. Výsevek neměl statisticky průkazný vliv na výnos zelené hmoty a sena. V pokusech se projevil průkazný vliv ročníku na výnos zelené hmoty. Výnosy zelené hmoty byly vyšší v ročnících s vyššími srážkami. Vyšší výnos čerstvé zelené hmoty neměl vliv na zvýšení výnosu sena. Mezi výnosem sena (suché hmoty) nebyl mezi ročníky statisticky průkazný rozdíl.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1720 a Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.2.

Použitá literatura

- Atwood, N. D. (1975): A revision of the *Phacelila Crenulatae* group (*Hydrophyllaceae*) for North America. Great Basin Naturalist 35 (2): Article 1, 127-188
- Brant a kolektiv (2008): Meziplodiny. Kurent. České Budějovice. 86 s.
- Hutyrová-Marková H., Pelikán J., Knotová D., Gottwaldová P. (2009a): Porovnání vybraných znaků u druhů *Phacelia congesta* a *Phacelia tanacetifolia*. Věd. příloha časopisu Úroda, 12: 37–40. ISSN: 0139-6013
- Hutyrová-Marková H., Gottwaldová P., Knotová D., Pelikán J. (2009b): Zhodnocení výnosových charakteristik sortimentu svazenky vratičolisté (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů. Věd. příloha časopisu Úroda, 12: 45–48. ISSN: 0139-6013.
- Kubíková Z., Vícha D., Hutyrová H. (2017): Nové poznatky o vývoji svazenky shloučené. Věd. příloha časopisu Úroda, 12: 423 – 428. ISSN: 0139-6013
- Hutyrová H., Vícha D., Knotová D., Pelikán J. (2018): Svazenka shloučená (*Phacelia congesta* Hook.). Pícninářské listy 2018 (XXIV): s. 45 – 44.
- Pelikán, J.: Evaluation of performance in a collection of *Phacelia tanacetifolia* (Benth.) varieties. Rostlinná výroba , 44, 1998 (6): 275-279.
- 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

VLIV TERMÍNU A ŠÍŘKY ŘÁDKŮ NA VÝNOS SEMEN U SVAZENKY SHLOUČENÉ

The influence of sowing term and row spacing on seed yield of *Phacelia congesta*

Hutyrová H.¹, Kubíková Z.¹, Pelikán J.²

¹Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko

²Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r. o., Troubsko

Abstrakt

V letech 2018, 2019 a 2020 byl v polních podmínkách, sledován výnos semen u svazenky shloučené, odrůdy Fiona. Porosty byly ve všech sledovaných letech založeny ve třech termínech (1/2 dubna, 2/2 dubna, 1/2 května). Výsevek činil 7 MKS/ha, šířka řádků v pokusných parcelách byla 12,5 nebo 25 cm. V roce 2018 byl největší výnos semen zjištěn u prvního výsevu (12. 4. 2018 u šířky řádků 12,5 cm. V roce 2019 byl nejvyšší výnos semen zjištěn u třetího výsevu (7. 5. 2019) u šířky řádků 25 cm. A v roce 2020 byl nejvyšší výnos zjištěn u třetího výsevu (7. 5. 2020) u šířky řádků 12,5 cm. Rozdíly ve výnosech semene byly nejvíce ovlivněny množstvím srážek v jednotlivých letech. Mezi jednotlivými ročníky byly ve výnosech semen zjištěny průkazné rozdíly.

Klíčová slova: *Phacelia congesta*, výnosy, termín výsevu

Abstract

In the years 2018, 2019 and 2020, the yield of seeds of the *Phacelia congesta*, the Fiona variety was examined in field conditions. In all monitored years, the stands were established in three terms (1/2 April, 2/2 April, 1/2 May). The sowing rate was 7 MGS/ha, the width of the rows in the experimental plots was 12.5 or 25 cm. In 2018, the highest seed yield was found at the first sowing (April 12, 2018) at a row width of 12.5 cm. In 2019, the highest seed yield was found at the third sowing (May 7, 2019) at a row width of 25 cm. And in 2020 the highest yield was found for the third sowing (7. 5. 2020) with a row width of 12.5 cm. The differences in seed yields were mostly influenced by the amount of precipitation in individual years. Significant differences in seed yields were found between individual years.

Keywords: *Phacelia congesta*, yield, sowing date

Úvod

Svazenka shloučená je podobná svazence vratičolisté (Hutyrová (Marková) a kol., 2009). Pochází však z jižnějších oblastí severní Ameriky než svazenka vratičolistá, a proto je teplomilnější (Atwood a kol., 1979). Má pomalejší počáteční vývoj, s tím je spojený i pomalejší nástup kvetení a následného zrání semen. Začíná kvést po 64 až 70 dnech od výsevu. Při dozrávání nedochází k zasychání celých rostlin, ale pouze dozrálých květenství (Kubíková a kol., 2019). V roce 2012 byla v České republice registrována první odrůda tohoto druhu se jménem Fiona. Je možné ji využít například ve směsích pro greening nebo jako medonosnou rostlinu (Hutyrová a kol., 2018).

Díky jejímu krátkému uvedení na trh, nejsou ještě zcela prozkoumány všechny aspekty jejího pěstování. V předkládané práci byl zkoumán vliv termínu výsevu na výnos semen.

Materiál a metody

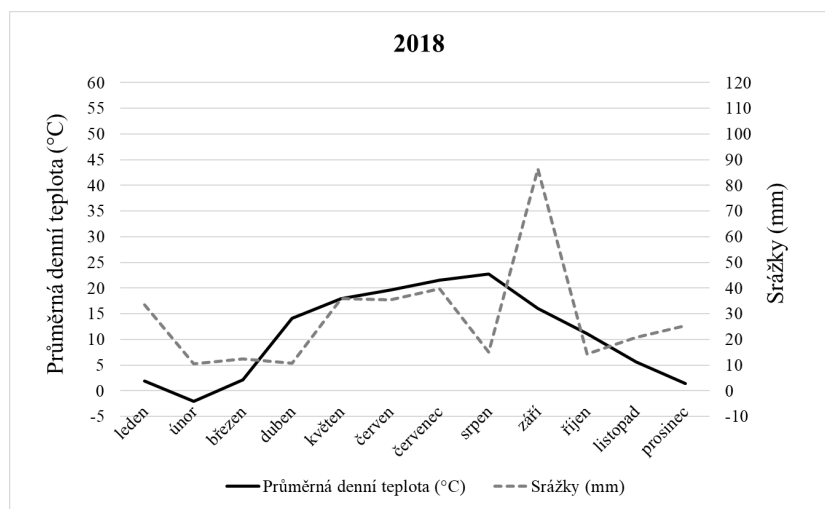
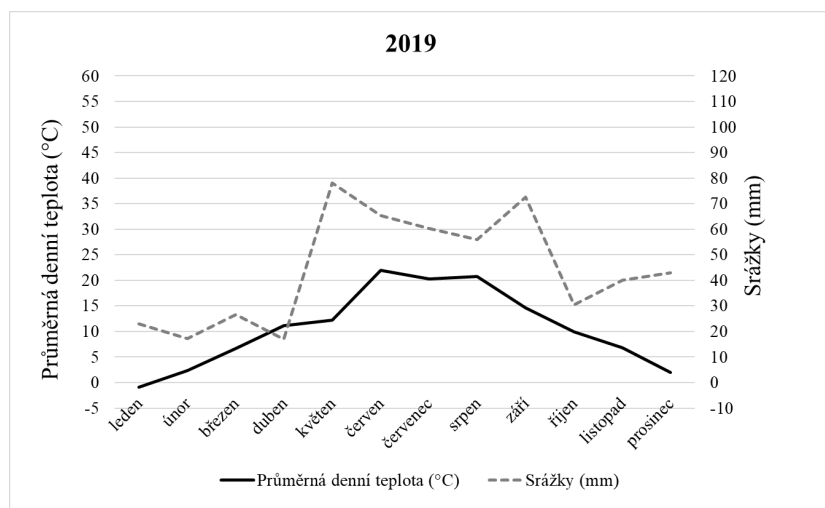
V letech 2018, 2019 a 2020 byl na lokalitě v Troubsku v polních podmínkách založen pokus se svazenkou shloučenou, odrůdou Fiona metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních. Velikost parcely činila 10 m², výsevek byl 14 g. Termíny výsevů a sklizní uvádí tabulka 1.

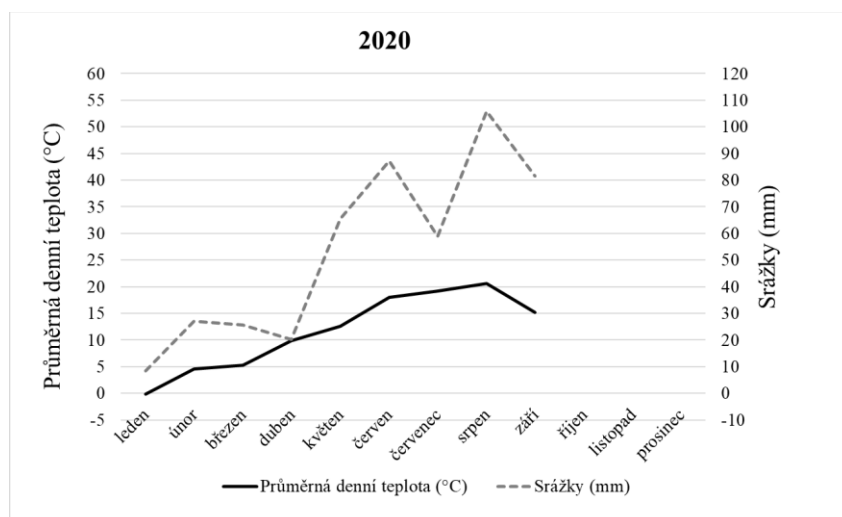
Tab. 1: Termíny výsevů a semenářských sklizní svazanky shloučené, odrůdy Fiona

	2018		2019		2020	
	setí	sklizeň	setí	sklizeň	setí	sklizeň
1. výsev	12.4.2018	1.8.2018	5.4.2018	6.8.2019	8.4.2020	27.8.2020
2. výsev	24.4.2018	14.8.2018	16.4.2019	20.8.2019	22.4.2020	15.9.2020
3. výsev	10.5.2018	30.8.2018	7.5.2019	3.10.2019	7.5.2020	15.9.2020

Při sklizni byly zjišťovány výnosy semen. Získané výsledky byly vyhodnoceny analýzou rozptylu dvojnásobného třídění. Statistická významnost rozdílů středních hodnot u všech porovnávaných skupin byla zhodnocena pomocí Tukeyova HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Rok 2018 byl teplý a extrémně suchý. Za vegetační sezónu (duben až srpen) spadlo pouze 136,8 mm srážek. Nízký úhrn srážek a vysoká teplota během dne, často přesahující 35 °C, se projeví na intenzitě růstu a výnosech semen. Rok 2019 byl teplý a srážkově bohatší. Za sezónu spadlo celkem 276,7 mm srážek. Rok 2020 byl chladnější s poměrně velkým množstvím srážek, 337,8 mm od dubna do srpna. Průběh počasí v jednotlivých letech znázorňuje graf 1, 2 a 3.

Graf 2: Průměrná měsíční teplota a průměrný měsíční úhrn srážek za rok 2018**Graf 2: Průměrná měsíční teplota a průměrný měsíční úhrn srážek za rok 2019**

Graf 3: Průměrná měsíční teplota a průměrný měsíční úhrn srážek za rok 2020

Výsledky a diskuse

Ve všech termínech výsevů byly mezi sledovanými roky zjištěny statisticky průkazné rozdíly ve výnosu semen. V roce 2018, který byl velmi suchý, byly výnosy semen velmi nízké a pohybovaly se v rozmezí od 10 do 27 kg/ha. Vyšší výnosy byly v tomto roce u šířky řádků 12,5 cm, ale rozdíly nebyly statisticky průkazné s výjimkou druhého termínu setí, kdy byl při užších řádcích získán vyšší výnos osiva než při širokých. Nejvyšší výnosy byly zjištěny u prvního výsevu a nejnižší výnosy byly v roce 2018 posledním termínu výsevu (10. 5. 2018). Snížení výnosů u třetího výsevu bylo statisticky průkazné. V tomto pozdně jarním termínu se nejvíce projevil nedostatek srážek. V roce 2019 se výnosy semene pohybovaly v rozmezí od 177 do 319 kg/ha. Nejnižší výnosy byly zjištěny v prvním výsevu. Nejvyšší výnos byl zaznamenán ve třetím výsevu u šířky řádků 25 cm. Mezi výnosy semen v různých termínech výsevu a v různých šířkách řádků nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly. V roce 2020 byly zjištěny průkazné rozdíly mezi jednotlivými termíny výsevů. Nejnižší výnosy byly zjištěny opět v prvním termínu výsevu. Naopak nejvyšší výnosy byly zjištěny ve třetím termínu výsevu. Mezi šířkou řádků nebyly statisticky průkazné rozdíly.

Byly zjištěny průkazné rozdíly ve výnose semen mezi jednotlivými ročníky. Rozdíly ve výnosech semene v jednotlivých letech ovlivnilo množství srážek ve sledovaných letech. V roce 2018, kdy v období od dubna do srpna byl velký nedostatek srážek, byly výnosy celkově nejnižší a nejvyšší výnos semen byl zaznamenán v prvním výsevu. Rostliny při dřívějším termínu setí stihly využít vláhu ze zimy. Naopak nejnižší výnos byl u třetího výsevu. V důsledku nízkého úhrnu srážek a vysoké teploty během dne měly negativní dopad na intenzitu růstu a výnos semen (Hassan M.U., 2020).

V letech 2019 a 2020, které byly srážkově příznivější, byl trend opačný. Nejnižší výnosy byly zjištěny u prvního výsevu (v první polovině dubna). V obou těchto letech byl v měsíci dubnu poměrně nízký úhrn srážek a tento snížený úhrn srážek v dubnu se projevil nižším výnosem semen u prvního termínu výsevu oproti následujícím dvěma termínům. Z uvedených údajů lze usoudit, že podmínky v době vzházení rostlin, zejména pak dostatek srážek, mají značný vliv na výnosy semen (Drebenstedt a kol., 2020).

Výnosy semen odrůd příbuzné svazenky vratičolisté sledovali Marková a kol. (2008) a Pelikán a kol. (2013).

Tab. 2: Statistické porovnání výnosů semene svazenky shloučené, odrůdy Fiona v různých termínech výsevu

rok zkoušení:	2018		2019		2020	
šířka řádků:	12,5 cm	25 cm	12,5 cm	25 cm	12,5 cm	25 cm
1. výsev	26,90 ^a	26,07 ^a	186,30 ^a	177,60 ^a	65,33 ^c	86,33 ^c
2. výsev	25,23 ^a	8,67 ^b	224,97 ^a	227,57 ^a	247,00 ^b	281,00 ^b
3. výsev	10,13 ^b	10,17 ^b	221,97 ^a	318,90 ^a	507,67 ^a	419,67 ^a
D _T (0,05)	23,65	13,35	142,11	167,70	40,44	81,15
D _T (0,01)	45,62	25,75	274,18	323,56	78,02	156,58

Tab. 3: Statistické porovnání výnosů semene svazenky shloučené, odrůdy Fiona mezi sledovanými roky výsevu

	šířka řádků: 12,5 cm			šířka řádků: 25 cm		
rok zkoušení	1. výsev	2. výsev	3. výsev	1. výsev	2. výsev	3. výsev
2018	26,90 ^b	25,23 ^b	10,13 ^c	26,07 ^b	8,67 ^c	10,17 ^c
2019	186,30 ^a	224,97 ^a	221,97 ^b	177,60 ^a	227,57 ^b	318,90 ^b
2020	65,33 ^b	247,00 ^a	507,67 ^a	86,33 ^c	281,00 ^a	419,67 ^a
D _T (0,05)	39,26	72,94	97,92	64,06	43,60	44,80
D _T (0,01)	75,74	140,73	188,94	123,60	84,13	86,44

Závěr

Ze zjištěných výsledků vyplývá, že šířka řádků nemá na výnos semene tak významný vliv jako termín setí a ročník. Významným činitelem, který se promítá do celkové produkce semen, je pak množství srážek v období vzcházení svazenky. Dostatek srážek v době vzcházení má příznivý vliv na produkci semen. Ve všech případech byly vyšší výnosy semen zjištěny u termínů výsevu, kdy byly v období vzcházení příznivější vláhové podmínky.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1720 a Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.2.

Použitá literatura

- Atwood, N. D. (1975): A revision of the *Phacelila Crenulatae* group (Hydrophyllaceae) for North America. *Great Basin Naturalist* 35 (2): Article 1, 127-188
- Drebenstedt I., Hart L., Poll Ch., Marhan S., Kandeler E., Böttcher Ch., Meiners T., Hartung J. and Högy P. (2020): Do Soil Warming and Changes in Precipitation Patterns Affect Seed Yield and Seed Quality of Field-Grown Winter Oilseed Rape? *Agronomy-basel*. Volume 10, Issue 4, Article Number: 520.
- Hassan, M. U., Chattha, M. U., Barbanti, L., a kol. (2020): Cultivar and seeding time role in sorghum to optimize biomass and methane yield under warm dry climate. *Industrial Crops and Products*. Volume 145. article number 111983.

- Hutyrová H., Vícha D., Knotová D., Pelikán J. (2018): Svazenka shloučená (*Phacelia congesta* Hook.). Pícninářské listy 2018 (XXIV): s. 45 – 44, ISBN 978-80-87091-77-7
- Hutyrová (Marková) H., Pelikán J., Knotová D., Gottwaldová P. (2009): Porovnání vybraných znaků u druhů *Phacelia congesta* a *Phacelia tanacetifolia*. Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů. Věd. příloha časopisu Úroda, 12: 37–40. ISSN: 0139-6013.
- Kubíková Z., Smejkalová H., Kadaňková P., Hutyrová H., Pelikán J. (2019): Využití fenologické stupnice BBCH a jejích modifikací při hodnocení vývoje svazenky. Rožnovský, J., Litschmann, T. (eds): Fenologie, její význam a užití, Modrá 11. – 12. 4. 2019, vydal VÚMOP v.v.i. Praha, ISBN 978-80-87361-83-2
- Marková, H., Knotová, D., Gottwaldová, P., Pelikán, J. 2008. Výnosy odrůd a novošlechtění svazenky vratičolisté (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů. Vědecká příloha časopisu Úroda. 89-92. ISSN 0139-6013
- Pelikán J., Macháč R., Knotová D., Raab S. (2013): Metodika pěstování vybraných meziplojin na semeno v podmínkách ekologického zemědělství. Uplatněná certifikovaná metodika č. 23/13. Osvědčení č. 78-12/KÚ-SŘÚ/UKZUZ/2013, Troubsko, 40 s. ISBN 978-80-905080-8-8

Kontaktní adresa:

Mgr. Helena Hutyrová
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko
e-mail: hutyrova@vupt.cz

HODNOCENÍ SORTIMENTU ODRŮD SVAZENKY VRATIČOLISTÉ (*PHACELIA TANACETIFOLIA* BENTH.)

Evaluation of *Phacelia tanacetifolia* varieties

Hutyrová H.¹, Pelikán J.², Knotová D.², Frei I.¹

¹Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko

²Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r. o., Troubsko

Abstrakt

V letech 2019 a 2020 byly v polních podmínkách zkoušeny tři odrůdy svazenky vratičolisté (*Phacelia tanacetifolia* Benth.) – Maja, Wolga a Vega. Porosty byly hodnoceny z hlediska výnosů zelené hmoty, suché hmoty a semen. V roce 2019 byl výnos semen v rozmezí 0,42 – 0,47 t.ha⁻¹, výnos zelené hmoty v rozmezí 26,99 – 27,46 t.ha⁻¹ a výnos sena v rozmezí 2,34 – 3,13 t.ha⁻¹. V roce 2020 byl výnos semen v rozmezí 0,38 – 0,47 t.ha⁻¹, výnos zelené hmoty v rozmezí 51,43 – 53,30 t.ha⁻¹ a výnos sena v rozmezí 2,9 – 3,35 t.ha⁻¹. Mezi odrůdami nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly ve sledovaných charakteristikách. Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn ve výnosech zelené hmoty mezi sledovanými roky. V roce 2019 byl výnos zelené hmoty u všech odrůd statisticky průkazně nižší než v roce 2020.

Klíčová slova: *Phacelia*, výnos semene, výnos zelené hmoty

Abstract

In 2019 and 2020, three varieties of *Phacelia tanacetifolia* were tested in field conditions - Maja, Wolga and Vega. There were evaluated yields of green matter, dry matter and seeds. In 2019, the seed yield was in the range of 0.42 - 0.47 t.ha⁻¹, the green matter yield in the range of 26.99 - 27.46 t.ha⁻¹ and the hay yield in the range of 2.34 - 3.13 t.ha⁻¹. In 2020, the seed yield was in the range of 0.38 - 0.47 t.ha⁻¹, the green matter yield in the range of 51.43 - 53.30 t.ha⁻¹ and the hay yield in the range of 2.9 - 3.35 t.ha⁻¹. No statistically significant differences in the observed characteristics were found between the varieties. A statistically significant difference was found in green matter yields between the monitored years. In 2019, the yield of green matter for all varieties was statistically significantly lower than in 2020.

Keywords: *Phacelia*, seeds yield, green matter yield

Úvod

Jedna ze strategií udržitelných zemědělských systémů je využívání meziplodin. Meziplodiny snižují riziko eroze, zabraňují vyplavování živin z půdy, chrání půdu před velkým výparem a jsou dobrou ochranou proti růstu plevelů (Žuk-Golaszewska a kol., 2019).

Významnou meziplodinou je i svazenka vratičolistá (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Jedná se o jednoletou rostlinu s rychlým růstem a krátkou vegetační dobou (Demela a kol., 1959). Je to nezastupitelný přerušovač k ozdravení půdy, vynikající donor draslíku, snižuje teplotu na povrchu půdy (o 4°C až 7,5°C oproti teplotám na povrchu půdy bez pokryvu (Robotka, 2020)). Velmi dobře snáší sucho i nízké teploty. Nemá významné požadavky na půdu, má vysokou předplodinovou hodnotu, netrpí chorobami ani škůdci, nezapleveluje následnou plodinu (Brant a kol., 2008).

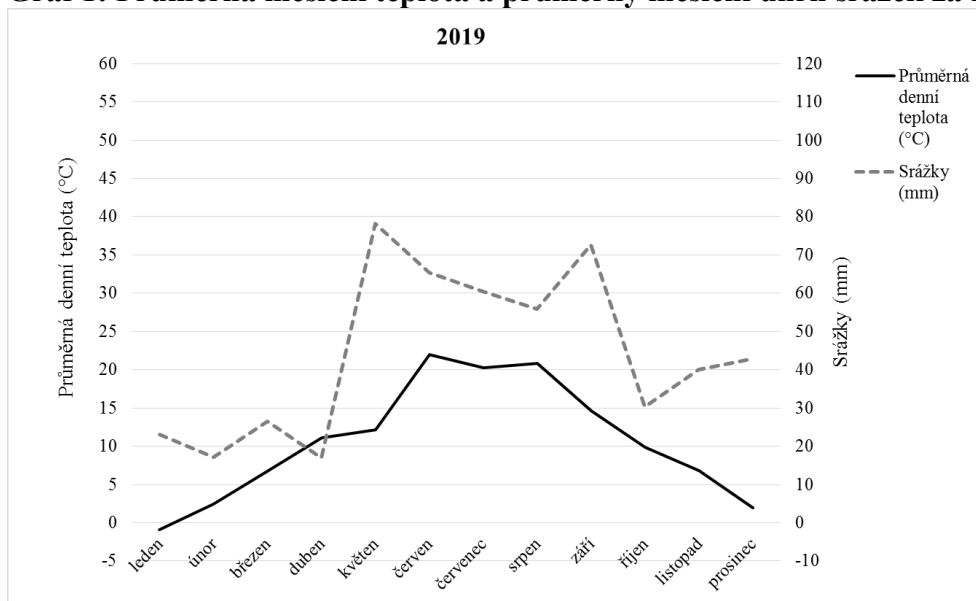
Hodnocení sortimentu odrůd zemědělských plodin má význam pro uživatele i šlechtitele. Údaje jsou z Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity zaznamenávány do databáze GRIN Czech a slouží uživatelům z řad šlechtitelů a výzkumníků.

Materiál a metody

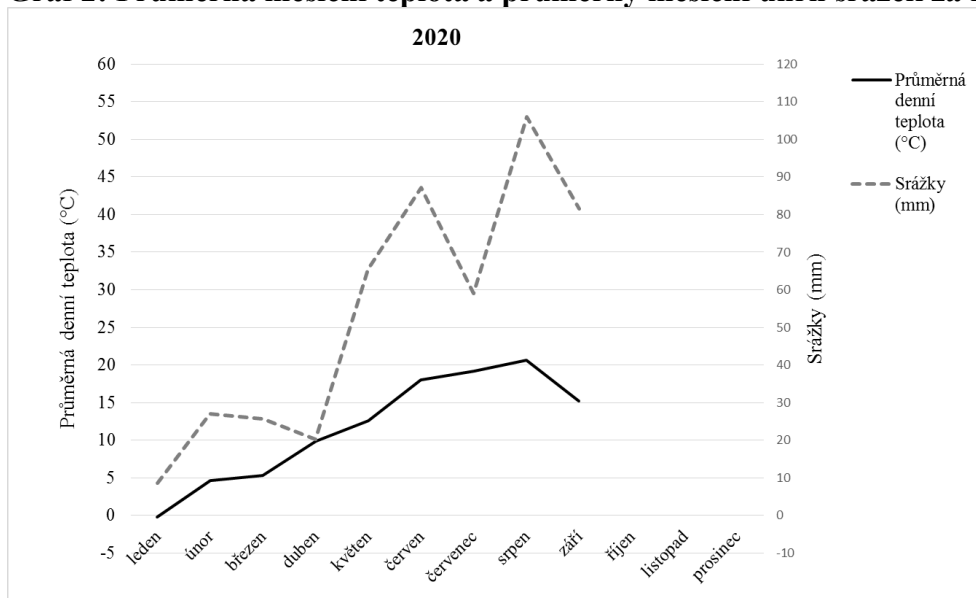
V letech 2019 a 2020 byl na lokalitě v Troubsku v polních podmínkách hodnocen sortiment třech odrůd svazenky vratičolisté (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). V posledních letech však osivářské firmy nechtějí poskytovat vzorky osiv na vědecké účely, takže se nám podařilo získat pouze 3 odrůdy (Maja, Wolga a Vega) k následnému zkoušení a uchování vzorků do genové banky.

Pokus byl založen metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních na píci i semeno. Velikost parcely činila 10 m², s šířkou řádků 25 cm, výsevek byl 15g/m². V roce 2019 byl výsev proveden 16. 4., v roce 2020 byl výsev proveden 8. 4. Sklizeň proběhla 85 dní od výsevu v roce 2019 a 83 dnů od výsevu v roce 2020. Při sklizni byly zjišťovány výnosy zelené hmoty, sena a semen. Průběh počasí ve sledovaných letech znázorňuje graf 1 a 2.

Graf 1: Průměrná měsíční teplota a průměrný měsíční úhrn srážek za rok 2019



Graf 2: Průměrná měsíční teplota a průměrný měsíční úhrn srážek za rok 2020



Získané výsledky byly statisticky zhodnoceny analýzou rozptylu dvojnásobného třídění. Statistická významnost rozdílů středních hodnot u všech porovnávaných skupin byla zhodnocena pomocí Tukeyova HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky a diskuse

Porosty všech odrůd byly vyrovnané, nevykazovaly větší odchylky. Jednotlivé odrůdy se ve výnosech zelené hmoty, sena i semene ve sledovaných letech 2019 a 2020 mezi sebou statisticky průkazně nelišily (viz Tab. 1). K o něco nižším výnosům semen došli v letech 2010 a 2011 i Pelikán a kol. (2013).

Ke statisticky průkaznému rozdílu došlo ve výnosech zelené hmoty mezi sledovanými roky. V roce 2019 byl výnos zelené hmoty statisticky průkazně nižší než v roce 2020 (viz Tab. 2).

Na obrázcích 1 a 2 je zřejmé, že v dubnu roce 2019 měla kombinace nižšího úhrnu srážek a vyšších teplot (oproti roku 2020) výrazný vliv na vzcházení osiva, růst a následné zapojení porostu. Průměrný úhrn srážek v roce 2019 za měsíc duben byl 16,9 mm, přičemž průměrná teplota v daném měsíci byla 11,1 °C. V roce 2020 byl průměrný úhrn srážek za měsíc duben 20,3 mm a průměrná měsíční teplota 9,9 °C. Srážky byly v roce 2019 koncentrované na poslední dny v měsíci, kdežto v roce 2020 byly rozptýleny v průběhu celého měsíce, což mělo výrazný vliv na vlhkost půdy a tím i na rychlost klíčení a vzcházení vysetého osiva. Rozdíl byl i ve výšce porostu. V roce 2019 se průměrná výška porostu před sklizní na zelenou hmotu pohybovala od 62 do 66 cm, kdežto v roce 2020 byly rostliny vysoké i přes 1 metr, průměrná výška porostu tak dosahovala 94 až 99 cm. Ke stejným závěrům došel i Ates a kol. (2006).

K podobné situaci došlo i v letech 2008 a 2009. V roce 2008, kdy bylo množství srážek a jejich rozložení v normálu, dosahovaly výnosy zelené hmoty hodnot v rozpětí 42,9 do 53,05 t.ha⁻¹ (Marková a kol., 2008). V roce 2009, rovněž došlo ke srážkovému deficitu v průběhu měsíce dubna, který měl za následek snížení výnosu zelené hmoty na 15,7 až 21,8 t.ha⁻¹, v jednom případě výnos klesl až na pouhých 8,5 t.ha⁻¹ (Hutyrová (Marková) a kol., 2009).

Tab. 1: Výnosy semene, zelené hmoty a sena u sledovaných odrůd druhu *Phacelia tanacetifolia* Benth. za období 2019 a 2020

odrůda	semeno (t.ha ⁻¹)		zelená hmota (t.ha ⁻¹)		sena (t.ha ⁻¹)	
	2019	2020	2019	2020	2019	2020
Maja	0,46 ^a	0,38 ^a	27,32 ^a	53,30 ^a	3,13 ^a	2,90 ^a
Wolga	0,47 ^a	0,47 ^a	27,46 ^a	52,53 ^a	2,88 ^a	3,35 ^a
Vega	0,42 ^a	0,47 ^a	26,99 ^a	51,43 ^a	2,34 ^a	3,08 ^a
D _T (0,05)	0,17	0,13	2,62	5,9	2,01	1,14
D _T (0,01)	0,34	0,26	5,05	11,38	3,89	2,2

Tab. 2: Průměrné výnosy semene, zelené hmoty a sena u druhu *Phacelia tanacetifolia* Benth. za období 2019 a 2020

rok	semeno (t.ha ⁻¹)	zelená hmota (t.ha ⁻¹)	sena (t.ha ⁻¹)
2019	0,45 ^a	27,26 ^b	2,78 ^a
2020	0,44 ^a	52,42 ^a	3,11 ^a
D _T (0,05)	0,2	0,88	1,82
D _T (0,01)	1,1	4,45	9,2

Závěr

Mezi sledovanými odrůdami svazenky vratičolisté nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Porosty jednotlivých odrůd byly vyrovnané. Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn ve výnosech zelené hmoty mezi sledovanými lety 2019 a 2020. V roce 2019 v důsledku suché periody v průběhu měsíce dubna došlo ke špatnému vzcházení a zapojení porostu, který měl za následek nižší výnos zelené hmoty.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1720 a Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.2.

Použitá literatura

- Ates E., Coskuntuna L., Tekeli A. S. (2006): Plant growth stage effect on the yield, feeding value and some morphological characters of the fiddleneck (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Cuban Journal of Science 44 (4): 425-428.
- Demela, J. a kol. (1959): Nevyužité a nedocené krmné plodiny. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 180.
- Hutyrová-Marková H., Gottwaldová P., Knotová D., Pelikán J. (2009): Zhodnocení výnosových charakteristik sortimentu svazenky vratičolisté (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů. Věd. příloha časopisu Úroda, 12: 45–48. ISSN: 0139-6013.
- Marková, H., Knotová, D., Gottwaldová, P., Pelikán, J. 2008. Výnosy odrůd a novošlechtění svazenky vratičolisté (*Phacelia tanacetifolia* Benth.). Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů. Vědecká příloha časopisu Úroda. 89-92. ISSN 0139-6013
- Pelikán J., Macháč R., Knotová D., Raab S. (2013): Metodika pěstování vybraných meziplodin na semeno v podmínkách ekologického zemědělství. Uplatněná certifikovaná metodika č. 23/13. Osvědčení č. 78-12/KÚ-SŘÚ/UKZUZ/2013, Troubsko, 40 s. ISBN 978-80-905080-8-8
- Żuk-Gołaszewska K., Wanic M., Orzech K. (2019): Role meziplodin v polní rostlinné výrobě - přehled. J. Elem., 24 (2): 575 - 587. DOI: 10,5601 / jelem.2018.23.3.1662
http://www.sptjs.cz/seminar/Robotka_2020.pdf
<https://www.zelene-hnojeni.cz/svazenka-vraticolista/>

Kontaktní adresa:

Mgr. Helena Hutyrová
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko
e-mail: hutyrova@vupt.cz

VYUŽITIE SUCHÝCH OBLASTÍ SLOVENSKA NA EFEKTÍVNE PESTOVANIE AMARANTU (*AMARANTHUS SP. L.*)

Using of dry areas of Slovakia for effective cultivation amaranth (*Amaranthus sp. L.*)

Jakubová J.¹, Kováč L.¹, Hecl J.¹, Mišľaň L.²

¹Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav agroekológie
Michalovce

²Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra – KOR FAPZ

Abstrakt

Efektívnosť pestovania láskavca ako sucho a teplomilnej rastliny bola overovaná v arídnej oblasti Slovenska. Na základe pokusu zakladaného v rokoch 2013 až 2015 na experimentálnom pracovisku NPPC-VÚA Michalovce v Milhostove bola vypočítaná ekonomická efektívnosť pestovania láskavca na semeno. Analyzovali sa náklady na jeho pestovanie a ziskovosť pri dvoch technológiách zakladania porastov a to konvenčnej a redukovanej a dvoch variantoch výživy a to kontrolného variantu bez hnojenia a variantu s aplikáciou pôdneho kondicionéru PRP sol. V roku 2013 napriek nižšej produkcii z hektára bol najziskovejší variant s redukovanou agrotechnikou bez hnojenia. V roku 2014 sa tiež najvyšší zisk dosiahol na variantoch s redukovaným obrábaním pôdy. Aplikáciou PRP sol sa zvyšovali úrody pri oboch variantoch obrábania pôdy. Ziskovejšie boli varianty bez aplikácie kondicionéru. V roku 2015 v porovnaní s rokom 2014 boli úrody výrazne nižšie. Ziskovejšie boli varianty s aplikáciou PRP sol. V pokuse sa potvrdilo, že v arídnych podmienkach Slovenska je pestovanie láskavca ekonomicky efektívne.

Kľúčové slová: láskavec (amarant), ekonomická analýza, obrábanie pôdy, pôdny kondicionér

Abstract

The effectiveness of cultivation of xerophilic and thermophilic amaranth plant was verified in the arid area of Slovakia. Field experiment was established between 2013 and 2015 in Milhostov, where is situated experimental site of the NPPC – VÚA Michalovce. The results from these experiments were used for calculated of economic effectiveness of amaranth seed cultivation. Amaranth was growing under two technologies, namely conventional and reduce tillage. Two variants of nutrition, control variant without fertilization and variant with application of soil conditioner PRP sol, were observed. For these variants, the costs and profitability of amaranthus cultivation were analysed. In 2013, despite of lower production per hectare, the most profit was variant under reduced agrotechnology without fertilization. In 2014, the highest profit was also achieved for variants with reduced tillage. The application of PRP sol increased the yields for both variants of soil tillage. Variants without conditioner application were more profitable. In 2015, the yields were significantly lower than in 2014. Variants with PRP sol application were more profitable. The experiment confirmed that in the arid conditions of Slovakia the cultivation of amaranth is economically effective.

Key words: amaranth, economic analysis, soil tillage, soil conditioner

Úvod

Láskavec patrí na Slovensku k málo preskúmaným teplomilným plodinám. Podľa Pospíšila (2011) možno láskavec na semeno na Slovensku pestovať v kukuričnej a repnej oblasti na ľahších a stredných pôdach. Janovská (2011) považuje láskavec za plodinu, ktorá nie je náročná na pestovanie a vstupy a preto je vhodný na pestovanie aj v podmienkach českej republiky. Ako

uvádzajú Pospíšil, Húska (2011) laskavec je nenáročný na pestovateľské podmienky, dôležitá je však kvalitná predsejbová príprava pôdy a potláčanie burín až do dňa sejby. Laskavec je podľa Janovskej (2014) veľmi dobre využiteľný v potravinárskom priemysle a pri bezlepkovej diéte.

Materiál a metódy

Pokus s laskavcom bol založený v roku 2013 v poľnom stacionárnom pokuse v Milhostove s pevným osevným postupom plodín. Pôdy sú tu ťažké fluvizeme glejové. Sú charakterizované ako ťažké, ílovito-hlinité pôdy s priemerným obsahom ílovitých častíc vyšším ako 53 %. Pokus sa založil pri dvoch úrovniach obrábania pôdy: KA – konvenčná agrotechnika, RA – redukovaná agrotechnika a dvoch úrovniach výživy: kontrola a aplikácia pôdneho kondicionéra PRP sol. Aplikácia pôdneho kondicionéra vyplývala z potreby zlepšenia nepriaznivých pôdnych vlastností ťažkých ílovitých pôd a vytvorenia pôdneho prostredia s pozitívnym vplyvom na pôdnu úrodnosť, štruktúru pôdy, hospodárenie s vodou a zlepšenie transportu živín.

Pri konvenčnom obrábaní pôdy sa po zbere predplodiny urobila podmietka, potom stredná orba a predsejbová príprava radličkovým kypričom a sialo sa sejačkou Great Plains. Pri redukovanom variante sa po zbere predplodiny urobila podmietka radličkovým podmietačom a pred sejbou sa pôda pripravila radličkovým kypričom. V rámci obrábania pôdy boli dva varianty hnojenia. Pri kontrolnom variante sa neaplikovali žiadne hnojivá ani kondicionéry. Na PRP sol variante bolo pri predsejbovej príprave aplikovaných 200 kg.ha⁻¹ kondicionéru PRP sol. V rámci riešenia tejto problematiky sa porovnával vplyv aplikácie kondicionéra na výslednú úrodu a na pôdne charakteristiky, ale vzhľadom na to že tento príspevok je orientovaný na ekonomiku, tak sa v ňom zaoberáme len vplyvom kondicionéra na úrodu.

Na hodnotenie nákladov strojových súprav a pracovných operácií sa využili normatívy podľa Kavku (2006) a podľa Abrhama a kol. (2007) prepočítané do podmienok ťažkých pôd Východoslovenskej nížiny. Celková produkcia bola vypočítaná na základe skutočne realizovanej produkcie a dohodnutej zmluvnej ceny.

Ekonomická efektívnosť pestovateľských technológií bola hodnotená podľa metodiky (Poláčková a kol. 2010).

Výpočet ekonomickej efektívnosti:

produkcia [€·ha⁻¹] = úroda [t·ha⁻¹] × realizačná cena [€·t⁻¹]

zisk/strata [€·ha⁻¹] = produkcia [€·ha⁻¹] - náklady [€·ha⁻¹]

zisk/strata [€·t⁻¹] = realizačná cena [€·t⁻¹] - náklady [€·t⁻¹]

miera rentability na ha (v %) = [zisk/strata (v €·ha⁻¹) : náklady (v €·ha⁻¹)] × 100

výnosový prah pre nulovú rentabilitu [t·ha⁻¹] = náklady [€·ha⁻¹] : realizačná cena [€·t⁻¹]

Výsledky a diskusia

V pokuse bol laskavec zakladaný pri dvoch technológiách obrábania pôdy. V rámci technológií boli dva varianty výživy. Prvý variant bol bez hnojenia a na druhý sa aplikoval pôdny kondicionér PRP sol. Ekonomická efektívnosť jednotlivých variantov pokusu v roku 2013 je uvedená v tabuľke 1. Materiálové náklady boli vyššie na variante s aplikáciou PRP sol, čo súvisí s nákladmi na nákup pôdneho kondicionéra. Na variante s PRP sol boli aj vyššie náklady na mechanizované práce, ktoré majú súvis s aplikáciou kondicionéra. Pri konvenčnom obrábaní pôdy s aplikáciou PRP sol boli celkové náklady na úrovni takmer 598 €·ha⁻¹. Pri redukovanom obrábaní pôdy s aplikáciou PRP sol sa náklady znížili takmer o 80 €·ha⁻¹. Najnižšie náklady

boli pri redukovanej agrotechnike bez hnojenia a to vo výške 367,24 €·ha⁻¹. Aplikáciou PRP sol sa pri konvenčnej agrotechnike zvýšili úrody o 0,27 t·ha⁻¹ a pri redukovanej o 0,14 t·ha⁻¹.

Tabuľka 1. Ekonomika pestovania laskavca v roku 2013

Ukazovateľ	Jednotka	2013			
		KA	RA	KA	RA
		kontrola		PRP sol	
Materiálové náklady	[€·ha ⁻¹]	125,90	147,65	269,90	291,65
Náklady na mechanizované práce	[€·ha ⁻¹]	202,41	128,72	208,74	135,05
Variabilné náklady spolu	[€·ha⁻¹]	328,31	276,37	478,64	426,70
Fixné náklady	[€·ha ⁻¹]	115,22	90,87	119,42	95,07
Celkové náklady	[€·ha⁻¹]	443,53	367,24	598,06	521,77
Úroda	[t·ha ⁻¹]	1,61	1,65	1,88	1,79
Cena za jednotku	[€·t ⁻¹]	620	620	620	620
Celková produkcia	[€·ha ⁻¹]	998,20	1023,00	1165,60	1109,80
Výsledok hospodárenia na ha	[€·ha⁻¹]	554,67	655,76	567,54	588,03
Rentabilita na ha	[%]	125,06	178,56	94,90	112,70
Výnosový prah pre nulovú rentabilitu	[t·ha ⁻¹]	0,72	0,59	0,96	0,84

Legenda: KA – konvenčná agrotechnika, RA – redukováaná agrotechnika

Tabuľka 2. Ekonomika pestovania laskavca v roku 2014

Ukazovateľ	Jednotka	2014			
		KA	RA	KA	RA
		kontrola		PRP sol	
Materiálové náklady	[€·ha ⁻¹]	133,90	155,55	275,90	316,40
Náklady na mechanizované práce	[€·ha ⁻¹]	200,45	127,46	206,73	133,74
Variabilné náklady spolu	[€·ha⁻¹]	334,35	283,01	482,63	450,14
Fixné náklady	[€·ha ⁻¹]	115,22	90,87	119,42	95,07
Celkové náklady	[€·ha⁻¹]	449,57	373,88	602,05	545,21
Úroda	[t·ha ⁻¹]	1,63	1,58	1,77	1,61
Cena za jednotku	[€·t ⁻¹]	610	610	610	610
Celková produkcia	[€·ha ⁻¹]	994,30	963,80	1079,70	982,10
Výsledok hospodárenia na ha	[€·ha⁻¹]	544,73	589,92	477,65	436,89
Rentabilita na ha	[%]	121,17	157,78	79,34	80,13
Výnosový prah pre nulovú rentabilitu	[t·ha ⁻¹]	0,74	0,61	0,99	0,89

Legenda: KA – konvenčná agrotechnika, RA – redukováaná agrotechnika

Realizačná cena láskavca sa v roku 2013 pohybovala na úrovni 620 €·t⁻¹. Pri tejto cene sa najvyššia produkcia dosiahla na konvenčnej agrotechnike pri aplikácii PRP sol, a to vo výške 1165,60 €·ha⁻¹. Na tomto variante sa dosiahol zisk 567,54 €·ha⁻¹. Napriek nižšej produkcii z hektára bol ziskovejší variant s redukovanou agrotechnikou bez hnojenia a to vo výške 655,76 €·ha⁻¹. Hektárová rentabilita tohto variantu bola 178,56 %. Tento variant by bol ziskový už pri dosiahnutí úrody presahujúcej 0,59 t·ha⁻¹.

V roku 2014 sa náklady oproti roku 2013 výrazne nemenili (tabuľka 2). Realizačná cena poklesla na 610 €·ha⁻¹. Úrody boli porovnateľné s rokom 2013. Aj v roku 2014 sa najvyššia úroda dosiahla pri konvenčnom obrábaní pôdy s aplikáciou pôdneho kondicionéra PRP sol 1,77 t·ha⁻¹. Aplikáciou PRP sol sa zvyšovali úrody pri oboch variantoch obrábania pôdy, ale zvýšenie úrod bolo minimálne a tým ziskovejšie boli varianty bez aplikácie kondicionéru. Najziskovejší bol variant pri redukovanom obrábaní pôdy, na ktorom sa dosiahol zisk vo výške 589,92 €·ha⁻¹ a rentabilita skoro 158 %.

Tabuľka 3. Ekonomika pestovania láskavca v roku 2015

Ukazovateľ	Jednotka	2015			
		KA	RA	KA	RA
		kontrola		PRP sol	
Materiálové náklady	[€·ha ⁻¹]	140,40	164,70	304,40	328,70
Náklady na mechanizované práce	[€·ha ⁻¹]	190,17	120,87	196,19	126,89
Variabilné náklady spolu	[€·ha⁻¹]	330,57	285,57	500,59	455,59
Fixné náklady	[€·ha ⁻¹]	115,22	90,87	119,42	95,07
Celkové náklady	[€·ha⁻¹]	445,79	376,44	620,01	550,66
Úroda	[t·ha ⁻¹]	1,2	1,15	1,58	1,48
Cena za jednotku	[€·t ⁻¹]	640	640	640	640
Celková produkcia	[€·ha ⁻¹]	768,00	736,00	1011,20	947,20
Výsledok hospodárenia na ha	[€·ha⁻¹]	322,21	359,56	391,19	396,54
Rentabilita na ha	[%]	72,28	95,51	63,10	72,01
Výnosový prah pre nulovú rentabilitu	[t·ha ⁻¹]	0,70	0,59	0,97	0,86

Legenda: KA – konvenčná agrotechnika, RA – redukovaná agrotechnika

Ani v roku 2015 sa náklady na pestovanie láskavca radikálne nemenili. V porovnaní s rokom 2014 boli úrody výrazne nižšie a to najmä na nehnorej kontrole. Napriek nárastu realizačnej ceny na 640 €·ha⁻¹, celková produkcia na nehnovaných variantoch zaostala za rokom 2014 o viac ako 200 €·ha⁻¹. Z tohto dôvodu bol na týchto variantoch dosiahnutý aj nižší zisk. Ziskovejšie boli varianty s aplikáciou PRP sol, na ktorých zisk pri oboch spôsoboch obrábania pôdy presiahol 390 €·ha⁻¹.

Pokusy s láskavcom boli založené na ťažkých ílovitých pôdach, hoci niektorí autori odporúčajú ich pestovanie na ľahších až stredných pôdach (Jánovská 2008, Pospíšil 2011). Úrody, ktoré sa v pokuse dosiahli boli v rozmedzí úrod, ktoré uvádza Jamriška (2001). V pokusoch dosiahol úrody, ktoré sa pohybovali od 0,79 do 5,9 t·ha⁻¹. Výsledky poukázali na to, že pestovanie zrnového láskavca na potravinárske účely pri priaznivej realizačnej cene je vysoko ziskové. Boreková (2001) uvádza, že pri predaji semena láskavca je potrebné

rozlišovať či sa bude realizovať na potravinárske, alebo kŕmne účely, lebo z tohto sa odvíja ekonomika jeho pestovania. Pri cenách za akých sa realizujú kŕmne strukoviny, by bolo pri láskavci potrebné dosahovať úrody na úrovni 4,5 t.ha⁻¹. V našich podmienkach je to ťažko dosiahnuteľné.

Záver

V roku 2013 sa najvyššia produkcia dosiahla na konvenčnej agrotechnike pri aplikácii PRP sol, a to vo výške 1165,60 €·ha⁻¹ pri zisku 567,54 €·ha⁻¹. Napriek nižšej produkcii z hektára bol ziskovejší variant s redukovanou agrotechnikou bez hnojenia a to vo výške 655,76 €·ha⁻¹ a hektárovou rentabilitou 178,56 %.

V roku 2014 sa na konvenčných variantoch dosiahla vyššia produkcia, ale zisk bol vyšší na variantoch s redukovaným obrábaním pôdy. Aplikáciou PRP sol sa zvyšovali úrody pri oboch variantoch obrábania pôdy. Ziskovejšie boli varianty bez aplikácie kondicionéru. Najziskovejší bol variant pri redukovanom obrábaní pôdy vo výške 589,92 €·ha⁻¹.

V roku 2015 v porovnaní s rokom 2014 boli úrody výrazne nižšie. Celková produkcia na nehnojených variantoch zaostala za rokom 2014 o viac ako 200 €·ha⁻¹. Ziskovejšie boli varianty s aplikáciou PRP sol, na ktorých zisk pri oboch spôsoboch obrábania pôdy presiahol 390 €·ha⁻¹. Z pohľadu praxe je možno odporúčať využitie pôdneho kondicionéru PRP sol, ktorého aplikácia v danom roku zvyšuje náklady, ale účinnosť prípravku je rozložená na 2-3 roky. V pokusoch sa potvrdil ich priaznivý vplyv na pôdne vlastnosti, čo vzhľadom na ekonomický charakter príspevku sa v texte neuvádza. Vo výskume sa potvrdila aj potreba kombinovať aplikáciu pôdneho kondicionéra s minerálnym hnojením, najmä dusíkom.

Pod'akovanie

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

- ABRHAM, Z. – KOVÁŘOVÁ, M. – KOCÁNOVÁ, V. – HEROUT, M. – SCHEUFLER, V. 2007: Technické a technologické normativy pro zemědělskou výrobu. Praha : VUZT , 2007, no. 5, 29 p. ISBN 978-86884-26-4.
- BOREKOVÁ, B. 2001: Predpoklady efektívnej výroby Láskavca. In: Pestovanie a využitie tritikale, láskavca a pohánky. Zborník vedeckých prác z konferencie. Nitra. SPU 2001. s. 77-79. ISBN 80-88943-07-8.
- JAMRIŠKA, P. 2001: Možnosti pestovania láskavca na Slovensku. In: Pestovanie a využitie tritikale, láskavca a pohánky. Zborník vedeckých prác z konferencie. Nitra. SPU 2001. s. 41-43. ISBN 80-88943-07-8.
- JANOVSKÁ D. 2011: Charakteristika amarantu jako kulturní rostliny. In: Amarant. Zdroj výživy v 21. století. Forsapi. Praha .2011, str. 13-35. ISBN 978-80-87250-15-0
- JANOVSKÁ D. 2014: Pohanka, proso a amarant – původní i nové alternativy pro bezlepkovou dietu. In: Genetické zdroje rostlin a zdravá výživa. Ministerstvo zemědělství. Praha, 2014, str. 47-49. ISBN 978-80-7434-174-8.

- KAVKA, M. 2006: Normativy zemědělských výrobních technologií. Praha : ÚZPI, 2006. 376 s. ISBN80-7271-164-4
- POLÁČKOVÁ, J. – BOUDNÝ, J. – JANOTOVÁ, B. – NOVÁK, J. 2010: Metodika kalkulací nákladů a výnosů v zemědělství. Praha : ÚZEI , 2010, 58 p. ISBN 978-80-86671-75-8.
- POSPÍŠIL, R. 2011: Súhrn poznatkov o efektívnej výrobe a netradičnom využití láskavca na Slovensku. In: Pestovanie a využitie Láskavca (*Amaranthus* L.) a iných plodín na energetické účely. Zborník vedeckých prác. Nitra. SPU 2011, s. 52-61. ISBN 978-80-552-0561-8.
- POSPÍŠIL, R.- HÚSKA, D. 2011: Pestovateľská technológia láskavca na energetickú fytomasu. In: Pestovanie a využitie Láskavca (*Amaranthus* L.) a iných plodín na energetické účely. Zborník vedeckých prác. Nitra. SPU 2011, s. 46-51. ISBN 978-80-552-0561-8.

Kontaktná adresa autora:

Ing. Jana Jakubová
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav agroekológie
Michalovce,
Špitálska 1273, 071 01 Michalovce
Email: jana.jakubova@nppc.sk

OPTIMALIZACE HNOJENÍ TOPINAMBURU DUSÍKEM S OHLEDEM NA UPLATNĚNÍ PRODUKCE

Optimization of nitrogen fertilization of Jerusalem artichoke with regard to the use of production

Kasal P., Svobodová A.

Výzkumný ústav bramborářský s.r.o., Havlíčkův Brod

Abstrakt

V posledních letech stoupá zájem o pěstování a využití topinamburu hlíznatého (*Helianthus tuberosus* L.). Využívá se nadzemní hmota ke krmení hospodářských zvířat a hlízy k přímé konzumaci. Hlízy topinambur jsou díky cennému obsahu inulinu v hlízách řazeny mezi dietní potraviny. Zároveň může být využíván k energetickým účelům s ohledem na vysoký nárůst nadzemní biomasy. Technologie pěstování topinamburu je z části shodná s technologií pěstování brambor, včetně využití mechanizace pro brambory. Dávky dusíku v minerálním hnojivu je vhodné diferencovat podle účelu využití. Ve Výzkumném ústavu bramborářském v Havlíčkově Brodě s.r.o. byly po dobu tří let (2013–2015) sledovány výnosy nadzemní hmoty (t/ha) a výnosy hlíz (t/ha). Sledování výnosu hlíz a výnosu sušiny nadzemní hmoty probíhalo v rámci čtyř různých odrůd topinamburu.

Klíčová slova: topinambur, technologie pěstování, hlízy, nadzemní hmota

Abstract

In recent years, interest in the cultivation and use of tuberous topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) has increased. The above-ground mass is used to feed livestock and tubers for direct consumption. Because of the valuable inulin content of tubers, topinambur tubers are classified as dietary foods. At the same time it can be used for energy purposes in view of the high increase of above-ground biomass. Topinambour cultivation technology is partly consistent with potato cultivation technology, including the use of potato techniques. Nitrogen doses in mineral fertilizer should be differentiated according to the purpose of use. At the potato research institute in Havlíčkův Brod s.r.o. (t/ha) and yields of tubers (t/ha) over three years (2013–2015). The monitoring of the yield of the tubers and the yield of the above-ground mass was carried out in four different topinambur varieties.

Keywords: topinambur, cultivation technology, tubers, overground mass

Úvod

Topinambur hlíznatý pochází z Mexika, z území indiánského kmene Topinambus. Do Evropy, se dostal okolo roku 1600 spolu s kolumbovskými výpravami. Topinambur řadíme do čeledi hvězdnicovité (*Asteraceae*). Rostliny dosahují výšky až tři metry. Je to rostlina krátkého dne a většina odrůd rozkvétá pozdě na podzim, takže plody (nažky) dozrávají jen v teplých oblastech. V našich oblastech se rozmnožuje pouze vegetativně. Topinambur je nenáročný na prostředí. Snáší velmi dobře suché i vlhké polohy, hlízy v půdě nejsou poškozovány ani silnými mrazy (Kasal, a kol. 2016). Konzumní částí jsou oddenkové hlízy vřetenovité, u ušlechtilých odrůd oválné s očky hlubšími než u bramborových hlíz. Z hlíz topinamburu se získává polysacharid inulin, složený převážně z molekul fruktózy (Moudrý, Stražil, 1996). Ačkoliv je inulin sacharidové povahy, na rozdíl od jiného polysacharidu – škrobu, je jeho kalorická hodnota velmi nízká až nulová. Inulin není prakticky trávicími enzymy člověka hydrolyzovatelný, a

proto prochází beze změn žaludkem i tenkým střevem (dietetická vláknina). Až v tlustém střevě je mikrobiálně fermentován a napomáhá pomnožení užitečné mikroflóry střevních bifidobakterií, které syntetizují vitamíny skupiny B a podporují absorpci některých důležitých iontů (Velíšek, 1999). Zároveň je sladký a dá se proto použít jako náhrada cukru. Další využití topinamburu je z pohledu krmivářského, kde může být zkrmována nadzemní část i hlízy. Z hlíz lze vyrábět bioethanol (Kasal, 2001). Suchou nať je možno využít pro energetické účely jako paliva (Prugar a kol., 2008; Stražil 2008). Uváděné spalné teplo sušiny natě je 17,71 MJ/kg (Kasal a kol., 2016). Technologie pěstování topinamburu je více méně podobná technologii pěstování brambor. Základem je dobře zpracovaná a půda na podzim, pěstování na utužené půdě může do značné míry snížit výnos hlíz. Z hnojení jsou důležitá statková hnojiva, která jsou nenahraditelným zdrojem humusotvorných látek. Zároveň je vhodné doplnit výživu o minerální hnojiva a to aplikací hnojiv obsahující fosfor, draslík a hořčík. Jednou z nejdůležitějších živin je dusík. Dusíkatá minerální hnojiva zapravujeme zásadně na jaře před výsadbou. Vhodné je použití kombinovaných hnojiv, což jsou hnojiva na bázi N, P a K. Ta je možná použít v případě, že nebyly aplikovány na podzim. Topinambur je možné vysadit na podzim i na jaře. Hlízy sázíme do hrůbků. V hrůbkách mají rostliny lepší podmínky pro rozvoj kořenové soustavy a tvorbu hlíz. Sklizeň lze provést těsně před zmrznutím. Podzimní sklizeň je však velmi obtížná a pracná, protože hlízy spolu s kořeny a ulpěnou půdou tvoří obtížně narušitelný celek, který projde celým sklízecím ústrojím sklízeců brambor. Jarní sklizeň je z pohledu mechanizace výhodnější. Přes zimní období dojde k narušení kompaktního celku kořenů, hlíz a půdy mrazem a práce bramborových sklízeců je mnohem spolehlivější a není nutné vynakládat další ruční práci. Vhodný termín jarní sklizně je dán povětrnostními a půdními podmínkami. Hlízy je třeba sklízet do doby, než začnou znovu klíčit (přibližně polovina dubna). Zbylé hlízy na pozemku po sklizni klíčí a dochází tak k zaplevelení pozemku topinamburem pro následnou plodinu. Možností je zařazení jarních, brzy sečených směsek jako následné plodiny. Častějším způsobem je využití aplikace herbicidu na bázi glyphosátu po vzejití rostlin topinamburu. Pro úplnou likvidaci však musí být aplikace většinou opakována. Jarní termín mechanizované sklizně hlíz ve spojení s následným zaplevelením pozemku jsou důvodem, proč se nevyužívá jednoletý způsob pěstování topinamburu. Nevýhody obrůstání hlízek a jejich úlomků, které na pozemku zbyly po sklizni, se s úspěchem využije při víceletém způsobu pěstování.

Materiál a metody

Přesný polní pokus s topinamburem byl založen ve výzkumné stanici Valečov v letech 2013-2015. Výzkumná stanice se nachází v bramborářské výrobní oblasti, v podmínkách typické kambizemně slabě oglejené, středně těžké. Nadmořská výška lokality je 460 metrů, průměrná roční teplota 7,0 °C a roční suma srážek 652 mm. Základním hnojením bylo aplikováno 120 kg K₂O a 40 kg MgO (Patentkali v dávce 400 kg/ha). Cílem polních pokusů bylo porovnání stupňovaných dávek dusíku při pěstování topinamburu. Dusík byl dodán prostřednictvím minerálního hnojiva Močovina (46 % N). Minerální dusíkaté hnojivo bylo aplikováno v dávkách odpovídajících 50, 100 a 150 kg N/ha při přípravě půdy před výsadbou. Varianty byly založeny v rámci čtyř odrůd topinambur – Karin, Zlatý (odrůdy pod právní ochranou Výzkumného ústavu bramborářského Havlíčkův Brod, s.r.o.), Běloslupké (původní odrůda českého šlechtění) a Lola (odrůda zahraničního původu). Varianty pokusu uvádí Tab. 1. Varianty byly založeny ve čtyřech opakováních. Následně byl vyhodnocen výnos hlíz (t/ha) a výnos sušiny nadzemní hmoty (t/ha) v průměru sledovaných let. Vyhodnocení všech získaných výsledků bylo provedeno statistickým softwarem Statistika.cz, kde byla nejprve ověřena

homogenita rozptylů Levenovým testem homogenity a následně byly porovnány střední hodnoty rozptylů analýzou rozptylu (ANOVA).

Tab. 1: Varanty pokusu

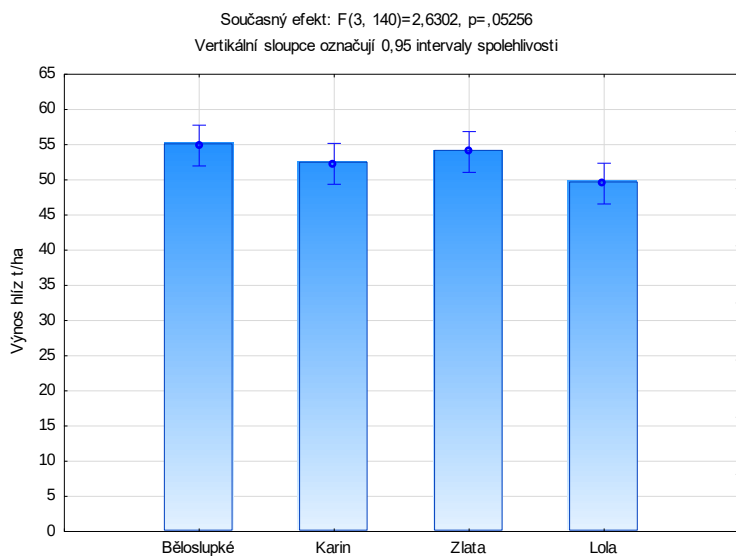
Odrůda	Varianta hnojení
Běloslupké	50 kgN/ha
	100 kgN/ha
	150 kgN/ha
Karin	50 kgN/ha
	100 kgN/ha
	150 kgN/ha
Zlata	50 kgN/ha
	100 kgN/ha
	150 kgN/ha
Lola	50 kgN/ha
	100 kgN/ha
	150 kgN/ha

Výsledky a diskuze

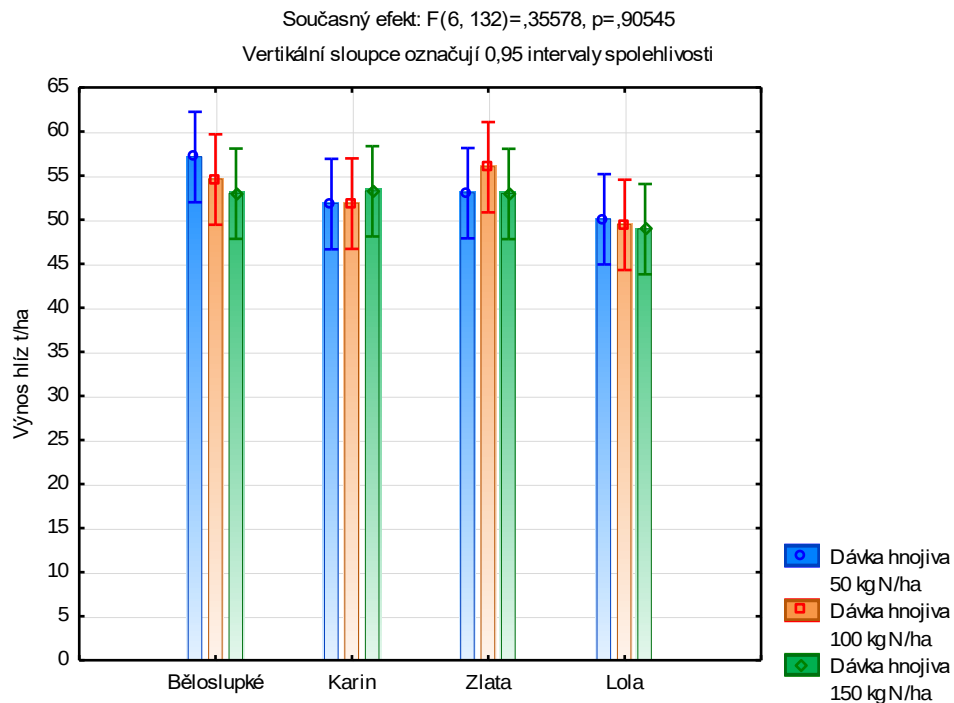
Výnos hlíz se v pokusech lišil především v jednotlivých ročnících. Z vyhodnocení průměrných výsledků pokusů vyplynulo, že odrůda topinamburu neovlivnila výnos hlíz statisticky průkazně a všechny odrůdy během tří let sledování dosahovaly výnos na velmi dobré úrovni (Graf 1). Nejvyšší výnos hlíz byl v průměru let zjištěn u odrůdy Běloslupké - 54,87 t/ha a nejnižší výnos byl u klonu Lola - 49,46 t/ha. Statistické vyhodnocení stupňovaných dávek dusíkatého minerálního hnojiva (Graf 2) u výnosu sklizených hlíz (t/ha) vykazovalo pouze tendenční rozdíly v rámci odrůd, nikoliv rozdíly průkazné. Za optimální lze dle získaných výsledků považovat dávku dusíku dodaného minerálním hnojivem 100 kg N/ha. Z výsledků je patrné, že zvýšení dávky dusíku na 150 kg/ha již nepřináší výnosový efekt. U nejvyšší dávky dusíkatého minerálního hnojiva došlo s výjimkou odrůdy Karin ke snížení požadovaného výnosu hlíz topinamburu. Podobné výsledky byly získány i v jiných pokusech (Kasal a kol., 2013), na základě, kterých byla shodně doporučena optimální dávka pro produkci hlíz topinamburu na úrovni 100 kg/ha. Autoři se zároveň shodují, že vyšší dávky dusíku již nejsou zcela efektivní. Dalším z hodnocených parametrů byl výnos sušiny nadzemní hmoty topinamburu (t/ha). U tohoto parametru statisticky průkazně ovlivnila výnos sušiny nadzemní hmoty odrůda topinamburu, a to i na hladině významnosti $\alpha=0,01$ (Graf 3). Nevyšší výnos sušiny nadzemní hmoty byl zaznamenán u odrůdy Karin a to 9,94 t/ha. Naopak nejnižší výnos sušiny nadzemní hmoty byl u odrůdy Zlata, a to pouze 3,05 t/ha. Dávky minerálního dusíkatého hnojiva měly jen nízký vliv na výnos sušiny nadzemní hmoty (Graf 4) a v průměru let se neprojevíly statisticky průkazné rozdíly mezi sledovanými variantami. Kasal a kol. (2013) doporučují při pěstování topinamburu na zelenou hmotu dávku dusíkatého minerálního hnojiva až 140 kg N/ha pro navýšení výnosu. V případě pokusů z let 2013 - 2015 toto tvrzení nelze potvrdit. Tyto

pokusy prokázaly, že je velmi důležité zvolit vhodnou odrůdu pro výnos sušiny nadzemní hmoty topinamburu.

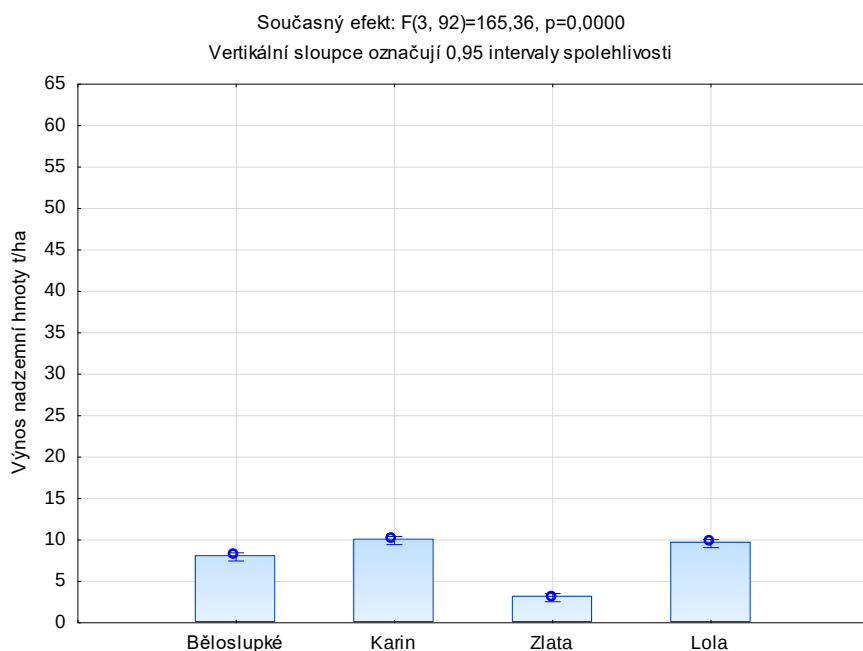
Graf 1: Vliv odrůdy na výnos hlíz topinamburu (t/ha)



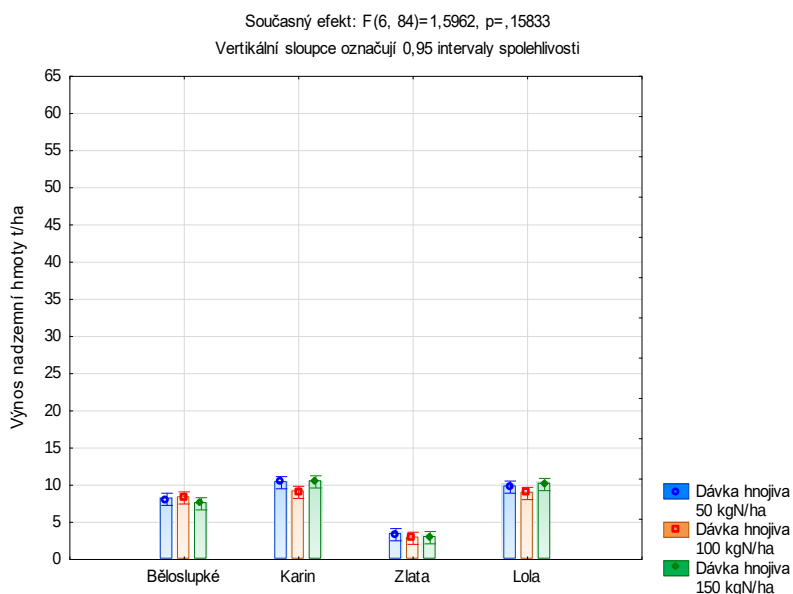
Graf 2: Vliv dávky dusíkatého minerálního hnojiva na výnos hlíz topinamburu (t/ha)



Graf 3: Vliv odrůdy na výnos sušiny nadzemní hmoty topinamburu (t/ha)



Graf 4: Vliv dávky dusíkatého minerálního hnojiva na výnos sušiny nadzemní hmoty topinamburu (t/ha)



Závěr

V přesných polních pokusech s topinamburem bylo ověřováno dusíkaté minerální hnojení v rámci třech dávek 50, 100 a 150 kg N/ha v Močovíně (46 % N). Na základě stupňovaných dávek dusíku byl vyhodnocen výnos hlíz topinamburu u čtyř sledovaných odrůd (Běloslupké, Karín, Zlata a Lola). Ze získaných výsledků vyplývá, že dávka použitého hnojiva ovlivnila výnos hlíz, nikoliv však průkazně. Jako optimální byla stanovena dávka hnojiva 100 kg N/ha dusíku. Výnos sušiny nadzemní hmoty topinamburu nebyl dávkou použitého dusíkatého

minerálního hnojiva výrazně ovlivněn. Odrůda topinamburu nehrála významnou roli při dosažení požadovaného výnosu hlíz. Odrůdy topinamburu však průkazně ovlivnily nárůst nadzemní hmoty a následně produkci její sušiny. Zde byla jako vysoce efektivní vyhodnocena odrůda Karin oproti odrůdě Zlata. Závěrem lze konstatovat, že důležité je zaměření na technologický směr pěstování (produkce hlíz, produkce nadzemní hmoty) a dle toho určit výběr vhodné odrůdy nebo klonu topinamburu spolu s optimálním hnojením.

Dedikace

Výsledky prezentované v tomto příspěvku byly získány za institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace reg. č. MZE-RO1619.

Použitá literatura:

- KASAL, P. (2001): Topinambur – znovuobjevená plodina. Úroda, 2001, roč. 2, č. 1, s. 23 – 25. ISSN 0139-6013.
- KASAL, P., ČEPL, J., ČÍŽEK, M. (2013): Metodika pro výběr optimálních technologických postupů pěstování topinamburu s důrazem na užitkový směr pěstování. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský, 2013. 21 s. (*Praktická informace č. 42*). ISBN 978-80-86940-45-8.
- KASAL, P., ŠIMKOVÁ, D., SVOBODOVÁ, A., MERUNKOVÁ, A. (2016): Pěstování a užití topinamburu u malopěstitelů a na zahrádkách. 1. vyd. Havlíčkův Brod: Výzkumný ústav bramborářský, 2016. 23 s. (*Praktická informace č. 62*). ISBN 978-80-86940-70-0.
- MOUDRÝ, J., STRAŠIL, Z. (1996): Alternativní plodiny. ZF JU Č. Budějovice, 90 s.
- PRUGAR, J.; a kol. (2008): Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. 1. vyd. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, 2008. 325 s. ISBN 978-80-86576-28-2.
- STRAŠIL, Z. (2008): Topinambur hlíznatý (*Helianthus tuberosus* L.) - netradiční alternativní plodina pro průmyslové a energetické využití. Biom.cz [online]. 2002-03-04 Dostupné z webových stránek. ISSN 1801-2655.
- VELÍŠEK, J. (1999): Chemie potravin 1. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999. xii, 328 s. ISBN 80-902391-3-7.

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Kasal, Ph.D.

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod

Dobrovského 2366

580 01 Havlíčkův Brod

Email: kasal@vubhb.cz

INTERAKCIA SUCHÝCH PODMIENOK, VÝŽIVY A OBRÁBANIA PÔDY NA ÚRODY VIKY SIATEJ JARNEJ (*VICIA SATIVA L.*)

Interaction of dry conditions, nutrition and soil tillage for yields spring common vetch (*Vicia sativa L.*)

Kováč L.¹, Jakubová J.¹, Hecl J.¹, Mišľaň L.²

¹Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav agroekológie Michalovce

²Slovenská poľnohospodárska univerzita Nitra – KOR FAPZ

Abstrakt

V rokoch 2016 – 2018 boli na experimentálnom pracovisku NPPC – VÚA Michalovce v Milhostove zakladané pokusy s vikou siatou jarnou (*Vicia sativa L.*). 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 viky siatej preukazne vplýval pestovateľský ročník s priebehom meteorologických faktorov. V pokusoch sa preukazne vyššie úrody semena viky siatej jarnej potvrdili pri jeho pestovaní konvenčnou agrotechnikou. Pri samotnom NPK hnojení sa dosiahla priemerná úroda 1,62 t.ha⁻¹. Preukazne sa úroda zvýšila po aplikácii liadku amónneho počas vegetácie. Preukazne najvyššia bola úroda po foliárnej aplikácii Rivermu v priemere to bolo 1,91 t.ha⁻¹.

Kľúčové slová: vika siata jarná, úrody, obrábanie pôdy, hnojenie

Abstract

Between 2016 and 2018, in Milhostov on the Experimental work place of NAFC – Agroecology Research Institute in Michalovce, the field treatments with common vetch (*Vicia sativa L.*) were carried out. Two tillage technologies, namely conventional technology with ploughing and reduce 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 spring common vetch grain yields. Significantly higher yields of spring common vetch cultivated under conventional technology were determined. With NPK fertilization alone, an average yield of 1.62 t ha⁻¹ was achieved. There is a significant increase in yield after application of ammonium nitrate during vegetation season. Significantly the highest yield was obtained after the foliar application of organic plant nutrition Riverm, on average it was 1.91 t ha⁻¹.

Key words: common vetch, yields, soil tillage, fertilisation

Úvod

Vika siata jarná patrí k alternatívnym bôbovitým plodínám, ktoré rozširujú ponuku najčastejšie pestovaných plodín (kukurica, pšenica, repky, slnečnica). Zvyšujú biodiverzitu pestovaných plodín, znižujú potrebu hnojenia dusíkom a v miešanke znižujú zaburinenie a potrebu použitia herbicídov.

Semeno viky siatej sa využíva na ako komponent do kŕmnych zmesí (10-15 %), ako vtáčí zob a to najmä pre holuby, osivo viky má veľmi dobrý odbyt v štátoch západne Európy a v Turecku. Semeno sa využíva aj v ľudskej výžive. Na tento účel sú vhodné bielo kvitnúce odrody, so svetlým semenom a s vyššími hodnotami HTS 80-100 g (Szabóné Csalló K. 2010). Semeno viky má vysoký obsah bielkovín. Mihailovič a kol. (2007) uvádzajú, že v podmienkach Srbska

pri pestovaní viky jarnej dosahovali v pokusoch úrody 2500 – 2800 kg.ha⁻¹ s obsahom bielkovín v priemere 31,3 %.

Cieľom príspevku bol výskum vplyvu prípravy pôdy a výživy na úrodu semena viky siatej jarnej na ťažkých pôdach Východoslovenskej nížiny.

Materiál a metódy

Pokus s vikou siatou jarnou 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 pri 6-ich pravých listoch viky v dávke 100 kg.ha⁻¹. V tej istej fáze sa aplikovala tekutá organická výživa Riverm v 4 % koncentrácii. K sejbe sa využila odroda Emma. Výsevok bol vo výške 80 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	ST
$\bar{x}$ IV. – IX.	16,6	17,7	+1,1	T	17,2	+0,6	N	19,2	+2,6	MT

Kde: S – studený, 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: MS – mimoriadne suchý, VS – veľmi suchý, S – suchý, N – normálny, V – vlhký, VV – veľmi vlhký, MV – mimoriadne vlhký

Úrody semena viky siatej jarnej za roky 2016 – 2018 sú uvedené v tab. 3. V roku 2016 sa úrody pohybovali od 1,74 t.ha⁻¹ až do 2,27 t.ha⁻¹. Nižšie úrody sa dosahovali pri samotnom NPK hnojení. Aplikáciou liadku amónneho resp. Rivermu sa úrody zvyšovali. V porovnaní s rokom 2016 sa v roku 2017 dosahovali vyššie 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 viky siatej 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, (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), ktoré pretrvávalo dlhú dobu po sejbe a malo za následok nekompletne vzídený a preriedený porast. Zrážky v neskoršom období už nemohli kompenzovať výpadok porastu, čo sa prejavilo na výške úrod, ktoré sa pohybovali od 0,95 do 1,44 t.ha⁻¹. Veľmi nízke úrody v roku 2018 ovplyvnili celkový priemer za tri roky 1,52 až 2,02 t.ha⁻¹. Podľa dosiahnutých výsledkov úrody semena viky siatej jarnej zvyšujú hnojenia minerálnymi hnojivami. Albayrak a kol. (2006) uvádzajú, že úrody viky zvyšuje aj inokulácia osiva baktériami *Rhizobium*, čo môže nahradiť aplikáciu dusíkatých hnojív. Podľa Aydemira a kol. (2019), okrem hnojenia na úrodu viky siatej významne vplyvajú agroklimatické stanovište a genetický potenciál odrody. K podobným výsledkom dospeli aj Karadag a Yavuz (2010) v semiarídných podmienkach Turecka, Georgieva a kol. (2015) v podmienkach Bulharska a Mikič a kol. (2013) v okolí Nového Sadu v Srbsku.

Tab. 3: Úrody semena viky siatej jarnej [t.ha⁻¹] pri 14 % vlhkosti

Obrábanie pôdy	Hnojenie	2016	2017	2018	Priemer
Konvenčné	NPK	1,83	2,15	1,14	1,71
	NPK+LAD	2,27	2,42	1,37	2,02
	NPK+Riverm	2,20	2,35	1,44	2,00
Redukované	NPK	1,74	1,88	0,95	1,52
	NPK+LAD	1,98	2,22	1,22	1,81
	NPK+Riverm	1,90	2,18	1,20	1,76

Produkčné parametre viky siatej jarnej 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. Pri porovnaní variantov NPK+LAD a NPK+Riverm, bola signifikantne vyššia úroda pri aplikácii prípravku Riverm. Na úrodu preukazne vplýval pestovateľský ročník. Preukazne vyššie úrody sa dosiahli v roku 2016, pred rokom 2017 a suchým a teplým rokom 2018. Podobne aj Firincioglu a kol. (2009) uvádzajú preukazné rozdiely v úrodách semena viky v rokoch. V pokuse zároveň skúšali ozimné sejby jarnej viky a porovnávali ich s jarnými sejbami, pri ktorých dosahovali nižšie úrody.

Tab. 4: Viacfaktorová analýza rozptylu a viacnásobné porovnanie úrod semena viky siatej jarnej LSD-testom

Zdroj variability	Stupne voľnosti	F-test	Preukaznosť	Úrody [t.ha ⁻¹]	Skupina homogenity			
Obrábanie pôdy	1	479,49	++	1,91 1,70	KA RA	x	x	
Hnojenie	2	381,51	++	1,62 1,88 1,91	NPK NPK+LAD NPK+Riverm	x	x	x
Roky	2	3810,20	++	1,99 2,20 1,22	2016 2017 2018		x	x
Rezíduá	63					x		
Celkom	71							

Záver

Z výsledkov dosiahnutých v pokusoch s vikou siatou vyplývajú nasledovné závery:

Na úrody zrna viky siatej jarnej preukazne vplýval pestovateľský ročník s priebehom meteorologických faktorov.

Pri porovnaní technológií zakladania porastov viky jarnej sa preukazne vyššie úrody dosahovali pri využití konvenčnej agrotechniky s orbou ako pri redukovanej agrotechnike bez orby.

Preukazne najvyššia úroda sa dosiahla na variante NPK+Riverm, pred variantom NPK+LAD.

Preukazne najnižšia bola úroda pri samotnom NPK hnojení.

PodĎakovanie

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

Albayrak, S. a kol., 2006: Effects of Inoculation with Rhizobium on seed Yield and Yield Components of Common Vetch (*Vicia sativa* L.). Turk J.Agric For. 30: 31-37.

Aydemir, S. K. a kol., 2019: Evaluation of Yield and Yield Components of Common Vetch (*Vicia sativa* L.) Genotypes grown in different locations of Turkey by GGE biplot analysis.

- Budapest. Applied ecology and environmental research 17(6):15203-15217. ISSN 1785 0037 (Online).
- Firincioglu, H. K., et al, 2009: Relationships between seed yield and yield components in common vetch (*Vicia sativa* ssp. *sativa*) populations sown in spring and autumn in central Turkey. Field. Crops Research 116, 30-37.
- Georgieva, N. a kol. 2015: Stability analysis for seed yield in vetch cultivars. Emirates Journal of Food and Agriculture. 2015. 27(12): 903-910
- Karadag, Y. – Yavuz, M., 2010: Seed yields and biochemical compounds of common vetch (*vicia sativa* L.) lines grown in semi-arid regions of Turkey. African Journal of Biotechnology Vol. 9(49), pp. 8334-8338. ISSN 1684–5315.
- Mihailovic V. a kol., 2007: Potential of annual legumes for utilisation in animal feeding. In: Biotechnology in animal Husbandry. Institute for animal Husbandry Belgrade-Zemun. 23 (5-6) p 573-581.
- Mikič, A., a kol., 2013: Agronomic characteristics related to grain yield and crude protein content in common vetch (*Vicia sativa*) accessions of diverse geographic origin. New Zealand Journal of Agricultural Research, 56:4, 297-308
- Szabóné Csalló, K., 2010: Tavaszi bükköny (*Vicia sativa* L.). In: Az alternatív növények szerepe az Észak-alföldi Régióban (Szerk.: Gondola, I.), DE AGTC KIT Kutatóintézet, Nyíregyháza, 2010. pp. 159-173, ISBN 978-963-473-386-7.

Kontaktná adresa:

Ing. Ladislav Kováč, PhD.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav agroekológie

Michalovce,

Špitálska 1273, 071 01 Michalovce

e-mail: ladislav.kovac@nppc.sk

ODRŮDOVÉ ROZDÍLY V REAKCI NA DOSTUPNOST VODY U PŠENICE

Varietal differences in response to water availability of wheat

Kurešová G., Raimanová I., Svoboda P., Lukáš J., Haberle J.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha

Abstrakt

V polním pokusu v roce 2020 byl u 4 odrůd pšenice sledován vliv diferencované dostupnosti vody v období tvorby zrna. Byly sledovány změny v aktivitě enzymu nitrátreduktázy (NR), dusíku (N) a chlorofylu (Chl) v praporcovém listu a výnos zrna. U třech odrůd (Artix, Butterfly, Rumona) byly hodnoceny varianty s nedostatkem vody (S), se závlahou (V) a kontrolní varianta (K), kde dostupnost vody závisela pouze na srážkách. U odrůdy Chiron byly hodnoceny pouze varianty K a V. Aktivita nitrátreduktázy byla u všech odrůd nejvyšší na začátku kvetení a poté klesala s různou rychlostí u všech variant. Nejnížší aktivita byla pozorována u odrůdy Rumona. Odrůda Artix vykazovala nejdelší aktivitu NR na variantě S oproti ostatním stresovaným odrůdám. Nedostatek vody snížil výnos ve srovnání s kontrolou u odrůdy Butterfly o 32 %, odrůdy Rumona o 26 % a Artix o 19 %. Obsah N v praporcových listech postupně klesal.

Klíčová slova: sucho, závlaha, výnos, senescence, dusík, nitrátreduktáza

Abstract

In a field experiment in 2020, the effect of differentiated water availability in the period of grain formation was observed in 4 varieties of wheat. The effect on changes in the activity of the nitrate reductase (NR), nitrogen (N) and chlorophyll (Chl) in the flag leaf and grain yield was studied. For three varieties following variants were evaluated: lack of water (S), irrigated variant (V) and control (K), where the availability of water depended only on precipitation. The Chiron variety was evaluated in variants K and V. NR activity decreased from the beginning of anthesis in all varieties in all variants. The lowest NR activity was found in the Rumona variety. The Artix variety showed the longest NR activity on variant S compared to other stressed varieties. Lack of water reduced the yield of the Butterfly variety by 32 %, the Rumona by 26 % and the Artix by 19 %, comparing to control. The N content in the flag leaves gradually decreased.

Keywords: drought, yield, senescence, nitrogen, nitrate reductase

Úvod

Zásobení rostlin vodou je klíčovým faktorem pro růst a vývoj rostlin. Dostupnost vody významně ovlivňuje výnos zrna i jeho kvalitu. Přestože dostupnost vody ovlivňuje růst a vývoj pšenice ve všech růstových fázích, fáze reprodukce a tvorby zrna jsou k tomuto faktoru nejcitlivější (Farooq a kol., 2014). Praporcový list je hlavním zdrojem asimilátů (30-50 %) pro tvorbu zrna pšenice (Sylvester-Bradley a kol., 1990), začátek a délka jeho senescence je klíčovým faktorem pro určení odolnosti pšenice ke stresu způsobeného nedostatkem vody. Senescence listů je charakterizována snížením fyziologické aktivity, rozpadem chlorofylu a transportem asimilátů do místa potřeby (zrna). Porovnání odrůd ve schopnosti využívat živiny při podmínkách odlišné dostupnosti vody byly předmětem pokusu na experimentálním pozemku VÚRV.

Materiál a metody

V polním pokusu bylo sledováno 3 odrůdy oz. pšenice (*Triticum aestivum* L) a 1 odrůda pšenice jednozrnky (*Triticum monococcum* L). Odrůdy byly vybrány podle aktuálních potřeb šlechtitelů. Do fáze metání až začátku kvetení závisel vývoj porostu pouze na srážkách a zásobě vody v půdě. Od (BBCH 57-59) byla část parcel s odrůdami Artix, Butterfly a Rumona zakrývána mobilním krytem (varianta S) tak, aby se obsah dostupné vody v kořenové zóně (počítáno do hloubky 90 cm) snížil po kvetení na úroveň obtížně dostupné vody a v době nalévání zrna k bodu vadnutí. U všech sledovaných odrůd byla ve stejné době zavedena kapková zálaha (varianta V), kontrolní varianta (K) závisela jen na srážkách a zásobě vody v půdě. Všechny varianty byly hnojeny stejnou dávkou N (140 kg N/ha) a porost byl ošetřen fungicidy.

Tab. 1: Charakteristika sledovaných odrůd ozimé pšenice

Odrůda	ranost	vzrůst	kvalita
Artix	velmi raná	střední	B-C
Butterfly	poloraná	střední až delší	E
Chiron	stř. raná	nižší až střední	A
Rumona	raná až středně raná	vyšší	není stanovena

V průběhu vegetace byl průběžně sledován vývoj rostlin a od počátku kvetení byly odebírány praporcové listy pro hodnocení míry využití dusíku, sledování senescence a ukládání asimilátů do zrna. Na začátku kvetení (BBCH 61) byla označena stébla ve stejné vývojové fázi. Praporcové listy označených rostlin byly odebírány na počátku kvetení (1DAA), a poté 15. den (15DAA) a 25. den (25DAA). Ve vzorcích byla stanovena aktivita nitrátoreduktázy (NR), obsah chlorofylu (Chl), obsah celkového dusíku (N). Obsah celkového dusíku v mineralizovaném vzorku byl stanoven spektrofotometricky na automatickém analyzátoru Skalar San Plus System (Breda, Nizozemí). Aktivita nitrátoreduktázy byla stanovena metodou *in vitro* podle Gaudinové, (1990). Obsah chlorofylu byl stanoven upravenou metodou dle AOAC, 1990.

Výsledky a diskuze

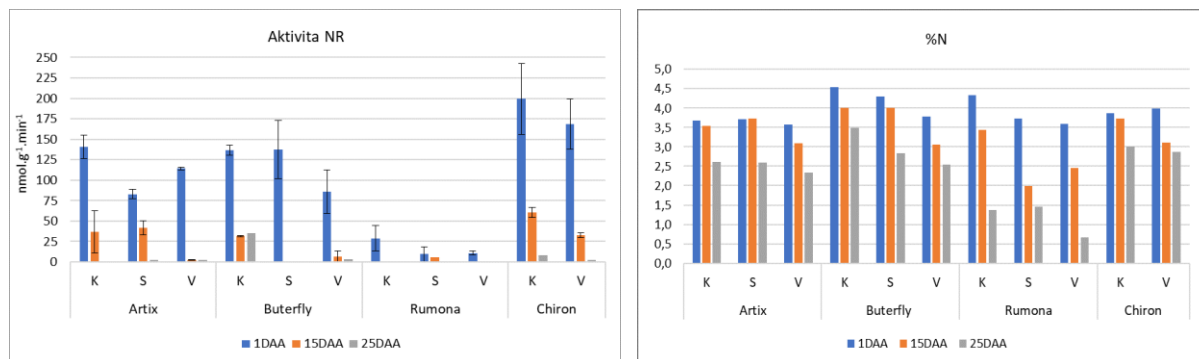
Aktivita nitrátoreduktázy ukazuje schopnost listů metabolizovat minerální N, současně je nepřímým ukazatelem příjmu nitrátů z půdy (resp. jejich dostupnosti). Nejvyšší aktivita nitrátoreduktázy v listech (Graf 1) byla u všech odrůd i sledovaných variant na počátku kvetení (1DAA). Dále se aktivita tohoto enzymu postupně snižovala. Nejvyšší aktivita NR byla zaznamenána u odrůdy Chiron v kontrolní variantě 199,3 nmol.g⁻¹.min⁻¹ 1DAA, 15DAA to bylo 60 nmol.g⁻¹.min⁻¹ (nejvyšší hodnota mezi odrůdami i variantami v této fázi) a ještě 25 DAA byla naměřena hodnota 8,4 nmol.g⁻¹.min⁻¹.

U všech sledovaných odrůd byla zjištěna nižší aktivita NR na počátku kvetení u zavlažované varianty v porovnání s variantou kontrolní. Aktivita byla nižší o 15 % (Chiron) – 32 % (Butterfly). Největší rozdíl byl zjištěn u pšenice jednozrnky (Rumona) a to snížení o 62 %. U většiny odrůd v této variantě poté aktivita nitrátoreduktázy již rychle klesala a 15DAA již nedosahovala ani 10 % původní hodnoty. Výjimkou byla odrůda Chiron, kde k výraznému poklesu v aktivitě NR došlo až mezi 15 a 25DAA.

U varianty s omezenou dodávkou vody (S) byly zjištěny velké rozdíly mezi sledovanými odrůdami. U velmi rané odrůdy Artix zůstávala aktivita NR zachována ještě 15DAA z 50 % a výrazný pokles nastal až mezi 15 a 25. dnem. Obdobné zjištění bylo patrné i u odrůdy pšenice jednozrnky (Rumona). I když zde zjištěná aktivita NR byla velmi nízká i v době kvetení, což zřejmě souvisí s jiným habitem rostlin a množstvím plodných odnoží. Naproti tomu u polorané odrůdy Butterfly začala klesat aktivita NR ihned po odkvětu a 15.den (15DAA) již zde nebyla patrná aktivita žádná.

Graf 1 (vlevo): Aktivita nitrátreduktázy v listech pšenice od počátku kvetení. 1. den kvetení (1DAA), 15. den od počátku kvetení (15DAA) a 25. den od začátku kvetení (25DAA). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf 2 (vpravo): Změny obsahu dusíku v praporcových listech pšenice od počátku kvetení. 1. den kvetení (1DAA), 15. den od počátku kvetení (15DAA) a 25. den od začátku kvetení (25DAA)



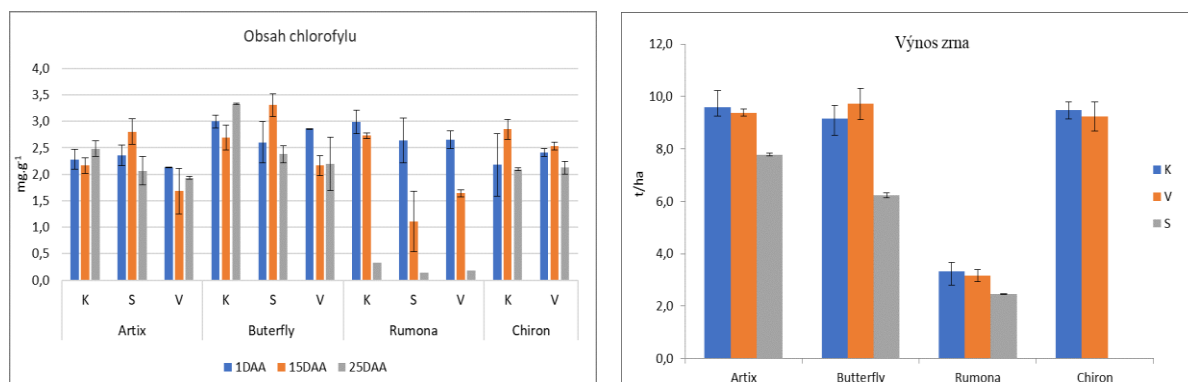
Obsah dusíku v listech postupně klesal (Graf 2) u všech odrůd. Nejvýrazněji byl tento trend patrný u odrůdy Rumona, ve všech variantách. Pokles obsahu celkového dusíku v listech souvisí se senescencí, která je naprogramovaným procesem představující konečnou fázi jejich vývoje. Kromě rozpadu chlorofylu, poklesu fotosyntézy, obsahu bílkovin a nukleových kyselin, zahrnuje také remobilizaci živin a organických látek ze stárnoucích listů do vyvíjejících se semen (Himelblau and Amasino, 2001).

Obsah chlorofylu v praporcových listech (Graf 3) byl sledován jako parametr pro hodnocení senescence listů, který většinou koreluje s obsahem dusíku v listech. Takto se v ročníku 2020 chovaly pouze listy odrůdy Rumona a to ve všech variantách. U ostatních odrůd nebyl tento jev příliš patrný, což lze částečně vysvětlit průběhem počasí ve sledovaném období, provázené dostatkem srážek a nepřiliš vysokými teplotami. V některých případech byl nejvyšší obsah chlorofylu 15. den – varianta S u Artix a Butterfly, K – Chiron). V listech kontrolní varianty odrůd Artix a Butterfly byly dokonce nejvyšší hodnoty zjištěny 25. den od počátku kvetení. Tyto tendence v podobných podmínkách uvádí také Raimanová a Trčková (2007).

Graf 3 (vlevo): Obsah chlorofylu v praporcových listech v listech pšenice od počátku kvetení. 1. den kvetení (1DAA), 15. den od počátku kvetení (15DAA) a 25. den od začátku kvetení (25DAA). Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku.

Graf 4 (vpravo): Výnos zrna sledovaných odrůd v roce 2020

Chybové úsečky znázorňují směrodatnou odchylku.



Z porovnání výnosu sledovaných odrůd (Graf 4) je jasně patrný vliv nedostatku vody. Vzhledem k tomu, že letošní rok byl z hlediska srážek poměrně příznivý, byl vliv závlahy na výnos velmi slabý a projevil se spíše negativně. Nedostatek vody snížil výnos u odrůdy Butterfly o 32 %, odrůdy Rumona o 26 % a Artix o 19 %.

Závěr

Odrůdy se pšenice se v podmínkách tohoto pokusu lišily v reakci na dostupnost vody. Zkrácení příjmu dusíku a tvorby asimilátů se projevilo také ve ztrátách při tvorbě výnosu zrna. Stres suchem snížil výnos oproti přirozeným podmínkám až o třetinu. Vliv závlahy na sledované ukazatele byl v tomto roce, ve srovnání s kontrolou, spíše negativní.

Použitá literatura

- Farooq, M., Hussain, M., Siddique, K. H. (2014). Drought stress in wheat during flowering and grain-filling periods. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 33(4), 331-349.
- Gaudinová, A. (1990): The effect of cytokinins on nitrate reductase activity. *Biologia Plantarum* 32, 89
- Himelblau E., Amasino R. M. (2001): Nutrients mobilized from leaves of *Arabidopsis thaliana* during leaf senescence. *Journal of Plant Physiology* 158, 1317-1323
- Raimanová, I., Trčková, M. (2007). Remobilization of nitrogen for wheat grain formation as affected by temperature and drought. In *Bioclimatology and natural hazards* (eds: Strelcova K, Skvarenina J, Blazenec M) International Scientific Conference, Poľana and Detvou, Slovakia.
- Sylvester-Bradley, R., Scott, R. K., Wright, C. E. (1990). Physiology in the production and improvement of cereals. *Physiology in the production and improvement of cereals* (18), 22-23.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory projektu NAZV QK1910041 a MZE-RO0418.

Kontaktní adresa:

Ing. Gabriela Kurešová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně
e-mail: kuresova@vurv.cz, +420233022464

POTENCIÁL VÝNOSU JESTŘABINY VÝCHODNÍ (*GALEGA ORIENTALIS* LAM.) V ROZDÍLNÝCH AGROTECHNICKÝCH OPATŘENÍCH NA ORNÉ PŮDĚ

The potential of yield of fodder galega on arable land in different agrotechnical measure

Lang, J.

Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko

Abstrakt

V roce 2017 byl založen pokus s jestřabinou východní (*Galega orientalis* Lam.) na orné půdě v pokusnických variantách úzkých (12,5 cm) a širokých (25cm) řádků a s rozdílnými výsevky (15 a 20 kg.ha⁻¹). Ve dvou užitkových letech byl hodnocen vliv pokusných faktorů na potenciální výnos jestřabiny. Bylo zjištěno, že šířka řádků, ani rozdílný výsevek neměly vliv na potenciální výnos. Byl zjištěn vliv inokulace osiva symbiotickými bakteriemi. Porost bez inokulace byl negativně ovlivněn vysokým zaplevelením.

Klíčová slova: jestřabina východní, potenciální výnos

Abstract

The experiment with fodder galega (*Galega orientalis*) was established on arable land in 2017. Two variants of rows width - 12,5 cm and 25 cm and two different sowing rates (15 and 20 kg.ha⁻¹) were used. The influence of experimental factors was evaluated on the yield during two harvest years. It was found, that rows width and sowing rates had no effect on the potential yield. The effect of seeds inoculation with symbiotic bacteria was determined. Fodder galega without inoculation was negatively affected by high weeds.

Key words: fodder galega, potential yield

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* L.), používaná v léčitelství. Jestřabina východní (*Galega orientalis* Lam.) pravděpodobně pochází z Kavkazu, kde se dodnes nachází její divoké formy. Od jestřabiny lékařské se mimo jiné liší hlavně několikanásobně nižším obsahem účinných látek, zejména alkaloidů (galegin, hydroxygalegin, vasicin), které působící neurotoxicky, hypotenzivně a dyspnoicky. Jako píce 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 píce používá ojediněle. V evropské databázi odrůd (<https://ec.europa.eu>) 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 (Ušák a kol, 2012) využitím jestřabiny východní pro výrobu bioplynu (odrůda „GALE“). V západních Čechách se vyskytuje na trvalém travním porostu na lokalitě Otročin jestřabina východní poměrně v hojném zastoupení téměř 20 let.

Materiál a metody

Na lokalitě Troubsko byl v roce 2017 založen maloparcelový pokus s jeřábem východní na orné půdě, pokusné varianty uvádí tab. č. 1. Inokulace byla provedena symbiotickými bakteriemi *Neorhizobium galegae*. První rok byl zásevný 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 fosfor (P_2O_5) 43,7 kg.ha⁻¹, draslík (K₂O) 258 kg.ha⁻¹, dusík (NO₃⁻) 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. Na základě těchto parametrů byl vypočítán potenciální výnos jeřábu, resp. výnos jeřábu při 100% zastoupení na parcele. Tato standardizace výnosu je nutná k tomu, aby bylo možné vyhodnotit vliv rozteče řádků a různých výsevků při různé úrovni zapojení porostu jeřábem. Sklizňová plocha jedné parcely činila 10 m². Statistické hodnocení výnosu bylo provedeno metodou analýzy variance (ANOVA $P > 0.05$) s následným hodnocením Tukeyovým testem. Lokalita Troubsko patří do řepářské 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]	výsvek [kg.ha ⁻¹]	počet sklizní ve vegetaci
1	jeřáb východní LENA	bez inokulace	12,5	20	3
2	jeřáb východní LENA	inokulace	12,5	20	3
3	jeřáb východní LENA	inokulace	12,5	15	3
4	jeřáb východní LENA	inokulace	12,5	20	2
5	jeřáb východní LENA	inokulace	25	15	3
6	jeřáb východní LENA	inokulace	25	20	3
7	jeřáb východní LENA	inokulace	25	20	2

Výsledky a diskuze

Aby bylo možné srovnávat jednotlivé pokusnické varianty, bylo nutné výnosová data standardizovat na 100% pokrytí jeřábem. Potenciální výnos tedy nenesl informaci o skutečném hektarovém výnosu.

Tabulka č. 2 ukazuje průměrný výnos ze všech variant v jednotlivých sečích. Za normálních klimatických podmínek se jedná o klasické rozvrstvení výnosu u jeřábov: první sklizeň dává nevyšší výnos, další sklizně jsou obvykle nižší. Takový model dokládá i práce z Litvy s odrůdou Gale zabývající se srovnáním produkce a energetického potenciálu u jeřábov, vojtěšky a kukuřice (Povilaitis a kol., 2016). Celkový výnos v roce 2019 je vyšší, než v roce 2018. To je dáno tím, že víceleté rostliny mají pomalejší vývoj než jednoleté a opět se jedná o klasický model výnosu jeřábov. To dokládá i práce Dubis a kol. (2020), zabývající se výnosem a energetickou bilancí v dlouhodobých pokusech v Polsku, a ti uvádí, že nejvyšší výnos jeřábov východní zaznamenali ve čtvrtém a pátém užitkovém roce. Průměrný výnos v roce 2018 byl 2,98 t.ha⁻¹ a v roce 2019 3,54 t.ha⁻¹. Rozdíl ve výnosech je statisticky průkazný.

Tabulka č. 3 udává potencionální výnos pokusných variant v prvním a druhém užitkovém roce. Podle statistického hodnocení není mezi variantami významný rozdíl. Z toho vyplývá, že zvolená řádková rozteč nemá vliv na potenciální výnos jeřábiny, protože jeřábina je schopna produkovat obdobný výnos v roztečích 12,5 nebo 25 cm. Výsevek 15 kg.ha⁻¹ je dostačující, vyšší výsevky nejsou nutné. V reálném případě nelze ovšem použít potenciální výnos, ale musíme počítat se zaplevelením a prázdnými místy v porostu. To může výrazně ovlivnit výnos a zejména kvalitu sklizené píce.

Tab. 2: Potenciální výnos suché hmoty ve sklizních (průměry variant)

rok	sklizeň	výnos [t.ha ⁻¹]	rok	sklizeň	výnos [t.ha ⁻¹]
2018	1	5,27 ^a	2019	1	5,02 ^a
	2	2,76 ^d		2	3,84 ^f
	3	0,90 ^b		3	1,77 ^c

Písmena v horním indexu zařazují varianty v jednotlivých dnech do skupin podle výsledků ANOVY na hladině významnosti $P > 0.05$.

Významnou vlastností jeřábiny je pomalejší vzcházení, vývoj a zapojování porostu. Toho velmi rychle využívají rychleji se vyvíjející plevy. Tyto plevy jsou velmi silným konkurentem. Svým rozložením zabírají místo na povrchu půdy, jsou vážným konkurentem ve světelných i vláhových podmínkách. Pokryvností, zaplevelením a výskytem prázdných míst se zabývá předchozí studie (Lang, 2019). Ta udává, že v prvních dvou sklizňových letech na míru zaplevelenosti a výskytu prázdných míst nemá rozteč řádků, ani rozdílný výsevek vliv, ale byl prokázán vliv inokulace osiva. Míra zaplevelení a prázdná místa se s rozdílnou roztečí a rozdílným výsevkem od sebe výrazně neliší. Jelikož se neliší u daných variant ani potenciální výnos, můžeme se domnívat, že založením porostu s využitím úzkých nebo širších řádků s výsevkem 15 kg.ha⁻¹ získáme srovnatelný výnos, pokryvnost i kvalitu sklizené píce. Průměrná pokryvnost jeřábiny v prvním užitkovém roce (2018) byla 52 - 67 %, ve druhém roce 45 - 82,5 %, resp. 65 - 82,5 % s vynecháním neinokulované varianty č. 1 (viz níže). U variant se sníženým počtem sklizní (var. č. 4 a 7) očekáváme v budoucnu vitálnější porost, rozdíly se zatím neprojevily. Usuzujeme tak proto, že například u vojtěšky, nebo jetele se doporučuje pro zvýšení vytrvalosti porostu alespoň jednou za dva roky nechat vykvést. Práce dále uvádí, že míra zaplevelení byla průkazně vyšší u neinokulované varianty (var. č. 1) a to 55 až 65 %. Taková míra zaplevelení není únosná a porost je prakticky pro pícní účely nepoužitelný. S tím souvisí i kvalitativní parametry sklizené píce. Raig a kol. (2001) uvádí, že ve sklizené pici, jejíž porost byl založen s inokulovaným osivem (přítomno 200000 symbiotických bakterií na jednom semeni) byl zjištěn obsah hrubého proteinu 14,9 %. Z porostu, který byl založen neinokulovaným osivem bylo zjištěno pouze 10,8 % hrubého proteinu.

Tab. 3: Potenciální průměrný výnos suché hmoty z jedné sklizně se směrodatnou odchylkou SE

rok	varianta	výnos [t.ha ⁻¹]	SE [t.ha ⁻¹]	rok	varianta	výnos [t.ha ⁻¹]	SE [t.ha ⁻¹]
2018	1	2,73 ^a	± 0,50	2019	1	3,65 ^a	± 0,54
	2	2,82 ^a	± 0,55		2	3,53 ^a	± 0,40
	3	2,79 ^a	± 0,52		3	3,76 ^a	± 0,39
	4	3,18 ^a	± 0,60		4	3,40 ^a	± 0,46
	5	3,29 ^a	± 0,65		5	3,20 ^a	± 0,35
	6	3,25 ^a	± 0,54		6	3,82 ^a	± 0,43
	7	2,79 ^a	± 0,67		7	3,45 ^a	± 0,78

Písmena v horním indexu zařazují varianty v jednotlivých dnech do skupin podle výsledků ANOVY na hladině významnosti $P > 0.05$.

Závěr

Jestřabina východní patří zatím mezi méně využívané druhy píce, nicméně je možné ji využít jako bílkovinné krmivo pro skot. Jestřabinu východní pro píce využití lze zakládat v klasických pícních úzkořádcích s roztečí 12,5 cm, nebo i v širší rozteči 25 cm, v obou případech s výsevkem 15 kg.ha⁻¹. Výsevek 20 kg.ha⁻¹ nezvýší výnos jestřabiny, ani nezabrání zaplevelení. Jestřabina je má v počátečních fázích pomalý vývoj 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.

Literatura

- Dubis, B., Jankowski, KJ., Sokolski, MM., Zaluski, D., Borawski, P., Szemplinski, W.: *Biomass yield and energy balance of fodder galega in different production technologies: An 11-year field experiment in a large-area farm in Poland*. Renewable Energy 2020, Vol. 154, p. 813-825. ISSN 09601481.
- Kožnarová, V., Klabzuba, J.: *Doporučení WMO pro popis meteorologických, resp. klimatologických podmínek definovaného období*. Rostlinná výroba 2002: roč. 48, č. 4, s. 190 – 192.
- Lang, J.: Vliv výsevku, šířky řádků a inokulace na zapojení porostu jestřabiny východní (*Galega orientalis* Lam.) na orné půdě v suchých podmínkách. *Úroda* 12-2019, vědecká příloha, s. 327-331. ISSN 0139-6013.
- Povilaitis, V., Slepeliene, A., Slepetytys, J., Lazauskas, S., Tilvikienė, V., Amaleviciute, K., Feiziene, D., Feiza, V., Liaudanskiene, I., Ceseviciene, J., Kadziulienė, Z., Kukujevas, A.: *The productivity and energy potential of alfalfa, fodder galega and maize plants under the conditions of the nemoral zone*. Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil And Plant Science 2016, vol.: 66, issue.: 3, p. 259-266.
- Ust'ak, 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-RO1720.

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Lang, Ph.D.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko
Zahradní 1
66441 Troubsko,
e-mail: lang@vupt.cz

POČÁTEČNÍ VÝVOJ VYBRANÝCH DRUHŮ TRAV V OBLASTI HODONÍNSKA V ZÁVISLOSTI NA TERMÍNU VÝSEVU A ÚPRAVĚ OSIVA

Initial development of selected grass species in the Hodonín region depending on the date of sowing and seed treatment

Lošák M.¹, Vymyslický T.², Frydrych J.¹, Raab S.³, Chovančíková E.¹

¹OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Zubří

²Zemědělský výzkum s.r.o., Troubsko

³OSEVA PRO s.r.o., o. z. Výzkumná stanice travinářská Rožnov – Zubří

Abstrakt

Byl hodnocen vliv obalení semen technologií WASP (Water Absorbing Seed Process) a termínu výsevu (jarní / podzimní) na počáteční vývoj pěti druhů trav (*Festuca pratensis* Huds., *F. rubra* L., *Lolium perenne* L., *Phleum pratense* L., *Poa pratensis* L.) v polních podmínkách. Polní pokusy byly založeny v letech 2017–2019 na Hodonínsku na rychle vysychavé písčité půdě. Vliv obalení semen na pokryvnost porostů byl nevýznamný. Vliv termínu výsevu na pokryvnost porostů byl vysoce významný ($p < 0,01$). Vyšší pokryvnost měly porosty trav vyseté na podzim.

Klíčová slova: pokryvnost porostů, obalované osivo, technologie WASP, trávy, termín výsevu

Abstract

The effect of WASP (Water Absorbing Seed Process) coating method and sowing date (spring / autumn) on the initial development of five grass species (*Festuca pratensis* Huds., *F. rubra* L., *Lolium perenne* L., *Phleum pratense* L., *Poa pratensis* L.) in field conditions were evaluated. Field trials were established in the rapidly drying sandy soil in the Hodonín region in 2017–2019. The effect of seed coating method on vegetation cover was not significant. The effect of sowing date on the vegetation cover was statistically highly significant ($p < 0.01$). All grasses sown in autumn had higher cover.

Key words: vegetation cover, coated seed, WASP technology, grasses, sowing date

Úvod

Pro zakládání travnatých ploch se již delší dobu mohou využívat technologicky různě upravená osiva, u nichž výrobci deklarují vylepšení podmínek při klíčení a vzcházení, což má v důsledku zlepšovat celkovou polní vzcházivost a přispívat k rychlejšímu zapojení travního porostu a rovnoměrnějšímu vývoji jednotlivých rostlin. K těmto metodám patří např. předklíčování semen, ošetřování osiva biologickými rostlinnými stimulanty nebo obalování semen rychle a pomalu působícími hnojivy případně dalšími látkami (Hrabě a kol., 2009). Obalování semen rychle a pomalu působícími hnojivy případně dalšími látkami má vysokou účinnost, neboť tyto látky se nacházejí v těsné blízkosti vzcházejících rostlin a optimalizují tak růstové podmínky pro nově založený porost. Další vývoj technologie úpravy travních osiv směřuje k zlepšování podmínek pro vzcházení nově zakládáných porostů v podmínkách nepravidelného zásobení vodou, takže osiva „nové generace“ obsahují ve svých obalových vrstvách mj. i hydroabsorbenty na bázi polymerů, které vážou vodu, postupně ji uvolňují a dlouhodobě jí zásobují semena. Dalšími výhodami obalování semen je snadnější manipulace s osivem a zejména jednodušší výsev. Nevýhodou obalovaných semen je, že mohou skrývat semena jiných druhů nebo nečistoty v osivu, ale hlavní nevýhodou je výrazné zvýšení velikosti a hmotnosti semen (Lošák a Ševčíková, 2018; Stevens a kol., 2011). Hydroabsorbenty mohou být ve formě

přírodních polymerů na bázi škrobu, polosyntetické nebo syntetické polymery. Vytvořený gel z hydroabsorbentů chrání nejjemnější kořenový systém rostlin před poškozením suchem. Účinku je dosahováno vícečetnou adsorpcí. V závislosti na konkrétním typu polymeru jsou tyto látky schopny vázat na 1 g své hmotnosti až 300 g vody. Podle některých vědeckých studií (např. Pazderů a Koudela, 2013; Rak, 2011) mohou hydroabsorbenty hrát důležitou roli při klíčení rostlin, ale ovlivňují také transpiraci rostlin díky zvýšené dostupnosti vody, zajišťují dostupnost vody pro mikroorganismy fixující dusík a mají vliv na produkci čerstvé i suché biomasy rostlin. Hydroabsorbentům je připisován také protierozní účinek a omezení ztrát živin z půdy. Polymerní sloučeniny používané v zemědělství by měly být v půdě plně rozložitelné.

Pro zakládání travnatých ploch v prostředí bez závlah jsou v oblastech ohrožených suchem v zásadě možné dva termíny výsevu, a to časně jarní a pozdně letní resp. časně podzimní termín výsevu. V případě podzimního termínu výsevu by měl být proveden v takovém termínu, aby rostliny trav před zimou vytvořily 4–5 pravých listů. Podzimní termín výsevu je výhodný z hlediska omezeného vývoje plevelných rostlin, kdy se již nevyvíjí ve velké míře jednoleté plevelné rostliny a po přezimování nově vysetý porost rychleji regeneruje (Skládanka, 2005). Cílem práce bylo vyhodnotit vliv obalení semen technologií WASP (Water Absorbing Seed Process) na počáteční vývoj porostů trav v polních podmínkách v oblasti Hodonínska a zároveň vyhodnotit různé termíny výsevu. Obal semen je tvořen několika vrstvami, které obsahují živiny, huminové kyseliny, biostimulátory aj. a především hydroabsorbent, zajišťující semeni stálou vlhkost (Feldsaaten Freudenberger, 2020).

Materiál a metody

Osivo pěti druhů kulturních trav kostravy luční (*Festuca pratensis* Huds., odrůda 'Rožnovská'), k. červené (*F. rubra* L., 'Zulu'), jílku vytrvalého (*Lolium perenne* L., 'Ahoj'), bojínku lučního (*Phleum pratense* L., 'Levočský') a lipnice luční (*Poa pratensis* L., 'Lipoa'), získané nákupem od semenářských firem, bylo obaleno technologií WASP ve specializované firmě Feldsaaten Freudenberger v Německu v roce 2017. Bezprostředně poté byly provedeny testy semenářské hodnoty obaleného i neošetřeného osiva (HTS, klíčivost) a na základě provedené analýzy kvalitativních parametrů osiva bylo stanoveno výsevné množství jednotlivých druhů pro založení polních pokusů. Zbývající osivo bylo vakuově zabaleno, aby byl eliminován přístup vlhkosti k semenům, a uloženo při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, což odpovídá podmínkám shodným s dlouhodobým ukládáním semen v genových bankách (Holubec a kol., 2015). U takto uskladněného osiva byla každoročně opět zhodnocena klíčivost jako podklad pro stanovení výsevného množství v časově opakovaných výsevech.

Polní pokusy byly založeny bezezbytkovým maloparcelním secím strojem na lokalitě Hodonín – Pánov (nadmořská výška 200 m, dlouhodobý roční úhrn srážek 569 mm, dlouhodobá průměrná roční teplota $9,3\text{ }^{\circ}\text{C}$, regozem arenická). Založení pokusů bylo provedeno ve třech znáhodněných opakováních na parcelách o výměře 10 m^2 a v termínech uvedených v tabulce 1. Následně byla v letech 2018–2019 hodnocena pokryvnost porostů trav v průběhu vegetačního období v roce výsevu v rámci pokusů vysévaných v jarním období a po přezimování u pokusů vysévaných na podzim s použitím čtvercového rámu o velikosti $0,5 \times 0,5\text{ m}$ (tj. plocha $0,25\text{ m}^2$), který je rozdělen sítí na 25 čtverců o velikosti $0,1 \times 0,1\text{ m}$ ($0,01\text{ m}^2$). Rámy byly vyrobeny ze dřeva a pro vnitřní výplet byla použita umělohmotná struna. Použitá metoda vychází z normy ČSN EN 12231 (2003) a byla publikována dalšími autory (např. Moravec a kol., 1994). Takto byla získána prezenčně-absenční data (3x na parcele v každém termínu), která byla přepočtena na procentní vyjádření. Hodnocení bylo prováděno 4x během vegetačního období, resp. 5x u pokusů vysévaných na podzim, a to v termínech uvedených v tabulce 1. Meteorologickou charakteristiku za období 2017–2019 uvádíme v tabulce 2. Meteorologické veličiny jsou měřeny přímo na pokusné ploše profesionální

meteorologickou stanicí, která byla pro výzkumné účely vybudována v červenci 2017. Z tohoto důvodu jsou v roce 2017 uváděna data pouze za období srpen až prosinec.

Získané výsledky byly statisticky zhodnoceny metodou vícefaktorové analýzy variance ANOVA v programu STATISTICA CZ 12 a statistická významnost rozdílů středních hodnot u všech porovnávaných skupin byla zhodnocena pomocí Tukeyova HSD testu na hladinách významnosti $\alpha = 0,05$ a $\alpha = 0,01$.

Tab. 1: Termíny založení a hodnocení polních pokusů na lokalitě Hodonín – Pánov

Lokalita	Termíny založení a hodnocení polních pokusů			
	Jarní výsevy		Podzimní výsevy	
Datum výsevu	25. 4. 2018	21. 3. 2019	4. 10. 2017	18. 9. 2018
Termíny hodnocení	30. 5. 2018	29. 5. 2019	23. 4. 2018	3. 4. 2019
	11. 7. 2018	10. 7. 2019	30. 5. 2018	29. 5. 2019
	18. 9. 2018	3. 10. 2019	11. 7. 2018	10. 7. 2019
	5. 11. 2018	28. 11. 2019	18. 9. 2018	3. 10. 2019
	-	-	5. 11. 2018	28. 11. 2019

Tab. 2: Meteorologická charakteristika období 2017–2019 na lokalitě Hodonín – Pánov

Měsíc	Průměrná teplota vzduchu (°C)			Úhrn srážek (mm)		
	2017	2018	2019	2017	2018	2019
Leden	-	2,6	-0,7	-	35,0	44,5
Únor	-	-1,6	2,6	-	19,7	22,4
Březen	-	2,6	7,3	-	18,7	21,8
Duben	-	15,0	11,6	-	31,6	29,9
Květen	-	18,3	12,4	-	57,5	154,4
Červen	-	20,1	22,6	-	83,0	52,4
Červenec	-	21,3	20,6	-	54,7	95,2
Srpen	21,6	23,4	21,3	36,7	23,5	69,0
Září	14,1	16,5	15,2	92,8	121,4	58,1
Říjen	10,4	12,4	11,2	58,1	17,7	50,0
Listopad	4,8	6,1	7,8	42,8	12,2	53,7
Prosinec	1,8	1,7	2,9	47,6	42,8	59,2
Rok	-	11,5	11,2	-	517,8	710,6

Výsledky a diskuze

Na vývoj porostů trav měly výrazný vliv meteorologické podmínky obou let, v nichž bylo prováděno hodnocení pokryvnosti. Podle Salaše a kol. (2019) byl rok 2018 na výzkumné ploše Hodonín – Pánov i na celé jižní Moravě charakteristický extrémními projevy počasí. Teploty půdy i vzduchu byly mimořádně vysoké, což mělo vliv na vysoké hodnoty aktuální i potenciální evapotranspirace již od měsíce dubna a díky výskytu podprůměrných až silně podprůměrných srážek docházelo k výskytu zemědělského a půdního sucha. V měsíci říjnu 2018 již srážkový deficit představoval 200 mm srážek, což mělo výrazný vliv na vlhkostní poměry pokusné plochy také v roce 2019 (Salaš a kol., 2020), a proto v první polovině jarního období začalo opět docházet k výskytu sucha. Měsíc květen 2019 byl srážkově bohatý, ale se značnou časovou proměnlivostí. Proto se také rok 2019 vyznačoval extrémními projevy počasí a jako celek byl hodnocen jako velmi teplý, s mimořádně teplou zimou a létem s velmi nerovnoměrným výskytem srážek. Přestože v zimním období a v měsíci květnu byly nadprůměrné srážkové

úhrny, vysoké teploty způsobily, že vláhová bilance byla až do měsíce září deficitní. Písčité půdy tak i přes vyšší roční srážkový úhrn trpěly výskytem sucha daleko více než ostatní druhy půd.

Pokud odhlédneme od všech ostatních faktorů, nejúspěšnějším travním druhem v rámci všech pokusů byl jílek vytrvalý s průměrnou pokryvností porostu 67,0 %. Následovaly druhy kostřava červená (59,7 %), bojínka luční (45,8 %), kostřava luční (43,6 %) a nejmenší pokryvnost měla lipnice luční (27,9 %). Efekt obaleného osiva technologií WASP se v průměru všech druhů a pokusů neprojevil. Porosty založené z neošetřeného osiva dosahovaly průměrné pokryvnosti 49,9 % a porosty z obaleného osiva 50,2 %. Ani při zohlednění interakce faktorů travní druh a ošetření osiva nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v pokryvnosti porostů mezi variantami a rozdíly mezi variantou neošetřeného a obaleného osiva byly v řádu jednotek procent ve prospěch porostů založených z neošetřeného (jílek vytrvalý, kostřava červená) i obaleného osiva (bojínka luční, kostřava luční, lipnice luční), jak je uvedeno v tabulce 3.

Vliv obalení na travní druhy v pozdějším období od výsevu tak nebyl pozorován. Z dříve publikovaných výsledků našeho výzkumu vyplývá, že vliv obalení je průkazný především na úrovni rostliny než na úrovni porostu jako celku v ranějších fázích vývoje (řádově týdny po výsevu), kdy dochází k ovlivnění délky a hmotnosti nadzemních i kořenových částí rostlin a počtu vytvořených odnoží, ale intenzita tohoto vlivu je významně ovlivněna konkrétním travním druhem a vnějšími podmínkami prostředí (Lošák a kol. 2019a; Lošák a kol. 2019b; Lošák, 2020). Rovněž Lee a Park (2006) prokázali, že obalení semen rostlin včetně trav může mít za následek zrychlení růstu stonků a listů (o 34,8 %), ale také kořenů (o 26,2 %).

Tab. 3: Pokryvnost porostů trav hodnocených v letech 2018–2019 na lokalitě Hodonín – Pánov; *Tukey HSD test ($P \leq 0,05$)

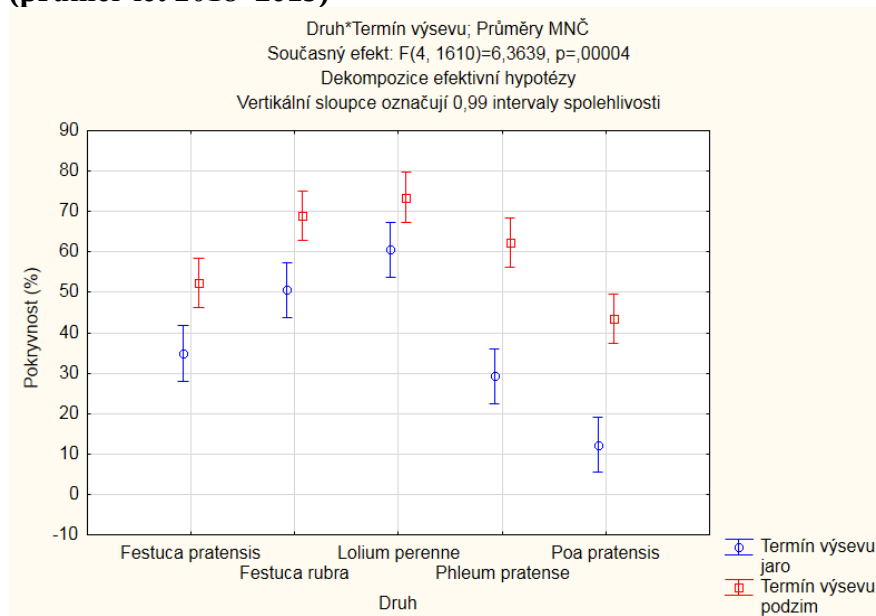
Druh	Varianta použitého osiva	Pokryvnost porostu*
<i>Festuca pratensis</i>	neošetřené	43,7 ^c
	obalené	45,3 ^c
<i>Festuca rubra</i>	neošetřené	62,9 ^{ab}
	obalené	58,6 ^b
<i>Lolium perenne</i>	neošetřené	68,1 ^a
	obalené	67,3 ^a
<i>Phleum pratense</i>	neošetřené	46,9 ^c
	obalené	48,4 ^c
<i>Poa pratensis</i>	neošetřené	27,8 ^d
	obalené	31,5 ^d
Průměr	neošetřené	49,9^a
	obalené	50,2^a

Statisticky významné rozdíly v pokryvnosti travních druhů byly zjištěny mezi jednotlivými postupně zakládanými pokusy. V průměru všech travních druhů byla nejvyšší pokryvnost porostů sledována v rámci pokusu vyšetěm na podzim v roce 2018 (73,0 %), následně u pokusu vyšetěm na jaře 2019 (59,1 %), na podzim 2017 (47,2 %) a porosty z pokusu vyšetěm na jaře 2018 dosahovaly nejnižší pokryvnosti (15,9 %). Mezi všemi uvedenými hodnotami pokryvnosti porostů byly vzájemně statisticky průkazné rozdíly. Ze zjištěných výsledků lze vyvodit dva závěry. Rok 2019 byl pro vývoj porostů příznivější než rok 2018, což přikládáme hlavně lepším vlhkostním poměrům ročníku 2019. Určitý význam měl také posun termínu výsevu, kdy v roce 2018 se podzimní výsev realizoval o 16 dnů dříve než v roce 2017 a jarní výsev v roce 2019 byl proveden o 35 dnů dříve než v roce 2018.

Důležitější je však poznatek, že na písčité půdě byl zejména ve vlhkostně nepříznivých podmínkách pro zakládání travních porostů v každém z obou let výrazně vhodnější podzimní termín výsevu. V průměru všech hodnocených travních druhů dosahovaly porosty z jarních výsevů statisticky vysoce průkazně ($p < 0,01$) nižší pokryvnost (37,5 %) než porosty z podzimních výsevů (60,1 %). Větší rozdíl v následné pokryvnosti nově se vyvíjejících travních porostů byl zjištěn mezi pokusy hodnocenými v roce 2018 (31,3 %), zatímco ve vlhkostně příznivějších podmínkách mezi pokusy hodnocenými v roce 2019 představoval rozdíl v průměrné pokryvnosti všech travních druhů 13,9 %. Ukázalo se tak, že při větší intenzitě výskytu sucha se pozitivní efekt podzimního termínu výsevu na porosty trav zvyšuje. Rostliny jsou v teplotně a vlhkostně příznivějších podmínkách z podzimních termínů výsevů schopny se plně vyvinout a především vytvořit si dostatečně velký kořenový systém. To jim následně umožní lépe překonávat delší období nedostatku vláhy. Při provádění vlastního hodnocení byly u porostů z jarních výsevů častěji nalézány zcela suché vzešlé rostliny trav již od prvních termínů hodnocení pokryvnosti, které si nedokázaly vytvořit dostatečně velký kořenový systém a nebyly schopny zregenerovat a přežít v nepříznivých podmínkách. Následně pak docházelo k plošným a rozsáhlým úhynům porostů.

Detailní zhodnocení pokryvnosti konkrétních travních druhů ve vztahu k termínu výsevu je znázorněno v grafu 1. U všech travních druhů byla vyšší pokryvnost dosahována u porostů z podzimních výsevů. V případě druhu jílek vytrvalý se pokryvnost mezi jarním a podzimním termínem výsevu lišila statisticky průkazně ($p < 0,05$) a u všech ostatních travních druhů statisticky vysoce průkazně ($p < 0,01$). Efekt vyšší pokryvnosti porostů z podzimních výsevů byl v absolutním vyjádření nejsilnější u druhů bojínky luční (vyšší pokryvnost o 33 %) a lipnice luční (31 %). U druhu kostřava červená byla v porostech z podzimních termínů výsevů pokryvnost proti jarním termínům vyšší o 18 %, u kostřavy luční o 17 % a u jílky vytrvalého rozdíl představoval 13 %.

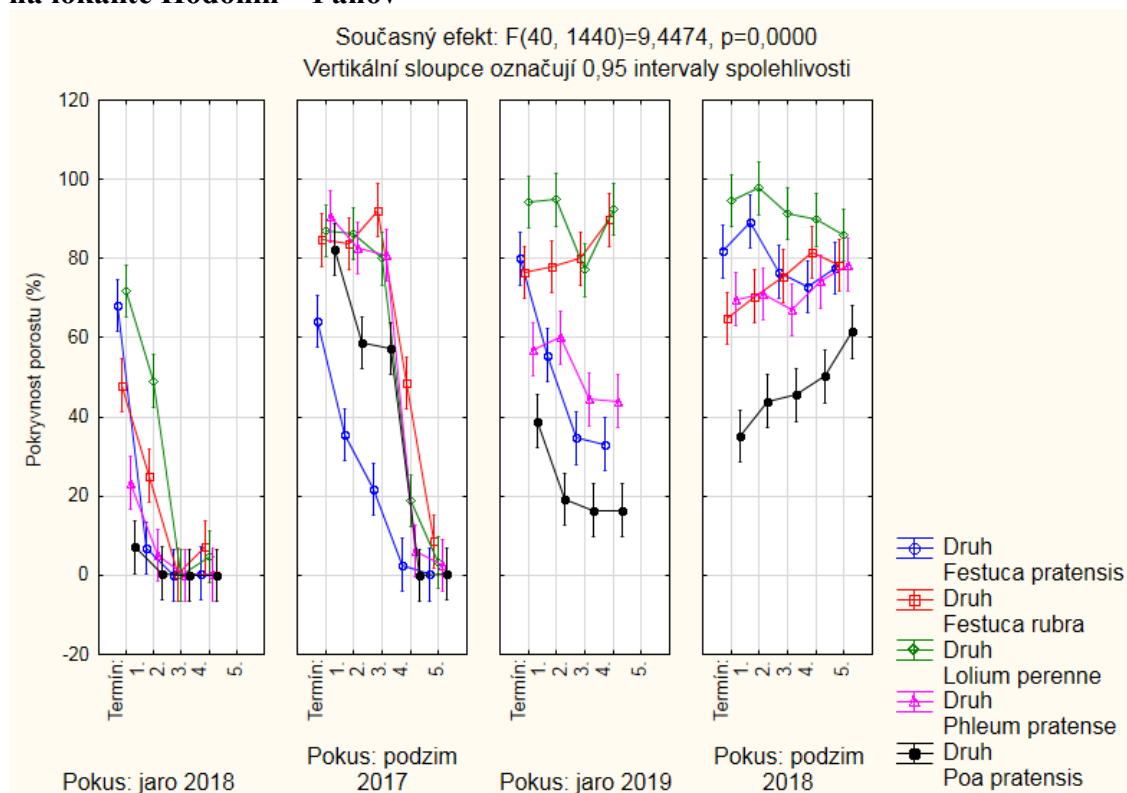
Graf 1: Pokryvnost porostů trav podle termínu výsevu na lokalitě Hodonín – Pánov (průměr let 2018–2019)



Postupný vývoj pokryvnosti hodnocený u každého pokusu je znázorněn v grafu 2. V rámci pokusů hodnocených v roce 2018 (podzim 2017 + jaro 2018) docházelo s pokračujícím hodnocením v daném roce k postupnému snižování pokryvnosti všech druhů trav. V pokusu vyšetřovaném na podzim byla počáteční pokryvnost většiny druhů trav významně vyšší než u porostů

z jarního výsevu s výjimkou kostřavy luční. Přesto také u tohoto pokusu došlo v závěru sledovaného období až k téměř úplnému úhynu porostů. Příkladáme to skutečnosti, že pokus byl založen výsevem v pozdějším termínu (4. 10. 2017), což bylo způsobeno deštivým a chladným počasím v podzimním období. Rostliny trav tak neměly vhodné podmínky k plnému vývoji a po přezimování nastalo velmi suché jaro a sucho s vysokými teplotami pokračovalo i v dalších měsících. U pokusů hodnocených v roce 2019 (podzim 2018 + jaro 2019) byla situace odlišná. Podzimní výsev byl proveden v časném termínu 18. 9. 2018, díky čemuž se rostliny trav mohly před zimním obdobím dostatečně vyvinout. V případě zakládání travních porostů na podzim je časnost výsevu velmi důležitá. Jak uvádí Gawryluk (2019), u travních druhů *Festuca rubra*, *Lolium perenne* a *Poa pratensis* má pozdnější podzimní termín výsevu negativní vliv na vývoj rostlin, u kterých se významně snižuje délka a objem vytvořených nadzemních a kořenových částí. Také rostliny vyseté na jaře 2019 dosahovaly vyšších pokryvností než v předchozím roce a především ke konci hodnoceného období nedocházelo k úplným úhynům porostů. Přesto u druhů lipnice luční, kostřava luční a bojínky luční docházelo zvláště v letním období ke snižování jejich pokryvnosti.

Graf 2: Vývoj pokryvnosti porostů trav podle termínů hodnocení jednotlivých pokusů na lokalitě Hodonín – Pánov



Závěr

Obalování osiv s využitím hydroabsorbentů v obalových vrstvách je inovativní technologie, jejíž pozitivní vliv na vzházivost a vývoj porostů nebyl dosud dostatečně prokázán při pokusném ani praktickém zakládání porostů. Ve výsledcích našeho výzkumu se ukazuje, že efekt obalení se na porosty trav v delším období od vzejití porostů neprojevil. V praxi bude využití obalených travních semen metodou WASP omežováno především vyššími náklady. Významný však byl termín výsevu zkoušených travních druhů. Porosty založené z podzimních

termínů výsevů dosahovaly výrazně lepších pokryvností než porosty vyseté v jarním období. Významná je ale také interakce s průběhem meteorologických podmínek daného roku. Na vysýchavých písčitých půdách v teplých a suchých oblastech lze jako nejvhodnější termín pro zakládání travních porostů doporučit pozdně letní resp. časně podzimní termín výsevu.

Literatura

- ČSN EN 12231, 2013: Povrchy pro sportoviště – Zkušební metoda – Stanovení pokryvnosti přírodního trávníku. Praha: Český normalizační institut, 12 s. Třídící znak 73 5930.
- Feldsaaten Freudenberger, 2020: Seed Coating Technology [online], [cit. 2020-09-20]. URL: <http://www.mantelsaat.com/english/home.html>
- Gawryluk A., 2019: The influence of sowing date on initial growth and development of selected lawn varieties of *Festuca arundinacea*, *Festuca rubra*, *Festuca ovina*, *Lolium perenne* and *Poa pratensis* on a roadside bank. *Agronomy Science*, 74, 57–66.
- Hrabě F. a kol., 2009: Trávníky pro zahradu, krajinu a sport. Olomouc: Vydavatelství Petr Baštan, s. 62–64. ISBN 978-80-87091-07-4.
- Lee B. T., Park Ch. M., 2006: Effects of Seed Coating and Molding on Seed Germination and Seedling Growth of Rehabilitating Plants in Forest Road Slopes. *Korean Journal of Environment and Ecology*, 20 (4), 436–447.
- Lošák M., Ševčíková M., 2018: Vliv obalování semen technologií WASP na kvalitativní ukazatele osiv a vzházení trav. *Úroda, vědecká příloha*, 66 (12), 313–317.
- Lošák M., Raab S., Vymyslický T., Frydrych J., Ševčíková M., Chovančíková E., 2019a: Vliv obalování semen technologií WASP na počáteční vývoj jílku vytrvalého (*Lolium perenne* L.). In: Kožnarová V. (ed.) Vliv abiotických a biotických stresorů na vlastnosti rostlin 2019. Praha: ČZU, s. 101–103. ISBN 978-80-213-2949-2.
- Lošák M., Vymyslický T., Raab S., Frydrych J., Ševčíková M., Chovančíková E., 2019b: Vliv obalování semen technologií WASP na počáteční vývoj vybraných druhů trav a jetelovin. In: Salaš P. (ed) Rostliny v suchých oblastech a klimatická změna. Lednice 23.- 24. 10. 2019. Zahradnictví, vědecká příloha, 18 (11), 175–184. ISSN 1213-7596.
- Lošák M., 2020: Zkušenosti s použitím travního osiva obaleného technologií WASP. *Pícninářské listy*, 26, 26–30. ISBN 978-80-87091-87-6.
- Moravec J. a kol., 1994: Fytocenologie. Praha: Academia, 404 s. ISBN 80-200-0128-X.
- Pazderů K., Koudela M., 2013: Influence of hydrogel on germination of lettuce and onion seed at different moisture levels. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 61 (6), 1817–1822.
- Rak L., 2011: Vliv hydroabsorbentů na vybrané biologické a biochemické charakteristiky půd a jejich praktické využití při rekultivaci antropogenních recentních substrátů. *Acta Environmentalica Universitatis Comenianae (Bratislava)*, 19 (Supplement), 281–289.
- Salaš P. a kol., 2019: Odborná zpráva o postupu prací a dosažených výsledcích za rok 2018. Příloha k průběžné zprávě za rok 2018 výzkumného projektu TH02030073. Lednice: Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta. Nepublikováno.
- Salaš P. a kol., 2020: Odborná zpráva o postupu prací a dosažených výsledcích za rok 2019. Příloha k průběžné zprávě za rok 2019 výzkumného projektu TH02030073. Lednice: Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta. Nepublikováno.
- Skládanka J., 2005: Několik slov k zásadám zakládání trávníků. In: Hrabě F. a kol. Trávníkářská ročenka 2005. Olomouc: Vydavatelství Petr Baštan, s. 15–17. ISBN 80-903275-2-4.
- Stevens J., Clarke S., Ryan M., Mitchell M., Chivers I., Loo Ch., Nichols P., Dixon K., 2011: Establishment of native perennial grasses. In: Nichols P. (Ed.) *Reliable Establishment of*

Non-Traditional Perennial Pasture Species. North Sydney: Meat & Livestock Australia Limited, 198–238.

Dedikace

Práce vznikla za podpory projektu TA ČR č. TH02030073 Revitalizace zemědělské půdy v oblastech ČR ohrožených suchem a za podpory MZe (Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.6 a institucionální podpora na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZE-RO1820).

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Lošák
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.
Hamerská 698, 756 54 Zubří
e-mail: losak@oseva.cz

HODNOCENÍ RYCHLOSTI RŮSTU INTENZIVNĚ OŠETŘOVANÉHO TRÁVNÍKU V KOLEKCI GENETICKÝCH ZDROJŮ KOSTŘAVY ČERVENÉ (*FESTUCA RUBRA* AGG.)

Evaluation of the growth rate of intensively treated turf in the germplasm collection of red fescue (*Festuca rubra* agg.)

Lošák M.^{1,2}, Raab S.²

¹OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Zubří

²OSEVA PRO s.r.o., o. z. Výzkumná stanice travinářská Rožnov – Zubří

Abstrakt

V letech 2016 až 2017 byl hodnocen průměrný denní přírůstek trávníku v rámci 16 kultivarů kostřavy červené (*Festuca rubra* agg.) z kolekce genetických zdrojů OSEVA PRO s.r.o., Výzkumné stanice travinářské Rožnov – Zubří. Polní pokus byl založen v roce 2014 v Zubří (49°27'57"N, 18°4'51"E, nadmořská výška 345 m, dlouhodobý průměr ročního úhrnu srážek 865 mm, dlouhodobý průměr denní teploty vzduchu 7,5 °C). Porosty byly ošetřovány v intenzivním režimu údržby. Průměrný denní přírůstek všech hodnocených odrůd byl 3,45 mm. Mezi hodnocenými kultivary kostřavy červené byly prokázány statisticky významné rozdíly ($P < 0,05$) v průměrném denním přírůstku trávníku.

Klíčová slova: intenzivní trávník, rychlost růstu, *Festuca rubra*, kostřava červená, genetické zdroje

Abstract

In the years 2016 to 2017 the average daily increment of aboveground biomass of 16 cultivars of red fescue (*Festuca rubra* agg.) from the germplasm collection by OSEVA PRO Ltd. Grassland Research Station Rožnov – Zubří was evaluated. The field experiment (established in 2014) was conducted in Zubří (49°27'57"N, 18°4'51"E, altitude 345 m, annual rainfall 865 mm, annual average temperature 7.5 °C). The swards were treated in the intensive management of turf. The average daily increment of all varieties was 3.45 mm. Statistically significant differences ($P < 0.05$) in the average daily increment between the cultivars of red fescue were proved.

Key words: intensive turf, growth rate, *Festuca rubra*, red fescue, genetic resources

Úvod

Genetické zdroje rostlin představují materiál rostlinného původu ve formě šlechtěných a krajových odrůd, planých druhů a forem, který má současné nebo potenciální využití a zaslouhuje proto ochranu a zachování pro budoucnost. Shromažďování a uchovávání genetických zdrojů má význam pro získání donorů cenných vlastností (Roudná a Dotlačil, 2007).

Kostřava červená (*Festuca rubra* agg.) patří mezi nejvýznamnější trávníkové druhy, protože díky svým vlastnostem je velmi přizpůsobivá různorodým stanovištním podmínkám. V přirozených porostech se s ní můžeme setkat od suchých nížinných luk až po vlhké horské louky a pastviny. Vyznačuje se vytrvalostí, odolností k suchu a zastínění, toleruje nízké pH půdy, má malou náročnost na živiny, ale také na klimatické a půdní podmínky. Bylo také prokázáno, že má vyšší odolnost k zasolení půdy. K nevýhodám patří nižší odolnost k zatěžování trávníku a náchylnost k některým travním chorobám (kornatka travní, rez korunkatá aj.). V poslední době jsou však udávány novější kultivary z USA se zvýšenou odolností k zátěži. Naopak v nezatežovaných a nehnojených porostech je konkurenčně silná až

agresivní a je schopná ostatní druhy vytlačovat. Nevýhodou je také poměrně krátká životnost osiva a s tím související rychlé snižování klíčivosti semen. Morfologicky a cytologicky se rozlišuje na tři formy: kostřavu červenou trsnatou (*F. rubra* ssp. *commutata*), k. č. krátce výběžkatou (*F. trichophylla*) a k. č. dlouze výběžkatou (*F. rubra* ssp. *rubra*). Taxonomická problematika uvedených poddruhů je ovšem poměrně komplikovaná, což je způsobeno i nejednotností mezi zemědělským a botanickým názvoslovím. Trsnaté a krátce výběžkaté odrůdy se využívají především v okrasných a sportovních trávnících (golfová jamkoviště). Dlouze výběžkaté odrůdy nalézají uplatnění v krajinných a užitkových trávnících (Braun a kol., 2020; Hrabě a kol., 2009; Kaplan a kol., 2019; Krahulec, 2019; Ševčíková, 2010).

OSEVA PRO s.r.o., Výzkumná stanice travinářská je v rámci ČR kurátorem genofondové sbírky travin, ve které je kolekce kostřavy červené tvořena v současnosti 238 dostupnými položkami, z toho 37 ekotypů a 201 odrůd. Kolekce je tvořena 84 genotypy trsnaté formy, 45 krátce výběžkatými genotypy a 109 genotypy dlouze výběžkaté formy (GRIN Czech, 2020). Ve Státní odrůdové knize ČR bylo k 15. 6. 2020 zapsáno celkem 68 odrůd, z toho 62 odrůd nebylo určených k využití jako pícnina (trávníkové odrůdy). Všechny získané genetické zdroje pro trávníkové využití jsou hodnoceny v intenzivní variantě polního pokusu, kde jsou hodnoceny specifické znaky. Hodnocení genetických zdrojů trav je nezbytným předpokladem pro jejich praktické využití ve šlechtění a výzkumu.

Cílem práce bylo vyhodnotit průměrné denní přírůstky trávníku 16 českých a zahraničních odrůd kostřavy červené v intenzivně ošetřované variantě polního pokusu během dvou užitkových let (druhý a třetí rok po výsevu). Současně byla zhodnocena roční dynamika rychlosti růstu trávníku z kostřavy červené a celkový roční nárůst trávníku.

Materiál a metody

Maloparcelkový polní pokus byl založen 10. června 2014 v katastru města Zubří a výška trávníku po každé seči byla hodnocena v letech 2016–2017. Vzhledem k omezenému množství osiva genetických zdrojů byl pokus založen ve 2 znáhodněných opakováních s velikostí jednotlivých parcel 1,5 m². Výsev byl proveden ručně s následným zaválením ručním rýhovaným válcem a výsevné množství bylo stanoveno na základě užitné hodnoty osiva. Termíny seči intenzivní varianty trávníkového pokusu probíhaly podle Metodiky práce s kolekcemi genetických zdrojů travin, která je součástí Rámcové metodiky pro práci s genetickými zdroji rostlin (Holubec a kol., 2015). Termíny seči: zjara každý týden, od poloviny června po 10–14 dnech. Termíny seči byly přizpůsobovány aktuálnímu stavu porostů a meteorologickým podmínkám. Celkem bylo v roce 2016 provedeno 15 sečí a v roce 2017 byly porosty posečeny 17x. Pokusy byly hnojeny 4x ročně speciálními trávníkovými hnojivy Floranid Turf (1. termín březen/duben, 2. termín květen/červen) a Floranid NK (1. termín srpen, 2. termín říjen). Celková roční aplikovaná dávka základních živin: N 20,4 g.m⁻², P (ve formě P₂O₅) 3,0 g.m⁻², K (ve formě K₂O) 16,2 g.m⁻², Mg (ve formě MgO) 3,0 g.m⁻². Trávníkové pokusy byly sečeny rotační travní sekačkou na výšku strniště 22 mm, nebo 31 mm (větší výška při zhoršeném stavu porostu v letním období – sucho). Před každou sečí bylo provedeno změření výšky trávníku. Rychlost růstu jednotlivých odrůd pak byla vypočtena jako rozdíl mezi výškou trávníku v další seči a výškou strniště předchozí seče, výsledná hodnota se poté vydělila počtem dnů mezi sečemi. Tímto způsobem bylo hodnocení prováděno podle klasifikátoru pro trávy (Ševčíková, Šrámek, Faberová, 2002). Seznam, původ a růstová forma hodnocených odrůd kostřavy červené jsou uvedeny v tabulce 1. Teplotní a srážkový průběh počasí v letech 2016–2017 je uveden v tabulce 2.

Získané výsledky byly statisticky zhodnoceny základními popisnými statistickými metodami a jednofaktorovou i vícefaktorovou analýzou variance ANOVA v programu STATISTICA CZ 12. Statistická významnost rozdílů středních hodnot u všech porovnávaných skupin byla zhodnocena pomocí Tukeyova HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Tab. 1: Hodnocené odrůdy kostřavy červené

ECN	Odrůda	Původ	Forma
14G1600229	Terka	CZE	krátce výběžkatá
14G1600264	Nikolka	CZE	krátce výběžkatá
14G1600227	Blanka	CZE	dlouze výběžkatá
14G1600257	Severnaya 32	RUS	dlouze výběžkatá
14G1600261	Tokata	CZE	dlouze výběžkatá
14G1600269	Jitka	CZE	dlouze výběžkatá
14G1600157	Barborka	CZE	trsnatá
14G1600256	Tamburina	CZE	trsnatá
14G1600258	Aranka	CZE	trsnatá
14G1600259	Barprince	NLD	trsnatá
14G1600260	Bridgeport II	NLD	trsnatá
14G1600262	Morellino	DNK	trsnatá
14G1600263	Humboldt	DNK	trsnatá
14G1600265	Monika	CZE	trsnatá
14G1600268	Andulka	CZE	trsnatá
14G1600270	Caldris	DNK	trsnatá

ECN: evidenční číslo národní genetického zdroje

Původ: kódy států dle ISO 3166-1 alpha-3

Tab.: 2 Meteorologická charakteristika období 2016–2017 na lokalitě Zubří; srovnání se standardními klimatologickými normály (1961–1990)

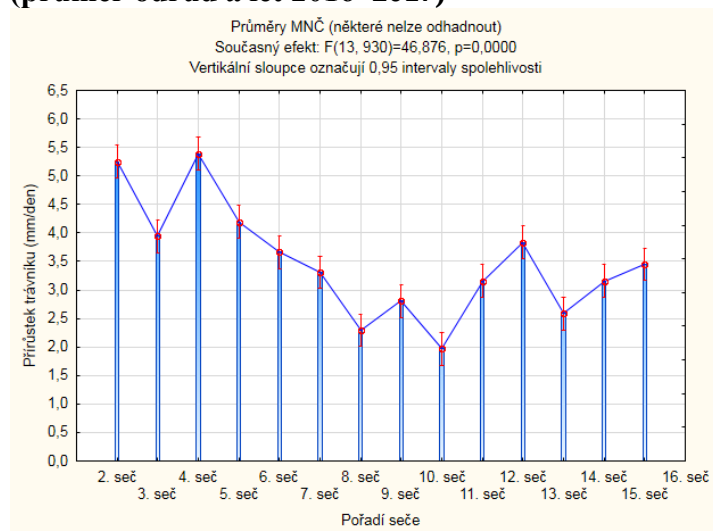
Měsíc	Průměrná teplota vzduchu (°C)			Úhrn srážek (mm)		
	Normál	2016	2017	Normál	2016	2017
Leden	−2,6	−1,7	2,2	46,3	45,7	10,4
Únor	−1,0	4,3	−2,7	48,7	86,8	60,5
Březen	2,5	4,4	1,5	47,9	31,0	46,7
Duben	7,5	9,0	14,1	61,2	78,1	132,6
Květen	12,5	14,2	16,9	92,4	41,2	54,0
Červen	15,3	18,8	18,4	114,7	58,5	72,1
Červenec	16,7	19,8	19,7	113,9	258,7	78,0
Srpen	16,2	17,8	21,3	102,1	74,0	46,7
Září	13,0	16,2	15,4	62,5	58,9	165,0
Říjen	8,4	8,0	10,8	50,3	118,8	89,4
Listopad	3,3	4,5	5,4	66,2	49,9	47,3
Prosinec	−0,9	−0,7	1,2	58,3	31,3	42,7
Rok	7,5	9,2	10,3	864,5	932,7	845,3

Výsledky a diskuze

Přírůstky kostřavy červené v jednotlivých sečích a v průměru obou let a všech odrůd jsou znázorněny v grafu 1. Největší intenzita růstu trávníku kostřavy červené byla v jarním období do 4. seče, což odpovídá době na konci druhé dekády měsíce května. Následovalo snižování intenzity růstu do letního období až do desáté seče (druhá dekáda července). Poté nastává další období intenzivnějšího růstu trávníku od počátku srpna, avšak jarních přírůstků již není dosahováno a během podzimního období dochází ke střídání intenzivnějšího a méně intenzivního růstu. Podobný průběh intenzity růstu kostřavy červené uvádí také John a kol. (2012), podle něhož se jedná o druh s časným a intenzivním jarním růstem, u kterého nastává

do poloviny letního období zpomalení růstu a od pozdního léta dochází opět k intenzivnějšímu růstu, který trvá až do výskytu mrazů.

Graf 1: Dynamika rychlosti růstu trávniku kostřavy červené v jednotlivých sečích (průměr odrůd a let 2016–2017)



Denní přírůstek trávniku v průměru obou hodnocených let a všech odrůd kostřavy červené představoval 3,45 mm. Míka a kol. (2002) ve své práci uvádí u trávnikovůch odrůd kostřavy červené průměrné denní přírůstky v rozmezí 2–7 mm v závislosti na ročním období. V našich pokusech měly trsnaté odrůdy průměrný denní přírůstek 3,20 mm, krátce výběžkaté odrůdy 3,11 mm a dlouze výběžkaté odrůdy 4,24 mm. Dlouze výběžkaté odrůdy se svým denním přírůstkem statisticky průkazně ($P < 0,05$) odlišovaly od trsnatých a krátce výběžkatých odrůd. Výraznější denní přírůstky trávniku byly v roce 2016 (4,53 mm) než v roce 2017 (2,50 mm). K tomuto meziročnímu rozdílu přispěl především silně nadnormální úhrn srážek v měsíci červenci 2016 (259 mm) a následný intenzivní růst trávniku v druhé polovině července a v srpnu stejného roku. Na tyto nadnormální srážky intenzitou přírůstků trávniku nejvíce reagovaly krátce výběžkaté odrůdy, které měly v roce 2016 průměrné denní přírůstky o 96 % větší než v roce 2017. Následovaly trsnaté odrůdy (84 %) a nejmenší meziroční rozdíl byl u dlouze výběžkatých odrůd (72 %).

Všechny hodnocené odrůdy kostřavy červené je podle denních přírůstků možné rozdělit na tři skupiny (Tab. 3). První skupina s průměrným denním přírůstkem nižším než 3 mm byla tvořena odrůdami Morellino, Humboldt, Monika a Caldrie. Ve všech případech se jedná o trsnatou formu kostřavy červené, převažují odrůdy dánského původu a jedna odrůda pochází z ČR. Druhá skupina, tvořená největším počtem odrůd, dosahovala průměrných denních přírůstků trávniku od 3 do 4 mm. Jednalo se o trsnaté odrůdy Barborka, Andulka, Aranka, Barprince, Bridgeport II, dlouze výběžkaté odrůdy Jitka, Tokata a krátce výběžkaté odrůdy Nikolka a Terka. V této skupině převažovaly odrůdy českého šlechtění, které byly doplněny o dvě trsnaté odrůdy původem z Nizozemska. V poslední skupině s průměrným denním přírůstkem nad 4 mm byly české odrůdy Blanka, Tamburina a ruská odrůda Severnaya 32. Relativní rozdíl v denním přírůstku mezi odrůdami s nejnižším a nejvyšším přírůstkem Morellino a Severnaya 32 byl 91 %. V roce 2017 byl při hodnocení průměrného denního přírůstku trávniku zjištěn celkem 28x přírůstek nižší než 1 mm, a to u trsnatých odrůd Andulka, Aranka, Barprince, Caldrie, Humboldt, Monika, Morellino; krátce výběžkaté odrůdy Nikolka, Terka a dlouze výběžkaté odrůdy Jitka. Jednalo se zejména o období mezi 8 a 11 sečí, tj. od června do července. Toto období bylo charakteristické nižšími srážkami a vyššími teplotami vzduchu ve srovnání s teplotními a srážkovými normály. Naopak největší přírůstky překonávající 9 mm za den byly

zjišťovány v několika termínech roku 2016 u odrůd Severnaya 32 (5x), Tokata (3x), Tamburina (3x) a Blanka (2x). Absolutně nejvyšší průměrný denní přírůstek činil 14 mm a byl zjištěn mezi první a druhou sečí v jarním období roku 2016 u odrůdy Tamburina.

Tab. 3: Denní přírůstek trávníku u odrůd kostřavy červené (průměr let 2016–2017)

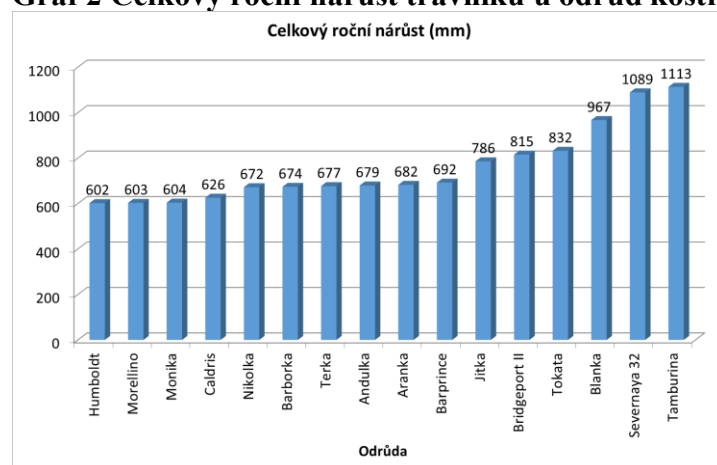
Odrůda	Přírůstek trávníku (mm/den)	Statistická průkaznost*	Odrůda	Přírůstek trávníku (mm/den)	Statistická průkaznost*
Morellino	2,68	a	Terka	3,13	ab
Humboldt	2,70	a	Barprince	3,17	ab
Monika	2,71	a	Jitka	3,57	abc
Caldris	2,77	a	Bridgeport II	3,77	bc
Barborka	3,00	ab	Tokata	3,83	bc
Andulka	3,03	ab	Blanka	4,44	cd
Nikolka	3,08	ab	Tamburina	5,03	d
Aranka	3,12	ab	Severnaya 32	5,11	d

* Tukey HSD test ($P < 0,05$)

Porovnání celkového ročního nárůstu trávníku včetně nárůstu do první seče mezi hodnocenými odrůdami kostřavy červené v průměru let 2016 a 2017 je znázorněn v grafu 2. Celkový roční nárůst se v závislosti na odrůdě pohyboval od 602 do 1113 mm. Krátce výběžkaté odrůdy dosahovaly nejnižšího ročního nárůstu (679 mm), trsnaté odrůdy měly celkový roční nárůst 706 mm a dlouze výběžkaté odrůdy 925 mm.

Pro celkové zhodnocení a porovnání rychlosti růstu a dalších znaků a vlastností jednotlivých odrůd by bylo účelné rovněž výzkumné ověření zkoušených genotypů z hlediska osídlení endofytními houbami, které podle Koukola a Haňáčkové (2017) významně ovlivňuje fitness rostlin. Podle Gundela a kol. (2011) jsou rostliny kostřavy červené v různých přírodních stanovištích Evropy běžně infikovány houbovým endofytem *Epichloë festucae*, který ovlivňuje klíčivost a životnost semen. Jak uvádí Wäli a kol. (2009), míra účinku infekce endofytem na hostitele je závislá na travním druhu, genetickém pozadí hostitele i na stanovišti mateřských rostlin.

Graf 2 Celkový roční nárůst trávníku u odrůd kostřavy červené (průměr let 2016–2017)



Závěr

V souboru námi testovaných odrůd kostřavy červené byly nalezeny genotypy s intenzivnějším i méně intenzivním růstem. Pomalejší růst je při praktickém využití v trávníkářství častěji žádán z důvodu snížení nákladů na údržbu trávníků – snížení počtu potřebných sečí a v případě

odvozu posečené hmoty úspora nákladů za manipulaci a likvidaci posečené travní hmoty. Intenzivněji rostoucí odrůdy naproti tomu umožňují rychlejší regeneraci trávníku, který je poškozen působením abiotických či biotických stresů a tím umožňují zlepšení estetického vzhledu trávníku a kvality travního drnu. Dlouze výběžkaté odrůdy kostřavy červené, které v našem výzkumu dosahovaly největších denních přírůstků trávníku, se vyznačují specifickými vlastnostmi, pro které jsou do určitých trávníkových směsí hojně využívány (např. komunikační, sadové, krajinné trávníky). Jedná se především o schopnost zaplňovat prázdná místa v porostech a dobrou odolnost vůči zimnímu vymrzání. Její předností je také nízká cena osiva, neboť se jedná o druh s dobrou semenářskou produktivitou.

Použitá literatura

- Hrabě F. a kol., 2009: Trávníky pro zahradu, krajinu a sport. Olomouc: Vydavatelství Petr Baštan. s. 76–78. ISBN 978-80-87091-07-4.
- Braun R., Patton A., Watkins E., Koch P., Anderson N., Bonos S., Brilman L., 2020: Fine fescues: A review of the species, their improvement, production, establishment, and management. *Crop Science*, 60 (128): 1142–1187.
- GRIN Czech Release 1.10.3 [online databáze]. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby [cit. 2020-10-19]. URL: <https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/search.aspx>.
- Holubec V. a kol., 2015: Rámcová metodika Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity. Praha: VÚRV. s. 280–295.
- John S., Tilley L. D., Hunt P., Wright S., 2012: Plant Guide for Red Fescue (*Festuca rubra*) [online]. Aberdeen, Idaho, USA: USDA-Natural Resources Conservation Service, Plant Materials Center [cit. 2020-09-22]. URL: https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_feru2.pdf.
- Kaplan Z. a kol., 2019: Klíč ke květeně České republiky. Praha: Academia, s. 315–316. ISBN 978-80-200-2660-6.
- Koukol O., Haňáčková Z., 2017: Endofyty – všudypřítomní kolonizátoři rostlinných pletiv. *Živa: Časopis pro biologickou práci* [online]. 65 (5): 227–231 [cit. 2020-09-22]. URL: <http://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/endofyty-vsudypritomni-kolonizatori-rostlinnych-pl.pdf>.
- Krahulec F., 2019: Kostřava červená (*Festuca rubra*) a její taxonomická problematika. *Pícninářské listy*, 25: 68–70. ISBN 978-80-87091-84-5.
- Míka V., 2002: Morfogeneze trav. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby, 200 s. ISBN 80-86555-20-8.
- Gundel P., Zabalgogezcoa I., Vazquez A. B., 2012: Interaction between plant genotype and the symbiosis with *Epichloë* fungal endophytes in seeds of red fescue (*Festuca rubra*). *Crop and Pasture Science*, 62 (11): 1010–1016.
- Ševčíková M., Šrámek P., Faberová I., 2002: Klasifikátor. Trávy (*Poaceae*). Praha: VÚRV, 34 s.
- Ševčíková M., 2010: Pěstované rody a druhy trav. In: Cagaš B. Trávy pěstované na semeno. Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, s. 42–44. ISBN 978-80-87091-11-1.
- Wäli P., Helander M., Saloniemi I., Ahlholm J., Saikkonen K., 2008: Variable effects of endophytic fungus on seedling establishment of fine fescues. *Oecologia*, 159: 49–57.

Dedikace

Práce vznikla za podpory Ministerstva zemědělství v rámci řešení Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agro-biodiversity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.6 a institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace MZE-RO1820.

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Lošák
OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.
Hamerská 698, 756 54 Zubří
losak@oseva.cz

vyhodnocení heterogenity pozemků z výnosových map a dálkového průzkumu

Identification of within field heterogeneity from crop yield maps and remote sensing

Lukas V., Širůček P., Mezera J. Elbl J., Vlček V.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Cílem této studie bylo z výsledků mapování výnosů vyhodnotit nevyrovnanost pozemků a zjistit možnosti jejího stanovení pomocí dat dálkového průzkumu Země (DPZ). Hodnocení bylo provedeno na dvou pozemcích společnosti Rostěnice a.s. o výměře celkem 139 ha. Výnosové mapy byly získány zpracováním záznamů získaných při sklizni zrnin (řepka ozimá, ječmen ozimý, ječmen jarní) v letech 2017 – 2019. Záznamy ze sklízecí techniky byly doplněny o mapové vrstvy digitálního reliéfu terénu (DMR4G) a vegetační indexy NDVI, EVI a NDMI z multispektrálních družicových snímků Sentinel-2. Oba pozemky vykázaly obdobnou nevyrovnanost výnosových záznamů, výnos zrna se v relativním vyjádření pro oba pozemky pohyboval v rozpětí od 32 do 168 %. Ačkoli vizuální porovnání výnosových map a vegetačních indexů vykazuje obdobné prostorové členění, korelační analýza prokázala dosažení pouze střední úrovně korelace, a to zejména u ročníku 2018.

Klíčová slova: precizní zemědělství, mapování výnosů, družicové snímkování, vegetační indexy, prostorová variabilita

Abstract

The aim of this study was to evaluate spatial variability of the arable crop yields and its estimation by remote sensing. The study was realized with two fields of Rostenice a.s. farm enterprise with the total area of 139 ha. In 2017 – 2019 crop yield maps of oilseed rape, spring and winter barley were acquired from combined harvesters. These map layers were extended by digital elevation model DMR4G and vegetation indices NDVI, EVI and NDMI from multispectral satellite imagery of Sentinel-2. Both experimental fields showed similar heterogeneity of crop yield, which ranged from 32 to 168 %. Although visual comparison of crop yield maps and vegetation indices showed coincidence in spatial patterns, correlation analysis have proved only middle level of relationship, mostly for year 2018.

Key words:

Precision agriculture, yield mapping, satellite imaging, vegetation indices, spatial variability

Úvod

Vývoj sklízecí techniky v současnosti nabízí možnost celoplošného monitorování výnosu sklizené plodiny. Výsledkem jsou výnosové mapy, mohou být významným zdrojem pro popis plošné variability pozemků v precizním zemědělství (Frogbrook a kol., 2002). Výnosové záznamy ze sklízecí techniky obsahují často nepřesné údaje souvisejících s pojezdem sklízecí mlátičky po pozemku. Podrobný popis jejich zpracování uvádí celá řada zahraničních studií (Leroux a kol., 2018; Ping a Dobermann, 2005; Sudduth a Drummond, 2007; Vega a kol., 2019). Mezera a kol. (2018) ukazují na úskalí tvorby výnosových map jak z hlediska kombinace datových vstupů ze dvou sklízecích mlátiček, tak použití vhodné interpolační metody pro získání spolehlivé rastrové mapy. Postup kombinace historicky dostupných záznamů ze sklízecí techniky pro získání přehledu o rozložení výnosových úrovní na daném území popisují Lukas

a kol. (2011). Hodnota výnosové úrovně vyjadřuje procentuální porovnání výnosu na daném místě s průměrným výnosem ve sledovaném roce za celý pozemek.

V případě absence výnosových záznamů lze rozložení výnosových hladin identifikovat dle nevyrovnanosti porostů stanovenou dálkovým průzkumem průzkumu Země (DPZ) nebo kombinací map výnos určujících půdních vlastností (Fleming a kol., 2000). Na rozdíl od výnosových záznamů data z DPZ nenesou informaci o dosaženém výnose, ale identifikují rozdíly v rozložení relativního výnosu na základě hodnocení stavu vegetace spektrálním měřením – vegetačními indexy. Hodnocení vazby mezi daty DPZ a dosahovanými výnosy je předmětem celé řady vědeckých studií (Diker a kol., 2004; Quarmby a kol., 1993; Thenkabail, 2003; Wall a kol., 2008). Celoplošné pokrytí zájmového území daty DPZ umožňuje sledování variability výnosů v rámci jednotlivých pozemků a určit tak základní faktory, které ji ovlivňují. Cílem této studie bylo vyhodnotit výsledky mapování výnosů ze záznamů pořízených při sklizni zrnin a porovnat je s daty družicového DPZ.

Materiál a Metody

Hodnocení bylo provedeno z výsledků mapování dvou pozemků o výměře 78 ha (Příhon) a 41 ha (Sadkov) obhospodařovaných zemědělskou společností Rostěnice a.s. (k.ú. Bošovice, Slavkov u Brna) v průběhu let 2017 až 2019. Lokalita náleží do klimatické oblasti T2 (teplá, mírně suchá) s průměrnou roční teplotou vzduchu 8–9°C a průměrem ročních srážek 500–600 mm. Dle podrobného pedologického průzkumu, provedeného v rámci výzkumného projektu NAZV QK1810233, převládá na obou pozemcích černozem karbonátová antropická a akumulovaná, s nižším zastoupením také regozem karbonátová (Pospíšilová a kol., 2019). Erozně ohrožená půda se vyskytuje na necelé polovině území obou pozemků (54 ha MEO, 4 ha SEO, zdroj LPIS). V roce 2017 byla na obou pozemcích pěstována řepka ozimá, v roce 2018 ječmen jarní a v roce 2019 ječmen ozimý (Příhon) a ječmen jarní (Sadkov).

Výnosové záznamy

Výnosové mapy byly získány ze záznamů sklízecích mlátiček při sklizni zrnin v letech 2017 - 2019. Záznamy jsou pořizovány každou vteřinu a kromě údaje o průtoku zrna obsahují řadu dalších atributových údajů, jako jsou vlhkost zrna, směr jízdy, indikace zvednutí žací lišty, rychlost pojezdu, počet družic GNSS, apod. Chybové záznamy vzniklé např. při otáčení na souvratích, najíždění do porostu, nedodržování plného záběru žací lišty, byly odstraněny při zpracování v GIS, včetně spojení záznamů při sklizni dvou sklízecích mlátiček na jednom pozemku a normalizace hodnot pokud se rozchází kalibrace výnosoměrných čidel na obou mlátičkách. Výsledkem bylo získání spolehlivých bodových záznamů a po provedení prostorových interpolací (Empirical Bayesian Kriging) byla konečným produktem rastrová vrstva hodnot výnosu zrna s prostorovým rozlišením 5 m na pixel. Absolutní hodnoty výnosu jsou následně přepočítány na relativní výnos v rámci každého pozemku, což umožňuje porovnání dosažené produktivity ploch bez ohledu na pěstovanou plodinu a rozpětí dosahovaného výnosu.

Dálkový průzkum a reliéf terénu

Výnosové záznamy byly doplněny o mapové vrstvy digitálního reliéfu terénu (DMR4G) a vegetační indexy z multispektrálních družicových snímků Sentinel-2. Termíny pořízení snímků jsou uvedeny v Tab. 2. Hodnoty DMR4G představují nadmořskou výšku zemského povrchu odvozeného z leteckého laserového skenování ČR (Brázdil, 2010). V rámci studie byly využity pro dokumentaci vztahu mezi výnosovými úrovněmi a orografickými charakteristikami terénu. Pro ilustraci nevyrovnanosti porostů byly využity multispektrální snímky Sentinel-2 z období před dozráváním porostu obilnin (červen), které v každém sledovaném roce obsahovaly co nejnižší zastoupení oblačnosti. Sentinel-2 pořizuje záznam odrazivosti zemského povrchu

v prostorovém rozlišení 10 m na pixel a frekvencí pořizování dat na daném území 3 - 4 dny. Z těchto snímků byly vypočteny tři vybrané vegetační indexy (EVI, NDMI, a NDVI) a vypočteny hodnoty korelačních koeficientů s výnosovými záznamy.

Vymezení produkčních zón z družicových dat

Produkční zóny představují procentuální vyjádření dosažené produktivity (vegetační index, výnos) na daném místě vůči průměrné hodnotě za celý pozemek; vždy jednotlivě pro každé sledované vegetační období s následným zprůměrováním za celou časovou řadu dat. Výsledkem je identifikace výnosově podprůměrných nebo nadprůměrných oblastí na pozemcích včetně vyjádření stability dosahované produkce napříč sledovanými ročníky. Stanovení vychází z analýzy 8-leté řady vegetačních indexů vypočtených z multispektrálních družicových dat (Lukas a kol., 2018). Jedná se o alternativu pro případy absence dat z mapování výnosů při sklizni plodin, ať z důvodu nedostupnosti dostatečného technického vybavení sklízecích mlátiček, anebo pro plodiny, jejichž měření výnosu při sklizni není rozšířeno (silážní kukuřice, píce, okopaniny a další skupiny plodin).

Zpracování výsledků bylo provedeno v SW ESRI ArcGIS vyčtením hodnot všech mapových vrstev (výnosové mapy, družicová data, reliéf terénu) do jednotné 10 m pravidelné sítě, která odpovídá rastru Sentinel-2. Pro statistické hodnocení byl využit SW Tibco Statistica.

Výsledky a diskuze

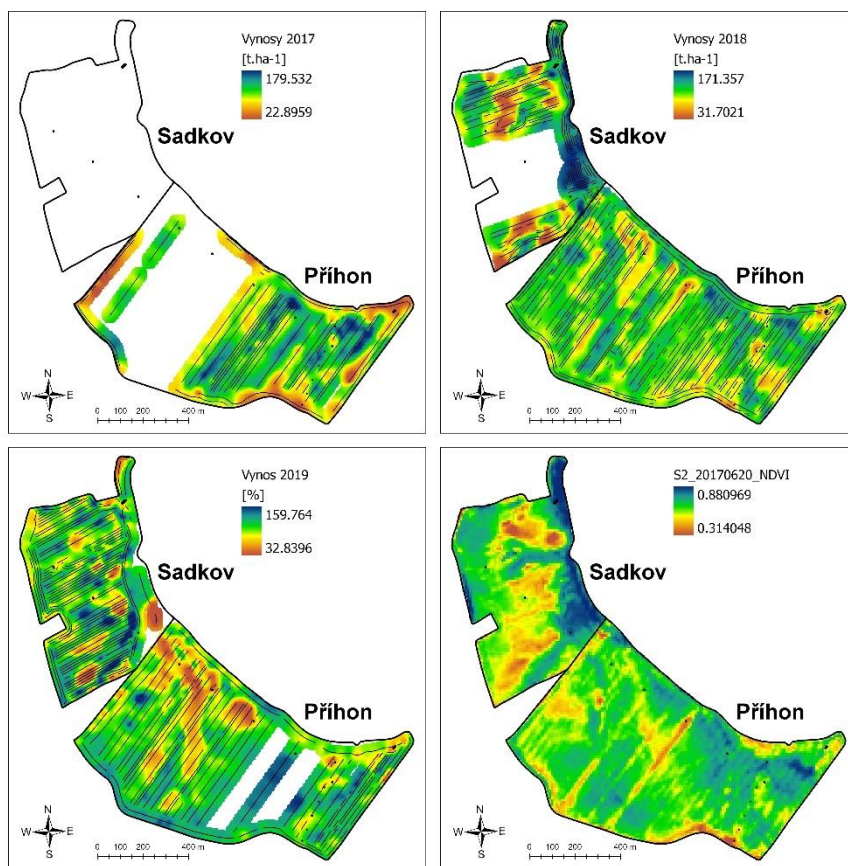
Základní popisné statistické údaje k výnosovým záznamům pořízených při sklizni jsou pro oba sledované pozemky uvedeny v Tab. 1 - v absolutních hodnotách výnosu zrna a také v relativním vyjádření ve vztahu k průměrné hodnotě za celý pozemek. Ačkoli maximální hodnoty výnosu zrna byly i s ohledem na sklizené plodiny na rozdílné úrovni, oba pozemky vykázaly obdobnou nevyrovnanost výnosových záznamů hodnocenou variačním koeficientem, který se pohyboval v rozpětí 14 – 27 %. Rozsah hodnot výnosu byl mezi sledovanými roky obdobný pro každý pozemek, na pozemku Příhon kolísal od 43 do 146 % (mimo neúplné záznamy 2017), na pozemku Sadkov od 32 do 168 %. Většina hodnot se ale pohybovala v intervalu 80 – 120 % (viz histogramy na Obr.2).

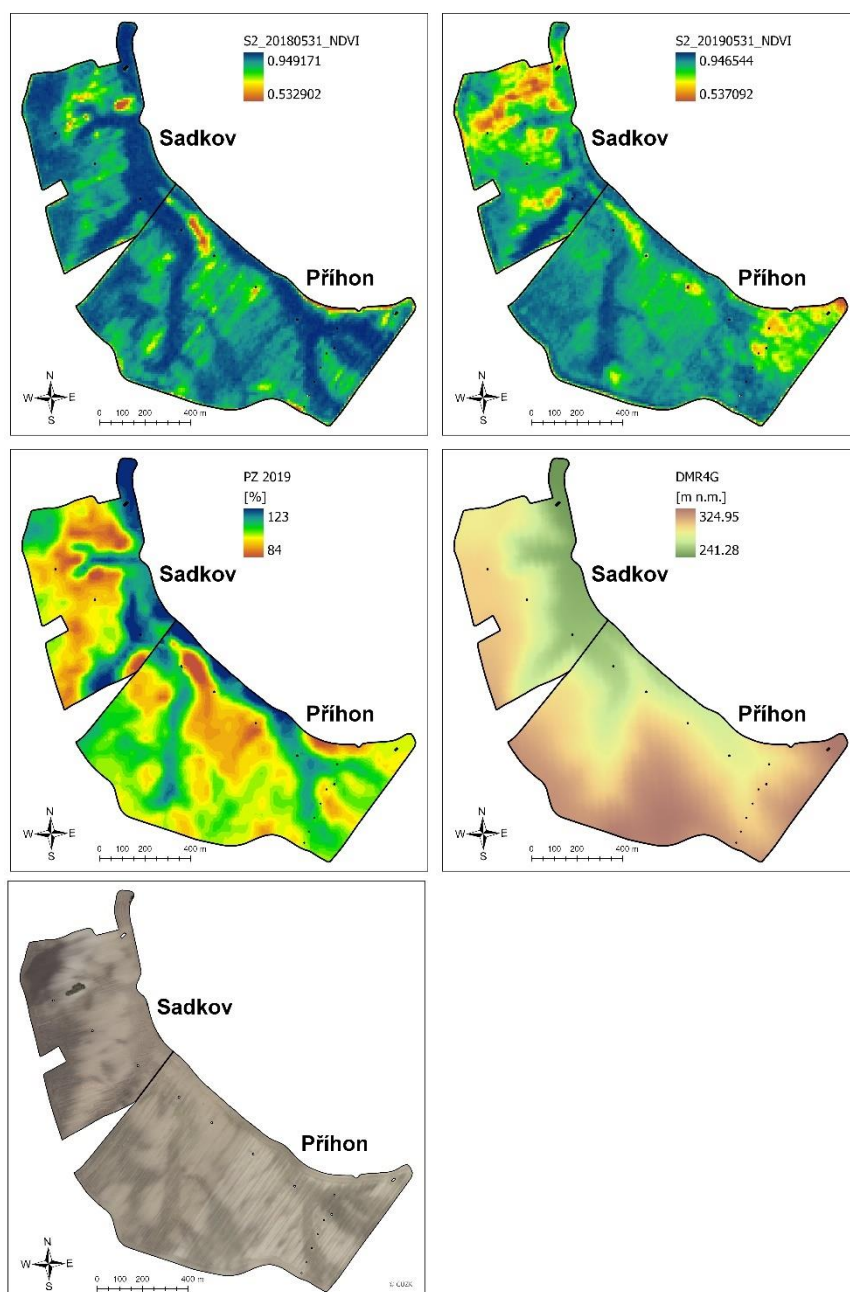
Tab. 1: Základní statistické údaje výnosových záznamů pro pozemek Sadkov (nahore) a Příhon (dole)

	DMR4G [m n.m.]	Výnos 2017 [t.ha-1]	Výnos 2017 [%]	Výnos 2018 [t.ha-1]	Výnos 2018 [%]	Výnos 2019 [t.ha-1]	Výnos 2019 [%]
Pozemek "Sadkov"							
Stř. hodnota	273.69			4.81	99.52	2.99	100.14
Medián	275.53			4.91	101.67	3.02	101.35
Směr. odchylka	16.66			1.31	27.03	0.57	18.75
Špičatost	-1.29			-0.62	-0.62	0.64	0.51
Šikmost	-0.17			-0.28	-0.28	-0.33	-0.41
Minimum	241.74			1.57	32.40	0.98	32.84
Maximum	305.64			8.12	168.07	5.00	158.27
CV	6.09			27.16	27.16	18.95	18.72
Počet	4147			2790	2790	4015	4015

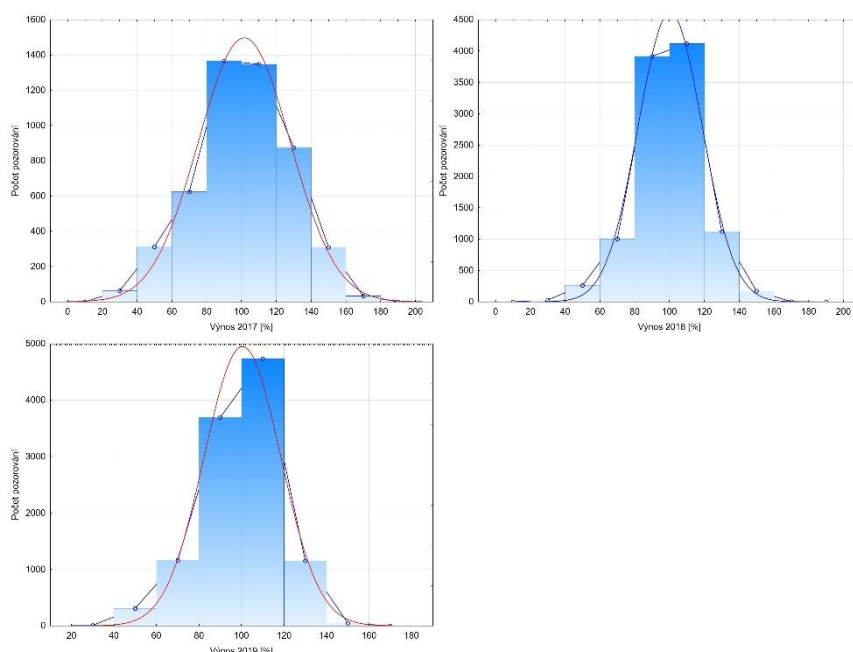
Pozemek "Příhon"	DMR4G [m n.m.]	Výnos 2017 [t.ha-1]	Výnos 2017 [%]	Výnos 2018 [t.ha-1]	Výnos 2018 [%]	Výnos 2019 [t.ha-1]	Výnos 2019 [%]
Stř. hodnota	293.38	2.90	101.03	4.96	99.93	5.28	99.90
Medián	295.33	2.92	101.39	4.97	100.16	5.37	101.74
Směr. odch.	16.18	0.76	26.28	0.70	14.08	0.92	17.41
Špičatost	-0.66	-0.20	-0.19	-0.14	-0.13	0.12	0.12
Šikmost	-0.44	-0.15	-0.15	-0.06	-0.06	-0.54	-0.54
Minimum	253.21	0.63	23.10	2.61	52.70	2.30	43.50
Maximum	324.71	5.00	178.96	7.06	143.20	7.76	146.94
CV	5.52	26.02	26.01	14.08	14.08	17.43	17.42
Počet	7843	4930	4930	7829	7829	7093	7093

Výrazná heterogenita je patrná již ze samotných výnosových map znázorněných s procentuálním vyjádřením na Obr. 1. Z map lze vyčíst obdobné prostorové členění pozemků, které umožňuje prostorově identifikovat výnosové slabá a silná místa. Plochy nadprůměrně dosahovaného výnosu korespondují se snížením nadmořské výšky (údolnice a terénním deprese) a odpovídá to významnému vlivu odtokových poměrů, zejména v podmínkách posledních srážkově podprůměrných ročníků. Obdobné členění vykazují za sledované roky také NDVI snímky z družicových snímků.





Obr. 1: Mapové znázornění záznamů o výnose pořízených při sklizni zrnin (nahore, body znázorňují jednotlivé záznamy), vegetačních indexů ze Sentinel-2 (uprostřed) a produkčních zón (PZ) spolu s reliéfem terénu DMR4G a ortofoto z veřejně dostupných zdrojů (dole)



Obr. 2: Histogramy rozložení výnosových záznamů pro oba sledované pozemky

Následné porovnání jednotlivých mapových vrstev korelační analýzou (Tab. 2) ukazuje ale na dosažení pouze střední úrovně korelace výnosových map a reliéfu terénu (Sadkov $r = -0,406$; Příhon $r = -0,387$). Negativní směr korelace svědčí o snížení hodnot výnosu na místech s vyšší nadmořskou výškou. Jedná se zejména o místa s dlouholetým smyvem svrchní části ornice vodní erozí a následnou akumulací v odtokových plochách, což také potvrzují výsledky pedologického průzkumu na dané lokalitě (Pospíšilová a kol., 2019). Vliv topografických faktorů na plošnou variabilitu výnosů zemědělských plodin potvrzuje ve své studii Kumhálová a kol. (2014), obzvláště na pozemcích, kde je rozdílná distribuce půdní vláh.

Při hodnocení vztahu mezi výnosovými mapami a vegetačními indexy z družicových dat prokázala korelační analýza střední úroveň korelace u hodnot výnosu zrna zaznamenaných v roce 2018 a to zejména u vegetačního indexu EVI (Příhon) a NDVI (Sadkov). Zvýšenou citlivost EVI indexů na změny porostních parametrů potvrzují např. (Bolton a Friedl, 2013). Podobně také u fragmentu záznamů z roku 2017, kde však nejvyšších hodnot dosáhl vlhkostní index NDMI. Vztah mezi vegetačními indexy a výnosy dokumentuje řada odborných studií, zejména v návaznosti na detekci množství nadzemní biomasy, která se následně odráží také na úrovni dosahovaného výnosu (Kren a kol., 2014; Rose a kol., 2017).

Ačkoli vizuální porovnání výnosových map a vegetačních indexů z družicových snímků na Obr. 1 vykazuje obdobné prostorové členění, výnosové záznamy z roku 2019 byly převážně bez statistické průkaznosti (Sadkov) nebo dosahovaly velmi nízkých hodnot (Příhon). Ostatně korelace nebyla dosažena ani mezi výnosovými záznamy 2018 a 2019 i přes zjevnou shodu výnosové úrovně některých dílčích ploch, např. oblast nízkých výnosů od severní části pozemku Příhon po jeho střed. Lze se domnívat, že vysoký počet záznamů ($n > 4000$) maskuje shodu těchto dílčích ploch a nevykazuje je v rámci celkové úrovně korelace.

Tab. 2: Výsledky korelační analýzy výnosových záznamů

	Pozemek Sadkov			Pozemek Příhon			
	Výnos 2018 [t.ha-1]	Výnos 2019 [t.ha-1]	PZ 2019	Výnos 2017 [t.ha-1]	Výnos 2018 [t.ha-1]	Výnos 2019 [t.ha-1]	YP 2019
Výnos 2018 [t.ha-1]	1.000	0.070	0.481	0.279	1.000	0.023	0.472
Výnos 2019 [t.ha-1]	0.070	1.000	-0.091	0.171	0.023	1.000	-0.006
PZ 2019	0.481	-0.091	1.000	0.112	0.472	-0.006	1.000
DMR4G [m n.m.]	-0.406	0.047	-0.645	-0.099	-0.311	0.325	-0.387
S2_20170620_NDMI	0.642	-0.007	0.707	0.520	0.322	0.137	0.255
S2_20170620_NDVI	0.593	-0.028	0.723	0.424	0.460	0.085	0.468
S2_20170620_EVI	0.610	-0.016	0.771	0.432	0.414	0.092	0.411
S2_20180531_NDVI	0.533	0.026	0.631	0.329	0.473	0.044	0.497
S2_20180531_NDMI	0.514	0.036	0.633	0.387	0.477	0.008	0.470
S2_20180531_EVI	0.525	0.010	0.807	0.241	0.594	-0.119	0.705
S2_20190531_NDMI	0.385	0.096	0.600	0.257	0.141	0.287	0.311
S2_20190531_NDVI	0.295	0.031	0.540	-0.003	0.090	0.245	0.266
S2_20190531_EVI	0.375	0.019	0.746	0.000	0.266	-0.053	0.563

*Červeně jsou označeny statisticky průkazné hodnoty korelačních koeficientů na hladině 95 % pravděpodobnosti

Vyšší hodnoty korelace mezi mapou produkčních zón a vegetačními indexy odpovídají zdrojovým datům pro výpočet této mapy, snímky indexu EVI z družice Landsat 8 a Sentinel-2 za osmileté časové období. Tímto je také ovlivněn vztah mezi produkčními zónami a výnosovými mapami - střední úroveň korelace byla dosažena na obou pozemcích pouze s daty z roku 2018.

Závěr

I přes značnou náročnost na zpracování a filtraci chybových záznamů představují výnosové mapy podstatný zdroj informací o prostorové nevyrovnanosti výnosů plodin. Výsledky této studie ukazují na značné rozpětí hodnot dosaženého výnosu, které se u obou sledovaných pozemků pohybovalo od 32 do 168 %. Významným faktorem ovlivňující výnos plodin je reliéf terénu a s tím spojené změny půdního prostředí. Ačkoli prostorové rozložení výnosů plodin a vegetačních indexů vykazuje vizuálně výraznou shodu, výsledky korelační analýzy prokázaly dosažení střední úrovně korelace pouze u záznamů z roku 2018. Zachycení střednědobých trendů prostorového členění výnosových hladin za více ročníků z družicových dat v podobě vymezení produkčních zón umožňuje využít tyto informace jako podklad pro rozhodování při cílené agrotechnice polních plodin v precizním zemědělství.

Použitá literatura

- Bolton, D. K., Friedl, M. A. Forecasting crop yield using remotely sensed vegetation indices and crop phenology metrics. *Agricultural and Forest Meteorology*. 2013, vol. 173, no. 0, pp. 74-84. 5/15/. ISSN 0168-1923
- Brázdil, K., Bělka, L., Dušánek, P., Fiala, R., Gamrát, J., Kafka, O., Peichl, J., Šíma, J. *Technická zpráva k digitálnímu modelu reliéfu 4. generace (DMR 4G)*, Pardubice, 2010.
- Diker, K., Heermann, D. F., Brodahl, M. K. Frequency analysis of yield for delineating yield response zones. *Precision Agriculture*. 2004, vol. 5, no. 5, pp. 435-444. ISSN 13852256 (ISSN)
- Fleming, K. L., Westfall, D. G., Wiens, D. W., Brodahl, M. C. Evaluating farmer defined management zone maps for variable rate fertilizer application. *Precision Agriculture*. 2000, vol. 2, no. 2, pp. 201-215. ISSN 13852256

- Frogbrook, Z. L., Oliver, M. A., Salahi, M., Ellis, R. H. Exploring the spatial relations between cereal yield and soil chemical properties and the implications for sampling. *Soil Use and Management*. 2002, vol. 18, no. 1, pp. 1-9. ISSN 02660032
- Kren, J., Klem, K., Svobodova, I., Misa, P., Neudert, L. Yield and grain quality of spring barley as affected by biomass formation at early growth stages. *Plant Soil and Environment*. 2014, vol. 60, no. 5, pp. 221-227. May. ISSN 1214-1178
- Kumhálová, J., Zemek, F., Novák, P., Brovkina, O., Mayerová, M. Use of landsat images for yield evaluation within a small plot. *Plant, Soil and Environment*. 2014, vol. 60, no. 11, pp. 501-506. ISSN 12141178 (ISSN)
- Leroux, C., Jones, H., Clenet, A., Dreux, B., Becu, M., Tisseyre, B. A general method to filter out defective spatial observations from yield mapping datasets. *Precision Agriculture*. 2018, vol. 19, no. 5, pp. 789-808. October 01. ISSN 1573-1618
- Lukas, V., Neudert, L., Duffková, R., Fučík, P., Mezera, J. *Mapa výnosového potenciálu pro Zemědělské družstvo Kojčice* Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2018, 40 s. ISBN 978-80-7509-631-9
- Lukas, V., Ryant, P., Neudert, L., Dryšlová, T., Gnyp, P., Smutný, V. *Tvorba aplikačních map pro základní hnojení plodin v precizním zemědělství*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2011, 36 s. ISBN 978-80-7375-561-4
- Mezera, J., Lukas, V., Elbl, J., Smutný, V. Spatial analysis of crop yields maps in precision agriculture. In Cerkal, R. a kol. *MendelNet 2018: Proceedings of 25th International PhD Students Conference*, Brno: Mendel University in Brno, 2018, p. 60-65. ISBN 978-80-7509-597-8
- Ping, J. L., Dobermann, A. Processing of yield map data. *Precision Agriculture*. 2005, vol. 6, no. 2, pp. 193-212. ISSN 13852256
- Pospíšilová, L., Vlček, V., Lukas, V., Šarapatka, B., Netopil, P., Bednář, M., Černohorský, J., Badalíková, B., Vašínska, M. *Pedogeochemická charakteristika lokalit Bošovice, Hrušky a Zástřizly*. Mendelova univerzita v Brně, 2019, 69 s. ISBN 978-80-7509-674-6
- Quarmby, N. A., Milnes, M., Hindle, T. L., Silleos, N. Use of multi-temporal NDVI measurements from AVHRR data for crop yield estimation and prediction. *International Journal of Remote Sensing*. 1993, vol. 14, no. 2, pp. 199-210. ISSN 01431161 (ISSN)
- Rose, T., Nagler, S., Kage, H. Yield formation of Central-European winter wheat cultivars on a large scale perspective. *European Journal of Agronomy*. 2017, vol. 86, pp. 93-102. 5//. ISSN 1161-0301
- Sudduth, K. A., Drummond, S. T. Yield Editor: Software for Removing Errors from Crop Yield Maps. *Agron J*. 2007, vol. 99, no. 6, pp. 1471-1482. October 15, 2007
- Thenkabail, P. S. Biophysical and yield information for precision farming from near-real-time and historical Landsat TM images. *International Journal of Remote Sensing*. 2003, vol. 24, no. 14, pp. 2879-2904. ISSN 01431161 (ISSN)
- Vega, A., Córdoba, M., Castro-Franco, M., Balzarini, M. Protocol for automating error removal from yield maps. *Precision Agriculture*. 2019. ISSN 1385-2256
- Wall, L., Larocque, D., Léger, P. M. The early explanatory power of NDVI in crop yield modelling. *International Journal of Remote Sensing*. 2008, vol. 29, no. 8, pp. 2211-2225. ISSN 01431161 (ISSN)

Dedikace

Příspěvek je součástí řešení projektu NAZV QK1810233 „Kvantifikace dopadu hospodaření na erozi, kvalitu půd a výnosy pěstovaných plodin s návrhem pěstebních technologií šetrných k životnímu prostředí“

Kontaktní adresa:

Ing. Vojtěch Lukas, Ph.D.,
Ústav agrosystémů a bioklimatologie,
Mendelova univerzita v Brně,
Zemědělská 1, 613 00 Brno,
e-mail: vojtech.lukas@mendelu.cz

STANOVENÍ STABILITY PŮDNÍCH AGREGÁTŮ POMOCÍ OPTICKÉ DETEKCE JEJICH ROZPADU VE VODĚ

Determination of soil aggregate stability by optical detection of aggregates destruction in water

Madaras M.¹, Czako A.¹, Mayerová M.¹, Stehlík M.¹, Procházka J.²

¹Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i. Praha

²Výzkumný ústav zemědělské techniky, v. v. i. Praha

Abstrakt

Odolnost půdních agregátů vůči jejich rozpadu působením vody je důležitým aspektem fyzikální kvality půdy. Jedním z jednoduchých způsobů stanovení stability půdních agregátů je sledování průběhu jejich rozpadu ve vodě pomocí mobilní softwarové aplikace SLAKES. Metodu jsme testovali na široké škále půd, kultur a variant hnojení. Přesnost aplikace byla zvýšena pomocí zařízení se spodním podsvícením měřicí nádoby. Mezi navrženou metodou optické detekce a referenční metodou mokrého prosévání byla prokázána statisticky významná shoda. Testovaná metoda umožňuje rozlišit rozdíly v kvalitě agregátů u různých půdních typů, u kontrastních kultur (orná půda, trvalý travní porost) a také u půd s nebo bez aplikace statkových nebo organických hnojiv. Shoda s referenční metodou byla vyšší u stabilnějších agregátů. Vyšší variabilitu oproti mokrému prosévání lze kompenzovat vyšším počtem měření.

Klíčová slova: půda, kvalita půdy, půdní struktura, eroze

Abstract

The resistance of soil aggregates to their destruction in water is an important aspect of the physical quality of the soil. We determined the stability of soil aggregates by monitoring their decomposition in water using the mobile application SLAKES. The method was tested on a wide range of soils, crop cultures and fertilization treatments. The functionality of the application was increased by a device with backlighting of the measuring vessel. Correlation between the proposed optical detection method and the reference wet sieving method was statistically significant. The method distinguished differences in the quality of aggregates in different soil types, in contrasting cultures and in soils with or without the application of organic fertilizers. The correlation with wet sieving was higher for more stabile aggregates. The higher variability compared to wet sieving can be compensated by a higher number of measurements.

Key words: soil, soil quality, soil structure, erosion

Úvod

Odolnost půdních agregátů vůči rozpadu na agregáty menší velikosti nebo na základní texturní jednotky (písek, prach, jíl) působením vody je důležitým parametrem fyzikální kvality půdy. Materiál uvolněný rozpadem půdních agregátů při náhlých srážkách se usazuje v půdních makropórech, čímž se snižuje jejich průchodnost pro infiltrující vodu, zvyšuje se objem vody odtékající po povrchu půdy a narůstá riziko vodní eroze (Barthès a Roose 2002).

Postupy, které vodostálost půdních agregátů kvantifikují, mohou být založeny na stanovení úbytku hmotnosti předem definované navážky agregátů buď při periodickém pohybu sítky s agregáty ve vodním prostředí (např. Kandeler, 1994) anebo při působení dopadajících kapek za předem definovaných experimentálních podmínek (např. Low, 1967). Druhou skupinou metod jsou nepřímé metody stanovení stability půdních agregátů, založené na sledování zákalu, který je tvořen rozpadajícími se agregáty (Davidson, 1958, Zhu a kol., 2019).

Další metody jsou založeny na sledování zvětšování plochy, kterou rozpadající se agregát, resp. z něj uvolněný materiál zabírá na podložce po zalití vrstvou vody nebo po vložení agregátu do vody. K tomuto způsobu je obvykle využita mělká miska umožňující úplné ponoření agregátů určité velikosti. Na rozdíl od laboratorních metod, které vyžadují speciální mechanické zařízení, sítko, přesné váhy a sušárnu, nebo speciálně upravený turbidimetr, je tento způsob sledování vhodnější pro operativní terénní stanovení. Pro měření velikosti plochy zabírané rozpadajícím se agregátem se využívá vizuální metoda s využitím podložky se soustřednými kruhy (např. Solvita Volumetric Aggregate Stability Test).

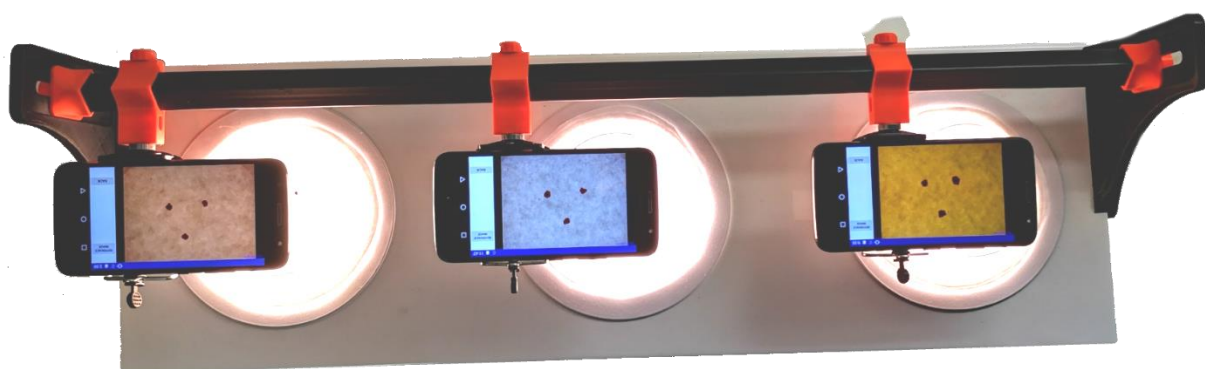
Nedostatkem vizuálního měření je subjektivita pozorovatele a nízká přesnost při kvantifikaci velikosti plochy, která bývá často nesouměrná. Tyto zmíněné nedostatky částečně odstranilo snímání procesu rozpadu agregátů pomocí digitální kamery se simultánním softwarovým vyhodnocením velikosti plochy (Fajardo a kol., 2016). Navržený způsob umožňuje sledovat paralelně rozpad několika agregátů a umožňuje také přesnou kvantifikaci změn velikosti plochy. Metoda byla autorem implementována jako aplikace SLAKES (v prostředí Android a iOS) a je využitelná širokou veřejností (Fajardo a kol. 2020), protože vyžaduje pouze běžný mobilní telefon.

Měření aplikací SLAKES je citlivé na kvalitu a neměnnost vnějšího osvětlení, protože při vzniku bočních stínů kolem agregátů bývají plochy stínů započteny k ploše agregátů a velikost měřené plochy je tím nadhodnocována (Flynn a kol. 2020). Během standardně stanoveného desetiminutového měření musí být zajištěn vysoký kontrast mezi agregáty a podložkou a podmínky osvětlení musí být neměnné, což se v terénních podmínkách dá zajistit pouze externím osvětlením.

Tyto nedostatky jsou řešitelné kvalitnější digitální kamerou a dobře nastaveným umělým osvětlením směřujícím z různých stran. Taková sestava je ale finančně náročnější a v terénních podmínkách obtížně využitelná. Proto jsme navrhli a testovali postup, který uvedené nedostatky zcela odstraňuje. Podstatou vylepšení funkčnosti aplikace SLAKES je využití plošného podsvícení měřicí nádoby. K tomuto účelu byl vyhotoven panel se třemi měřicími pozicemi pro paralelní testování dynamiky rozpadu 9–15 půdních agregátů (Obr. 1).

Cílem této práce je srovnání výsledků získaných pomocí tohoto zařízení se standardní metodou mokrého prosévání a vyhodnocení využitelnosti nové metody pro sledování kvality půdních agregátů v praxi.

Obr. 1: Panel se spodním LED podsvícením pro měření stability půdních agregátů pomocí aplikace SLAKES (paralelně se třemi mobilními telefony)



Materiál a metody

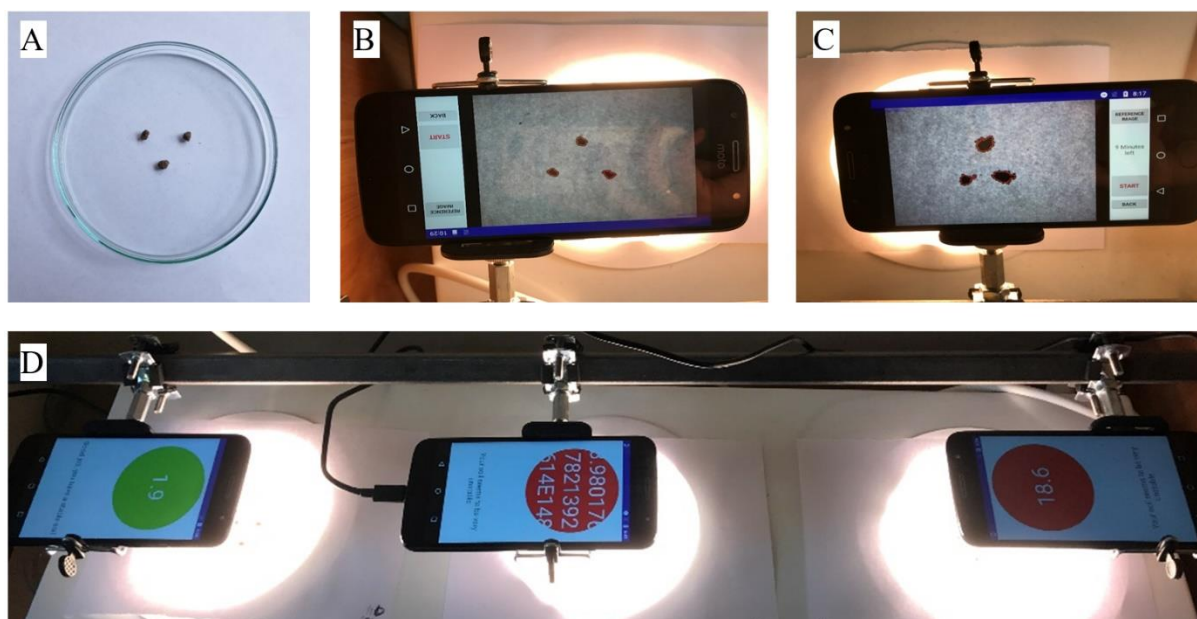
Byly hodnoceny půdní vzorky ze 7 lokalit dlouhodobých polních pokusů (Hněvčeves, Čáslav, Lukavec u Pacova, Ivanovice na Hané, Lípa u Havlíčkova Brodu, Svitavy a Jaroměřice nad Rokytnou), z jarních odběrů r. 2019 a odběrů po sklizni r. 2019. Vzorky zahrnovaly různé hnojené varianty dlouhodobých pokusů a také trvalé travní porosty v blízkosti těchto pokusů.

Referenční metodou stanovení stability půdních agregátů (SAS) byla metoda mokrého prosévání podle Kandlera (1994) s dobou prosívání 3 minuty na přístroji f. HERZOG. Metoda využívá frakci půdních agregátů velikosti 1 až 2 mm a její podstatou je stanovení poměru hmotnosti mezi nerozplavenou částí půdních agregátů a počáteční navázkou agregátů.

Pomocí panelu se spodním podsvícením byla současně na třech mobilních telefonech Motorola G7 provedena měření aplikací SLAKES. Postup měření: Na prázdnou Petriho misku doprostřed se položí 3 agregáty velikosti 3-5 mm navzájem od sebe vzdálené asi 3 cm (obr. 2A). Petriho miska se společně s agregáty položí na bílé pozadí (bílý papír) a i s tímto pozadím se umístí na zdroj světla (např. pole LED diod) o kruhovém průměru 15-20 cm. Nad Petriho miskou je umístěn mobilní telefon se zapnutou aplikací SLAKES. Na displeji mobilu se objeví obrázek agregátů. Rozpoznání agregátů mobilním telefonem se zajistí dotykem displeje. Agregáty na displeji se ohraničí červeně a dotykem na tlačítko „Reference Image“ se uloží referenční obrázek (obr. 2B). Následně se Petriho miska s agregáty vyjme a místo ní se umístí jiná Petriho miska naplněná vodou (20-25 ml). Do této misky se opatrně, ale rychle, umístí stejné agregáty (nejlépe pomocí pinzety) přibližně do stejné pozice jako byly bez vody (agregáty na displeji musí být opět ohraničeny červenou barvou) a pomocí tlačítka „Start“ se spustí program (obr. 2C). Rozpad agregátů ve vodě je snímán po dobu 10 minut. Poté se na displeji objeví číslo, vyjadřující míru stability půdních agregátů. Číslo s hodnotami méně než 3 (zelený kruh) znamená vysokou stabilitu půdních agregátů, hodnoty v rozmezí 3 až 7 (žlutý kruh) znamenají průměrnou stabilitu, hodnoty nad 7 (červený kruh) znamenají nízkou stabilitu (obr. 2D).

Celkem bylo hodnoceno 242 vzorků u obou použitých metod vždy ve 3 opakováních. K vyhodnocení výsledků byly použity aplikace MS Excel a Statistica 13.3.

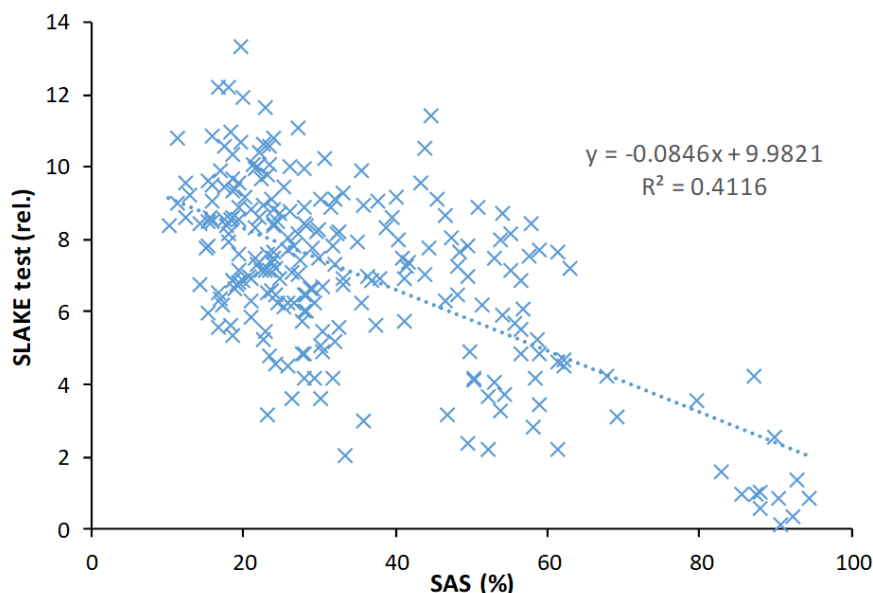
Obr. 2: Měření stability půdních agregátů pomocí aplikace SLAKES. A - umístění agregátů na Petriho misce (přirozené osvětlení), B - referenční obrázek agregátů, C - průběh měření, D - závěr měření (zleva: stabilní agregáty, chybné měření, nestabilních agregáty)



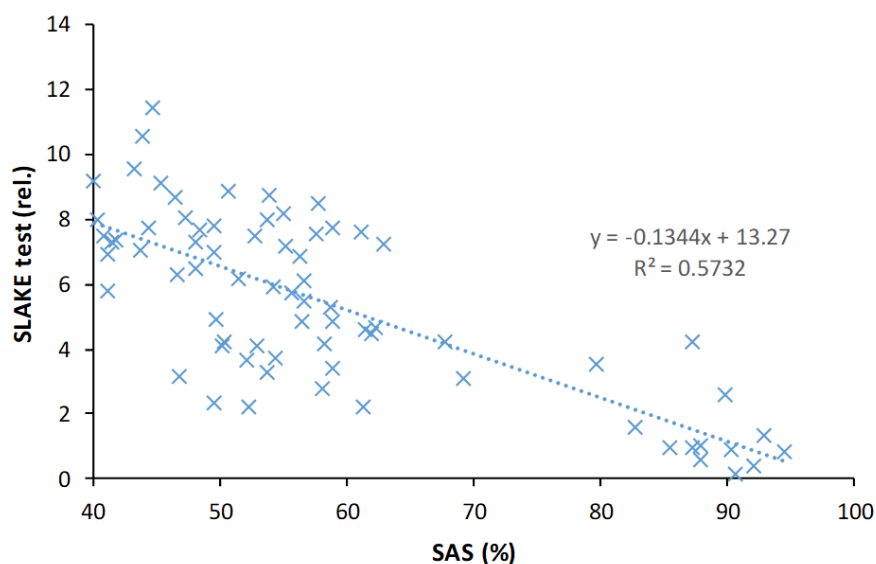
Výsledky a diskuze

Byla prokázána statisticky významná záporná korelace ($R = -0,64$) mezi oběma použitými metodami (Graf 1). Korelace byla těsnější ($R = -0,76$) u stabilnějších agregátů s hodnotami SAS nad 40 % (Graf 2). Vysoká míra korelace byla prokázána u vzorků půd ze stanovišť s vyšším podílem písku (Lípa a Lukavec, $R = -0,8$).

Graf 1: Korelace mezi SAS a hodnotami SLAKE testu – zahrnuta všechna měření

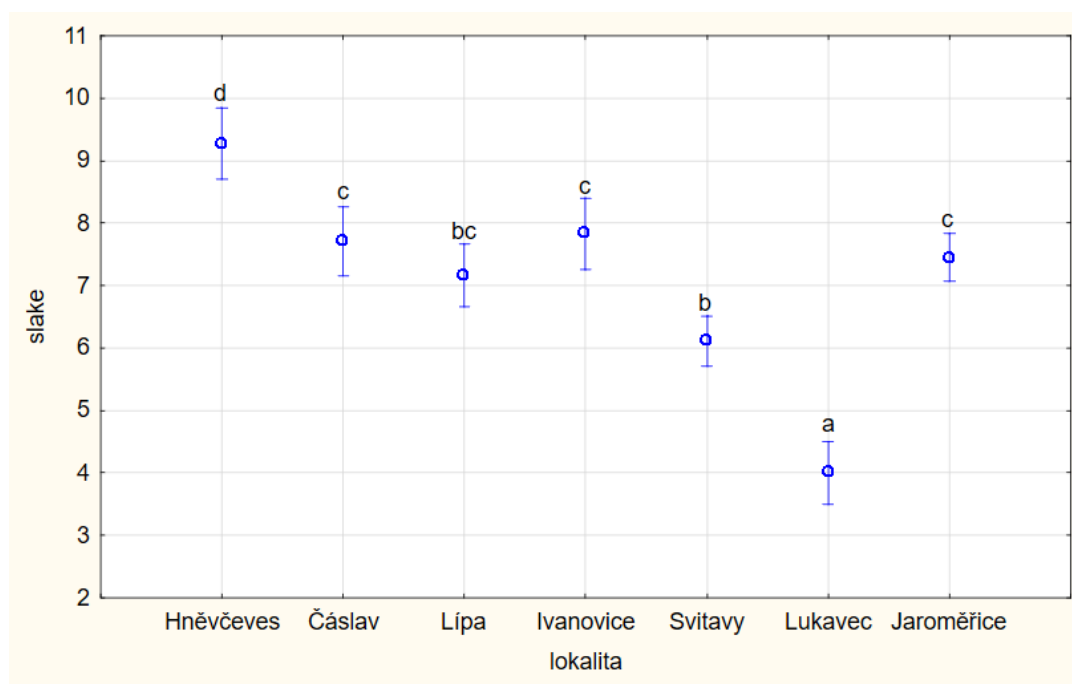


Graf 2: Korelace mezi SAS a hodnotami SLAKE testu – zahrnuty vzorky se SAS > 40 %

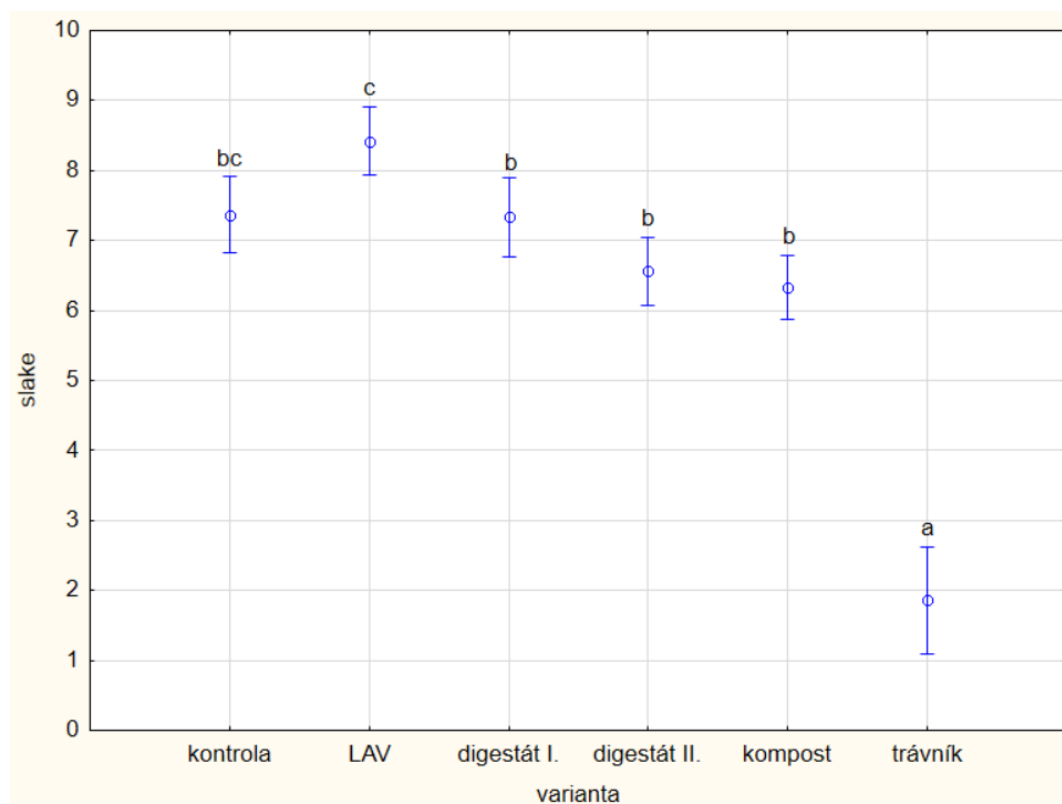


Citlivost SLAKE testu byla hodnocena vzhledem k jednotlivým pokusným stanovištím (graf 3) a detailněji na pokusu s různými variantami hnojení: nehnojená kontrola, minerální hnojení LAV, digestát I., digestát II., kompost a trvalý travní porost. Vliv hnojení na stabilitu půdních agregátů byl hodnocen pomocí analýzy variance, a to jak u SLAKE testu (graf 4), tak u laboratorního stanovení (graf 5).

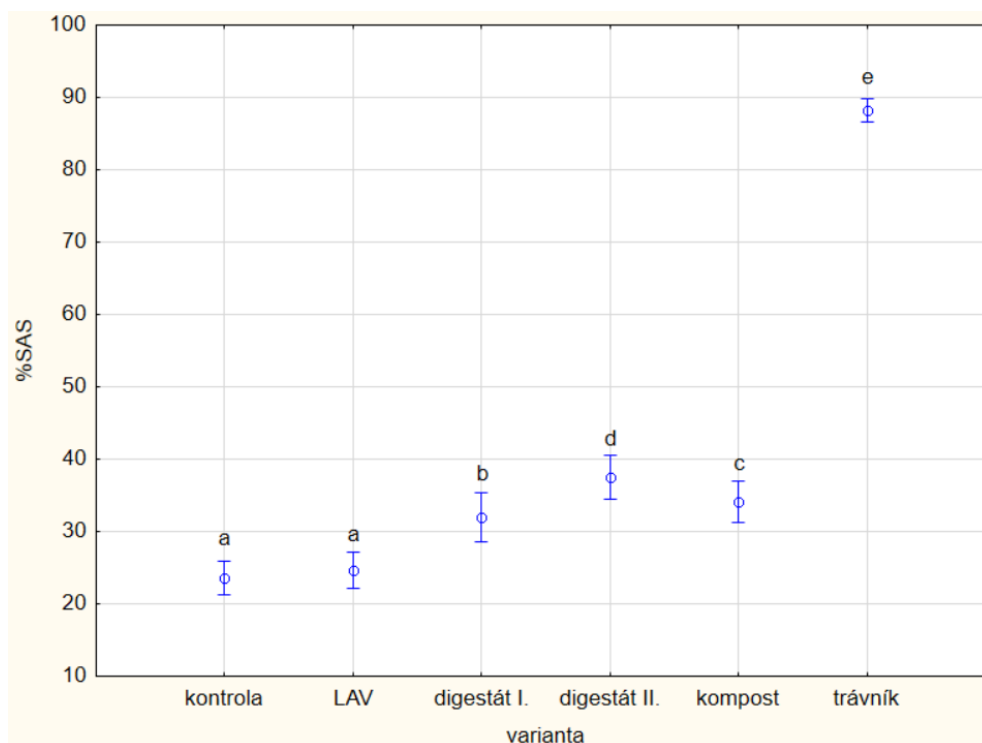
Graf 3: Vliv stanoviště na stabilitu půdních agregátů zjištěnou SLAKE testem. Rozdílná písmena označují signifikantní rozdíly na hladině $\alpha = 0.05$ (Scheffeho test), vertikální úsečky 95 % konfidenční intervaly



Graf 4: Vliv hnojení na stabilitu půdních agregátů zjištěné SLAKE testem (pokus s aplikací digestátu, ÚKZUZ –Líba, Jaroměřice, Svitavy). Rozdílná písmena označují signifikantní rozdíly na hladině $\alpha = 0.05$ (Scheffeho test), vertikální úsečky 95 % konfidenční intervaly



Graf 5: Vliv hnojení na stabilitu půdních agregátů SAS testem (pokus s aplikací digestátu, ÚKZUZ –Lípa, Jaroměřice, Svitavy). Rozdílná písmena označují signifikantní rozdíly na hladině $\alpha = 0.05$ (Scheffeho test) a vertikální úsečky 95 % konfidenční intervaly



Obě metody prokázaly signifikantní rozdíly mezi variantami, přičemž laboratorní metoda mokrého prosévání je vzhledem k lepší reprodukovatelnosti měření schopná odhalit i menší rozdíly. Srovnáním obou grafů je ale patrné, že trend stability půdních agregátů v závislosti na variantách hnojení je u obou metod obdobný. Nejvyšší stabilita byla zjištěna u trvalých travních porostů (nízké hodnoty SLAKE testu, vysoké hodnoty SAS), nejnižší na variantě hnojené pouze minerálně a na kontrole (vyšší hodnoty SLAKE testu, nižší hodnoty SAS).

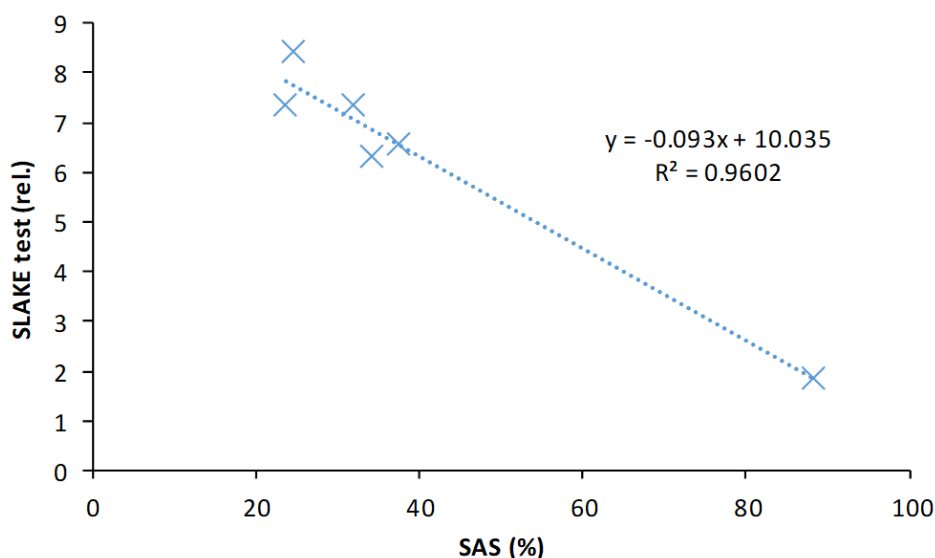
Shodu obou metod dokládá i výsledná korelace průměrných výsledků měření u jednotlivých variant hnojení (graf 6), kde korelační koeficient dosáhl hodnoty -0,98 a hodnota spolehlivosti R^2 dosáhla 0,96.

Lze konstatovat, že SLAKE test v provedení s podsvíceným panelem velmi dobře odhalí rozdíly ve stabilitě půdních agregátů (1) mezi různými půdami, resp. stanovišti, (2) mezi půdou s kulturní plodinou a trvalým travním porostem a také (3) mezi organickým a minerálním hnojením.

Využitelnost aplikace SLAKES na půdách s různým hospodařením – konvenční vs. bezorební technologie zpracování půdy a travní porosty byla popsána v práci Flynn a kol. (2020), což je prozatím jediná vědecká publikace, která aplikaci využila při výzkumu (mimo autorský kolektiv samotných tvůrců aplikace). Testování pomocí aplikace SLAKES bylo ke změnám kvality agregátů citlivější než referenční metoda, kterou byla metoda CWAŠT pomocí dešťového simulátoru (Schindelbeck a kol., 2016, in Flynn a kol., 2020). Autoři využili nejenom samotnou hodnotu SLAKE testu (*slaking index* – „SI 600“), ale také parametry a , b a c Gompertzovy funkce využitě pro modelaci získané křivky rozpadu (Fajardo a kol., 2016). Nicméně, průkazné rozdíly mezi variantami hospodaření byly zjištěny pouze pro index SI-600

(Slake index po 600 vteřinách měření), což dokládá, že tento parametr je z celého SLAKE testu nejdůležitější. Fajardo a kol. (2020) prezentovali také využitelnost aplikace pro mapování, které bylo v terénu na australské farmě realizováno studenty. Použití aplikace prokázalo spolehlivost ve srovnání s tradičními metodami používanými ve vědeckém výzkumu. Autoři konstatovali, že jednoduchost aplikace SLAKES ji činí jednoduchým, ale účinným nástrojem pro posouzení stability půdní struktury. Aplikace má velký potenciál jak v oblasti občanské vědy, tak i v odborných vzdělávacích programech. Autoři uvádí, že aplikace je aktuálně nainstalována ve 36 zemích.

Graf 6. Korelace mezi SAS a hodnotami SLAKE testu – různé varianty hnojení



Závěr

Na základě srovnání SLAKE testu se zavedenou referenční laboratorní metodou mokrého prosévání lze konstatovat, že SLAKE test je vhodný pro relativně snadné a rychlé určení stability půdních agregátů, je schopen odlišit půdy se stabilními agregáty od půd s agregáty velmi nestabilními. Uvedená metoda ale není tak přesná jako laboratorní stanovení, zejména v případě půd s průměrnou stabilitou agregátů (hodnoty SLAKE testu v rozmezí hodnot 3 až 7, odpovídající hodnotám 40-20 % SAS u mokrého prosévání). Na rozdíl od laboratorního stanovení však zde popsaná metoda SLAKE testu nevyžaduje drahé laboratorní zařízení.

Naše praktické zkušenosti s aplikací SLAKES lze shrnout do těchto zásad:

- (1) Manipulovat s agregáty tak, aby nedošlo k jejich mechanickému poškození.
- (2) Po ukončení snímání zkontrolovat, zda agregátem nebyl kamínek. Výsledná hodnota pak není relevantní.
- (3) Pro správný průběh měření je nutné, aby po celou dobu byly snímány pouze agregáty, což je patrné z jejich červeného ohraničení na displeji. Červené ohraničení nesmí být nikde jinde viditelné, např. okraje Petriho misky.
- (4) Špatné zaměření agregátů se projeví jejich neostrým obrazem, nesmí zároveň vznikat boční stíny.

Vyšší variabilitu výsledků lze u SLAKE testu kompenzovat vyšším počtem provedených stanovení, čímž se zmírní i vliv odlehlých hodnot, způsobených např. nechtěnou záměnou půdního agregátu za kamínek.

Použitá literatura

- Barthès, B., Roose, E. 2002: Aggregate stability as an indicator of soil susceptibility to runoff and erosion: validation at several levels. *Catena* 47, s. 133-149
- Davidson, J.M., 1958: Turbidimeter technique for measuring the stability of soil aggregates in a water-glycerol mixture (MSc thesis). Oregon State College, Corvallis, U.S.A., 59 s.
- Fajardo, M., Jones, E., and Wittig, R. 2020: Assessing soil aggregate stability with mobile phones, EGU General Assembly 2020, 4–8 May 2020, EGU2020-3240
- Fajardo, M., McBratney, A. 2019: Slakes: A soil aggregate stability smart-phone app [Mobile application software]. Retrieved from <https://play.google.com/store/apps/details?id=slaker.sydneyni.au.com.slaker&hl=en>. The University of Sydney, Australia.
- Fajardo, M., McBratney, A.B., Field, D.J., Minasny, B., 2016. Soil slaking assessment using image recognition. *Soil and Tillage Research* 163, s. 119-129
- Flynn, K.D., Bagnall, D.K., Morgan, C.L.S. 2020: Evaluation of SLAKES, a smartphone application for quantifying aggregate stability, in high-clay soils. *Soil Science Society of America Journal* 84, s. 345–353
- Kandeler E. 1996: Aggregate stability. In: Schinner a kol. (eds): *Methods in Soil Biology*. Berlin, Springer-Verlag: s. 390–395
- Low, A.J. 1967. Measurement of stability of moist soil aggregates to falling waterdrops according to Low. In: *West-European Methods for Soil Structure Determination*, s. 51-78. State Faculty of Agricultural Sciences, Gent
- Zhu, Y., Marchuk, A., Bennett, J. 2016: Rapid method for assessment of soil structural stability by turbidimeter. *Soil Science Society of America Journal* 80, s. 1629-1637

Dedikace

Výzkum byl podpořen Národní agenturou pro zemědělský výzkum, projekt QK1810186.

Kontaktní adresa:

RNDr. Mikuláš Madaras, Ph.D.
VÚRV, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6 – Ruzyně
e-mail: madaras@vurv.cz, +420 702 087 690

**BIOLOGICKÁ FIXACE DUSÍKU SYMBIOTICKÝMI KMENY
BAKTERIÍ U JESTŘABINY VÝCHODNÍ
(*GALEGA ORIENTALIS* LAMB.)**

**Biological nitrogen fixation by symbiotic bacteria strains
at *Galega orientalis* Lamb.**

Matoušková M., Malec J., Trněný O., Hofbauer J., Vejražka K.

Zemědělský výzkum, spol. s r. o. Troubsko

Abstrakt

Symbiotický vztah mezi rostlinami z čeledi bobovitých (*Fabaceae*) a půdními dusík fixujícími bakteriemi je dobře známý a podrobně popsán v dostupné literatuře. Tato studie se zaměřuje na jeho využití v praxi – na jednoznačnou identifikaci symbiotických bakteriálních kmenů sekvenací 16S rRNA, na testování jejich schopnosti tvořit kořenové hlízky u daných rostlinných druhů a efektivitu této symbiózy hodnocením nitrogenázové aktivity pomocí acetylen redukční metody. Těmito metodami, které jsou zde ukázány v případové studii na rostlinném druhu jestřabina východní (*Galega orientalis* Lamb.) společně s bakteriálními kmeny *Neorhizobium galegae*, byly vytipovány vybrané kmeny mikroorganismů, které je možné použít pro přípravu tekutých inokul, a ty pak v dalších experimentech využít pro testování vlivu inokulace na vybrané fenotypové znaky symbiotických rostlinných druhů v polních podmínkách.

Klíčová slova: Biologická fixace dusíku, symbiotické půdní organismy, *Fabaceae*, Rhizobiales, *Galega orientalis*, *Neorhizobium galegae*

Abstract

The symbiotic relationship between family *Fabaceae* and soil nitrogen-fixing bacteria is well described in the scientific literature. This study is focused on the use of this relationship in practice – the identification of the symbiotic bacteria using 16S rRNA sequencing, the testing of their ability to form root nodules, and the evaluation of the nitrogenase activity using acetylene reduction assay. These methods were used in the case study to select particular bacteria strains of *Neorhizobium galegae* that were applied for the preparation of liquid inoculants for *Galega orientalis*. The effect of the inoculation on specific phenotypic plant traits will be tested in further field experiments.

Key words: Biological nitrogen fixation, symbiotic soil bacteria, *Fabaceae*, Rhizobiales, *Galega orientalis*, *Neorhizobium galegae*

Úvod

Rhizobia a další dusík fixující půdní mikroorganismy, které mají schopnost tvořit symbiotický vztah s kořeny rostlin z čeledi bobovitých (*Fabaceae*), patří do třídy alfa proteobakterií (*Alphaproteobacteria*). Jedná se o různorodou skupinu Gram-negativních bakterií schopných využívat anorganický vzdušný dusík a začleňovat jej do organických dusíkatých sloučenin. Tato jejich schopnost je označována jako biologická fixace dusíku, při níž rostlina poskytuje bakteriím potřebnou energii, uhlík a další živiny, naopak bakterie rostlinám dodávají dusík ve formě organických sloučenin, které jsou využitelné rostlinným metabolismem (Hauer and Lamberti 2017).

Symbiotická interakce mezi rostlinou a dusík fixujícími bakteriemi začíná tím, že rostliny do blízkého okolí svých kořenů vylučují fenolické látky, které působí na tyto mikroorganismy chemotakticky a aktivují v nich produkci tzv. nod faktorů. Nod faktory se zpětně váží na receptory na povrchu kořenů rostlin a indukují kaskádu procesů, které pomocí morfologických změn na kořenech (iniciace dělení buněk kořene a zkroucení kořenových vlásků) umožní vstup bakterií do kořene, kde vytvoří infekční vlákno. To vniká do buněk vnitřního kortexu, kde se v rostlinných buňkách tvoří tzv. symbiozom, váček ohraničený plazmatickou membránou, v němž dochází k diferenciaci bakterií na bakteriody, které jsou schopné fixovat vzdušný dusík. Bakteriody se dále diferencují, čímž dochází k tvorbě finální kořenové hlízky (Freiberg a kol. 1997; Gage 2017; Trněný and Vlk 2018). Samotný proces biologické fixace dusíku probíhá za účasti komplexu enzymů nitrogenáza-nitrátreduktáza, kdy je atmosférický dusík nejprve redukován na amoniak, a ten je dále převeden na další organické sloučeniny. Tento proces je energeticky velice náročný a je limitován dostupností fosforu v půdě, který je součástí adenosin trifosfátu (ATP) jakožto zdroje energie (Marchal and Vanderleyden 2000).

Samotný vztah mezi rostlinou a bakteriemi je velice specifický, obvykle může jen jeden bakteriální druh, nebo dokonce pouze jeden nebo několik konkrétních kmenů interagovat s daným rostlinným druhem, nebo několika málo druhy. Tato specifita je způsobena variabilitou v genech pro některé nod faktory (např. *nodE*, *nodF*, *nodH*) (Zhang a kol. 2000). Pro vytvoření efektivního symbiotického vztahu mezi rostlinou a daným mikrobiálním druhem je tedy zásadní vybrat vhodný bakteriální kmen, který nejen dokáže fixovat vzdušný dusík, ale zároveň dovede ve spolupráci s konkrétním rostlinným druhem nebo odrůdou iniciovat vznik hlízek, úspěšně je osídlit a zpřístupnit rostlině fixovaný dusík ve formě organických sloučenin tak, aby se tento symbiotický vztah pozitivně odrazil i na fenotypu dané rostliny, ať vyšším výnosem semen, biomasy, nebo jiným žádoucím způsobem. Dalším nezanedbatelným benefitem plynoucím z tohoto symbiotického vztahu je pěstování bobovitých jako meziplodin, které díky zpřístupnění organického dusíku bakteriemi za krátkou dobu asimilují velké množství živin a jsou schopné je poskytnout následně pěstovaným plodinám (Trněný and Vlk 2018; Wendling a kol. 2016). Tímto způsobem je tedy možné snížit zátěž životního prostředí dusíkatými hnojivy a obohatit půdu o živiny šetrnější cestou.

Symbiotický vztah mezi rostlinami a dusík fixujícími půdními mikroorganismy se využívá i v praxi. Na trhu jsou dostupná komerční inokula, která je možné aplikovat na osivo, nebo přímo do půdy, a tím zpřístupnit symbiotické bakterie především těm druhům nebo odrůdám rostlin, které nejsou v našem regionu původní a jejichž specifické symbiotické bakterie se zde v půdě přirozeně nevyskytují. Pro přípravu těchto inokul je tedy důležité, aby použité bakteriální kmeny byly správně identifikovány, a po potvrzení jejich identity je dále nutné otestovat jejich schopnost tvořit kořenové hlízky s danými rostlinnými druhy nebo odrůdami. Metod identifikace mikrobiálních druhů je celá řada, klasická bakteriální taxonomie vychází z fenotypické analýzy, ovšem v současné době se stále častěji využívá metod molekulární biologie. Obvyklým způsobem určení identity bakterií je sekvenace oblasti 16S ribozomální RNA, která je součástí 30S malé podjednotky ribozomů prokaryot. Díky tomu, že obsahuje konzervované oblasti typické pro všechny mikroorganismy, ale zároveň i oblasti vysoce variabilní, které jsou charakteristické pro jednotlivé bakteriální druhy, se tato oblast používá pro identifikaci prokaryot. Schopnost identifikovaných kmenů dát vzniknout kořenovým hlízkám lze zjistit přímo porovnáním počtu hlízek na kořenech inokulovaných a neinokulovaných kontrolních rostlin. Jejich schopnost vytvořit efektivní symbiotický vztah s konkrétním rostlinným druhem je možné zjistit nepřímo pomocí acetylen redukční metody (ARA – acetylen reduction assay), kdy je měřena míra schopnosti enzymu nitrogenázy redukovat acetylen na ethylen, jehož výsledná koncentrace je měřena pomocí plynové chromatografie (Hardy, Burns, and Holsten 1973; Unkovich a kol. 2008).

Benefity, které plynou ze symbiotického vztahu mezi rostlinami z čeledě bobovitých a dusík fixujících půdních bakterií, jsou hlavním důvodem, proč jsme se zaměřili na rozšíření sbírky kmenů těchto mikroorganismů, na jejich pečlivou identifikaci a na ověření jejich schopnosti vytvářet kořenové hlízky u konkrétních rostlinných druhů, a tím rostlinám zprostředkovat přísun organických látek využitelných jejich metabolismem.

Materiál a metody

Kultivace mikroorganismů

Pro následnou identifikaci mikroorganismů bylo použito 155 bakteriálních kmenů, které byly získány izolací z kořenových hlízek rostlin čeledi *Fabaceae* (Bobovité). Kultivace mikroorganismů probíhala na pevné půdě o složení 10 g/l mannitol, 0,5 g/l K_2HPO_4 , 0,2 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 g/l NaCl, 0,5 g/l kvasnicový extrakt (Tittabutr a kol. 2007) s přidavkem agarů o hmotnosti 15 g/l. Pro rozlišení rodu *Rhizobium* od jiných dusík fixujících rodů mikroorganismů byly kmeny zároveň kultivovány na pevné půdě o stejném složení dle Tittabutr a kol. (2007), navíc s přidavkem 1% roztoku kongo červení v objemu 2,5 ml/l (Kneen and Larue 1983). Po vykultivování byly mikroorganismy uchovávány v kryokonzervovaném stavu při - 80 °C v tekutém kultivačním médiu dle Tittabutr a kol. (2007) s přidavkem glycerolu v objemu 150 ml/l kryoprotektiva.

Identifikace mikroorganismů

Finální identifikace mikroorganismů byla provedena sekvenováním. Z jednotlivých kmenů bakterií byla nejprve izolována DNA – vzorky byly vloženy do zkumavek, které byly po dobu 10 min ponechány ve vařící vodní lázni, ty byly následně zcentrifugovány a byl z nich odebrán supernatant obsahující DNA mikroorganismů. Supernatant byl v dalším kroku použit pro přípravu směsi pro polymerázovou řetězovou reakci (PCR) v objemu 15 µl, která obsahovala 6,3 µl ultračisté vody, 7,5 µl MasterMixu PPP (Top-Bio), 0,6 µl primerů 27F a 1492R ve směsi (koncentrace každého primeru byla 10 µM) a 0,6 µl izolátu DNA. Pro amplifikaci byly využity univerzální primery pro oblast 16S ribozomální RNA. Sekvence těchto primerů byla následující: 27F (forward primer): 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3', 1492R (reverse primer): 5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3'. Parametry PCR byly: denaturace 94 °C, 5 min; 35x (94 °C, 30 s; 57 °C, 40 s; 72 °C, 90 s); finální elongace 72 °C, 10 min.

Získané amplikony o délce 1465 bp byly purifikovány enzymy FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase a Exonuclease I (Thermo Scientific) v objemu 24 µl při složení reakční směsi: 8,13 µl ultračisté vody, 1,5 µl FastAP pufr, 0,1 µl FastAP alkalická fosfatáza, 0,27 µl exonukleáza I a 14 µl PCR produktu. Směs byla inkubována 15 min při 37 °C a 15 min při 85 °C, následně byla zchlazena na 4 °C. Kontrola kvality přečištěného produktu byla provedena pomocí agaróзовé gelové elektroforézy a kontrola koncentrace pomocí Qubit 4 Fluorometer (Life Technologies, Singapore).

Pro zvýšení úspěšnosti sekvenace byl každý vzorek sekvenován pomocí přímého i zpětného primeru. Sekvenační reakce byly namíchány ve složení: 5 µl přečištěného PCR produktu a 5 µl přímého (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') nebo zpětného (5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3') primeru o koncentraci 5 µM. Následně byly vzorky sekvenovány Sangerovou metodou (Eurofins Genomics Germany GmbH, Německo). Získané sekvence byly podrobeny bioinformatické analýze pomocí aplikací Multiple Sequence Alignment (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>) pro mnohonásobné přiložení sekvencí a BioEdit 7.2 (<https://bioedit.software.informer.com/7.2/>) pro sestřih sekvencí. Následná identifikace mikroorganismů byla provedena pomocí databáze Nucleotide BLAST

(https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?LINK_LOC=blasthome&PAGE_TYPE=BlastSearch&PROGRAM=blastn).

Schopnost mikroorganismů tvořit kořenové hlízky a fixovat vzdušný dusík

Po identifikaci mikroorganismů bylo u vybraných kmenů přistoupeno k testování jejich schopnosti tvořit hlízky na kořenech odpovídajících druhů rostlin, s nimiž tyto kmeny žijí v symbiotickém vztahu. Pro tuto analýzu bylo zvoleno šest kmenů bakteriálního druhu *Neorhizobium galegae* společně s rostlinným druhem Jestřabina východní (*Galega orientalis* Lamb.). Testování probíhalo ve skleníku, kde byla semena rostlin vyseta do vlhkého perlitu – bylo připraveno 7 nádob po 25 rostlinách, šest z nich bylo určeno pro inokulaci jednotlivými testovanými bakteriálními kmeny, sedmá nádoba byla kontrolní bez přídavku inokula. Inokula byla připravena kultivací jednotlivých kmenů v tekutém médiu dle Tittabutr a kol. (2007) v množství 125 ml/bakteriální kmen při pokojové teplotě a v temnu po dobu 3 dnů. Koncentrace mikroorganismů v jednotlivých inokulech po ukončení kultivace byla řádově 10^9 CFU/ml (colony forming units; jednotky tvořící kolonie), po naředění inokul vodou bezprostředně před inokulací byla výsledná koncentrace 10^8 CFU/ml. Aplikace inokul do perlitu s rostlinami byla provedena ve fenologické fázi BBCH 11, kdy se u rostlin objevil první pravý list. Rostliny byly následně pěstovány v nádobách s perlitem další 4 týdny. Po této době byly rostliny vyjmuty z perlitu, na kořenech jednotlivých rostlin byly spočítány kořenové hlízky a metodou ARA (Hardy, Burns, and Holsten 1973) byla určena hodnota nitrogenázové aktivity. Kořeny s kořenovými hlízkami byly vloženy do lahví o objemu 330 ml s gumovým uzávěrem, do nichž bylo přidáno 10 ml acetyleny. Po inkubaci trvající jednu hodinu bylo pomocí plynového chromatografu CHROM 5 změřeno množství vyprodukovaného ethylenu v 1 ml vzorku plynného obsahu lahve. Výsledné hodnoty byly přepočítány na koncentraci ethylenu v $\mu\text{mol/ml}$ ve vzorku (Unkovich a kol. 2008). Následně byla pomocí Pearsonova korelačního koeficientu určena korelace mezi počtem hlízek a koncentrací ethylenu ve vzorku u analyzovaných rostlin.

Výsledky a diskuze

Identifikace mikroorganismů

Identifikace mikroorganismů sekvenováním byla provedena na celé sbírce symbiotických půdních mikroorganismů Zemědělského výzkumu spol. s r.o. (ZVT) čítající 155 bakteriálních kmenů, které pochází z izolací z kořenových hlízek odpovídajících rostlinných druhů. Vyhodnocení výsledků probíhalo ve dvou krocích. Prvním z nich bylo zhodnocení, zda se jedná o druh mikroorganismu spadající do řádu Rhizobiales – viz Tabulka 1, která obsahuje taxonomický výběr žádoucích druhů bakterií.

Tab. 4: Symbiotické dusík fixující druhy půdních mikroorganismů

Třída:	Alphaproteobacteria		
Řád:	Rhizobiales		
Čeleď:	Rhizobiaceae		Phyllobacteriaceae
Rod:	Rhizobium	Ensifer (Sinorhizobium)	Mesorhizobium
Druh:	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	<i>Sinorhizobium meliloti</i> <i>Sinorhizobium fredii</i>	<i>Mesorhizobium ciceri</i> <i>Mesorhizobium loti</i>

Druhým krokem bylo vyhodnocení, zda určené druhy mikroorganismů odpovídají očekávaným druhům na základě rostlin, z jejichž hlízek byly izolovány. Přehled těchto druhů bakterií společně s rostlinnými druhy, s nimiž navazují symbiotický vztah, je uveden v Tabulce 2, která

obsahuje mikroorganismy vážící se ke konkrétním rostlinným druhům využívaným v praxi v ZVT.

Tab. 5: Příklady rostlin a jejich symbiotických mikroorganismů ze sbírky ZVT

Mikroorganismus	Rostlina
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Jetel plazivý, j. luční, j. jahodnatý, j. šípovitý, j. panonský, j. inkarnát, Fazol obecný, Hrachor setý, Bob obecný, Čočka
<i>Mesorhizobium ciceri</i>	Cizrna beraní
<i>Mesorhizobium sp.</i>	Štírovník růžkatý
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	Tolice vojtěška, Komonice bílá, Tolice dětelová
<i>Sinorhizobium medicae</i>	Pískavice řecké seno
<i>Neorhizobium galegae</i>	Jestřabina východní

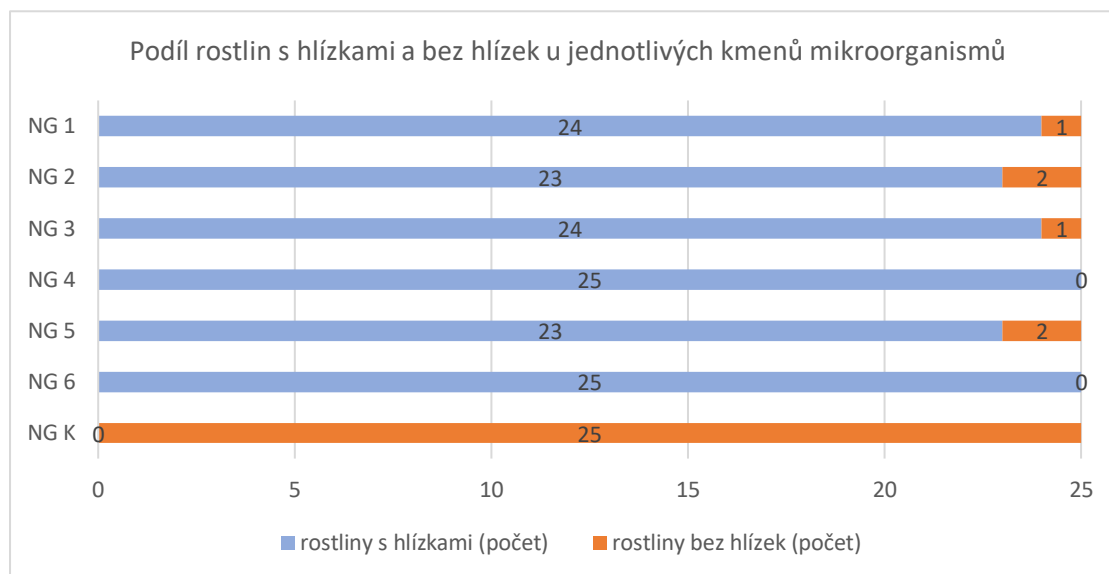
Ze 155 sekvenovaných kmenů bylo tímto způsobem určeno, že u 122 kmenů se jedná o symbiotické dusík fixující mikroorganismy očekávaného bakteriálního druhu na základě rostlinného druhu, z jehož hlízek byly izolovány. U 33 kmenů byl buď určen zcela jiný druh mikroorganismu, nebo se je tímto způsobem nepodařilo identifikovat. Vzhledem k tomu, že identifikované kmeny zcela dostatečně pokrývají variabilitu bakteriálních druhů vhodných pro další využití společně s rostlinnými druhy, které se běžně v ZVT používají, bylo daných 33 kmenů vyřazeno ze sbírky. Pro další experimenty byly uchovány pouze jednoznačně a správně určené kmeny bakterií.

Schopnost mikroorganismů tvořit kořenové hlízky a fixovat vzdušný dusík

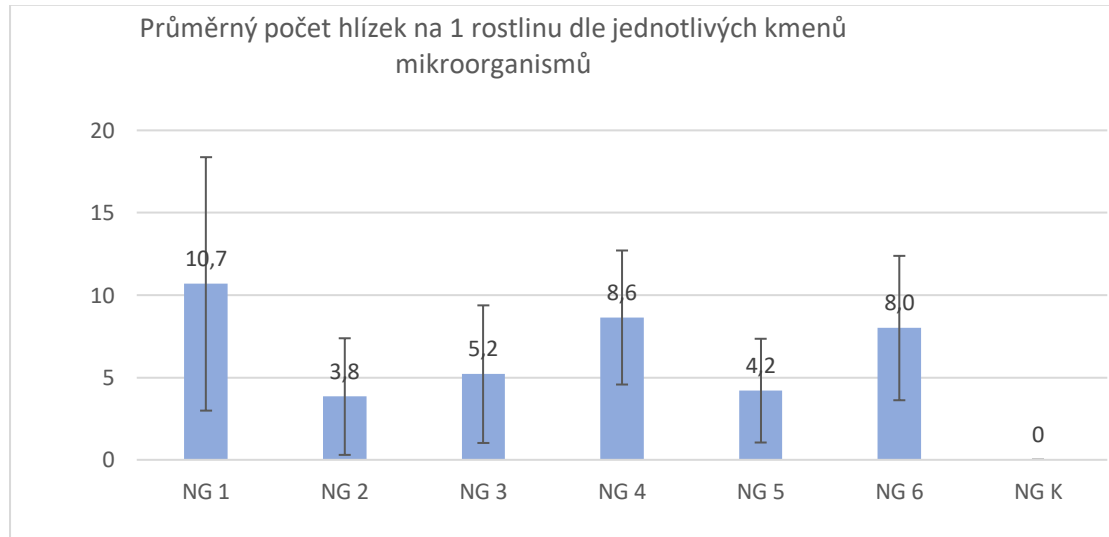
Ověření schopnosti mikroorganismů tvořit kořenové hlízky a efektivně fixovat vzdušný dusík je náročnější než předchozí krok identifikace jednotlivých kmenů. Proto byla provedena případová studie na rostlinném druhu jestřabina východní (*Galega orientalis* Lamb.) a šesti kmenech bakteriálního druhu *Neorhizobium galegae*, který s ní vytváří symbiotický vztah.

Při tomto experimentu bylo na 25 rostlinách v nádobách s perlitem testováno 6 kmenů označených *Neorhizobium galegae* 1-6, jedna nádoba sloužila jako kontrola (označená *Neorhizobium galegae* Kontrola) a nebylo na ni aplikováno žádné inokulum. Rostliny tedy byly rozděleny do 7 skupin dle aplikovaného mikrobiálního kmene. Po vyjmutí jednotlivých rostlin z perlitu byly spočítány hlízky na jejich kořenech. Graf 1 ukazuje podíl rostlin s hlízkami a bez hlízek rozdělených dle jednotlivých kmenů bakterií. Graf 2 poté zobrazuje průměrný počet kořenových hlízek na jednu rostlinu, který je rozdělený podle jednotlivých kmenů mikroorganismů použitých na přípravu inokula. Z jednotlivých chybových úseček je také zřejmé, že mezi počty hlízek u jednotlivých rostlin byly zjištěny velké rozdíly, pohybovaly se v intervalu 0-27 hlízek na rostlinu, přičemž u kontrolní neinokulované skupiny nebyly dle očekávání nalezeny žádné hlízky.

Graf 1: Podíl rostlin jestřabiny východní s kořenovými hlízkami a bez výskytu hlízek rozdělený dle jednotlivých kmenů mikroorganismů, které byly použity na přípravu inokula (značení kmenů: *Neorhizobium galegae* 1-6: NG 1-6; *Neorhizobium galegae* Kontrol



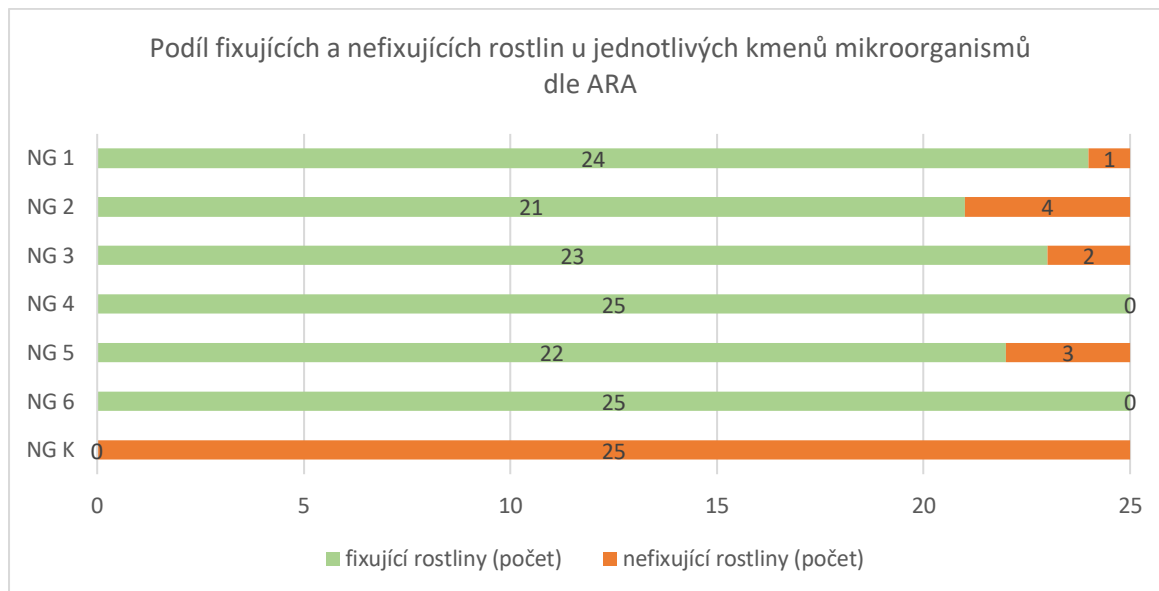
Graf 2: Průměrný počet kořenových hlízek na jednu rostlinu jestřabiny východní rozdělený dle jednotlivých kmenů mikroorganismů, které byly použity pro přípravu inokula (značení kmenů: *Neorhizobium galegae* 1-6: NG 1-6; *Neorhizobium galegae* Kontrola: NG K)



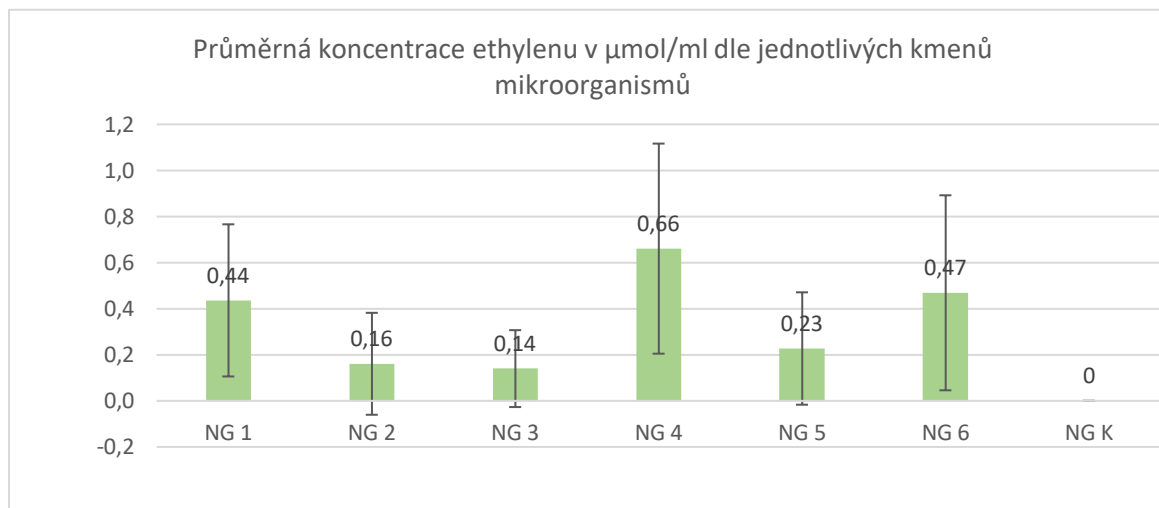
Následně byla u jednotlivých rostlin změřena hodnota nitrogenázové aktivity metodou ARA (Hardy, Burns, and Holsten 1973). Graf 3 ukazuje podíl fixujících (naměřená hodnota nitrogenázové aktivity) a nefixujících (zjištěna nulová hodnota nitrogenázové aktivity) rostlin, které jsou opět rozdělené do skupin dle aplikovaného mikrobiálního kmene. Z Grafu 1 a 3 je z vyššího počtu rostlin tvořících hlízky než těch, u nichž byla zjištěna schopnost fixovat vzdušný dusík, zřejmě, že i v případě, že rostlina vytvoří hlízky, nemusí u ní k fixaci docházet. Proto je měření nitrogenázové aktivity neopominutelným krokem při ověřování efektivity biologické fixace dusíku u jednotlivých kmenů bakterií, které mají být následně používány pro přípravu

inokul. Graf 4 poté zobrazuje průměrnou koncentraci ethylenu v $\mu\text{mol/ml}$, která je opět rozdělená podle aplikovaného kmene bakterií. U kontrolních neinokulovaných rostlin byla dle očekávání zjištěna nulová hodnota nitrogenázové aktivity.

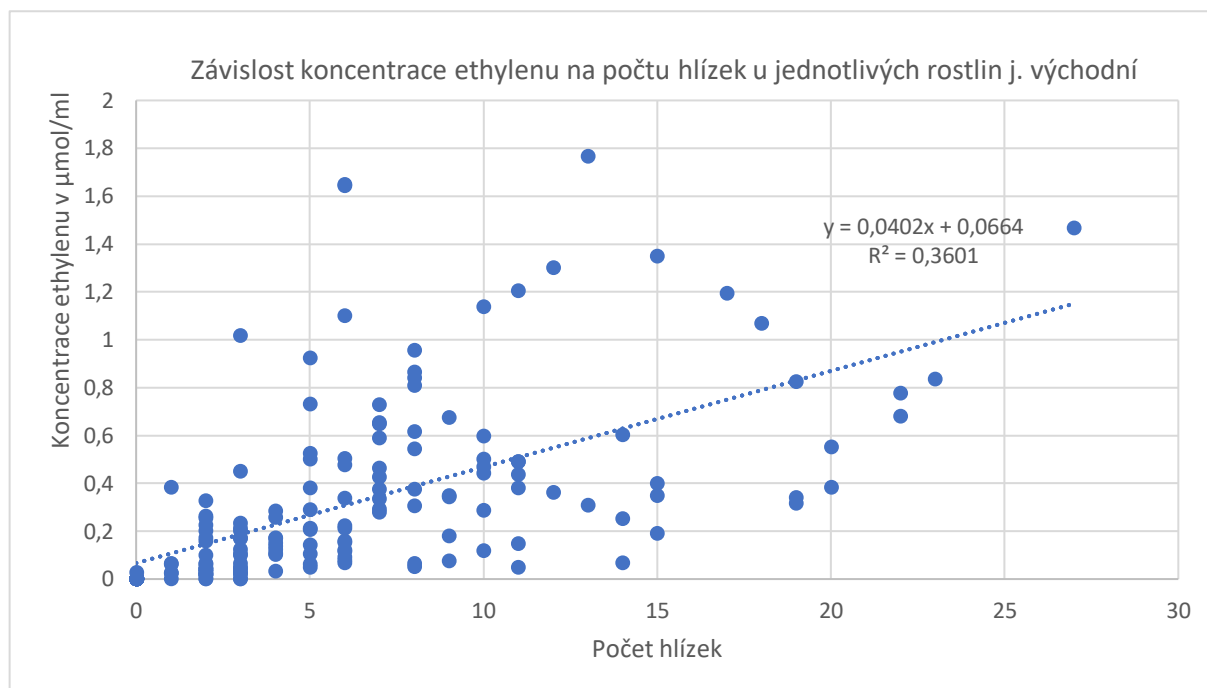
Graf 3: Podíl fixujících a nefixujících rostlin jestřabiny východní rozdělený dle jednotlivých kmenů mikroorganismů, které byly použity na přípravu inokula (značení kmenů: *Neorhizobium galegae* 1-6; NG 1-6; *Neorhizobium galegae* Kontrola: NG K)



Graf 4: Průměrná koncentrace ethylenu v $\mu\text{mol/ml}$ rozdělená dle jednotlivých kmenů mikroorganismů použitých pro přípravu inokula pro jestřabinu východní (značení kmenů: *Neorhizobium galegae* 1-6; NG 1-6; *Neorhizobium galegae* Kontrola: NG K)



Graf 5 ukazuje závislost koncentrace ethylenu v $\mu\text{mol/ml}$ na počtu kořenových hlízek jednotlivých rostlin – tento výsledek spolu s vypočítaným Pearsonovým korelačním koeficientem, který dosáhl hodnoty 0,6, tedy středně silné přímé závislosti, ukazuje trend, který je zřejmý i z Grafu 2 a 4, tedy že u námi použitých kmenů *Neorhizobium galegae* tvořícími symbiotický vztah s jestřabinou východní existuje vztah mezi počtem kořenových hlízek a hodnotou nitrogenázové aktivity. Zároveň je z výsledků také zřejmé, že všechny kmeny nejsou v tvorbě hlízek a ve fixaci vzdušného dusíku stejně efektivní, jako nejvhodnější kmeny pro přípravu inokul se jeví *Neorhizobium galegae* 1, 4 a 6.

Graf 5: Závislost koncentrace ethyleny v $\mu\text{mol/ml}$ na počtu kořenových hlízek u jednotlivých rostlin jeřábiny východní

Závěr

Cílem této studie bylo identifikovat mikrobiální kmeny půdních dusík fixujících bakterií získaných z izolací z kořenových hlízek čeledi Bobovité, které jsou uchovávány na pracovišti ZVT, a zároveň u vybraných kmenů ověřit jejich schopnost vytvořit funkční symbiotický vztah s odpovídajícími druhy rostlin, tedy tvořit kořenové hlízky a určit hodnotu nitrogenázové aktivity, a tím i míru jejich schopnosti fixovat vzdušný dusík. Identifikace byla provedena pomocí sekvenování oblasti 16S rRNA, která je běžně využívána k určení identity prokaryot. Po identifikaci bylo z vybraných bakteriálních kmenů, v našem případě se jednalo o kmeny druhu *Neorhizobium galegae*, připraveno tekuté inokulum, které bylo aplikováno vždy na 25 pokusných rostlin jeřábiny východní ve fenologické fázi BBCH 11 pěstovaných v nádobách s perlitem. Po čtyřech týdnech pěstování byly rostliny vyjmuty z perlitu a u jednotlivých kmenů byla hodnocena jejich schopnost tvořit kořenové hlízky pomocí spočítání hlízek na kořenech jednotlivých rostlin a míra nitrogenázové aktivity pomocí acetylen redukční metody (ARA).

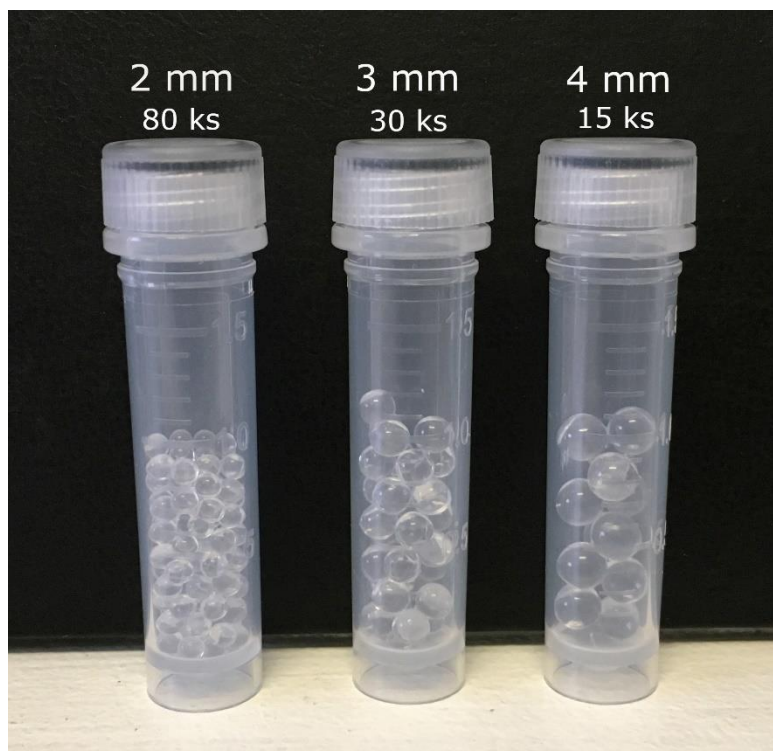
Provedená analýza ukázala, že mezi testovanými kmeny *Neorhizobium galegae* jsou rozdíly jak ve schopnosti tvořit hlízky, tak i v hodnotách nitrogenázové aktivity. Výsledky této studie pomohly identifikovat kmeny, jež mají lepší potenciál pro výrobu funkčních inokul, které budou využitelné dále v praxi. Dalším krokem je tedy provedení experimentů v polních podmínkách, kde budou z vybraných kmenů bakterií připravena inokula, která budou aplikována na osivo, a při nichž bude sledován vliv inokulace na vybrané fenotypové znaky pokusných rostlin.

Použitá literatura

- Freiberg, Christoph a kol. 1997. "Molecular Basis of Symbiosis between Rhizobium and Legumes." *Nature* 387(6631): 394–401.
- Gage, Daniel J. 2017. "2004 Infection and Invasion of Roots by Symbiotic, Nitrogen-Fixing Rhizobia during Nodulation of Temperate Legumes." *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR* 68(2): 203. <https://www.theccc.org.uk/wp-content/uploads/2017/06/2017-Report-to-Parliament-Meeting-Carbon-Budgets-Closing-the-policy-gap.pdf>.
- Hardy, R. W.F., R. C. Burns, and R. D. Holsten. 1973. "Applications of the Acetylene-Ethylene Assay for Measurement of Nitrogen Fixation." *Soil Biology and Biochemistry* 5(1): 47–81.
- Hauer, R. F., and G. A. Lamberti. 2017. *Methods in Stream Ecology: Volume 1: Ecosystem Structure* *Methods in Stream Ecology: Volume 1: Ecosystem Structure*.
- Kneen, Barbara E, and Thomas A Larue. 1983. "Congo Red Absorption by Rhizobium Leguminosarum." *Applied and environmental microbiology* 45: 340–42.
- Marchal, Kathleen, and Jos Vanderleyden. 2000. "The 'Oxygen Paradox' of Dinitrogen-Fixing Bacteria." *Biol Fertil Soils* 30: 363–73.
- Tittabutr, Panlada a kol. 2007. "Growth, Survival and Field Performance of Bradyrhizobial Liquid Inoculant Formulations with Polymeric Additives." *ScienceAsia* 33: 69–77.
- Trněný, Oldřich, and David Vlk. 2018. "Šlechtění Leguminóz Na Klíčové Agronomické Znaky Kořene: Molekulární Šlechtění Na Efektivitu Biologické Fixace Vzdušného Dusíku u Jetele Lučního (Trifolium Pratense L.)." In *Kořenový Systém Rostlin pro 21. Století*, Brno: Mendelova univerzita v Brně, 163–73.
- Unkovich, Murray a kol. 2008. *Measuring Plant-Associated Nitrogen Fixation in Agricultural Systems*. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR).
- Wendling, Marina a kol. 2016. "Influence of Root and Leaf Traits on the Uptake of Nutrients in Cover Crops." *Plant and Soil* 409(1–2): 419–34. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-016-2974-2>.
- Zhang, Xue Xian a kol. 2000. "The Common Nodulation Genes of Astragalus Sinicus Rhizobia Are Conserved despite Chromosomal Diversity." *Applied and Environmental Microbiology* 66(7): 2988–95. <http://aem.asm.org/> (October 5, 2020).

Dedikace

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení projektu DKRVO, číslo MZE-RO1720, financovaného Ministerstvem zemědělství.



Obr. 1: Způsob uchovávání kmenů symbiotických bakterií v kryokonzervovaném stavu na skleněných kuličkách při - 80 °C v tekutém kultivačním médiu dle Tittabutr a kol. (2007) s přidavkem glycerolu v objemu 150 ml/l kryoprotektiva.

Kontaktní adresa:

Mgr. Ing. Michaela Matoušková
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko, matouskova@vupt.cz

MAPOVACÍCH SYSTÉMŮ ISARIA A SENTINEL-2 PRO VARIABILNÍ APLIKACI DUSÍKATÝCH HNOJIV V PŠENICI OZIMÉ

Comparison of Sentinel-2 and ISARIA winter wheat mapping for variable rate application of nitrogen fertilizers

Mezera J., Lukas V., Elbl J., Smutný V.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Pro přihnojování porostů obilnin dusíkatými hnojivy lze využít nejrozličnější nástroje diagnostiky výživného stavu rostlin. Cílem studie bylo porovnání pozemního a dálkového snímání pro variabilní aplikaci dusíkatých hnojiv v pšenici ozimé. Metodika práce byla založena na sběru spektrálních dat z on-the-go systému ISARIA reprezentovaných vegetačními indexy IRMI a IBI a sadou vegetačních indexů z družicových snímků Sentinel-2. Experiment byl proveden v průběhu roku 2018 na vybraných pozemcích střediska Zdounky (Kroměříž) společnosti SALIX MORAVA a.s. na celkové ploše 355 ha. Studie prokázala vysokou úroveň korelace mezi vegetačními indexy senzoru ISARIA a všemi hodnocenými indexy družice Sentinel-2, což dává předpoklad využití dálkového průzkumu jako alternativy k pozemním senzorovým systémům. Z hlediska výběru vegetačních indexů ISARIA bylo nejvyšších hodnot korelačního koeficientu s indexy z družice Sentinel-2 dosaženo pro index IRMI. Nejcitlivějšími vegetačními indexy Sentinel-2 k obsahu chlorofylu v listech a systému ISARIA byly indexy EVI, GNDVI a SRI.

Klíčová slova: precizní zemědělství, mapování porostů, dálkový průzkum

Abstract

The aim of the study was to compare proximal and remote sensing systems of winter wheat mapping for variable rate application of nitrogen fertilizers. The methodology of the work was based on the collection of spectral data from the ISARIA proximal crop sensor system, represented by the vegetation indices IRMI and IBI, and set of vegetation indices from Sentinel-2 satellite imagery, both on the trial fields. All experimental work was carried out at the farm company SALIX MORAVA a.s. (locality Zdounky, Kromeriz, Czech Republic) during the year 2018 on the selected fields with winter wheat and total area of 355 ha. The study has shown higher level of correlation between the ISARIA vegetation indices and all evaluated indices from Sentinel-2. Highest values of correlation with Sentinel-2 indices were achieved for the ISARIA's IRMI index. The most sensitive Sentinel-2 vegetation indices were EVI, GNDVI and SRI indices.

Key words: precision agriculture, crop sensing, remote sensing

Úvod

Precizní zemědělství je systém hospodaření na zemědělské půdě, který určuje produkční vstupy a pracovní operace na základě specifických podmínek prostředí. Tento systém je založen na nových nástrojích a zdrojích informací poskytovaných moderními technologiemi, mezi které patří globální polohový systém (GPS), geografické informační systémy (GIS), senzory mapující porost a výnos plodin, půdní senzory, dálkový průzkum Země (DPZ) a další (Santhosh a kol. 2003).

Senzorová diagnostika porostů plodin na principu spektrálního měření lze využít k odhadu strukturního stavu porostu a obsahu dusíku v rostlinách, např. pomocí vegetačních indexů získaných z pozemních senzorů (on-the-go) (Heege a kol. 2008) nebo systémů dálkového průzkumu (Hansen a Schjoerring 2003). Na základě znalosti obsahu chlorofylu v listech je možné připravit předpisové mapy pro cílenou aplikaci dusíkatých hnojiv (Delegido a kol. 2011). Cílená (variabilní) aplikace hnojiv pak představuje rozložení aplikovaného hnojiva na pozemku na základě podmínek prostředí a výživného stavu rostlin (Diacono a kol., 2013). 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.

Druhou kategorií spektrálních měření široce využívanou v zemědělství a agronomii je dálkový průzkum Země. Úroveň produkce plodin závisí na mnoha faktorech zahrnující reliéf terénu, půdní typ, půdní druh, dostupnost vláhy, množství živin, dále na klimatických podmínkách a pracovních zásazích. Všechny proměnné jsou velice variabilní v prostoru a čase, mohou se měnit v krátkých časových obdobích. Mapování pomocí DPZ může významně přispět k poskytnutí včasného a přesného obrazu o těchto jevech na velkých plochách s vysokou četností opakování (Atzberger 2013). Uživatelé nejen ze zemědělského sektoru mohou přitom využít volně (bezplatně) dostupná obrazová data z družicových systémů. Jedná se zejména o družicový systém Sentinel-2, který je vybaven multispektrálním senzorem (MSI) pokrývajícím oblast viditelného, blízkého infračerveného (NIR) a krátkovlnného infračerveného (SWIR) záření, ze kterých lze pomocí výpočtu vegetačních indexů stanovit základní biofyzikální parametry porostu plodin (Sonobe a kol. 2018).

Cílem této studie bylo porovnání dvou rozdílných přístupů při diagnostice výživného stavu porostů pšenice ozimé a návrhu variabilní aplikace dusíkatých hnojiv. Jedná se o on-the-go senzorový systém ISARIA, který se instaluje na zemědělskou techniku, a metody DPZ, konkrétně hodnocení stavu porostů na základě družicových multispektrálních dat Sentinel-2.

Materiál a Metody

Vstupní data byla získána mapováním vybraných pozemků střediska Zdounky společnosti SALIX MORAVA a.s. během roku 2018. Na pozemcích s celkovou výměrou 355 ha byla pěstována pšenice ozimá. Zdounky se nacházejí nedaleko Kroměříže (49.2978514N, 17.3931164E) v řepářské 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.

Pozemní snímání pomocí systému Fritzmeier ISARIA

Data byla získána mapováním porostu pomocí online senzorového systému Fritzmeier ISARIA (Obr. 15) během druhého (produkčního) přihnojování dusíkatých hnojiv. Výživný stav rostlin je hodnocen na základě spektrálního měření porostu pomocí čtyř aktivních LED diod ve čtyřech pásmech vlnových délek (660–780 nm), kdy jsou vypočítány dva vegetační indexy - Isaria Reflectance Measurement Index (IRMI), udávající obsah chlorofylu v listech a Isaria Biomass Index (IBI) udávající množství biomasy.

Záznamy vegetačních indexů byly staženy z palubního terminálu ISARIA a zpracovány pomocí nástrojů v programu ArcMap 10.6.1 (ESRI. Redlands. USA). Statistické hodnocení bylo provedeno v programu Statistica 12 (Tibco, USA).



Obr. 15: Mapování porostu a aplikace dusíkatých hnojiv pomocí systému Fritzemier ISARIA

Dálkový průzkum pomocí družice Sentinel-2

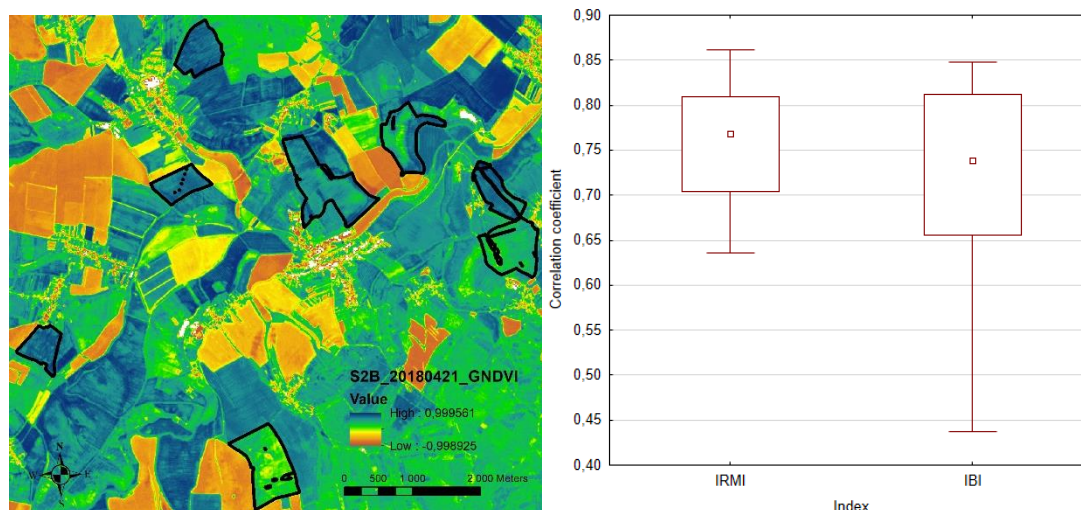
Snímky z družice Sentinel-2 byly vybrány tak, aby byly bez oblačnosti a blízké termínu pojezdu a snímání senzorovým systémem ISARIA. Datové sady byly staženy z otevřené databáze ESA open hub (Copernicus 2020), filtrovány maskou oblačnosti L2A s klasifikací scén. Pro vybrané čtyři termíny snímků během roku 2018 bylo z multispektrálních pásem vypočítáno 11 vegetačních indexů (viz. Tabulka 1).

Tab. 6: Vegetační indexy z družice Sentinel-2B (Sentinel Hub 2020, Klem a kol. 2014)

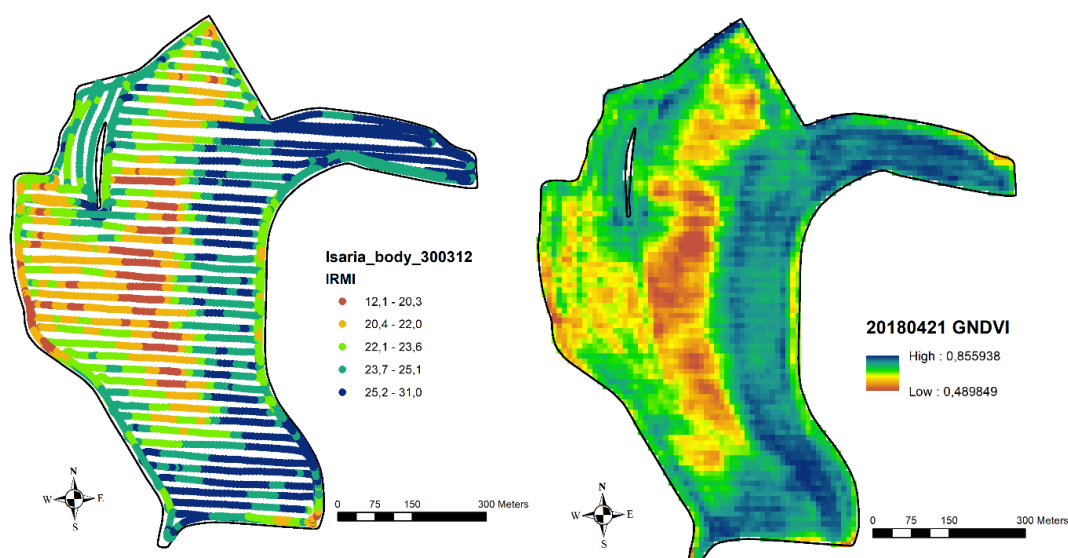
EVI	Enhanced Vegetation Index
EVI2	Enhanced Vegetation Index 2
GNDVI	Green Normalized Difference Vegetation Index
NDMI	Normalized Difference Moisture Index
NDRE	Normalized Difference Red Edge Index
NDVI	Normalized Difference Vegetation Index
NRERI	Normalized Red Edge Index
REIP	Red Edge Inflection Point
RENDVI	Red Edge NDVI
S2REP	Sentinel-2 Red-Edge Position
SRI	Simple Ratio Index

Výsledky a diskuze

Výsledky mapování pomocí senzorového systému ISARIA v podobě indexů IRMI a IBI a snímků z družice Sentinel-2 byly analyzovány pomocí nástrojů GIS. Ke každému bodu ze senzoru ISARIA byla přiřazena hodnota pixelu ve formě hodnoty vegetačního indexu z družice Sentinel-2. Následně byla data exportována do Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA) a poté do Statistica 12 (Tibco, USA), kde byla provedena korelační a regresní analýza. V krabicovém grafu (Obrázek 2) je porovnání mezi korelačními koeficienty indexů IRMI a IBI v závislosti na všech vegetačních indexech za všechny hodnocené termíny. Je patrné, že index IRMI má menší rozptyl hodnot a medián dosahuje vyšší hodnoty než v případě indexu IBI, avšak není mezi nimi statisticky významný rozdíl. Závislost mezi indexy systému ISARIA a indexy z družice Sentinel byla vyhodnocena pomocí Spearmanova korelačního koeficientu (Tabulka 2). Všechny hodnoty jsou statisticky významné na hladině významnosti 95 % díky velkému množství záznamů.



Obr. 16: Scéna vegetačního indexu GNDVI zkoumaných pozemků z družice Sentinel-2 (vlevo) a krabicový graf Spearmanova korelačního koeficientu (vpravo)



Obr. 17: Mapa indexu IRMI ze systému ISARIA (bodová vrstva) a vegetačního indexu GNDVI z družice Sentinel-2 (rastrová vrstva) pro vybraný pozemek

Tab. 7: Korelační matice Spearmanova korelačního koeficientu (r)

Datum 2018		Vegetační index										
		EVI	EVI2	GNDVI	NDMI	NDRE	NDVI	NRERI	REIP	RENDVI	S2REP	SRI
11. duben	IRMI	0,79	0,82	0,80	0,77	0,75	0,79	0,51	0,23	0,42	0,23	0,79
	IBI	0,85	0,79	0,84	0,76	0,83	0,85	0,53	0,31	0,44	0,31	0,85
18. duben	IRMI	0,80	0,74	0,78	0,81	0,75	0,80	0,72	0,48	0,69	0,48	0,80
	IBI	0,81	0,67	0,76	0,76	0,79	0,81	0,67	0,48	0,64	0,48	0,81
21. duben	IRMI	0,85	0,84	0,86	0,83	0,81	0,85	0,79	0,64	0,76	0,64	0,85
	IBI	0,84	0,81	0,83	0,79	0,82	0,84	0,73	0,60	0,70	0,60	0,84
28. duben	IRMI	0,70	0,76	0,72	0,84	0,76	0,70	0,81	0,77	0,81	0,77	0,70
	IBI	0,72	0,74	0,69	0,78	0,71	0,72	0,73	0,64	0,72	0,64	0,72

V korelační matici Spearmanova korelačního koeficientu je ve většině případů dosaženo vyšší hodnoty pro index IRMI, pouze v termínu 11. dubna bylo dosaženo vyššího koeficientu pro index IBI. Hodnota korelačního koeficientu je závislá i na termínu snímku družice Sentinel. Nejvyšší korelace bylo dosaženo pro termín 21. dubna 2018. Z hodnocených indexů bylo maximální hodnoty koeficientu dosaženo u indexu GNDVI a celkově nejvyšších hodnot dosáhl index EVI, NDMI a SRI. Naopak minimální hodnota korelace byla zjištěna u indexu NRERI a celkově nejnižších hodnot bylo dosaženo u indexů NRERI, REIP, RENDVI a S2REP. Na Obrázku 3 je pro vybraný pozemek porovnání vegetačního indexu IRMI systému ISARIA a indexu GNDVI z družice Sentinel-2, kde jsou patrné shodné lokality s vysokými a nízkými hodnotami.

Výsledky ve studii Vizzari a kol. (2019) ukazují, že rozdíly mezi vegetačními indexy, výnosem zrna a obsahem bílkovin byly zanedbatelné a obecně nevýznamné, ale studie Batchelor a kol. (2002) ukazuje, že zařazení modelů v rostlinné výrobě může vést k predikci výnosu zrna na základě údajů o počasí. Snímky z družice Sentinel-2, respektive vybrané vegetační indexy tedy mohou sloužit jako vhodný zdroj informace o rozložení variability na pozemku a jako nástroj pro tvorbu aplikačních map při variabilním aplikaci hnojiv. Nevýhodou je, že satelitní snímky mají nižší rozlišení, ale i to je pro účely variabilního hnojení dostatečné.

Systém ISARIA je aktivní a tedy do jisté míry nezávislý na světelných podmínkách prostředí. Dostupnost a následná kvalita snímaných scén z družice Sentinel je závislá na přítomnosti oblačnosti a je zde riziko nedostupnosti snímku v požadovaném termínu z důvodu přítomnosti oblačnosti ve scéně. Psomiadis a kol. (2017) ukazují, že při mapování vegetace více senzory mohou nastat různé problémy. Faktory, jako jsou přítomnost oblačnosti během snímání, sensorové a geometrické charakteristiky (úhel pohledu, zorné pole, výška slunce) ovlivňují přímou srovnatelnost vegetačních indikátorů mezi různými senzory.

Závěr

Mapování pomocí sensorového systému ISARIA poskytuje zásadní informace v precizním zemědělství o stavu porostů a o prostorové variabilitě v rámci pozemků. Na základě těchto údajů je možné provádět variabilní aplikaci hnojiv. Údaje o prostorové variabilitě porostů na základě vegetačních indexů je možné získat i ze satelitních snímků družice Sentinel-2.

V této studii byly hledány závislosti mezi vegetačními indexy systému Fritzmeier ISARIA a indexy z družice Sentinel-2B na vybraných pozemcích s pšenicí ozimou společnosti SALIX MORAVA a.s. během produkčního hnojení v dubnu 2018. Byly nalezeny korelace mezi oběma indexy IRMI a IBI a všemi vegetačními indexy z družice Sentinel-2. Celkově vyšších korelací s indexy ze Sentinel-2 bylo dosaženo pro index IRMI. Nejvyšších hodnot korelace bylo dosaženo pro index EVI, GNDVI a SRI, naopak nejnižších hodnot korelace dosáhly indexy NRERI, REIP, RENDVI a S2REP. Hodnota korelačního koeficientu je závislá i na termínu snímku Sentinelu. Nejlepších výsledků bylo dosaženo pro termín 21. dubna 2018. Je patrné, že online senzor pro variabilní hnojení může být do jisté míry nahrazen snímky z družice Sentinel, ale je zde velké riziko nedostupnosti snímků v požadovaném termínu z důvodu přítomnosti oblačnosti ve scéně.

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že systém precizního zemědělství je schopen poskytnout dostatečné informace o heterogenitě pozemku s potenciálem optimalizovat produkční vstupy v rostlinné výrobě. Ekonomický efekt je však dlouhodobý a závisí na schopnostech agronomů technologie přesného zemědělství implementovat do pěstování plodin.

Použitá literatura

Atzberger, C. 2013. Advances in Remote Sensing of Agriculture: Context Description, Existing Operational Monitoring Systems and Major Information Needs. *Remote Sensing*, 5(2): 949–981.

- Batchelor, W.D. a kol. 2002. Examples of strategies to analyze spatial and temporal yield variability using crop models. *European Journal of Agronomy*, 18: 141–158.
- Copernicus. 2020. Copernicus Open Access Hub [Online]. ESA. Available at: <https://scihub.copernicus.eu/> [2020-08-25].
- Delegido, J. a kol. 2011. Evaluation of Sentinel-2 red-edge bands for empirical estimation of green LAI and chlorophyll content. *Sensors*, 11(7): 7063–7081.
- Heege, H.J. a kol. 2008. Prospects and results for optical systems for site-specific on-the-go control of nitrogen-top-dressing in Germany. *Precision Agriculture*, 9: 115–131.
- Hansen, P.M., Schjoerring, J.K. 2003. Reflectance measurement of canopy biomass and nitrogen status in wheat crops using normalized difference vegetation indices and partial least squares regression. *Remote Sensing of Environment*, 86: 542–553.
- Klem, K. a kol. 2014. Využití měření spektrální odrazivosti a odvozených specializovaných vegetačních indexů v pěstební technologii jarního ječmene. *Metodika pro zemědělskou praxi*. Kroměříž, Brno, Havlíčkův Brod.
- Psomiadis, E. a kol. 2017. Evaluation and cross-comparison of vegetation indices for crop monitoring from Sentinel-2 and worldview-2 images. Conference: Remote Sensing for Agriculture, Ecosystems, and Hydrology.
- Santhosh, K. a kol. 2003. Remote sensing applications for precision agriculture: A learning community approach. *Remote Sensing of Environment*, 88: 157–169.
- Sentinel Hub. 2020. Sentinel 2 EO products [Online]. Ljubljana: Laboratory for geographical information systems, Ltd. Available at: https://www.sentinel-hub.com/develop/documentation/eo_products/Sentinel2EOproducts [2020-08-25].
- Sonobe, R. a kol. 2018. Crop classification from Sentinel-2-derived vegetation indices using ensemble learning. *Journal of Applied Remote Sensing*, 12(02).
- Vizzari, M. a kol. 2019. Sentinel 2-Based Nitrogen VRT Fertilization in Wheat: Comparison between Traditional and Simple Precision Practices. *Agronomy*, 9(6): 278.

Dedikace

Tato studie byla podpořena Interní grantovou agenturou Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně jako výzkumný projekt AF-IGA2020-IP054 „Využití družicových systémů Landsat a Sentinel-2 jako podklad pro variabilní aplikaci hnojiv“. Experimentální část studie byla realizována podporou výzkumného projektu TACR TH04010494. Data byla získána ve spolupráci se SALIX MORAVA a.s. (součást Spearhead Czech Ltd).

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

POUŽITÍ DIGESTÁTŮ S INHIBITORY NITRIFIKACE KE HNOJENÍ

The use of digestates with nitrification inhibitors for fertilization

Mühlbachová G., Káš M., Vavera R., Kusá H.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Abstrakt

Homogenizace inhibitoru nitrifikace (IN) s digestátem se v podmínkách zemědělské praxe ukázala jako problematická. Opakovaně byla v polních pokusech zjištěna nízká účinnost IN. K digestátu se přidává objemově jen velmi malé množství IN, což klade na řádnou homogenizaci velké nároky. Různé způsoby aplikace a homogenizace digestátu s IN do půdy a jejich vliv na obsah amonného a nitrátového dusíku byly proto posuzovány v poloprovozních polních pokusech, kde byly použity různé způsoby aplikace digestátu podle podmínek daného podniku. Současně byl sledován výnos kukuřice. Výsledky ukázaly, že obsah amonného dusíku byl v půdách v obou sledovaných podnicích po aplikaci IN v průběhu vegetační sezóny nízký, převažoval obsah nitrátového dusíku. Výnos kukuřice byl ovlivněn průběhem počasí ve sledovaných letech a možnostmi homogenizace digestátu s IN daného zemědělského podniku.

Klíčová slova: digestát; hnojení; půda; inhibitory nitrifikace; kukuřice

Abstract

Homogenization of the nitrification inhibitors (IN) with digestate was found to be problematic in agricultural practice. Low IN efficiency was repeatedly found in field experiments. Only a very small amount of IN is added to the digestate, therefore it requires a great attention for proper homogenization. Different methods of application and homogenization of digestate with IN into the soil and their effect on ammonium and nitrate nitrogen content were evaluated in field experiments. The different methods of application of digestate according to the conditions of the company were used. At the same time, the yields of the maize were determined. The results showed that the content of ammonium nitrogen in the soils in both agriculture companies after the application of IN during the growing season was low, the content of nitrate nitrogen prevailed. Maize yield was influenced more by the weather in the studied years and by the homogenization possibilities of digestate with IN of the agriculture company.

Keywords: digestate; fertilization; soil; nitrification inhibitors; maize

Úvod

V posledních letech se s rozvojem bioplynových stanic v zemědělských podnicích do popředí dostává problematika zacházení se zbytky po anaerobní digesci, tedy digestáty. Digestáty představují vzhledem k jejich obsahu živin potenciálně vhodné hnojivo, pokud se dbá na současné dodávání organické hmoty do půdy z jiných zdrojů. Digestáty obsahují 40–50 % N v organické formě, který je postupně mineralizován a zpřístupňován plodinám v amonné a dusičnanové formě (Svoboda a kol., 2015). S nitráty je spojené riziko vyplavení dusičnanů do podzemních vod, které může vzrůstat při nízkém čerpání dusíku pěstovanými plodinami a vysokých srážkách. Jedním z možných řešení je i pro značně vysoký obsah amonného dusíku v digestátech (Nkoa, 2014) aplikace inhibitorů nitrifikace k digestátu. Inhibitory nitrifikace zpomalují průběh nitrifikace o několik týdnů, což mohou využít některé rostliny s pozvolnějším růstem na počátku vegetace, kdy se uvolňování dusíku a přechod na nitráty posune do fáze, ve které rostliny dusík nejvíce využijí. Inhibitory nitrifikace tak zabraňují příliš rychlému procesu

nitrifikace, kdy zpomalují první fázi nitrifikace – nitritaci (Richter, Hlušek, 1999; Trenkel, 1994). V praxi se ale k digestátu přidává dle receptur a doporučení jednotlivých společností jen velmi malé množství inhibitoru nitrifikace, což klade velké požadavky na správnou homogenizaci inhibitorů nitrifikace a digestátu.

V poloprovozních polních pokusech byla v letech 2018 a 2019 posuzována aplikace digestátu s inhibitory nitrifikace do půdy a vliv aplikace digestátu s IN na obsah amonného a nitrátového dusíku. U inhibitorů nitrifikace se v praxi ukázala jako značně problematická homogenizace inhibitoru nitrifikace s digestátem. Proto byly v poloprovozních pokusech v zemědělských podnicích ověřovány různé způsoby homogenizace IN s digestátem.

Materiál a metody

Pro provozní pokusy byly vybrány dva zemědělské podniky s vlastní bioplynovou stanicí a s neseparovaným digestátem. Jeden podnik se nachází ve Středních Čechách v nadmořské výšce cca 355 m n.m. (Podnik 1) a druhý podnik se nachází na Vysočině v nadmořské výšce cca 500 m n.m. (Podnik 2). K digestátům byly před aplikací přidány inhibitory nitrifikace v závislosti na daném přípravku a v množství dle doporučení dané společnosti (2,5-6 l/ha). V pokusech byly použity dva inhibitory nitrifikace: IN1 s účinnými látkami 1,5 % Methyldiazol a 3 % Triazol a IN2 s účinnou látkou 20% nitrapyrin. Digestát s inhibitory nitrifikace byly v obou podnicích aplikovány před setím kukuřice.

U Podniku 1 bylo posuzováno celkem 5 variant hnojení. Jako kontrola byla použita aplikace digestátu bez IN. Byl zjišťován vliv způsobu homogenizace IN na obsah N_{min} v půdě (NH_4-N a NO_3-N). V prvním případě (IN1-1; IN2-1) byl inhibitor nitrifikace naaplikován přímo do přívodního potrubí aplikátoru Vredo a následně byl napuštěn digestát. Aplikátor Vredo používaný Podnikem 1 nemá vlastní aktivní promíchávání digestátu. Ve druhém případě (IN1-2; IN2-2) byl použit postup, který Podnik 1 používá – inhibitor nitrifikace byl naaplikován stejným způsobem do cisterny, která digestát převezla na pole, kde byl přepuštěn do aplikátoru a následně aplikován na půdu. Digestát byl vzápětí zapraven do půdy disky. Celková dávka digestátu byla 40 t/ha, což odpovídalo 200 kg N/ha.

V Podniku 2 byly zařazeny celkem 3 varianty pokusu: digestát bez IN jako kontrola; digestát+IN1; digestát+IN2. Pro aplikaci digestátu byl použit aplikátor Kotte s aktivní vývěvou v cisterně, která byla v provozu celou dobu od načerpání do aplikace na poli. Na rozdíl od Podniku 1, byl digestát zapravován diskováním do 2-3 hodin po aplikaci. Celková dávka dusíku v digestátu aplikovaného na jednotlivé varianty pokusu byla 125 kg N/ha (30 t/ha). Podnik dále aplikoval dalších 75 kg N/ha v minerálních hnojivech (močovina a Amofos).

V obou podnicích byl zjištěn výnos kukuřice. Obsah N_{min} (NH_4-N a NO_3-N) byl stanoven v průběhu růstu (10. list) a v době sklizně ve výluhu síranu draselného při navážce 50 g zeminy a 250 ml 1 % K_2SO_4 na kolorimetru SAN^{PLUS} System analyser.

Výsledky a diskuze

Podnik 1: V průběhu vegetační sezóny 2018 byl obsah NH_4-N v půdě v 10. listu velmi nízký, celkový obsah N_{min} . (převážně NO_3-N) byl nejvyšší ze sledovaného období 2018 a 2019 (Graf 1a). Nejvyšší obsah N_{min} (357 kg N_{min} /ha) byl zjištěn v půdě bez aplikovaných inhibitorů nitrifikace. Obsahy minerálního dusíku v půdách, kde byly aplikovány IN, se pohybovaly mezi 252 – 308 kg N/ha). Nebyl potvrzen vyšší obsah amonného dusíku v půdě, který by mohl signalizovat pozvolnější nitrifikační aktivitu v půdách a postupný příjem dusíku rostlinou. Vzhledem k probíhajícímu suchu v roce 2018 byla sklizeň kukuřice 20.8. 2018.

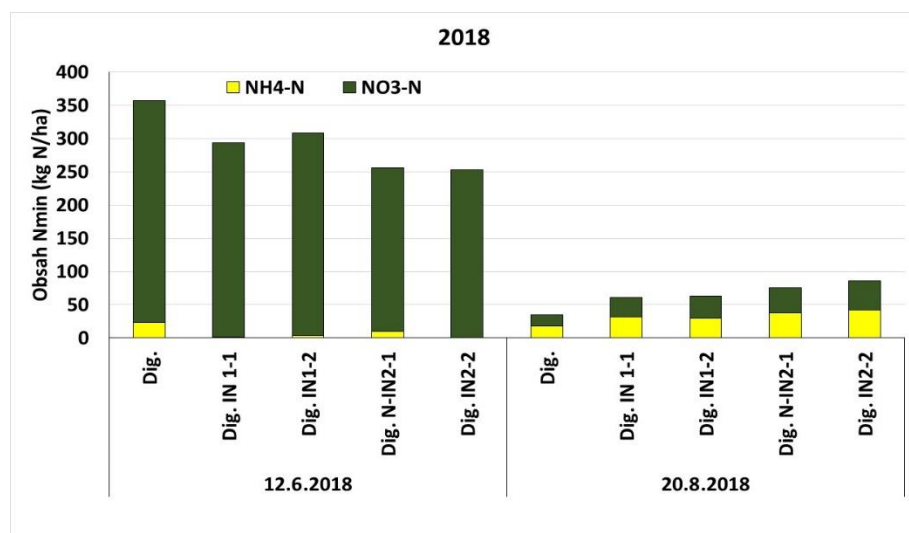
V době sklizně se obsah Nmin v půdě po aplikaci digestátu pohyboval mezi 35 -85 kg N/ha, kdy nejnižší hodnota byla zjištěna po aplikaci digestátu bez IN, nejvyšší obsah Nmin byl zjištěn po aplikaci digestátu s IN2. Z celkového obsahu Nmin v půdě v době sklizně bylo 46-49% zjištěno v amonné formě. V době sklizně se nicméně nedá předpokládat větší vliv inhibitorů nitrifikace, v tomto případě mohlo jít o částečnou mineralizaci organického dusíku. Nebyly zjištěny větší rozdíly mezi jednotlivými způsoby míchání digestátu s IN.

V průběhu vegetační sezóny 2019 (odběr půdy v 10. listu) se obsah Nmin v půdním profilu 0–30 cm pohyboval od 124 kg N/ha (pouze digestát) do 270 kg Nmin (digestát + IN2-2) (Graf 1b). Obsah Nmin ve variantách s aplikovanými inhibitory nitrifikace se pohyboval mezi 142-270 kg N/ha, z toho většinu představoval nitrátový dusík. Podíl amonného dusíku v půdě byl v porovnání s obsahem nitrátového N nízký (6,23 kg NH₄-N/ha – pouze digestát až 28kg NH₄-N/ha – digestát + IN2-1 při plnění aplikátoru u jímky). Celkově obsah amonného dusíku v půdě ve variantách s inhibitory nitrifikace v 10. listu nepřesáhl 12% z celkového obsahu Nmin. Obsah NH₄-N v půdě s aplikovaným digestátem bez IN představoval 2,2%. Lze konstatovat, že inhibitory nitrifikace mohly mírně ovlivnit proces mineralizace dusíku a částečně zpomalit přeměnu amonného dusíku na nitrátový. Současně byl obsah Nmin v půdě po aplikaci inhibitorů nitrifikace vyšší než po aplikaci samotného digestátu.

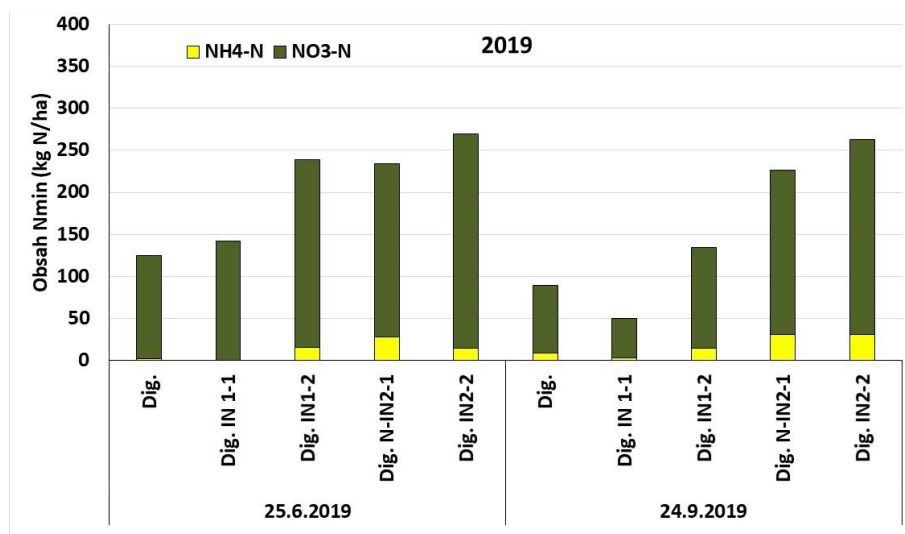
Na rozdíl od roku 2018, kdy se po sklizni ve vrstvě 0–30 cm vyskytovalo i značné množství amonného dusíku (46-49%), se ve srážkově bohatším roce 2019 naprostá většina minerálního dusíku vyskytovala v nitrátové formě. Obsah Nmin v půdě po aplikaci samotného digestátu v době sklizně představoval 90 kg N/ha, přičemž převažoval nitrátový dusík. Půdy, kde byl aplikován některý z inhibitorů nitrifikace, obsahovaly 50-263 kg N/ha.

Graf 1a, b: Obsah Nmin v půdách Podniku 1 v letech 2018 (a) a 2019 (b)

a)



b)

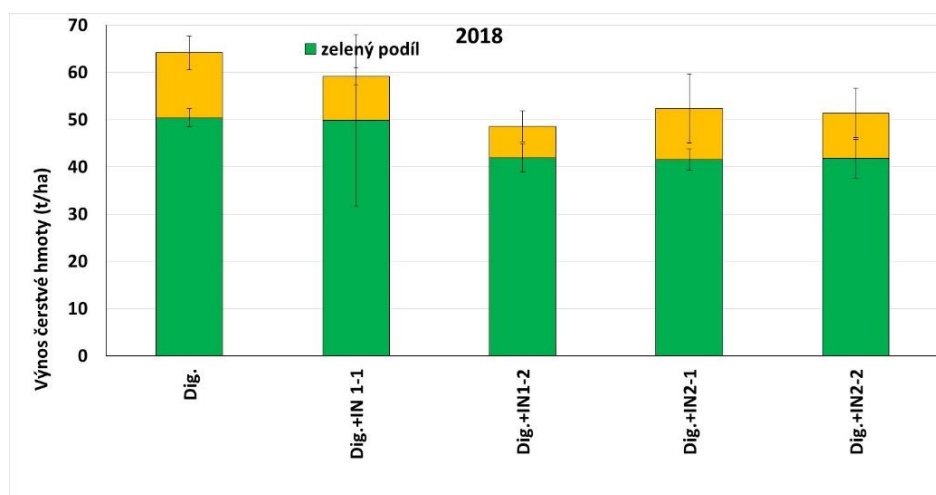


Výnos čerstvé hmoty kukuřice v roce 2018 je zobrazen v Grafu 2a. Nejvyšší výnos v roce 2018 byl zjištěn po aplikaci digestátu bez přidavku IN (64 t/ha). Výnos u většiny ostatních variant hnojení se pohyboval mezi 47-59 t/ha. Suchý rok 2018 byl charakterizovaný velmi nízkým hmotnostním podílem sklizených palic (13-21 %).

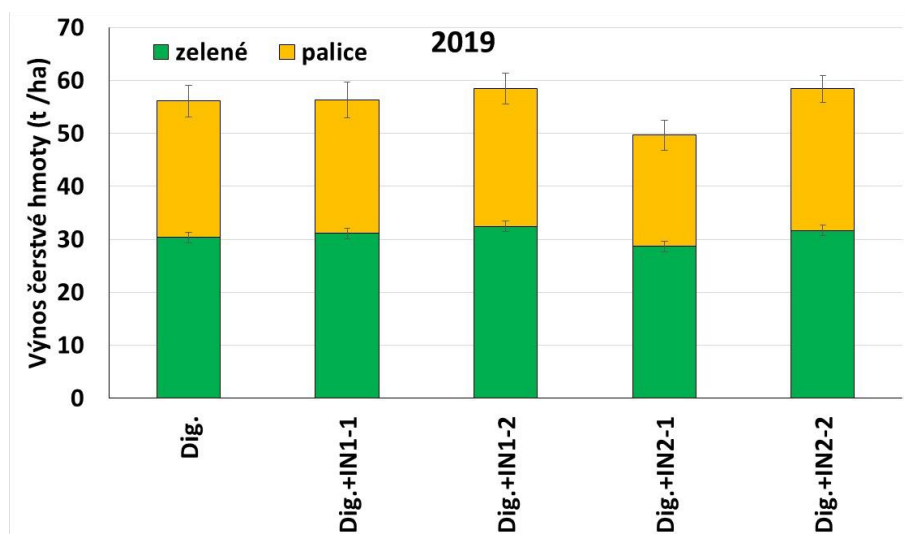
V roce 2019 se celkový výnos kukuřice pohyboval mezi 50 – 63 t/ha čerstvé hmoty, což hmotností odpovídalo výnosu v roce 2018. Na rozdíl od roku 2018 byl v roce 2019 výnos kukuřice po digestátu s IN srovnatelný s výnosem bez aplikace inhibitorů nitrifikace. Při sklizni byl mírně vyšší výnos hmoty kukuřice zjištěn po přepuštění digestátu s IN na poli. Aplikace inhibitorů nitrifikace v roce 2019 nezvýšila celkový výnos hmoty kukuřice, při jeho aplikaci u jímky bez přepuštění digestátu na poli, byl výnos kukuřice dokonce mírně nižší.

Graf 2a, b: Výnos kukuřice v Podniku 1 v letech 2018 (a) a 2019 (b)

a)



b)



Podnik 2: V červnu 2018 byl obsah Nmin v půdě vysoký, což bylo způsobeno částečně hnojením, kde byla přidána i minerální hnojiva, tak částečně i suchým průběhem vegetační sezóny, kdy nedocházelo k odpovídajícímu odběru dusíku rostlinami, ale ani jeho pohybu do nižších vrstev půdního profilu. Obsah amonného dusíku při průběžném odběru v 10. listu byl ve všech variantách hnojení s digestátem nízký a představoval 6 – 17% celkového Nmin, mírně vyšší procento amonného dusíku bylo zjištěno u varianty s aplikovaným IN1 (Graf 3a). Při sklizni bylo, podobně jako u Podniku 1 v půdě zjištěno vyšší procento amonného dusíku než v červnu (48-51%), přičemž aplikované IN obsah $\text{NH}_4\text{-N}$ spíše snižovaly. Celkově byly v půdách v době sklizně zjištěny vysoké obsahy Nmin. Nižší hodnoty zjištěné u varianty s IN1 mohou souviset s výnosem kukuřice, který byl u těchto variant, na rozdíl od Podniku 1, vyšší (Graf 4a). V podmínkách sucha se u Podniku 2 větší vliv inhibitorů nitrifikace, pokud jde o výsledky rozboru půd, neprojevil, vyšší obsah amonného dusíku v době sklizně lze spíše spatřovat v mineralizační činnosti půd. Na obsah Nmin v půdě mělo vliv mimo jiné sucho roku 2018, kdy dusík nakonec zůstal nevyužitý v půdě.

V červnu 2019 byl zjištěn obsah Nmin v půdě ve vrstvě 0–30 cm od 153 kg N/ha (Digestát +IN2) po 308 kg N/ha (Digestát+IN1). Tyto hodnoty byly částečně způsobeny hnojením, ale také probíhající mineralizací dusíku. Obsah amonného dusíku při odběru v 10. listu z celkového Nmin představoval 0,01 % u varianty s digestátem bez IN a až 12 % u varianty s aplikovaným IN1 (Graf 3b), u které lze předpokládat částečný vliv použitého IN na nitrifikační aktivitu. Při sklizni bylo, podobně jako u Podniku 1 v půdě zjištěno vyšší procento amonného dusíku než při odběru v 10. listu (8-25%), přičemž po aplikaci IN byly většinou zjištěny nižší hodnoty $\text{NH}_4\text{-N}$. V době sklizně se obsahy Nmin pohybovaly mezi 28 (Digestát) až 112 kg N/ha (Digestát+IN2). Na obsah Nmin v době sklizně měl vliv průběh počasí, kdy výraznější srážky v roce 2019 zajistily optimálnější růst rostlin. Současně se ukazuje, že ve vlhčích půdních podmínkách se účinnost některých inhibitorů nitrifikace může lišit oproti suchému roku.

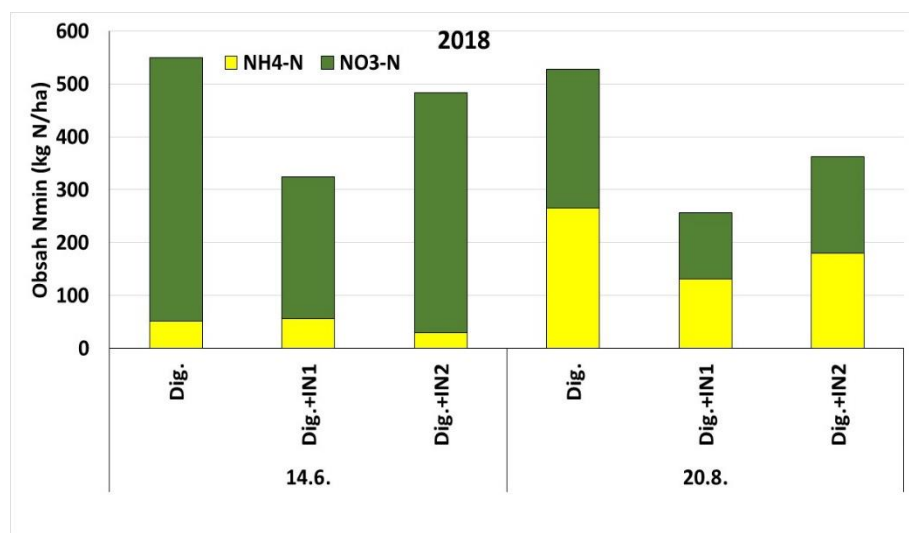
Na rozdíl od Podniku 1 byl výnos čerstvé hmoty kukuřice v roce 2018, kdy v porovnání s variantou, kde byl aplikován pouze digestát, po přidavku IN1 k digestátu, výnos vyšší po aplikaci IN1 o 4,5 t/ha a u IN2 o 1,9 t/ha (Graf 4a). Podobně jako v Podniku 1 byl výnos palic v roce 2018 nízký (20-28 %). V roce 2019 byl zjištěn výnos hmoty kukuřice mezi 42-50 t/ha, kdy vyšší výnos byl zjištěn po aplikaci obou použitých inhibitorů nitrifikace až o 8 t/ha (Graf 4b). Podnik 2 používá účinnější homogenizaci digestátu, což se sice příliš neprojevilo

v obsahu amonného dusíku, ale v obou sledovaných letech byl po aplikaci inhibitorů nitrifikace zaznamenán nárůst výnosů čerstvé hmoty kukuřice.

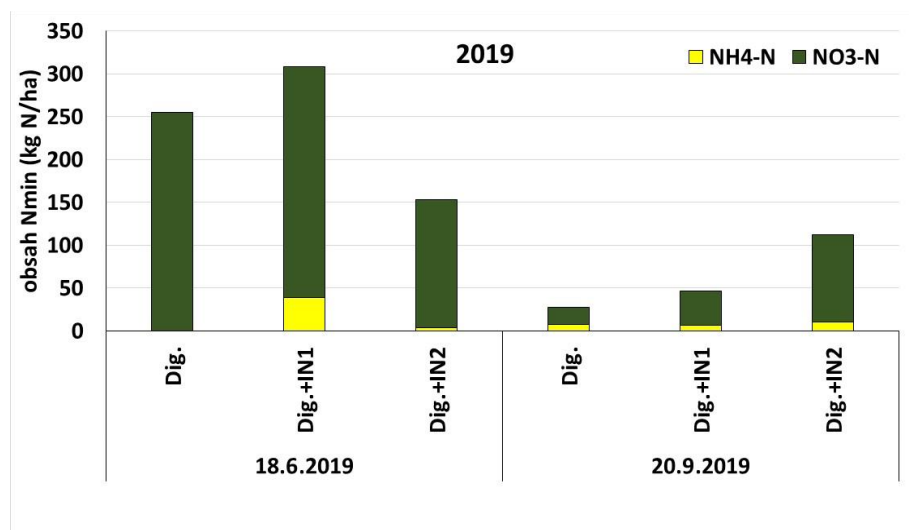
Na základě výsledků nelze po aplikaci inhibitorů nitrifikace v praktických podmínkách zemědělských podniků potvrdit nižší míru nitrifikace, jak uvádějí například Richter a Hlušek, (1999) nebo Trenkel (1994). Aplikace inhibitorů nitrifikace v podmínkách sucha navíc nemusí vést ke zlepšenému výnosu kukuřice, což ukázal rok 2018 a výsledky v Podniku 1. Nižší výnos kukuřice po digestátu s inhibitorem nitrifikace v podmínkách sucha byl ale zjištěn i Duffkovou a kol. (2016). V roce 2019 byl výnos kukuřice v Podniku 1 ve většině způsobů aplikace digestátu a IN podobný jako po aplikaci samotného digestátu, ale v Podniku 2 byl po aplikaci inhibitorů nitrifikace zjištěn výnos čerstvé hmoty kukuřice vyšší až o 8 t/ha, tedy o 17-18 %. Lze tedy konstatovat, že v Podniku 2 hospodařícího na Vysočině se ve vlhčím roce 2019 výnos kukuřice po aplikaci inhibitorů nitrifikace zvýšil. Tento podnik má také k dispozici lepší homogenizační techniku pro lepší promíchání digestátu s přidaným IN.

Graf 3a, b: Obsah Nmin v půdě v Podniku 2 v letech 2018 (a) a 2019 (b)

a)

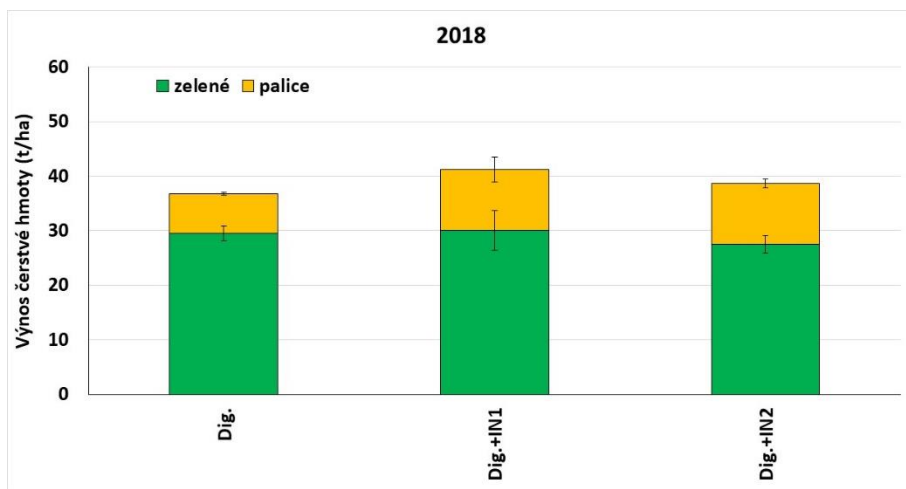


b)

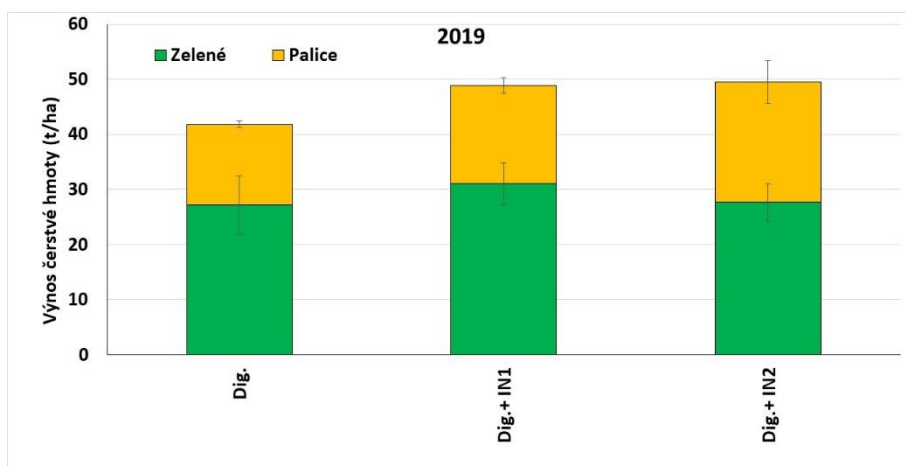


Graf 4a, b: Výnos kukuřice v Podniku 2 v letech 2018 (a) a 2019 (b)

a)



b)



Závěr

Dosažené výsledky ukazují, že v praxi, pokud jsou inhibitory nitrifikace aplikovány, je třeba dbát na důkladnou průběžnou homogenizaci s digestátem, což je ale pro celou řadu zemědělských podniků v současné době problém, protože často nedisponují odpovídající technikou. V těchto podnicích není ekologicky ani ekonomicky opodstatněné používat inhibitory nitrifikace v kombinaci s aplikací organických hnojiv. Aplikace inhibitorů nitrifikace nemusí proto v méně příznivých povětrnostních podmínkách (sucho) zabezpečit ani vyšší výnos ani nižší nitrifikační aktivitu v půdě. V praxi, pokud jsou IN použity, je proto třeba dbát na jejich dostatečnou homogenizaci s tekutými organickými hnojivy po celou dobu od jejich přidavku k digestátu až po vlastní aplikaci na pole.

Použitá literatura:

- Duffková R., Mühlbachová G., Matějka J., Zajíček A., Kusá H., Káš M., Nobilis L., Bartoš P., Fendrych B. (2016): Metodický postup pro efektivní užití digestátu ze zemědělských bioplynových stanic. Certifikovaná metodika, VÚMOP, v.v.i., VURV, v.v.i.: 84 str.
- Nkoa, R. 2014. Agricultural benefits and environmental risks of soil fertilization with anaerobic digestates: a review. *Agron Sustain Dev*, 34:473-492.
- Richter R., Hlušek J. (1999): Výživa a hnojení rostlin – I- Obecná část, MZLU Brno
- Svoboda, N., Taube, F., Kluß, Ch., Wienforth, B., Sieling, K., Hasler, M., Kage, H., Ohl, S. Hartung, E., Herrmann, A. 2015. Ecological Efficiency of Maize-Based Cropping Systems for Biogas Production. *Bioenerg. Res.* 8:1621–1635. DOI 10.1007/s12155-015-9614-1
- Trenkel M.E. (1997): Controlled release and stabilized fertilizers in agriculture (Improving fertilizer use efficiency), International Fertilizer Industry Association (IFA)

Poděkování: Výzkum byl podpořen projekty MZE RO0418 a MZE „Nitrátová směrnice“.

Kontaktní údaje:

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

HODNOCENÍ APLIKOVANÉHO VÝZKUMU V PODMÍNKÁCH MALÝCH A STŘEDNÍCH PODNIKŮ

Methodics of evaluation of applied research in the conditions of SMEs

Nedělník, J.^{1,2}, Kubáňková, M.¹, Hyršlová, J.¹

¹*Aktivita pro výzkumné organizace, o.p.s*

²*Zemědělský výzkum, spol. s r.o.*

Abstrakt

Účelem řízení výzkumu a vývoje je zajistit pružnou reakci na měnící se prostředí společnosti, provázat strategické řízení výzkumu a vývoje s operativní činností, strukturovat odpovědnost týkající se nákladů, výnosů, zisku a investičních rozhodnutí takovým způsobem, který bude v souladu se strategií celé společnosti. Metoda Balanced Scorecard představuje nástroj, který umožňuje společnosti sledovat vytváření hodnot a řídit výkonnost výzkumu a vývoje pomocí vyvážené kombinace finančních a nefinančních ukazatelů. Cílem příspěvku je prezentovat novou metodiku hodnocení aplikovaného výzkumu zaměřenou zejména na malé a střední podniky.

Klíčová slova: řízení výkonnosti vědy a výzkumu, Balanced Scorecard, malé a střední podniky

Abstract

The purpose of R&D management is an appropriate reaction to all external and internal factors and their alignment with managerial activities. R&D performance management shall structure responsibilities regarding finance and investment to R&D in accordance with the over all strategy of a given company. Balanced Scorecard method is a tool that support management of value creation; R&D performance management can take an advantage of a balanced combination of financial and non-financial indicators. The aim of the paper is to present a new methodics for the evaluation of applied research developed for small and medium-sized enterprises.

Keywords: R&D performance management, Balanced Scorecard, small and medium-sized enterprises

Úvod

Účelem řízení výzkumu a vývoje (dále jen „VaV“) je zajistit pružnou reakci na měnící se prostředí v organizaci i v celém vnějším prostředí (Teece, 2010), provázat strategické řízení VaV s operativní činností a strukturovat odpovědnosti týkající se hodnotových parametrů VaV (nákladů, výnosů, zisku) a investičních rozhodnutí takovým způsobem, který bude v souladu se strategií celé společnosti. Jedním z problémů souvisejícím s řízením VaV je rozhodnutí o optimální úrovni celkových nákladů vynaložených na VaV. K dalším úkolům managementu v souvislosti s řízením VaV patří provázat strategii VaV činnosti se strategií celé organizace (Bremser a Barsky, 2004), motivovat výzkumné pracovníky a stimulovat „učící se“ kulturu společnosti (Chiesa a kol., 2009) a rozhodovat o výzkumu realizovaném v partnerství s výzkumnými organizacemi (Pearson a kol., 2000). V neposlední řadě také vyhodnocovat rentabilitu vynaložených nákladů (Guo a kol., 2018) a optimalizovat zdroje vynakládané na VaV (Khosinev a Tierlinck, 2018). Hodnocení přínosů VaV by mělo být součástí řízení VaV – řízení by se nemělo omezit pouze na analýzu výdajů (Bremser a Barsky, 2004). Manažeři

dávají přednost finančním kritériím (Tuomela, 2005), přičemž cíle ve finanční oblasti jsou stanoveny jako jasná pravidla (Jorgensen a Messner, 2010).

Úspěšnost VaV činnosti, resp. VaV projektů však nezávisí jen na kvalitě práce, znalostech, zkušenostech a dovednostech výzkumníků, vývojářů, konstruktérů a technologů. O úspěšnosti rozhoduje i úroveň řízení celého procesu VaV. Pro vnímání úlohy a pozici VaV činnosti ve společnosti je také důležité, jaké místo zaujímá orientace na VaV a inovace v organizační kultuře. Důležité jsou také celkový vliv této kultury na vytváření a realizaci inovačních podnětů (inovační kultura identifikovatelná jako součást organizační kultury) a zda realizace VaV a inovační strategie nebude případně vyžadovat změnu organizační kultury, což je ovšem jeden z nejnáročnějších úkolů. Proces řízení a tvorba strategií vyžadují solidní informační základy. Zejména stanovení cílů a úvahy o strategických záměrech je nutné vždy podložit odpovídající situační analýzou (situačním auditem). Bez rozpoznání současného stavu a stanovení cíle se nedají jakékoli změny realizovat, nebo je jejich realizace velmi obtížná a zdlouhavá.

Malé a střední podniky (dále „MSP“) jsou hnací silou mnoha národohospodářských odvětví a páteří průmyslu (Coyte a kol., 2012; Mittal a kol., 2018). Jsou považovány za důležitý ekonomický sektor, který je zdrojem ekonomického růstu a bohatství celé společnosti a zdrojem nových pracovních míst (Coyte a kol., 2012; Mayer-Haug a kol., 2013). A to zvláště v „nových“ ekonomických odvětvích závislých na nových technologiích (Coyte a kol., 2012). MSP hrají klíčovou roli v inovačním procesu, neboť se intenzivněji zapojují do výzkumných a inovačních aktivit (Mayer-Haug et al., 2013). MSP řeší odlišné výzvy v porovnání s velkými podniky (Mittal a kol., 2018), proto manažerské přístupy a nástroje navržené pro velké podniky nelze jednoduše v podmínkách MSP aplikovat (Mittal a kol., 2018; Pearson a kol., 2000). Neustálé sledování vnitřních a vnějších tržních faktorů a jejich vyhodnocování ukazuje oblast, na kterou je nutné se zaměřit pro udržení konkurenčního postavení a zvýšení výkonnosti (De Clercq a kol., 2014). Způsob práce s informacemi, vyhodnocování nových trendů a jejich promítání do strategického řízení je tak jednou z příležitostí a výzev pro MSP (Wuest a Thoben, 2011). MSP potřebují kvalitní manažerské nástroje pro samotné přežití (Frick a Ali, 2013). Cílem příspěvku je prezentovat novou metodiku hodnocení aplikovaného výzkumu zaměřenou zejména na MSP.

Základní východiska a použité metody

Nástroje a metody využívané při řízení VaV činnosti (zejména při řízení jednotlivých projektů VaV) by měly využívat jak kvantitativní, tak také kvalitativní ukazatele (Chiesa a kol., 2009; Bremser a Barsky, 2004), zahrnovat jak finanční, tak nefinanční hodnocení, a především by měly být provázané s nástroji strategického řízení (Nixon a Burns, 2012). Specifickým a zcela zásadním předpokladem úspěšného řízení VaV činnosti a VaV projektů je důsledné hodnocení jejich výkonnosti. Literatura věnovaná řízení výkonnosti VaV činnosti doporučuje širokou škálu kvantitativních a kvalitativních přístupů k hodnocení (Pearson a kol., 2000). Obecným závěrem je, že žádný jednotný systém řízení nemůže vyhovovat všem podmínkám konkrétní organizace, proto by hodnocení výkonnosti VaV činnosti mělo být v souladu se způsobem, jakým je tato činnost organizována, plánována a zahrnuta v rozpočtu, včetně struktury řízení a rozhodovacích procesů, a mělo by se vztahovat k funkcím a převažující kultuře konkrétní společnosti (Pearson a kol., 2000; Chiesa a kol., 2009).

Metoda Balanced Scorecard (dále jen „BSC“) představuje nástroj, který umožňuje podniku sledovat vytváření hodnoty a patří k nejpropracovanějšímu a nejznámějšímu nástroji řízení výkonnosti. Používá i kvalitativní hodnocení výkonnosti a orientuje se na budoucí vývoj (Wagner, 2011). Rozpad ukazatelů BSC používaných pro řízení celé společnosti na jednotlivá oddělení (např. právě pro řízení oddělení VaV) může zabezpečit soulad cílů VaV činnosti (resp. konkrétních projektů) s dlouhodobými cíli podnikatelského subjektu (Bremser a Barsky, 2004). BSC umožní řídit výkonnost VaV činnosti pomocí vyvážené kombinace finančních a

nefinančních ukazatelů v čase tak, aby byl zohledněn dlouhodobý inovační proces, při kterém jsou identifikovány nové trhy, zákazníci a jejich potřeby a je dosaženo maximální hodnoty využití těchto příležitostí. Podnikatelské subjekty mají různé cíle v oblasti VaV, proto čtyři užívané perspektivy v rámci BSC (finanční, zákaznická, znalostní a inovací a interních procesů) mají pro rozdílné společnosti rozdílný význam (Salimia a Rezaeib, 2018); konkrétní ukazatele pro řízení VaV činnosti (a to včetně jednotlivých projektů) by proto měly odpovídat těmto cílům a prioritám.

Tato výše uvedená teoretická východiska se stala základem pro vytvoření nové Metodiky hodnocení aplikovaného výzkumu v podmínkách malých a středních podniků (dále jen „Metodika“). Metodika je výsledkem VaV aktiv zejména v oblasti strategického managementu zaměřeného na oblast řízení VaV, které byly realizovány v rámci projektu *“Aplikace výzkumných metod při systémové identifikaci potenciálu, nastavování a upevňování vazeb mezi podnikovou sférou a výzkumnou infrastrukturou”* (TL02000356) podpořeného z programu ETA TAČR. Metodika byla ověřena formou případových studií, které probíhaly ve vybrané společnosti označené jako A v těchto krocích:

1. Cíle a obsah Metodiky byly představeny vedení společnosti.
2. Byly realizovány strukturované rozhovory pro analýzu stávajícího způsobu řízení VaV činnosti, resp. jednotlivých VaV projektů, včetně přístupu k hodnocení jejich výkonnosti, který je ve společnosti užíván.
3. Byla formulována doporučení pro řízení VaV činnosti (i jednotlivých VaV projektů) a byl navržen systém ukazatelů v rámci BSC pro danou společnost.

Výsledky a diskuze

Metodika představuje nástroj, který může podnikatelský subjekt využít ke zlepšení řízení VaV činnosti tak, aby tato činnost byla zcela v souladu s jeho strategickými cíli, přispěla k udržení, resp. růstu jeho konkurenceschopnosti a její přínos bylo možné hodnotit. Metodika doporučuje tři kroky.

V prvním kroku je nutné identifikovat strategické cíle společnosti a cílové hodnoty v oblasti výkonnosti. Je třeba zjistit informace týkající se:

- charakteristiky produktů společnosti, jaká je hlavní konkurenční výhoda společnosti, co je nejdůležitější pro její udržení, resp. růst, jaké jsou strategické cíle společnosti a jaká je jejich vazba na jednotlivé oblasti (perspektivy) BSC;
- charakteru VaV činnosti ve společnosti (základní výzkum, aplikovaný výzkum, vývoj nových produktů apod.);
- cílů stanovených pro oddělení VaV, resp. pro VaV činnost, resp. pro jednotlivé VaV projekty (např. rentabilita výdajů na VaV, výše obrátu věnovaného na VaV, indikátory používané pro měření výkonnosti a jejich cílové hodnoty);
- konkrétních nástrojů využívaných společností pro řízení výkonnosti (jak je sledováno a vyhodnocováno plnění stanovených kritérií, jak jsou ukazatele výkonnosti VaV navázány na celopodnikové cíle);
- operativního řízení VaV činnosti, resp. jednotlivých VaV projektů;
- způsobu stanovování úkolů pro jednotlivé pracovníky i týmy (vazba výsledků týmů na plnění cílů společnosti), hodnocení pracovníků (zpětná vazba);
- úrovně horizontální a vertikální komunikace, sdílení informací a zkušeností mezi jednotlivými týmy a úrovně spolupráce v rámci společnosti;
- komunikace se zákazníky, promítnutí požadavků zákazníků do VaV činnosti, resp. do jednotlivých VaV projektů, měřitelnosti dopadů práce týmů na plnění požadavků zákazníků;

- podpory ze strany vedení společnosti ke komunikaci odlišného názoru a postoje, k diskuzím na téma směřování společnosti, otevřenost ke změnám;
- monitorování a předávání (sdílení) získaných zkušeností z ukončených projektů.
-

Na základě analýzy získaných poznatků lze poté identifikovat slabé stránky systému řízení VaV činnosti i jednotlivých VaV projektů.

V druhém kroku Metodika doporučuje vytvořit vhodný systém indikátorů pro řízení výkonnosti VaV činnosti, resp. jednotlivých VaV projektů. Společnost by měla postupovat v těchto krocích:

- Transformovat strategické cíle společnosti do systému indikátorů pro jednotlivé oblasti (perspektivy) tak, aby splnění těchto indikátorů umožnilo naplnit strategické cíle společnosti jako celku. V tomto kroku bude navržen systém indikátorů pro oblast finanční výkonnosti, interních procesů, zákazníků a oblast nových znalostí a inovací (proces učení se). Současně je třeba stanovit odpovědnosti za plnění stanovených indikátorů a také způsob jejich vyhodnocování.
- Vytvořit systém indikátorů pro oblast VaV činnosti, resp. jednotlivé VaV projekty tak, aby byl navázán na jednotlivé oblasti (perspektivy) a aby splnění těchto indikátorů přispělo ke splnění strategických cílů společnosti jako celku. I v tomto případě je třeba stanovit odpovědnosti za plnění stanovených indikátorů a také způsob jejich vyhodnocování.
-

Posledním (třetím) krokem je podle Metodiky zavedení indikátorů do systému řízení společnosti, tj. rozhodnutí o tom:

- jak se budou informace (indikátory) sledovat a zaznamenávat;
- jak budou tyto informace předávány a komu budou k dispozici (vazba na informační systém společnosti);
- v jakých intervalech budou získané informace vyhodnocovány z hlediska odpovědnostního řízení.
-

Postup doporučený v rámci Metodiky byl implementován ve společnosti A.

Ve společnosti A bylo zjištěno, že společnost nemá zpracovanou strategii pro oblast VaV, nemá tedy nástroje, jak přínosy VaV činnosti k rozvoji společnosti vyhodnocovat, a potýká se s dosažením souladu dlouhodobých cílů projektů VaV s cíli společnosti a provázáním činnosti VaV oddělení s ostatními podnikovými procesy.

Pokud se týká dílčích oblastí, je pro společnost nejdůležitější finanční výkonnost. Na základě získaných informací se zdá, že společnost sleduje tuto oblast velice podrobně a že na úrovni projektů není potřeba rozšiřovat počet sledovaných ukazatelů. Na úrovni společnosti bylo však potřeba provázat strategické cíle ve finanční oblasti právě s činností VaV, což bylo předmětem dlouhodobé případové studie.

Společnost považuje za důležité hodnotit dopady VaV činnosti na inovační schopnost podniku a získání nových znalostí, nicméně žádný ukazatel v této oblasti dosud nesledovala a nevyhodnocovala. Na úrovni VaV projektů tedy bylo doporučeno sledovat jejich příspěvek k rozvoji pracovníků a růstu jejich kompetencí (znalostí a dovedností). Na úrovni společnosti lze pak tuto oblast provázat se systémem odměňování a motivací pracovníků na straně jedné, na straně druhé zajímavé projekty mohou být samy o sobě lákavé pro studenty, kteří mohou ve společnosti zpracovávat diplomové či dizertační práce a případně zde také později pracovat.

Pro společnost A byl vytvořen systém indikátorů, který je shrnut v tabulce 1.

Tab. 1: Systém indikátorů pro společnost A

Oblast BSC	Indikátory řízení VaV	Indikátory pro řízení projektů VaV
Finanční	- Celková výše nákladů na VaV - Změny počtu pracovníků věnujících se VaV - Celkový počet řešených projektů - Průměrné náklady na vývoj jednoho produktu - Zisk generovaný VaV činností - Rentabilita investic do VaV	- Předběžná kalkulace nákladů a výnosů před zahájením projektu - Průběžné hodnocení rozpočtu - Výsledná kalkulace nákladů a výnosů po dokončení projektu - Hodnocení skutečných výnosů (přínosů) projektu VaV - Rentabilita projektu (výnosy / náklady)
Zákazníci	- Spokojenost zákazníků s novými produkty - Počet nových produktů na trhu	- Počet nových produktů vztahených ke konkrétnímu projektu VaV - Rychlost uvedení na trh - Kvalita výsledků projektu v souvislosti se spokojeností zákazníků
Nové znalosti a inovace	- Rozvoj pracovníků a růst jejich kompetencí (znalostí a dovedností) - Počet nově uzavřených partnerství a spoluprací - Přínosy konkrétních partnerů (ve všech oblastech BSC)	- Rozvoj pracovníků a růst jejich kompetencí (znalostí a dovedností) - Počet nově uzavřených partnerství a spoluprací

Legenda: **nový ukazatel**, **modifikace stávajícího**

Ve společnosti A proběhla diskuse nad vymezením oblastí, na které se chce a potřebuje více zaměřit, aby bylo ve stanoveném rámci možné navrhnout úpravy a posoudit jejich dopad. Byly vybrány tyto dvě klíčové perspektivy:

- zákazníci;
- nové znalosti a inovace.

Pro zlepšení řízení VaV činnosti ve společnosti A bylo navrženo realizovat strukturované rozhovory se zákazníky, resp. byl zpracován scénář rozhovorů se zákazníky tak, aby společnost získala lepší informace ohledně jejich spokojenosti. Společnosti A bylo doporučeno, aby v rozhovoru se zákazníkem byly zjištěny tyto informace:

- jak dlouhou dobu zákazníci konkrétní produkt využívají;
- s jakými technickými či jinými problémy se při jeho užívání (provozu) setkali;
- zda v průběhu užívání (provozu) potřebovali odborné konzultace a poradenství ze strany zaměstnanců společnosti A a pokud ano, jak byli spokojeni s touto spoluprací;
- zda existuje dílčí oblast související s produktem, ve které by uvítali změnu, a pokud ano, o jakou oblast se jedná.

Na tyto strukturované rozhovory se zákazníky má společnost nejvíce prostoru právě na výroční konferenci, konané vždy v lednu. Podobné rozhovory lze uskutečnit také na veletrzích a výstavách (např. TechAgro).

Dále byl pro společnost A zpracován check-list VaV projektů, který umožní společnosti sledovat, zaznamenávat a vyhodnocovat přínosy jednotlivých projektů. V jeho rámci bylo doporučeno zaměřit se na tyto oblasti:

- zpětná vazba z vlastního řešení projektu – zaznamenání a shrnutí významných technických, personálních i finančních problémů, které se v průběhu řešení projektu vyskytly;
- zda projekt splnil očekávání z hlediska dopadu na komercializaci;
- zda vznikly problémy s uvedením výsledku na trhu a proč;
- zda se díky řešení projektu rozšířil počet zákazníků, tedy zda se potvrdila hypotéza, že o produkt bude zájem;
- jakým způsobem projekt ovlivnil strategické cíle společnosti, zda otevřel nové perspektivy řešení, umožnil oslovit nové skupiny zákazníků apod. – tedy vyhodnotit dopad projektu na klíčové oblasti výkonnosti společnosti – finanční výkonnost, kvalitu produktů, spokojenost zákazníků.

Společnosti A byl dále navržen způsob vyhodnocování získaných informací z řešení jednotlivých projektů. Proces vyhodnocení by měl probíhat se zapojením vedoucího projektu, vedoucího VaV činnosti, vedoucích pracovníků společnosti, včetně finanční manažerky, takto:

- ve lhůtě 1–2 měsíce po ukončení projektu – v tomto okamžiku bude hlavní důraz kladen právě na zpětnou vazbu řešitelů, na rekapitulaci řešení a podporu učení se z projektu; získané poznatky by měly být promítnuty do řídicích procesů jak jednotlivých projektů, tak i do řízení VaV činnosti v rámci společnosti; současně by měl být posouzen přínos projektu pro klíčové oblasti výkonnosti společnosti a hledány cesty a možnosti využití výsledků v budoucnu;
- na základě předchozí etapy hodnocení by měly být nastaveny další úkoly z projektu, resp. z jeho výsledků, vyplývající; nastavené úkoly a harmonogram jejich plnění by měly být součástí pravidelných porad vedení společnosti.

Pro společnost A navržený systém indikátorů řízení výkonnosti VaV činnosti, resp. VaV projektů pro oblast zákaznickou a pro oblast nových znalostí a inovací je shrnut v tabulkách 2 a 3.

Tab. 2: Indikátory a nástroje pro oblast zákaznickou

Oblast BSC	Indikátory řízení VaV	Indikátory pro řízení projektů VaV	Nástroj
Zákazníci	- Spokojenost zákazníků s novými produkty - Počet nových produktů na trhu	- Počet nových produktů vztažených ke konkrétnímu projektu VaV - Rychlost uvedení na trh - Kvalita výsledků projektu v souvislosti se spokojeností zákazníků	Strukturované rozhovory 1) oblasti - délka užívání konkrétního produktu - technické či jiné problémy při jeho užívání (provozu) - hodnocení spolupráce se společností v průběhu užívání (provozu), včetně odborných konzultací a poradenství 2) frekvence realizace a odpovědnost za realizaci - požadavky na inovaci produktu - 1 – 2x ročně (výroční konference, veletrhy, výstavy) - vedoucí oddělení VaV

Výstupy strukturovaných rozhovorů se zákazníky mohou mít dopad na řízení VaV a mohou být zdrojem pro nové projekty. Výsledky strukturovaných rozhovorů by měly být zaznamenávány do informačního systému a měly by být vyhodnocovány jak v rámci porad vedení VaV, tak i v rámci porad vedení společnosti.

Tab. 3: Indikátory a nástroje pro oblast nových znalostí a inovací

Oblast BSC	Indikátory řízení VaV	Indikátory pro řízení projektů VaV	Nástroj
Nové znalosti a inovace	- Rozvoj pracovníků a růst jejich kompetencí (znalostí a dovedností) - Počet nově uzavřených partnerství a spoluprací - Přínosy konkrétních partnerů (ve všech oblastech BSC)	- Rozvoj pracovníků a růst jejich kompetencí (znalostí a dovedností) - Počet nově uzavřených partnerství a spoluprací	Check-listy 1) oblasti - zpětná vazba z vlastního řešení projektu – technické, personální i finanční problémy - splnění očekávání z hlediska dopadu na komercializaci - problémy s uvedením na trh (včetně příčin jejich vzniku) - nárůst počtu zákazníků - dopad na plnění strategických cílů společnosti (resp. dopad na finanční výkonnost, kvalitu produktů, spokojenost zákazníků) 2) frekvence realizace a odpovědnost za realizaci - 1-2 měsíce po ukončení projektu - ve vazbě na další úkoly, které z hodnocení projektu, resp. jeho výsledků vyplynou - vedoucí oddělení VaV

Diskuse a hodnocení průběhu i výsledků ukončených projektů významným způsobem přispějí k procesu učení se a růstu ve společnosti. Rekapitulace vzniklých problémů a jejich řešení přispívá k růstu kompetencí a šíření znalostí v rámci jednotlivých řešitelských týmů i mezi řešitelskými týmy navzájem a ke zkvalitnění procesu řízení jednotlivých projektů i řízení VaV činnosti. Celá řada projektů je realizována v partnerství s výzkumnými organizacemi nebo jinými subjekty. V rámci řešení projektů tak dochází k šíření znalostí a k růstu kompetencí pracovníků všech zúčastněných organizací. Současně je prohlubována spolupráce mezi organizacemi, dochází k efektivnějšímu využívání technického a přístrojového vybavení pracovišť a na základě zkušeností získaných v rámci této spolupráce je rozšiřována síť spolupracujících organizací. To všechno přispívá k růstu inovačního potenciálu.

Zpracované check-listy dokončených projektů by měly být uchovávány v rámci informačního systému společnosti a měly by být vyhodnocovány jak v rámci porad vedení VaV, tak i v rámci porad vedení společnosti.

Závěr

Předkládaný postup v rámci Metodiky ukazuje, jak může podnikatelský subjekt identifikovat silné a slabé stránky v oblasti řízení VaV činnosti i příležitosti a hrozby související s touto činností. Poskytuje návody, jak analyzovat produktové portfolio z hlediska potřeb řízení VaV a jakým způsobem lze lépe pracovat s informacemi a vyhodnocovat přínosy VaV aktivit, a to i včetně volby konkrétních indikátorů pro sledování a vyhodnocování přínosů jednotlivých projektů VaV. Metodika tak umožní konkrétní společnosti vybrat odpovídající indikátory, prostřednictvím kterých bude možné sledovat, vyhodnocovat a řídit přínosy VaV aktivit i

jednotlivých projektů, a to jak z hlediska finanční výkonnosti, tak i z perspektivy zákazníků, interních procesů a nových znalostí.

Základní postup v rámci Metodiky je možné shrnout v těchto krocích:

- 1) Identifikujte cíle Vámi řízené společnosti.
- 2) Analyzujte stávající stav – Vaši kapacitu, realizované projekty, stávající zákazníky; vyhodnoťte to, co už umíte, a co se chcete naučit.
- 3) Zjistěte, jak řídíte VaV činnost a měříte její přínosy pro Vaši společnost.
- 4) Identifikujte slabé stránky a rozpoznajte oblasti, které nejsou monitorovány.
- 5) Zvolte si vhodné indikátory, které je ve Vaší společnosti vhodné monitorovat, analyzovat a vyhodnocovat.
- 6) Implementujte tyto indikátory do stávajícího systému řízení VaV činností i jednotlivých projektů.

Aplikace Metodiky může pomoci vyhodnotit pozici VaV činnosti ve společnosti z hlediska jejího produktového portfolia a uspokojování potřeb zákazníků. Metodika rovněž napomáhá k řízení hodnotových parametrů projektů vzniklých ve spolupráci mezi podnikatelskými subjekty a výzkumnými organizacemi, čímž přispěje k využití dalšího výstupu projektu – Digitální mapy (www.mapavin.cz). Metodika společně s touto Digitální mapou představuje novou formu služby pro podnikatelské subjekty, kterou budou poskytovat oba řešitelé – AVO, o.p.s. a VUPI, z.s.

Použitá literatura

- Bremser, G. W., Barsky, N. P. (2004) Utilizing the balanced scorecard for R&D performance measurement. *R&D Management*, 34, 3, 231-238.
- Chiesa, V., Frattini, F., Lazzarotti, V., Manzini, R. (2009) Performance measurement in R&D: exploring the interplay between measurement objectives, dimensions of performance and contextual factors. *R&D Management*, 39, 5, 488-519.
- Coyte, R., Ricceri, F., Guthrie, J. (2012) The management of knowledge resources in SMEs: an Australian case study. *Journal of knowledge management*, 15, 5, 789-807.
- De Clercq, D., Thongpapanl, N., Dimov, D. (2014) Contextual ambidexterity in SMEs: the roles of internal and external rivalry. *Small Bus Econ*, 42, 191-205.
- Frick, J., Ali, M.M. (2013) Business Model Canvas as Tool for SME. In: Prabhu, V., Taisch, M., Kiritsis, D. (eds) *Advances in Production Management Systems. Sustainable Production and Service Supply Chains*. APMS 2013. IFIP Advances in Information and Communication Technology, vol. 415. Berlin: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-41263-9_18
- Guo, B., Wang, J., Wei, S. X. (2018) R&D spending, strategic position and firm performance. *Frontiers of Business Research in China*, 12, 14.
- Jorgensen, B., Messner, M. (2010) Accounting and strategising: a case study from new product development. *Accounting, Organizations and Society*, 35, 2, 84-204.
- Khosinev, P., Tierlinck, P. (2018) Performance evaluation of R&D active firms. *Socio-Economic Planning Sciences*, 61, 16-28.
- Mayer-Haug, K., Read, S., Brinckmann, J., Dew, N., Crihnik, D. (2013) Entrepreneurial talent and venture performance: A meta-analytic investigation of SMEs. *Research Policy*, 42, 1251-1273.
- Mittal, S., Romero, D., Khan, M. A., Wuerst, T. (2018) A critical review of smart manufacturing & Industry 4.0 maturity models: Implications for small and medium-sized enterprises (SMEs). *Journal of Manufacturing Systems*, 49, 194-214.
- Nixon, B., Burns, J. (2012) The paradox of strategic management accounting. *Management Accounting Research*, March 2012, 23, 229-244.

- Pearson, A.W., Nixon, W.A., Kerssens-van Drongelen, I.C. (2000) R&D as a business – what are the implications for performance measurement. *R&D Management*, 30, 4, 355-366.
- Salimia, N., Rezaeib, J. (2018) Evaluating firms' R&D performance using best worst method. *Evaluation and Program Planning*, 66, 147-155.
- Teece, D. (2010) Business models, business strategy and innovation. *Long Range Planning*, 43, 172-194.
- Tuomela, T. S. (2005) The interplay of different levers of control: A case study of introducing a new performance measurement system. *Management Accounting Research*, 16, 293-320.
- Wagner, J. (2011) Měření výkonnosti - vývojové tendence 2. poloviny 20. století. *Politická ekonomie*, 6, 775-793.
- Wuest, T., Thoben, K.D. (2011) Information management for manufacturing SMEs. In: *International Conference on Advances in Production Management Systems*, 488-95.

Dedikace

Příspěvek vznikl s podporou projektu TA ČR TL02000356.

Kontakt:

RNDr. Jan Nedělník Ph.D
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.,
Aktivity pro výzkumné organizace, o.p.s
Email: nedelnik@vupt.cz

HODNOCENÍ KVALITY HUMUSOVÝCH LÁTEK POMOCÍ INFRAČERVENÉ SPEKTROSKOPIE

Assessment of humic substances quality by infrared spectroscopy

Pospíšilová L., Horáková E., Dryšlová T., Smutný V.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

V průběhu let 2017-2019 byl hodnocen obsah a kvalita humusových látek u fluvizemě glejové pod monokulturou ječmene jarního a v Norfolkském osevním postupu. Dlouhodobý stacionární polní pokus je veden na pokusné stanici Mendelovy univerzity v Žabčicích. Obsah humusových látek byl stanoven metodou krátké frakcionace. Dále byly izolovány preparáty huminových kyselin a porovnáno jejich strukturně-typové složení pomocí infračervené DRIFT-IR spektroskopie. Byly identifikovány stejné vibrační pásy: 2930 cm^{-1} (alifatické C-H skupiny); 1620 cm^{-1} (aromatické C=C skupiny); 1404-1419 cm^{-1} (fenolické skupiny); 1225-1223 cm^{-1} (karbonylové a karboxylové skupiny). Rozdíly ve strukturně-typovém složení huminových kyselin nebyly zjištěny. Index hydrofóbnosti byl vyšší než 1, což značí převahu alifatických skupin v molekule huminových kyselin.

Klíčová slova: monokultura, Norfolkský osevní postup, huminové kyseliny, DRIFT-IR spektra

Abstract

Humic substances content and quality in Fluvi-Eutric Gleysol was studied during the period 2017-2019. Long-term field experiment was carried out in Žabčice (The Experimental Stationary of Mendel University). Short fractionation method was applied to determine the content of humic substances. Furthermore, humic acids were isolated from and their structure and chemical composition was studied using DRIFT-IR spectroscopy. Following bands were identified: 2930 cm^{-1} (aliphatic C-H groups); 1620 cm^{-1} (aromatic C=C groups); 1404-1419 cm^{-1} (phenolic groups); 1225-1223 cm^{-1} (carbonyl and carboxylic groups). Obtained results showed no differences in chemical composition of humic acids. Hydrophobicity index was higher than 1, which means more aliphatic humic acids.

Keywords: monoculture, Norfolk crop rotation system, humic acids, DRIFT-IR spectroscopy

Úvod

Způsob hospodaření na půdě má zásadní vliv na zásoby organického uhlíku a kvalitu humusových látek (HL). Optimální osevní postup, doplňování zásob organických látek, půdoochranné technologie, vhodná agrotechnika a hnojení zajišťují stabilitu agroekosystému (Banwart a kol., 2015). Naopak mezi negativní antropogenní vlivy patří monokulturní způsob hospodaření, který je spojen s úbytkem humusu a únavou půdy. Ukazují to zejména stacionární polní pokusy, které dokumentují konkrétní dopady, jako je zhoršení fyzikálních, chemických a biologických vlastností půdy, což vede v konečném důsledku ke snížení produkční schopnosti půdy (Křen a kol., 2015).

Stanovení obsahu a kvality humusu je proto aktuálním a důležitým úkolem. Metoda infračervené spektroskopie je používána ve velkém měřítku, avšak při měření půdních vzorků má řadu nevýhod (např. nevhodná disperze vzorku v KBr disku, která souvisí s heterogenitou a okamžitou vlhkostí půdního vzorku a interferencemi způsobenými vazbami molekul vody). Tyto nevýhody odstraňuje difusní reflexe tzv. DRIFT-IR spektroskopie. Umožňuje měření jak půdních vzorků, tak separovaných preparátů huminových kyselin (HK) a fulvokyselin (FK).

Capriel a kol. (1995 a 1997) a Mládková a kol. (2006) použili tuto metodu za účelem stanovení hydrofóbnosti organické hmoty na půdách s odlišnou texturou a rozdílným obsahem organického uhlíku. Hydrofóbnost je způsobena alifatickými C-H jednotkami methylových, methylenových a methinových skupinách. Bylo prokázáno, že počet alifatických C-H jednotek v molekule HL ovlivňuje udržení vody v půdě, adsorpční procesy, infiltraci a stabilitu půdních částic. Uvedené vlastnosti hrají důležitou roli v dynamice organické hmoty a ovlivňují její stabilitu. Index hydrofobicity nám dle Capriel (1997) udává poměr alifatických C-H skupin (absorpční pás v oblasti 3000–2800 cm⁻¹) k celkovému organickému uhlíku v půdě. Dále bylo prokázáno, že pokles obsahu HL vlivem nesprávného hospodaření je provázen poklesem hydrofóbnosti HL, snížením mikrobiální aktivity a stability půdní struktury (Mládková a kol., 2006; Gerzabek a kol., 2006).

Z infračervených spekter je rovněž možné identifikovat poměr aromatických a alifatických skupin v molekule HK a vypočítat tzv. index aromaticity. Dále lze stanovit zastoupení fenolických OH skupin, dusíkatých funkčních skupin a jejich podíl v aromatickém jádře HK, nebo zastoupení anorganických nečistot (silikátů). Z těchto vlastností pak můžeme usoudit na aktivitu a chování HL, resp. na jejich vliv na půdní strukturu a sorpční vlastnosti půdy (Mládková a kol., 2006).

Cílem této práce je vyhodnotit vliv monokulturního hospodaření a Norfolkského osevního postupu na obsah a kvalitu humusových látek. Z tohoto důvodu byly izolovány půdní HK a studováno jejich chemické složení a struktura pomocí DRIFT-IR spektroskopie. Rovněž byl vypočítán index hydrofóbnosti a index aromaticity HK, které souvisí s jejich schopností vázat vodu a živiny.

Materiál a metody

Dlouhodobé stacionární pokusy v Žabčicích jsou založeny metodou dělených dílců, jejichž velikost je 5,3 m x 7 m. Je zde sledováno více antropogenních vlivů na půdu (např. aplikace různých dávek minerálního hnojení, hospodaření s posklizňovými zbytky, zapravení slámy, různé způsoby zpracování půdy a další). Odběry půdních vzorků (0-10 cm) byly prováděny v létě po sklizni v průběhu let 2017-2019. Byly použity tyto metody stanovení: půdní reakce potenciometricky (Zbírál a kol., 2011); obsah humusu – oxidimetrická titrace (Nelson and Sommers, 1996); kvalita humusu – krátká frakcionace (Kononova a Bělčíkova, 1963, In: Pospíšilová a kol., 2016). Izolace půdních HK byla provedena dle standardní mezinárodní metody IHSS (Hayes, 1985, Pospíšilová a kol., 2016).

Infračervená spektra byla měřena metodou DRIFT (Diffuse Reflectance Fourier Transform Infrared Spectroscopy) v KBr tabletách bez jakéhokoliv ředění vyseparovaného vzorku HK. Byl použit spektrometr Nicolet Impact 400 (Omnic, software). Spektra byla měřena podle standardní metody v rozsahu vlnových délek 4000-400 cm⁻¹. Z infračervených spekter jsme vypočítali index hydrofobicity jako poměr obsahu alifatických C-H skupin (absorpční pás v oblasti 3000–2800 cm⁻¹) k celkovému organickému uhlíku v půdě a index aromaticity ($I_{ar} = I_{alifatické} / I_{aromatické} = I_{1729} / I_{1670}$), tj. poměr aromatických a alifatických skupin v molekule HK (Capriel a kol., 1997). Ke zpracování dat byl využit program Statistica CZ12 (StatSoft software Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).

Výsledky a diskuze

Fluvizem glejová představuje zrnitostně těžkou, jílovitohlinitou půdu. Aktivní půdní reakce je slabě kyselá a výměnná půdní reakce je kyselá. Přičemž pod monokulturou ječmene jarního byly zjištěny nižší hodnoty u aktivní i výměnné půdní reakce. U Norfolkského osevního

postupu byly naměřeny vyšší hodnoty a půdní reakce byla příznivější. Celkový obsah organického uhlíku je nižší pod monokulturou a vyšší u Norfolkského osevního postupu – viz graf 1. Rovněž obsah HL a HK je zde vyšší než pod monokulturou ječmene jarního – viz graf 2 a 3. Rozdíly jsou statisticky průkazné.

Pomocí DRIFT infračervené spektroskopie byly identifikovány tyto významné vibrační pásy a to: 2930 cm^{-1} (alifatické C-H skupiny); 1620 cm^{-1} (aromatické C=C skupiny); $1404\text{--}1419\text{ cm}^{-1}$ (fenolické skupiny); $1225\text{--}1223\text{ cm}^{-1}$ (karbonylové a karboxylové skupiny). Kromě uvedených vibračních pásů byly zaznamenány asymetrické valenční vibrace skupin R-COO– skupiny (vibrační pás při 1582 cm^{-1}) a -SO₃H skupiny (vibrační pás při 1100 cm^{-1}). Dále byl zaznamenán výrazný vibrační pás karbonylových a karboxylových skupin v oblasti 1500 cm^{-1} . Lze tedy konstatovat, že chemické složení HK v tzv. oblasti *finger printu* (= otisk molekuly) je stejné na obou variantách pokusu – viz graf 4. Potvrzuje to i vypočítaný index hydrofóbnosti, který je u obou preparátů HK vyšší než 1, což značí více alifatických skupin. Alifatický pás v oblasti 2930 cm^{-1} je plochý a značně široký a mohl by překrývat další funkční skupiny, které nejsou tím pádem viditelné. Uvedené výsledky lze rovněž interpretovat tak, že se jedná o mladé HK s vyšším obsahem alifatických skupin. Index aromaticity byl kolem 1 a indikoval spíše vyrovnaný obsah alifatických a aromatických skupin. Může to ale souviset s překrytím sledovaných vibračních pásů. Oba vypočítané indexy úzce souvisí s původem HK, obsahem organického uhlíku a texturou půdy, tj. její genezí. Charakterizují rovněž přímý vliv HK na vododržnost, filtrační schopnost, sorpční vlastnosti půdy a agregaci půd. Jsou to tedy důležité ukazatele kvality HL. Debska a Gonet (2003) taktéž uvádějí, že chemické a strukturně-typové složení molekuly HK je dáno původem a je málo ovlivněno antropogenní činností. K podobným závěrům o nezávislosti chemické struktury na antropogenním zatížení půdy přišli i Senesi a kol. (1990). Značí to tedy, že typ vazeb v molekule HK je dán v průběhu pedogeneze. IČ spektroskopie tak odpovídá na otázky kvality a původu HK. Stále však zůstává otázka, jaké je množství daných funkčních skupin a zdali dochází ke změnám hydrofóbnosti a aromaticity HL vlivem intenzivního zemědělství. Na druhé straně, Barančíková (2002) a Gerzabek a kol. (2006) při sledování spektrálních vlastností HK zjistili, že vlivem hospodaření dochází ke kvantitativním a kvalitativním změnám u funkčních skupin. Tyto změny se projeví při sledování HK pomocí ^{13}C NMR spektroskopie, a to hlavně v oblasti 43–15 ppm, která zodpovídá za agregátovou stabilitu půdy a taktéž v oblasti 157–143 ppm, která odpovídá za sorpční schopnost a živinný režim půdy (Barančíková, 2002).

Závěr

Obsah humusu a humusových látek u půdy v Norfolkském osevním postupu a v monokultuře ječmene jarního je statisticky průkazně odlišný. Vyšší hodnoty byly u Norfolkku. Lze tedy jednoznačně říct, že způsob hospodaření na půdě výrazně ovlivňuje množství humusu obecně. Chemické a strukturně-typové složení HK v infračervené oblasti spektra (DRIFT spektroskopie) bylo u izolovaných preparátů HK stejné. Index hydrofóbnosti byl u obou HK vyšší než jedna a ukazuje na mladé huminové kyseliny s převahou alifatických skupin v molekule.

Použitá literatura

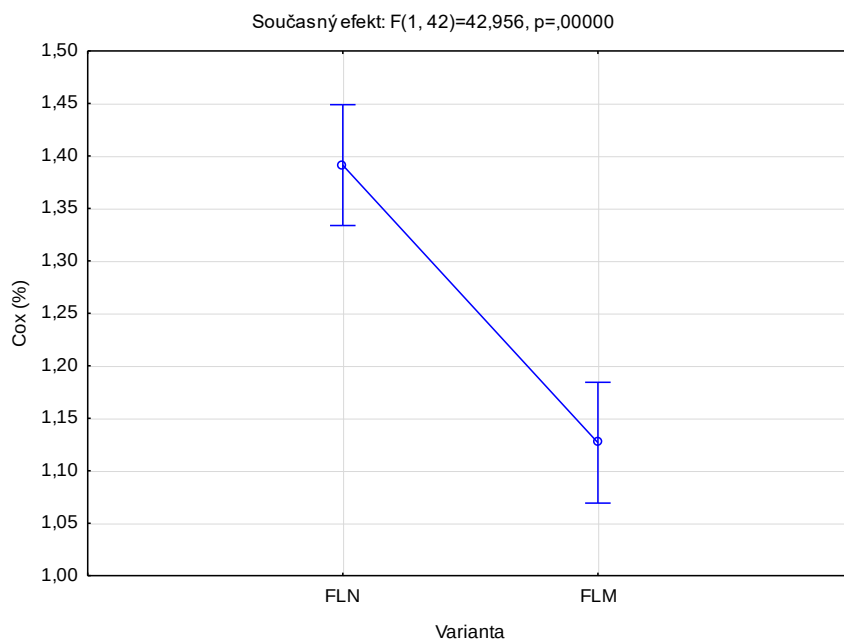
- Banwart A. S., Noellemeyer E., Milne E. 2015. The Global Challenge for Soil Carbon. Science, Management and Policy for Multiple benefits SCOPE Series volume 71: 1-10.
- Barančíková G. 2002. Changes of humic acids structure on selected key monitoring localities of arable soils. Rostl. Výroba (48): 40-44.

- Capriel P., Beck T., Borchert H., Gronholz J., Zachmann G. 1995. Hydrophobicity of the organic matter in arable soils. *Soil Biology & Biochemistry* 27: 1453-1458.
- Capriel P. 1997. Hydrophobicity of the organic matter in arable soils. Influence of management. *Europ. J. Soil Sci.* 48: 457-462.
- Debska B., Gonet S. 2003. Substancje gumusowe w glebach i nawozach. Polskie Towarzystwo Substancij Humusowych, Wrocław, 2003. 166s. ISBN 83-906403-8-4.
- Gerzabek M. H., Antil R. S., Kögel-Knabner I., Kirchman H., Haberhaure G. 2006. How are soil use management reflected by soil organic matter characteristics: a spectroscopic approach. *European Journal of Soil Sci.* Vol. 57, Issue 4: 485-494.
- Krejčíř J., 1996: Koncepce a metodika dlouhodobého stacionárního polního pokusu v Žabčicích a problematika jeho hodnocení. In *Sborník Význam a perspektivy dlouhodobých polních pokusů v České republice*, s. 43
- 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.
- Kononova, M. M., Belchikova, N. P. 1963. Organiceskoje vescestvo pocvy (Soil organic matter). Moscow, AN SSSR, 228-234. (In Russian).
- Mládková L., Rohošková M., Borůvka L. 2006. Methods for the assessment of humic substances. *Soil and Water Research*, 1: 3–9.
- Nelson, D. W., Sommers, L. E. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: Sparks DL (Ed.). *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*. Madison: Soil Science Society of America. 961-1010.
- Pospíšilová L., Vlček V., Hybler V., Hábová M., Jandák J. 2016. Standardní analytické metody a kritéria hodnocení fyzikálních, agrochemických, biologických a hygienických parametrů půd. *Folia Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendeliannae Brunensis* IX. Brno. 123 s. ISBN 978-80-7375-438-4.
- Zbíral J., Malý S., Váňa M. a kol. 2011. *Analýza půd III. Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ*. Brno, Národní referenční laboratoř. 3. přepracované a rozšířené vydání. ISBN 978-80-7401-044-6.

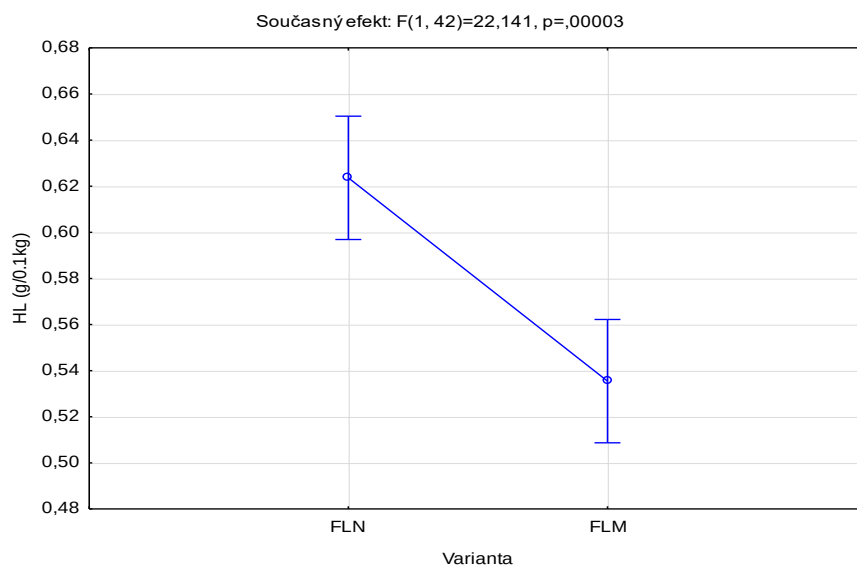
Poděkování

Práce vznikla s podporou projektu NAZV – ZEMĚ Ministerstva zemědělství České republiky č. QK 1810233 pod názvem: „Kvantifikace dopadu hospodaření na erozi, kvalitu půd a výnosy pěstovaných plodin s návrhem pěstebních technologií šetrných k životnímu prostředí“ a s podporou projektu pod číslem QK1810186 s názvem „Zlepšení stability půdní struktury a zvýšení infiltrace pomocí agrotechnických postupů“.

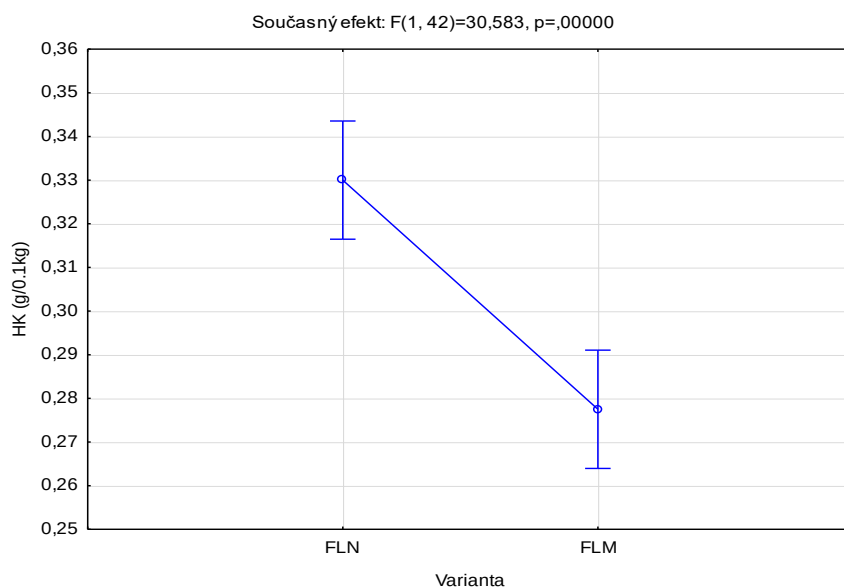
Graf 1: Statisticky průkazné rozdíly u obsahu organického uhlíku (kde: Cox=organický uhlík; FLN=Norfolk; FLM=monokultura)



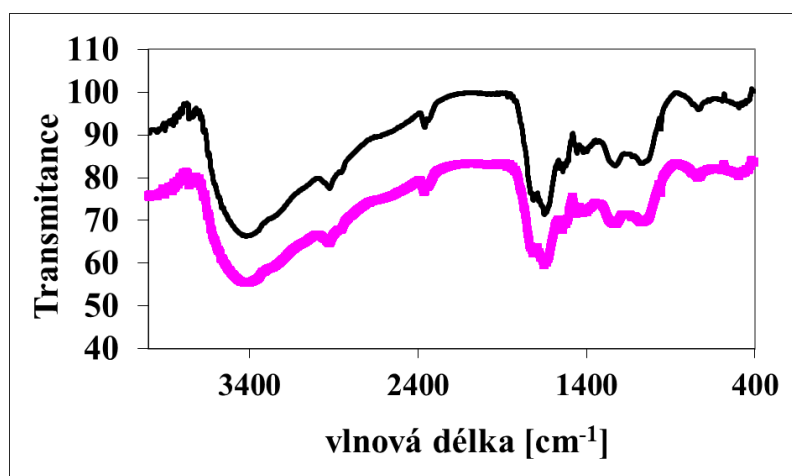
Graf 2: Statisticky průkazné rozdíly u obsahu HL (kde: HL=humusové látky; FLN=Norfolk; FLM=monokultura)



Graf 3: Statisticky průkazné rozdíly u obsahu HK (kde: HK=huminové kyseliny; FLN=Norfolk; FLM=monokultura)



Graf 4: DRIFT-IR spektra HK (kde: - HK – Norfolk; - HK – monokultura)



Kontaktní adresa:

Doc., RNDr. Lubica Pospíšilová, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Zemědělská 1
613 00 Brno
e-mail: lubica.pospisilova@mendelu.cz

VLIV VODNÍ EROZE NA VYBRANÉ PŮDNÍ VLASTNOSTI

Impact of water erosion on selected soil parameters

Sedlák, L., Pospíšilová, L., Vlček, V.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

V rámci pedologického průzkumu katastrálního území Zástřizly (2018-2019) byly sledovány erozní, akumulární a kontrolní plochy. Hodnoceny byly vybrané agrochemické vlastnosti půdy jako např. pH, pufrční schopnost, obsah živin, obsah a kvalita půdní organické hmoty. Transformace půdních parametrů vlivem byla posuzována v transektu: *kontrola – eroze – akumulace*. Klasifikace půd byla provedena dle platného TKSP ČR a WRB FAO UNESCO systému. Zjištěné výsledky dokládají statisticky průkazné rozdíly ($p=0,5$) a transformaci půdních vlastností ve vybraném transektu. Závěrem jsou doporučeny opatření vedoucí ke snížení negativního dopadu vodní eroze na zkoumaném pozemku.

Klíčová slova: pedologický průzkum, eroze, akumulace, kambizem, regozem.

Abstract

During the soil survey in cadastre Zástřizly (2018-2019) we followed changes of selected agrochemical properties (e.g. pH, buffering capacity, nutrients content, and content and quality of soil organic matter). Eroded, accumulated and control areas were studied. Based on the obtained results the evaluation of the soil properties transformation was done. Soils were classified according to the Taxonomic classification system of the Czech Republic, as well as according to the WRB system 2014/2015. Obtained results showed statistically significant differences ($p=0,05$) within the transect (control, erosion, accumulation). As a conclusion, the important measures are given with aim to decrease the negative consequences of water erosion at the studied locality.

Key words: Soil Survey; Erosion; Accumulation; Cambisol; Regosol.

Úvod

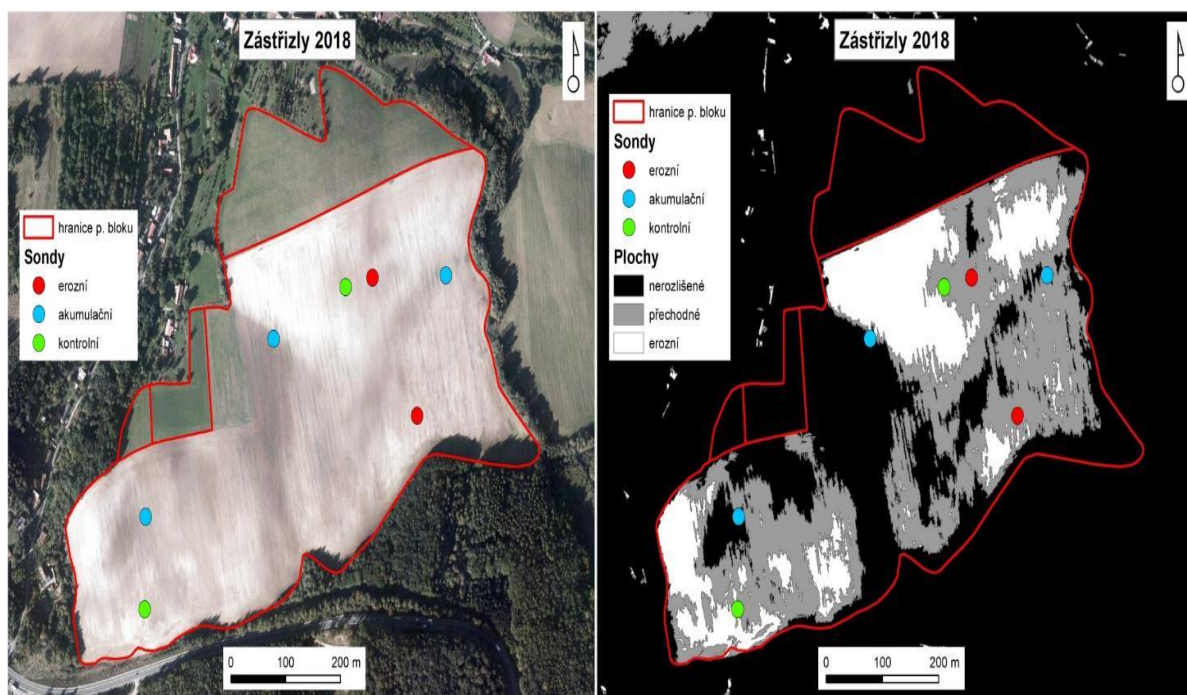
Půda hraje důležitou roli v ekosystému z produkčního a mimoprodukčního hlediska. Je významnou složkou životního prostředí a má vliv na kvalitu a kvantitu produkovaných potravin. Dle Šarapatky a kol. (2002) bylo zemědělství vždy základním zdrojem pro obživu lidstva a dnes tomu není jinak. Na druhou stranu, ale autor taktéž zmiňuje, že v posledních desetiletích zaznamenáváme obrovský tlak na naše půdy a celkově na životní prostředí. Rovněž rozmach průmyslu a intenzivní zemědělství zesilují tento tlak. Otázka kvality půdy by ale měla být vždy v popředí. Janeček (2002) a Kabelka a kol. (2019) uvádějí, že jsme si začali pozdě všimnout, že je půda každým dnem likvidována a denně zmizí cca 15 ha zemědělské půdy záborem hluboko pod nepropustným materiálem parkovišť či logistických center.

Obsah a kvalita humusu je významná pro zajištění úrodnosti zemědělských porostů. Liší se v různých přírodních podmínkách, ať to jsou poměry půdní, geologické, geomorfologické, klimatické, porostní nebo jiné. Proto jsou humusové látky podrobně studovány a hodnoceny (Menšík 2010 a 2018). Kvalita humusu je hodnocena dvěma způsoby – dle poměru huminových kyselin k fulvokyselinám (HK/FK) a dle absorbance humusových látek (HL) v UV-VIS oblasti spektra (Podlešáková a kol. 1992; Mládková a kol., 2006; Pospíšilová a Vlček, 2015).

Cílem výzkumu bylo poukázat na změny u vybraných agrochemických parametrů půdy v důsledku vodní eroze. Hlavní důraz byl kladen na obsah a kvalitu humusu.

Materiál a metody

Na lokalitě Zástřizly, dle půdních mapových portálů (mapy.geology.cz), převládají kambizemě oglejené a modální. Dále zde můžeme najít i černozemě luvické a černické a v některých částech katastru i luvizemě a fluvizemě. Na základě orotofoto map a obrazové analýzy byl vytyčen transekt: *kontrola* (nepoškozená půda, kambizem); *akumulovaná plocha* (akumulace, koluvizem); *erozní plocha* (eroze, regozem) – viz obr. 1 a 2. Byl proveden podrobný pedologický průzkum a stanoveny základní půdní vlastnosti. Byly využity standardní analytické metody dle Zbiral a kol. (2016) a Pospíšilová a Vlček (2015). Půdní reakce (aktivní a výměnná) byla stanoven potencionetricky. Obsah solí konduktometricky. Pufrovitost, neboli schopnost půdy bránit se výkyvům pH, byla stanovena potenciometricky. Obsah karbonátů byl stanoven volumetricky. Obsah organického uhlíku byl stanoven oxidimetrickou titrací. Obsah humusových látek byl stanoven metodou krátké frakcionace. Celkový obsah dusíku dle Kjeldahla. Celkový obsah živin dle Mehlich III. Zrnitost byla stanovena pipetovací metodou. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny jednofaktorovou analýzou ANOVA. Jedno faktorová analýza byla doplněna Fisherovým testem ($p \leq 0,05$). Byl využit program STATISTICA 12.0 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA).



Obr. 18. a 19. Návrh výběru půdních sond v lokalitě Zástřizly (Šarapatka a kol., 2018)

Výsledky a diskuze

Na *kontrolě* byla popsána *kambizem vyluhovaná, oglejená, pelická, eubazická*. Dle textury se jedná o půdu těžkou jílovitohlinitou s 54,40 % obsahem jílnatých částic. Aktivní půdní reakce byla slabě kyselá a výměnná reakce je neutrální. Pufrovitost (odolnost bránit se výkyvům pH) je hodnocena jako velmi silná. Půda je bezkarbonátová (0,2 %) a není zasolená (0,18 mS/cm).

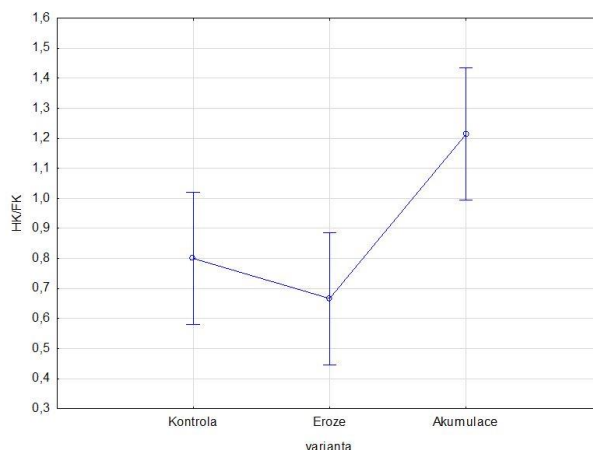
Obsah humusu je hodnocen jako střední (2,44 %) a poměr HK/FK je 0,80, což značí humus humátovo-fulvátový, nízké kvality (viz obr. 3). Byl zjištěn velmi vysoký obsah draslíku (386 mg/kg), velmi vysoký obsah hořčíku (559 mg/kg), dobrý obsah fosforu (104 mg/kg) a vyhovující obsah vápníku 2921 mg/kg). Celkový dusík byl hodnocen jako dobrý (0,19 %).

Na erodované ploše byla klasifikována a popsána *regozem pelická mesobazická*. Dle obsahu jílnatých částic (42,04 %) se jedná o půdu hlinitou, tedy středně těžkou. Půdní reakce byla slabě kyselá a pufrovitost je hodnocena jako silná. Půda je bezkarbontová (0,2 %) a není zasolená (0,10 mS/cm). Obsah humusu je hodnocen jako střední (2,26 %) a poměr HK/FK je 0,70, což značí humus humátovo-fulvátový, nízké kvality (viz obr. 3). Byl zjištěn dobrý obsah draslíku (269 mg/kg), vysoký obsah hořčíku (325 mg/kg), vysoký obsah fosforu (134 mg/kg) a dobrý obsah vápníku (2362 mg/kg). Celkový dusík byl hodnocen jako dobrý (0,19 %).

Akumulovaná plocha, na které byla popsána *koluvizem pelická eubazická*, byla ve spodní části svahu. Půda byla dle obsahu jílnatých částic (47,46 %) klasifikována jako jílovitohlinitou, tedy těžkou. Půdní reakce byla slabě kyselá a pufrovitost silná. Půda je bez karbonátů (0,2 %) a není zasolená (0,15 mS/cm). Obsah humusu je hodnocen jako vysoký (3,63 %) a poměr HK/FK je 1,21, což značí humus fulvátovo-humátový, střední kvality (viz obr. 3). Byl zjištěn dobrý obsah draslíku (261 mg/kg), dobrý obsah hořčíku (247 mg/kg), vyhovující obsah fosforu (79 mg/kg) a vyhovující obsah vápníku (3037 mg/kg). Celkový dusík byl hodnocen jako dobrý (0,21 %). Statisticky průkazně vyšší obsah jílnatých částic byl zjištěn na kontrole a akumulaci v porovnání s erozí, kde je průkazně nižší obsah. Může to mít negativní dopad jak na půdní strukturu, tak i obsah živin organických látek. Půdní reakce byla příznivější ve variantě kontrola a byla statisticky průkazně vyšší, než na erozi a akumulaci. Tato hodnota přímo ovlivňuje rostliny a půdní mikroorganismy, jako i obsah a přístupnost živin a kvalitu humusu. Průkazně vyšší je obsah organického uhlíku, HL i obsah HK je na variantě akumulace. Nejnížší obsah HL a HK je na variantě eroze. S tím i souvisí poměr HK:FK a stupeň humifikace, obě hodnoty jsou také průkazně nejvyšší na akumulaci. Z přístupných živin je průkazně nejvyšší draslík a hořčík na kontrole, ostatní živiny jsou neprůkazné (fosfor a vápník), včetně i celkového dusíku. Výše uvedené výsledky dokumentují transformaci agrochemických vlastností jako důsledek intenzivního hospodaření a vodní eroze. Podobně jako Vopravil (2010), Šarapatka (2002) a Vácha (2019) poukazujeme na tyto negativní dopady na půdu. Erodovaná půda je ochuzena o některé živiny, klesá kvalita a množství organické hmoty a půda postupně degraduje. Kabelka a kol. (2019) poukazují rovněž na neexistenci systematického zemědělství, což je taktéž příčinou snižování obsahu organické hmoty vlivem vodní eroze. Kozlovsky-Dufková (2015) doporučuje zlepšit půdní poměry přidáním organické hmoty a pěstováním jetelotravních směsí, které dobře vážou půdní dusík. Dále uvádí, že dle sklonitosti pozemku je nutné ho rozdělit a zmenšit. Rovněž doporučujeme aplikovat vybraná organizační, agrotechnická a biotechnická opatření na půdě.

Závěr

Vodní eroze má výrazný vliv na půdu a ve sledovaném transektu *kontrola-eroze-akumulace* byly různé typy půd. Na *kontrole* byla pospána kambizem vyluhovaná, oglejená, pelická, eubazická. Na *erozi* - *regozem pelická mesobazická*. Na *akumulaci* - *koluvizem pelická, eubazická*. Kromě různých půdních typů jsou dokumentovány statisticky průkazně odlišné tyto agrochemické parametry půdní reakce, obsah organického uhlíku, obsahu humusových látek, a živin. Ke zmírnění dopadu vodní eroze na uvedené lokalitě doporučujeme přijmout tyto protierozní opatření: protierozní osevní postup, vrstevnicové obdělávání půdy, zatravnit spádnice, protierozně pěstovat širokořádkové plodiny, či jejich pěstování na svahu vynechat.



Obr. 20. Průměr hodnoty HK/FK (ANOVA 1 faktor)

Použitá literatura

- Janeček, M. 2002. Ochrana zemědělské půdy před erozí. Praha: ISV nakladatelství, 2002. ISBN 80-85866-86-2.
- Kabelka, D., Kincl, D., Janeček, M., Vopravil, J., Vráblík, P. 2019. Reduction in soil organic matter loss caused by water erosion in inter-rows of hop gardens. *Soil & Water Res.*, 14: 172-182
- Kozlovsky-Dufková, J. 2015. Krajinné inženýrství: Jana Kozlovsky Dufková. Vydání druhé přepracované. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2015. ISBN 978-80-7509-354-7.
- Menšík L. 2010. Frakcionace humusových látek lesních půd. Disertační práce, MZLU Brno, 210 s.
- Menšík, L., Hlisnikovský, L., Pospíšilová, L., Kunzová, E., 2018. The effect of application of organic manures and mineral fertilizers on the state of soil organic matter and nutrients in the long-term field experiment. *J. Soils Sediments* 18, 2813–2822. <https://doi.org/10.1007/s11368-018-1933-3>.
- Mládková, L., Rohošková, M., Borůvka, L. 2006. Methods for the assessment of humic substances. *Soil and Water Research*, 1: 3–9.
- Němeček, J. 2001. *Taxonomický klasifikační systém půd České republiky*. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2001. ISBN 80-238-8061-6.
- Němeček, J. 2011. *Taxonomický klasifikační systém půd České republiky*. 2. uprav. vyd. Praha: Česká zemědělská univerzita, 2011. ISBN 978-80-213-2155-7.
- Podlešáková, E., Němeček, J., Sirový, V., Lhotský, J., Macurová, H., Ivánek, O., Bumerl, M., Hudcová, O., Voplakal, K., Hálová, G., Blahovec, F. 1992. Rozbory půd, vod a rostlin. VÚMOP, Praha, 259 s.
- Pospíšilová L., Vlček V. 2015. Chemické, biologické a fyzikální ukazatele kvality/zdraví půdy. 2. vyd. Mendelova univerzita v Brně, 86 s. VIII. ISBN 978-80-7509-244-1.
- Vácha, R. 2019. Půda: naše bohatství. Praha: Vydavatelství Profi Press, 2019. ISBN 978-80-88306-00-9.
- Vopravil, J. 2010. Půda a její hodnocení v ČR. Díl I. 2. vyd. Praha: Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, 2010. ISBN 978-80-87361-05-4.
- Šarapatka, B., Bedrna, Z., Dlapa, P. 2002. Kvalita a degradace půdy. Olomouc: Univerzita Palackého, 2002. ISBN 80-244-0584-9.

Dedikace

Výzkum byl podpořen z projektu MZE Země NAZV QK 1810233 – „Kvantifikace dopadů hospodaření na erozi, kvalitu půd a výnosy pěstovaných plodin s návrhem pěstebních technologií šetrných k životnímu prostředí.“

Kontaktní adresa:

Ing. Luboš Sedlák

Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin

Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1665/1

e-mail: xsedlak@mendelu.cz

ZÁVLAHY S FERTIGACÍ NA VÝNOS A KVALITU BRAMBOR

Influence of drip irrigation with fertigation on yield and quality of potatoes

Svobodová A., Kasal P.

Výzkumný ústav bramborářský, s.r.o., Havlíčkův Brod

Abstrakt

Brambory jsou plodina, která pro úspěšné pěstování potřebuje vhodné podmínky. Jednou z těchto podmínek je optimální zásobení vodou a živinami. Z tohoto důvodu byly v letech 2016 - 2018 založeny přesné polní pokusy s kapkovou závlahou a fertigací. Pokusy byly založeny na Vysočině. Zkoumána byla dávka vody pro kapkovou závlahu. Dávka závlahové vody byla vymezena v rámci třech variant (15 %, 20 % a 25 % půdní vlhkosti). Zároveň byl testován termín hnojení minerálními dusíkatými hnojivy s ohledem na výnos a kvalitu hlíz. Dusíkaté minerální hnojivo bylo aplikováno ve dvou termínech, a to v plné dávce (120 kg N/ha) a v dělené dávce (60 kg N/ha před sázením a 60 kg N/ha za pomoci fertigace během vegetace). Pro optimální vyhodnocení byly zařazeny dvě odrůdy s různou délkou vegetační doby (velmi raná odrůda Monika a poloraná odrůda Jolana). Dle získaných výsledků lze potvrdit, že závlaha pozitivně ovlivnila výši výnosů. Optimálních výnosů bylo dosaženo u nejvyšší dávky závlahové vody (25 % půdní vlhkosti) a to u obou sledovaných odrůd. Na základě výsledků lze konstatovat, že kvalita hlíz nebyla zhoršena. Závlaha a termín hnojení výrazně neovlivnily kvalitu konzumních hlíz.

Klíčová slova: brambory, kapková závlaha, dusíkatých hnojiva, výnos

Abstract

Potatoes are a crop that needs suitable conditions for successful cultivation. One of these conditions is the optimal supply of water and nutrients. For this reason, accurate field experiments with drip irrigation and fertigation were established in 2016-2018. The experiments were based in the Vysočina region. The water dose for drip irrigation was investigated. The dose of irrigation water was defined within three variants (15 %, 20 % and 25 % soil moisture). At the same time, the date of fertilization with mineral nitrogen fertilizers was tested with regard to the yield and quality of tubers. Nitrogen mineral fertilizer was applied in two terms, namely in full dose (120 kg N / ha) and in divided dose (60 kg N / ha before planting and 60 kg N / ha by fertigation during vegetation). For optimal evaluation, two varieties with different lengths of growing season were included (very early variety Monika and semi-early variety Jolana). According to the obtained results, it can be confirmed that irrigation had a positive effect on the amount of yields. Optimal yields were achieved with the highest dose of irrigation water (25 % soil moisture) in both monitored varieties. Based on the results, it can be stated that the quality of tubers has not deteriorated. Irrigation and the date of fertilization did not significantly affect the quality of consumer tubers.

Keywords: potatoes, irrigation, nitrogen fertilizer, yield

Úvod

Brambory patří k základním potravinám našeho jídelníčku. Plocha brambor v posledních několika letech výrazně klesla. Jedním z důvodů jsou nestabilní výnosy u této plodiny. Hlavním důvodem nestabilních výnosů je úhrn srážek během vegetace. Problém s množstvím srážek během vegetačního období je nejen v oblastech ranobramborářských, ale v posledních několika letech trápí problém sucha i oblasti typicky bramborářské. Typickou bramborářskou oblastí je Českomoravská vrchovina. Průměrné srážky za vegetační období v průměru 10 let (2009-2018)

se snížily o 19 % dlouhodobého normálu (90letý normál zaznamenaný na výzkumné stanici Valečov). Množství srážek má vliv nejen na výnos hlíz, ale i kvalitu, což potvrzuje i Petruš a kol. (1987). Litschmann a kol. (2016) uvádějí, že v průběhu vegetačního cyklu brambor se nároky na teplotu a vláhu mění, vysoká půdní vlhkost po vysazení společně s nízkými teplotami vede ke špatnému klíčení a častému vyhynutí sadby, kromě toho brambory za takových podmínek vytvářejí mělký kořenový systém, který při případném nedostatku vláhy v dalším období nestačí zásobovat rostliny vodou a živinami. Na lehkých půdách sucho v květnu a v první polovině června není pro výnos polopozdních a pozdních brambor rozhodující, ale v další vegetaci brambory vyžadují optimální zásobení vodou a chladnější počasí a před sklizní suší a teplejší počasí k vyžrání hlíz a zpevnění slupky. Produkce konzumních brambor v oblastech BVO začíná využívat možnosti doplňkových závlah. Jednou z možností je využití kapkové závlahy s přesným dávkováním vody přímo k hlízám brambor.

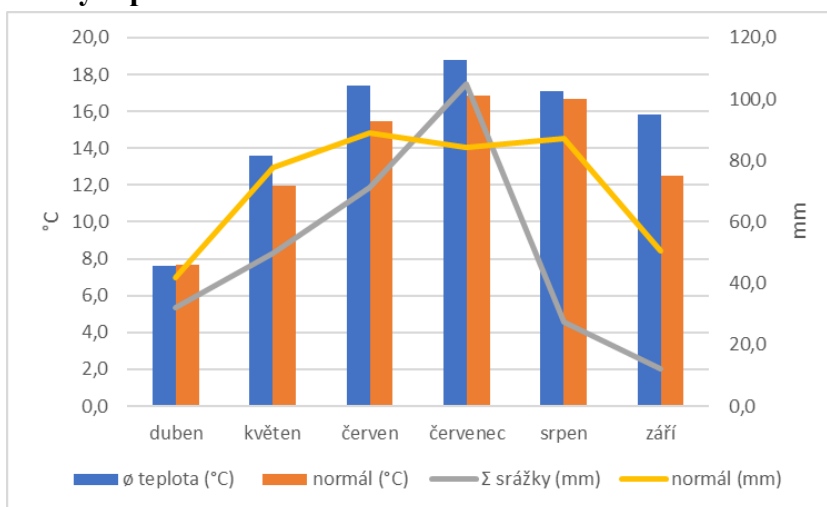
Materiál a metody

Polní pokusy byly založeny na Výzkumné stanici Valečov, která je pracovištěm Výzkumného ústavu bramborářského se sídlem v Havlíčkově Brodě. Výzkumná stanice se nachází v mírně vlhkém a mírně chladném okrsku v kraji Vysočina. Ve vegetačním období (od dubna do září) je dlouhodobá průměrná denní teplota vzduchu 13,7 °C a suma srážek je 448,3 mm. Meteorologické údaje uvádí Tab. 1. Přesné průměrné měsíční teploty a srážky v porovnání s dlouhodobým průměrem jsou zaznamenány v grafu 1 (2016), grafu 2 (2017) a grafu 3 (2018).

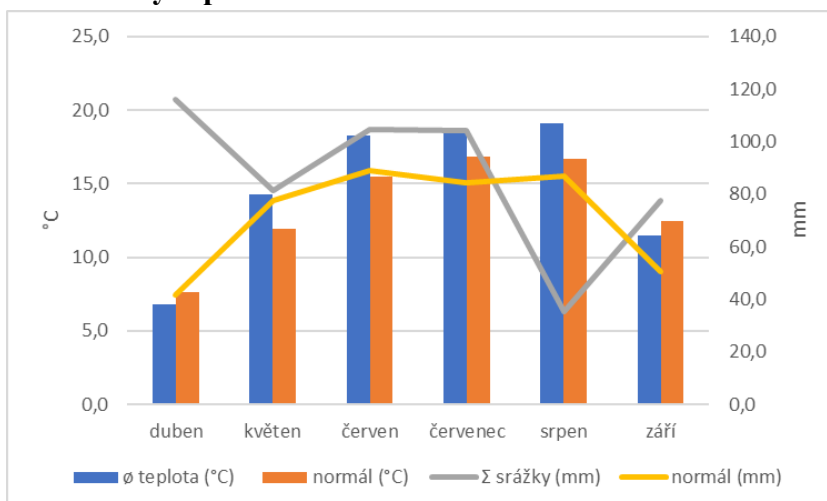
Tab. 1: Sledované měsíční údaje v průměru let 1923–2018. Měsíční úhrny srážek a průměrné měsíční teploty vzduchu v průměru let 1923 - 2018

Měsíc	Měsíční úhrn srážek (mm)	Průměrná měsíční teplota vzduchu (°C)
Leden	38,02	-3,14
Únor	32,76	-1,81
Březen	40,22	1,65
Duben	41,69	7,66
Květen	77,72	11,94
Červen	88,85	15,45
Červenec	84,17	16,84
Srpen	87,03	16,69
Září	50,49	12,49
Říjen	46,02	8,11
Listopad	40,50	3,20
Prosinec	38,87	-1,82
Průměr/Suma (roční)	684,3	7,5
Průměr / Suma (vegetační období)	448,3	13,7

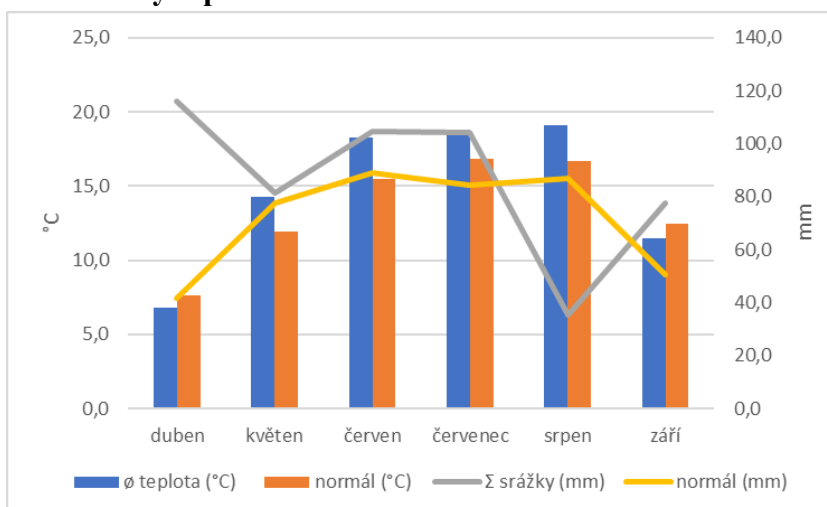
Graf 1: Průměrné měsíční teploty vzduchu a srážky za vegetaci v porovnání s dlouhodobým průměrem – Valečov 2016



Graf 2: Průměrné měsíční teploty vzduchu a srážky za vegetaci v porovnání s dlouhodobým průměrem – Valečov 2017



Graf 3: Průměrné měsíční teploty vzduchu a srážky za vegetaci v porovnání s dlouhodobým průměrem – Valečov 2018



Variety pokusu byly založeny v letech 2016–2018. Během sledování nedošlo ke změnám a variety byly každý rok zakládány dle Tab. 2.

Tab. 2: Varianty pokusu

Varianta	Závlaha	Termín a dávka dusíku
1	bez závlahy	120 kg N před sázením
2	závlaha od 15 % půdní vlhkosti	120 kg N před sázením
3	závlaha od 20 % půdní vlhkosti	120 kg N před sázením
4	závlaha od 25 % půdní vlhkosti	120 kg N před sázením
5	bez závlahy	60 kg N před sázením + 60 kg N fertigací
6	závlaha od 15 % půdní vlhkosti	60 kg N před sázením + 60 kg N fertigací
7	závlaha od 20 % půdní vlhkosti	60 kg N před sázením + 60 kg N fertigací
8	závlaha od 25 % půdní vlhkosti	60 kg N před sázením + 60 kg N fertigací

Minerální hnojení P, K, Mg bylo jednotné na celou pousnou plochu a stanoveno bylo na základě AZZP (agrochemické zkoušení zemědělských půd). Aplikováno bylo minerální hnojivo Patentkali. Močovina byla aplikována dle pokusných variant, a následovalo zavlažení. Před sázením byl pozemek nakypřen rotavátorem a nashonkován pomocí nosiče nářadí RS 09. Potom byl pozemek přesně rozměřen a ručním markérem byla naznačena přesná vzdálenost hlíz v řádku. Sázení probíhalo ručně a zaoráno bylo nosičem nářadí RS 09.

Po nasazení hlíz následovala pokládka hadic pro kapkovou závlahu s přesným pokladačem hadic vyvinutým Výzkumným ústavem zemědělské techniky v Praze (VÚZT). Kapkovací hadice byly pokladačem umístěny do hrůbků, do hloubky 3 – 5 cm od vrcholu hrůbku. Kapková závlaha byla zabezpečena pomocí hadic typu STREAMLINE 16060, se vzdáleností kapkovačů 500 mm s průtokem jednoho kapkovače $1,05 \text{ l.h}^{-1} (= 2,79 \text{ l.h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} = 2,79 \text{ mm.h}^{-1})$.

Vlhkost půdy byla měřena kontinuálně u každé varianty zavlažování samostatně čidlem VIRRIB. Konkrétní vlhkost, při které došlo k automatickému spuštění závlahy, která byla spočítána z hodnot využitelné vodní kapacity a bodu vadnutí na základě stanovení půdních hydrolimitů na dané lokalitě. Využitelná vodní kapacita (Θ_P). Využitelná vodní kapacita je rozdíl mezi polní vodní kapacitou a bodem vadnutí ($\Theta_P = \Theta_{PK} - \Theta_V$). Je to množství vody, které se může v půdě zadržet po delší období a je přitom využitelné pro rostliny.

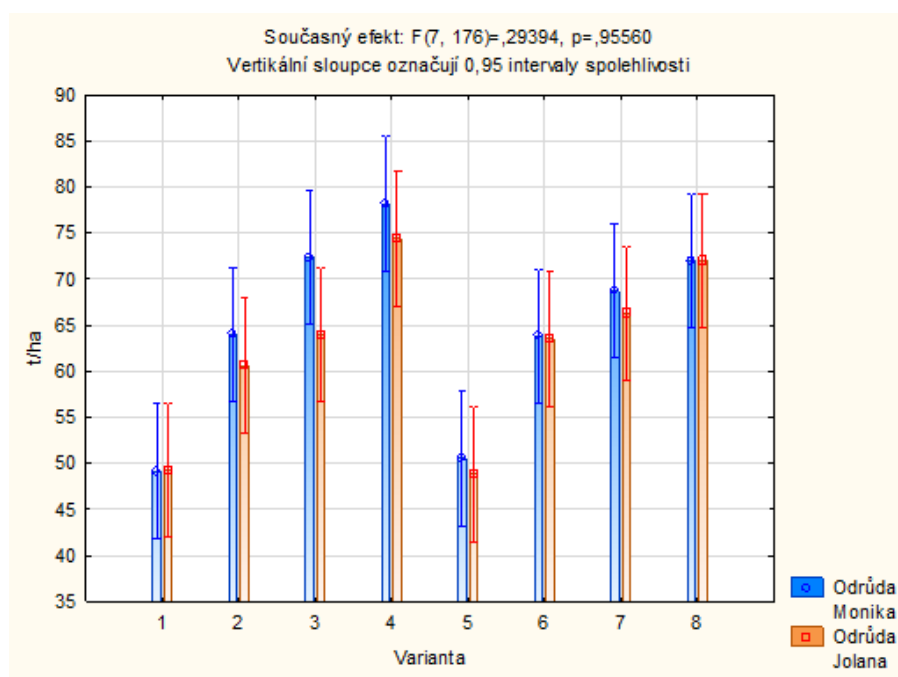
Pro aplikaci N závlahovou vodou v průběhu vegetace (fertigace) bylo použito minerální hnojivo YaraLiva Calcinit (15,5% ledek vápenatý). Hnojení v rámci závlahy bylo provedeno pomocí zařízení Dosatron D3, které přimíchává roztok hnojiva k závlahové vodě dle nastavené koncentrace. Během vegetace probíhalo standartní ošetření porostu. Po sklizni byly hlízy rozborovány a byl určen výnos hlíz, obsah škrobu, obsah sušiny a stolní hodnota hlíz. Veškeré výsledky byly následně vyhodnoceny statistickým softwarem Statistica.cz za pomoci analýzy rozptylu ANOVA.

Výsledky a diskuze

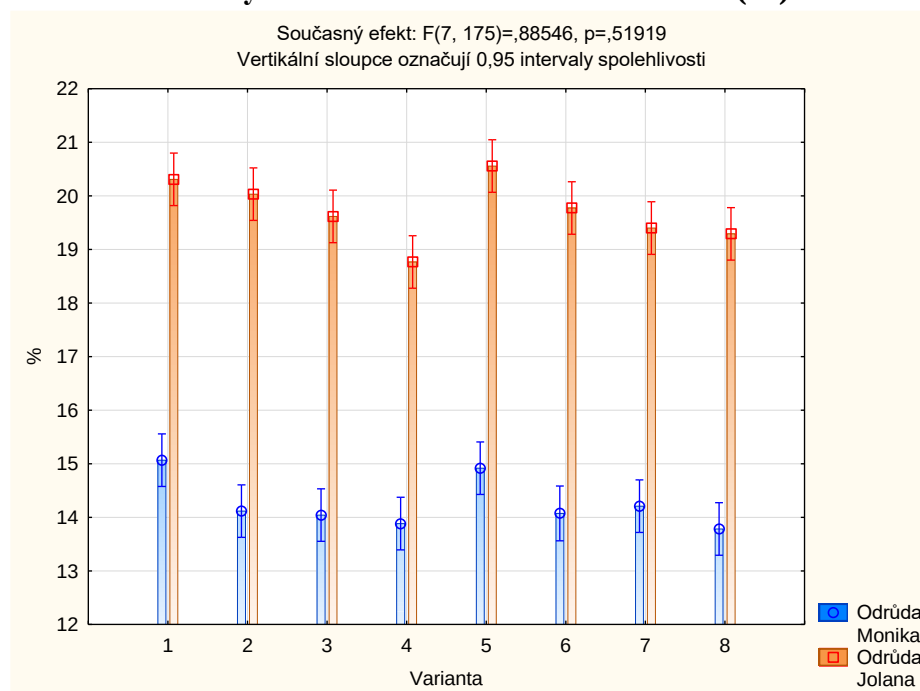
Z výsledků zjištěných v rámci sledovaných let, byl výnosy hlíz statisticky průkazně ovlivněn především ročníkem a zejména závlahou. Při srovnání variant aplikace minerálních dusíkatých hnojiv aplikovaných před sázením a pomocí fertigace se projevil ve většině případů pouze

tendenční vliv bez statistické průkaznosti. Sledování probíhalo u dvou odrůd českého šlechtění s různou délkou vegetační doby (velmi raná odrůda Monika, poloraná Jolana). Mezi odrůdami v průměru tří let nebyl statisticky průkazný rozdíl ve výnosech hlíz. Tendenčně vyšší průměrný výnos hlíz měla odrůda s delší vegetační dobou (Jolana). Výrazně vyšší vliv u obou sledovaných odrůd měl ročník pěstování. Nejvyšší výnosy byly zaznamenány v roce 2016. Rok 2016 byl vyhodnocen jako teplotně normální, ale srážkově podnormální. Srážky přišly zejména v červenci, kdy dochází k intenzivnímu růstu hlíz. Výnos hlíz byl statisticky průkazně ovlivněn závlahou. Statisticky průkazný rozdíl se projevil mezi variantami bez závlahy (var. 1 a 5) a variantami zavlažovanými, s výjimkou varianty č. 2 u Jolany a varianty č. 4 u Moniky. Stupňovaná dávka závlahové vody ovlivnila výnos hlíz (t/ha) pouze tendenčně. Z grafu č. 4 lze konstatovat, že s množstvím závlahové vody stoupá i výše výnosů. Stejně závěry mají i Čížek a Kasal (2017), kteří potvrzují kladný vliv závlahy na výši výnosu u brambor. Nejvyšší výnosy byly zaznamenány na variantách 4 a 8, což jsou varianty s nejvyšší dávkou závlahové vody. Dělená aplikace dusíkatého hnojiva (var. 6,7 a 8) téměř neovlivnila výši výnosů, a naopak výnosy byly tendenčně vyšší u variant s aplikací minerálních N hnojiv před sazením.

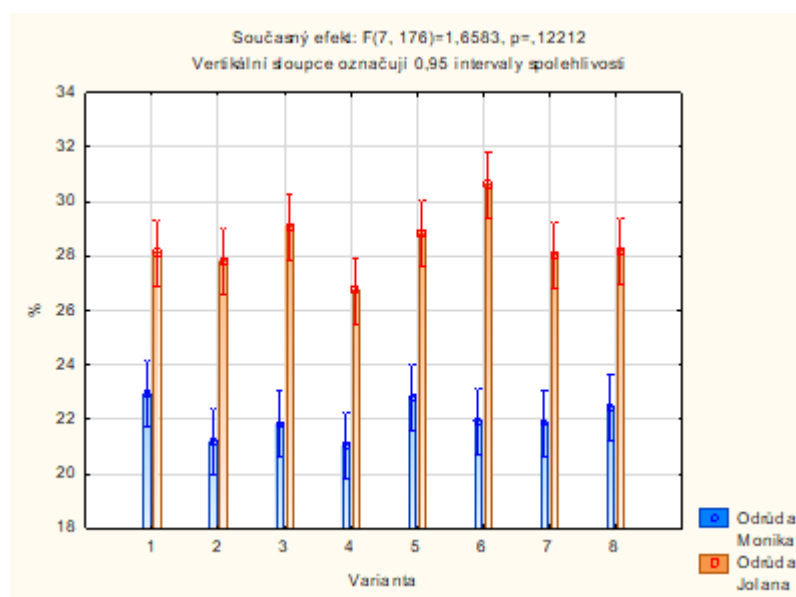
Graf 4: Průměrný výnosy hlíz 2016-2018 (t/ha)



Obsah škrobu (Graf 5) v hlízách byl statisticky průkazně ovlivněn odrůdou, dávkou závlahové vody a ročníkem. Nejvíce škrobu bylo v roce 2016, který byl nadprůměrně teplý s převážně přivalovými srážkami. Vliv teploty na vyšší obsah škrobu potvrzuje i Hausvater a Doležal (2020) kteří uvádějí, že vyšší obsah škrobu v hlízách je důsledkem teplého a suchého léta. Vliv odrůdy byl statisticky vysoce průkazný. Více škrobu obsahovala odrůda s delší vegetační dobou (Jolana). Obsah škrobu je vyšší u odrůd s delší vegetační dobou (Bárta a kol. 2008). Průměrný obsah škrobu u velmi rané odrůdy Monika se pohyboval v průměru let od 13,8 do 15,1 %. Průměrný obsah škrobu u polorané odrůdy Jolana se pohyboval v rozmezí 18,8 a 20,6 %. Rozdíly mezi variantami byly ovlivněny dávkou závlahové vody. Více škrobu měly varianty bez závlahy. Termín aplikace dusíkatého minerálního hnojiva obsah škrobu neovlivnil.

Graf 5: Průměrný obsah škrobu v hlízách 2016-2018 (%)

Průměrný obsah sušiny v hlízách (Graf 6) byl ovlivněn odrůdou brambor. Nejnížší obsah sušiny v hlízách měla velmi raná odrůda Monika oproti polorané odrůdě Jolana. Potvrzuje se zde poznatek Bárty a kol. (2008), že více sušiny mají odrůdy s delší vegetační dobou. Průměrný obsah sušiny u velmi rané odrůdy Monika nebyl statisticky ovlivněn závlahou ani termínem dusíkatého minerálního hnojení. Neprojevily se zde ani tendenčně významné rozdíly. Zjištěné průměrné hodnoty obsahu sušiny v rámci let byly v rozmezí 21,1 až 22,9 %. Průkazně nejnížší byl obsah sušiny u varianty č. 4, což je varianta s dávkou vody od 25 % půdní vlhkosti. Naopak nejvyšší obsah sušiny byl zaznamenán na variantě č. 6 (závlaha od 15 % půdní vlhkosti, 60 kg N před sázením a 60 kg N fertigací).

Graf 6: Průměrný obsah sušiny v hlízách 2016-2018 (%)

Stolní hodnota byla stanovena na základě bodů přiděleného od hodnotitelů, maximální počet bodů je 100. Hodnocení probíhalo podle normy ČSN 462211. Hodnotil se vzhled čerstvých hlíz, vzhled hlíz po uvaření, vůně, chuť, konzistence a vařivost, trvanlivost. U stolní hodnoty nebyla zaznamenána statistická průkaznost (Tab. 3). Nebyl zde potvrzen vliv závlahové dávky ani termínu hnojení dusíkatými minerálními hnojivy. Stolní hodnotu ovlivnila zejména odrůda. Vzhledem k výsledkům lze konstatovat, že velmi raná odrůda Monika vykazovala vyšší stolní hodnotu oproti polorané odrůdě Jolana. Jolana po součtu všech bodů dosáhla pouze průměrné hodnoty v rámci let 68,56 bodů ze 100. Velmi raná odrůda Monika v rámci tří let hodnocení dosáhla průměrné hodnoty v rámci let 71,55 bodů ze 100. Další významnou úlohu při hodnocení stolní hodnoty hrál vliv ročníku pěstování. Nejvyšší stolní hodnota byla v roce 2017. Vegetační rok 2017 se vyznačoval zejména v letních měsících nadprůměrně teplým a srážkově vydatným počasím. Hamouz (1997) potvrzuje, že nejpodstatnějším vlivem na stolní hodnotu hlíz je odrůda a ročník.

Tab. 3: Stolní hodnota hlíz (body)

Odrůda	Varianta	Ročník			Průměr
		2016	2017	2018	
Monika	1	64,75	71,00	72,85	69,53a
	2	66,50	73,70	73,80	71,33a
	3	65,55	75,10	71,45	70,70a
	4	69,05	74,50	71,38	71,64a
	5	70,98	74,20	74,50	73,23a
	6	67,83	75,00	73,78	72,20a
	7	68,35	75,30	71,53	71,73a
	8	68,35	75,20	70,38	71,31a
	Průměr	67,67a	74,25b	72,46c	
Jolana	1	63,30	70,80	74,60	69,71a
	2	62,90	68,90	73,70	68,50a
	3	62,45	69,80	72,80	68,35a
	4	62,45	69,20	73,10	68,25a
	5	64,00	68,10	73,20	68,43a
	6	61,80	69,60	71,95	67,78a
	7	62,10	68,90	72,55	67,65a
	8	67,15	69,60	72,45	69,73a
	Průměr	63,27a	69,36b	73,04c	
	F – test pro ročníku	1,186			

Závěr

Z výsledků vyplývá, že vliv počasí ovlivnil výrazně výsledky pokusů. Nejvyšší rozdíly ve výnosech byly zaznamenány v roce 2016. Rok 2016 byl vyhodnocen jako teplotně normální, ovšem srážkově vysoce podprůměrný podnormální. Vliv závlahy se projevil na výnosech hlíz i v dalších letech sledování. Statisticky průkazně vyšší výnosy byly zaznamenány na zavlažovaných variantách oproti nezavlažované kontrole u obou odrůd. Stupňované dávky vody ovlivnily výši výnosů pouze tendenčně. Dělená aplikace dusíkatého minerálního hnojiva takřka neovlivnila výši výnosů, a naopak v některých případech byly výnosy vyšší u variant s

aplikací hnojiva před sázením. Lze tedy konstatovat, že vliv závlahy je vysoce průkazný zejména v letech, kdy je výrazný srážkový deficit. Ovšem i ve zbývajících letech došlo k navýšení celkových výnosů. Závlaha částečně ovlivnila kvalitu konzumních hlíz. S vyšší dávkou závlahové vody byl snížen obsah škrobu a sušiny. Vzhledem k tomu, že sledování probíhalo u brambor určených ke konzumu, naměřené hodnoty byly vyhodnoceny jako optimální i na variantách se závlahou. Stolní hodnota hlíz nebyla dávkou závlahové vody ovlivněna. Oba sledované parametry byly ovlivněny odrůdou a ročníkem.

Literatura

- Bárta J. (2008): Brambory. In Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Praha. VÚ pivovarnický a sladařský. s. 241–257.
- Čížek M., Kasal P. (2017): Options for stabilizing potato production using drip irrigation under extreme weather fluctuations. 20th Triennial Conference, Versailles, 9-14 July 2017. Paris: ARVALIS. P004
- Hamouz K. (1997): Co rozhoduje o jakosti konzumních brambor. Úroda, 45 (10) s. 18 - 19.
- Hausvater E., Doležal P. (2020): Agromanual, Škodliví činitelé a ochrana brambor v roce 2019
- Litschmann T. - Hausvater E. - Doležal P. (2016): Nový přístup k vyhodnocení vlhkostně - teplotních podmínek při pěstování brambor, A new approach to evaluation of moisture and temperature conditions, J. Rožnovský, J. Vopravil, (eds) : Půdní a zemědělské sucho. Sborník abstraktů z mezinárodní konference, Kutná Hora 28. 4.–29. 4. 2016. Vydalo nakladatelství Výzkumného ústavu meliorací a ochrany půdy, 582 s. ISBN 978-80-87361-55-9
- Petr J. (1987): Počasí a výnosy. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství.

Poděkování

Výsledky prezentované v tomto příspěvku byly získány při řešení projektu NAZV č. QJ1610020 a za institucionální podpory na dlouhodobý koncepční rozvoj výzkumné organizace reg. č. MZE-RO1619.

Kontaktní adresa:

Ing. Andrea Svobodová, Ph.D.
Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod
Dobrovského 2366
580 01 Havlíčkův Brod
E-mail: svobodova@vubhb.cz

SLEDOVÁNÍ KVALITATIVNÍCH PARAMETRŮ VOJTĚŠKY SETÉ

Monitoring of qualitative parameters of Alfalfa

Šindelková I.¹, Lang J.¹, Loučka R.², Nedělník J.¹, Jambor V.³

¹Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko

²Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i., Uhřetěves

³NutriVet s.r.o., Pohořelice

Abstrakt

Precizní zemědělství má velký potenciál poskytovat produktivnější a udržitelnější zemědělskou produkci. Principem precizního zemědělství je sbírat informace velké početnosti. Následně získaná data využít pro přizpůsobení se těmto rozdílům. Nároky na kvalitu krmiv v precizním zemědělství je obtížné stanovit prostřednictvím klasických analytických metod. Na sledovaných lokalitách Troubsko a Hrušovany nad Jevišovkou byla v roce 2019 v provozních pokusech hodnocena řezanka vojtěšky seté z hlediska nutričních hodnot. Z těchto lokalit byly ve 3 sečích odebírány vzorky řezanky a v laboratořích stanoveny nutriční hodnoty (sušina, NL, NDF, ADF, popeloviny) pomocí chemických a NIRs analýz. Kalibračními modely chceme dosáhnout vyšší přesnosti stanovení intíme hodnot s použitím přístrojů AgriNIRs u řezanky vojtěšky.

Klíčová slova: vojtěška, chemická analýza, spektrometrie, NIR, precizní zemědělství

Abstract

Precise agriculture has great potential to provide more productive and sustainable agricultural production. The principle of precision agriculture is to collect information of high countability and then use the data obtained to adapt to these differences. Demands for feed quality in precision agriculture are difficult to determine through classical analytical methods. In the monitored localities of Troubsko and Hrušovany nad Jevišovkou, alfalfa seed was evaluated in operational experiments in 2019 in terms of nutritional values. Meat samples were taken from these localities in 3 sections and nutritional values (dry matter, NL, NDF, ADF, ash) were determined in laboratories using chemical and NIRs analyzes. Calibration models represent for more accurate in time determinations using AgriNIRs for alfalfa.

Key words: alfalfa, chemical analysis, spectrometry, NIR, precision agriculture

Úvod

Vojtěška je jednou z nejvýznamnějších píceň pěstovaných na všech kontinentech. Silážování je jednou z nejčastějších metod jejího zpracování. V některých evropských zemích tvoří siláže více než 90% konzervovaného krmiva a jejich význam ve výživě skotu roste. 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). Rychlé a spolehlivé znalosti o kvalitě píceň na mléčných farmách jsou pro techniky a výrobce zásadní. Potřebné vybavení pro splnění těchto požadavků je však často nákladné a jeho použití je složité (Rego a kol., 2020). Precizní hospodaření se také označuje jako (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 (Trínáctý 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, Rego a kol., 2020), které pro stanovení základních parametrů výživné hodnoty uplatňují jejich fyzikální a fyzikálně chemické vlastnosti (Nerušíl 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), (Nerušíl a kol., 2018). Rovnice získané pro predikci biologických a chemických parametrů vysvětlují hlavní část variace existující v referenčních datech, která otevírá velké vyhlídky na použití NIRS v plánování krmných strategií hospodářských zvířat (Formigoni A. a kol, 2010). V rámci zdokonalování detekčních metod se do praxe dostává přístroj AgriNIRs, který může urychlit a zlevnit stanovení kvalitativních parametrů čerstvé řezanky pícnin.

Materiál a metody

Na dvou lokalitách jižní Moravy byla v sečích odebírána řezanka vojtěšky seté pro stanovení sušiny a nutričních látek pomocí chemické analýzy a analýzy AgriNirs. V lokalitě Troubsko byla pěstována odrůda Holyna (rok 2019 - 2. užitkový rok) ve 3 sečích v termínech (25. 5. 2019, 28. 6. 2019, 9. 8. 2019), na lokalitě Hrušovany nad Jevišovkou byla pěstována odrůda Morava (rok 2019 - 3. užitkový rok) ve 2 sečích v termínech (25. 5. 2019, 18. 6. 2019).

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. AGRINIR™ je přenosný analyzátor objemových krmiv a zrnin, který kvantifikuje podíl vlhkosti (sušiny), dusíkatých látek, škrobu, ADF, NDF, popelovin a tuku v krmivu v průběhu několika sekund. Zařízení je umístěno v kompaktním kufříku, vše potřebné pro analýzu na jednom místě. Vzorky vojtěšky z třetí seče byly z provozních důvodů pokusných ploch odebírány pouze na lokalitě Troubsko. 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

Z naměřených hodnot je patrné, že výsledky jednotlivých analýz NIR/CHEM použité ke stanovení kvalitativních znaků vojtěšky se liší.

Ze statistických tabulek 1 a 2 vyplývá, že hodnoty sušiny stanovené klasickou chemickou analýzou (CHEM) jsou statisticky průkazně vyšší, než hodnoty získané měřením NIRS na obou lokalitách.

Ve stanovení obsahu N-látek, docházelo u metody NIRs ke statisticky průkaznému nadhodnocení obsahu těchto látek na obou lokalitách.

V parametru NDF byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl mezi metodami NIR a CHEM na obou sledovaných lokalitách. Z tabulek jasně vyplývá, že hodnoty NDF stanovené klasickou chemickou analýzou (CHEM) jsou statisticky průkazně vyšší ve všech, než hodnoty získané měřením NIRS na obou lokalitách.

V hodnotách parametru ADF, byly zjištěny statisticky průkazné rozdíly mezi metodami CHEM a NIR, 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.

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; Marchesini 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	34,41 ^f	19,54 ^a	43,73 ^a	33,33 ^{a,b}	9,89 ^a
NIR	1	30,56 ^e	27,00 ^b	30,72 ^d	26,45 ^d	11,43 ^c
Chem	2	23,65 ^d	20,64 ^a	44,93 ^a	34,01 ^{a,b}	10,31 ^{a,b}
NIR	2	13,44 ^a	24,47 ^c	24,67 ^c	31,83 ^a	6,10 ^d
Chem	3	21,46 ^c	21,24 ^a	44,97 ^a	34,68 ^b	10,62 ^{a,b}
NIR	3	16,34 ^b	40,73 ^d	17,81 ^b	24,12 ^c	10,88 ^{b,c}

Rozdílná písmena v indexu čísel značí významný rozdíl ($P < 0,05$)

Z tabulek vyplývá, že stanovené kvalitativní parametry čerstvé vojtěšky použitím metody NIR jsou na obou lokalitách rozdílné, než hodnoty stanovené klasickou chemickou analýzou. Obsah sušiny ovlivnil faktor lokality. Metoda NIR obsah N-látek ve srovnání s klasickou chemickou analýzou nadhodnocuje, naopak v parametru NDF a ADF stanovila metoda NIR obsah nižší.

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	33,54 ^b	21,06 ^a	38,08 ^c	28,00 ^b	10,81 ^a
NIR	1	31,51 ^a	27,51 ^d	30,10 ^a	25,67 ^a	12,42 ^c
Chem	2	37,46 ^c	22,44 ^b	47,01 ^d	35,87 ^d	10,43 ^a
NIR	2	31,81 ^a	24,47 ^c	32,05 ^b	29,31 ^c	8,56 ^b

Rozdílná písmena v indexu čísel značí významný rozdíl ($P < 0,05$)

Závěr

Výsledky z druhého roku řešení nám poskytly informaci o rozdílech ve výsledcích měření přístrojů AgriNIRs u vojtěškové řezanky. Parametry z CHEM analýz budou dále 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.

Použitá literatura

- Bien, R., Hrbáčková, B. (2017): NIR analýza - spolehlivá kontrola jakostních parametrů v krmivářském průmyslu a dalších odvětvích. *Krmivářství*, 2: 27–28.
- Doležal, P., Dvořáček, J., Loučka, R., Mykiska, F., a kol. (2012). Konzervace krmiv a jejich využití ve výživě zvířat. Profi-tisk group, s.r.o., 307 s., ISBN 978-80-87091-33-3.
- Formigoni A., Ward R., Brogna N., Ruozzi F., Immovilli A. The use of near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS) in the prediction of chemical composition and in vitro neutral detergent fiber (NDF) digestibility of Italian alfalfa hay. *Italian Journal of Animal Science*. 2010, **8**(2), 271-273. ISSN 15944077. Dostupné z: doi:10.4081/ijas.2009.s2.271
- Ibáñez I., 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.
- Nerušíl, 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.
- Nerušíl, 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., Čížmár, 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 R.J. (1999). The development and transfer of undried grass silage calibrations between near infrared reflectance spectroscopy instruments. *Anim Feed Sci Technol*. 78:325–340.
- Rego G., Ferrero F., Valledor M., Campo J. C., Forcada S., Royo L. J., Soldado J: A portable IoT NIR spectroscopic system to analyze the quality of dairy farm forage. *Computers and Electronics in Agriculture*. 2020, **175**. ISSN 01681699. Dostupné z: doi:10.1016/j.compag.2020.105578
- Soldado A, Fearn T, Martínez-Fernández A, dela Roza-Delgado B. (2013). The transfer of NIR calibrations for undried grass silage from the laboratory to on-site instruments: comparison of two approaches. *Talanta*. 105:8–14.
- Třináctý a kol. (2013): Hodnocení krmiv pro dojnice. *AgroDigest s.r.o.*, Pohořelice, 590 s.

Dedikace

Výsledky byly získány v rámci řešení výzkumného projektu NAZV QK1810137.

Kontaktní adresa:

Ing. Ivana Šindelková,
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.,
Zahradní 1, 664 41 Troubsko,
e-mail: sindelkova@vupt.cz

BIOSTIMULACE PŮDY VE VZTAHU K MANAGEMENTU ZÁSObY PŮDNÍ VLÁHY

Soil biostimulation in relation to soil water supply management

Šindelková I.

Zemědělský výzkum spol. s r.o., Troubsko

Abstrakt

Jednou z funkcí půdy je zajištění koloběhu vody v krajině. Půdní vláha na území ČR představuje 10 x více vody, než všechna jezera a vodní toky. V letech 2017–2019 byl sledován vliv půdního biostimulantu na fyzikální vlastnosti půdy. Experimentální místo v lokalitě Litobratřice je klasifikováno jako nejteplejší klimatické pásmo VT. Získané výsledky ukazují, že aplikace biologicky stimulující látka má pozitivní vliv na snížení utužení půdy, zvýšení pórovitosti, lepší strukturu půdy. Drobtovitá půdní struktura umožňuje infiltraci vody do hlubších vrstev, kdy následně dochází k lepšímu využívání vody z půdy. Z výsledků polního pokusu vyplývá, že půdní biostimulace zlepšuje strukturu půdy a následným měřením půdních vlhkostí vzniká patrná tendence nárůstu schopnosti půdního profilu zadržet a kumulovat větší objem srážkové vody po aplikaci půdního biostimulantu 34,4 mm srážek oproti kontrolní variantě.

Klíčová slova: půda, voda, sucho, půdní biostimulace, vlhkost půdy

Abstract

One of the main functions of the soil is to ensure the water cycle in the landscape. Soil moisture in the Czech Republic represents 10 times more water than all lakes and streams. In the years 2017–2019, the influence of soil biostimulant on the physical properties of the soil was monitored. The effect of soil biostimulant on soil properties was studied in the territory of the Czech Republic, the South Moravia locality, the municipality of Litobratrice. Experimental site is classified as the hottest T4 climate zone and area is very dry. The obtained results show that the application of biologically stimulating substances has a positive effect on reducing soil compaction, increasing porosity, better soil structure. The crumbly soil structure allows water to infiltrate deep. There is a better use of water from the soil. In the third year of monitoring on the variant with soil biostimulant 34.4 mm of precipitation was saved by better infiltration in comparison to the control variant. The results show that the application of biostimulants has a positive effect on the physical properties of the soil.

Key words: soil, water, drought, soil biostimulation, soil moisture

Úvod

Funkcí půdy je také zajištění koloběhu vody v krajině. Půdní vláha na území ČR představuje 10 x více vody, než všechna naše jezera a vodní toky. Roční úhrn srážek se většinou neliší od dlouhodobého průměru, ale rozdílný je jejich průběh, který je většinou v přívalových deštích s následným obdobím vysokých teplot, silných větrů a následného sucha (Renne a kol. 2019). Vzhledem k současnému stavu degradačních půdních procesů – především snížením podílu půdní organické složky, ztrátou biologické aktivity, zhutněním půdy a s tím související zhoršení půdní struktury, jako i špatného poměru kapilárních a nekapilárních pórů a následnou erozí orníční vrstvy (Nimmo, 2013) je potenciální retenční schopnost našich půd na velmi špatné úrovni (Jakšík a kol. 2015). Pokud se prostor pro vodu v půdě vlivem zhutnění sníží, sníží se prostor pro srážky, které by kompletně zasákly do půdy, kdy zdravý půdní profil je

schopen jímat vodu až do hloubky 1 metru. Cílem je zlepšit strukturu půdy v rámci zvýšené pórovitosti a schopnosti půdy tak zachytit více dešťových srážek. Jednou z možností zlepšení struktury půdy jsou půdní biostimulace, které můžou doplnit či nahradit zmíněné nedostatky (Szűcs, 2014, Du Jardin, 2015, Řeháček a kol. 2018).

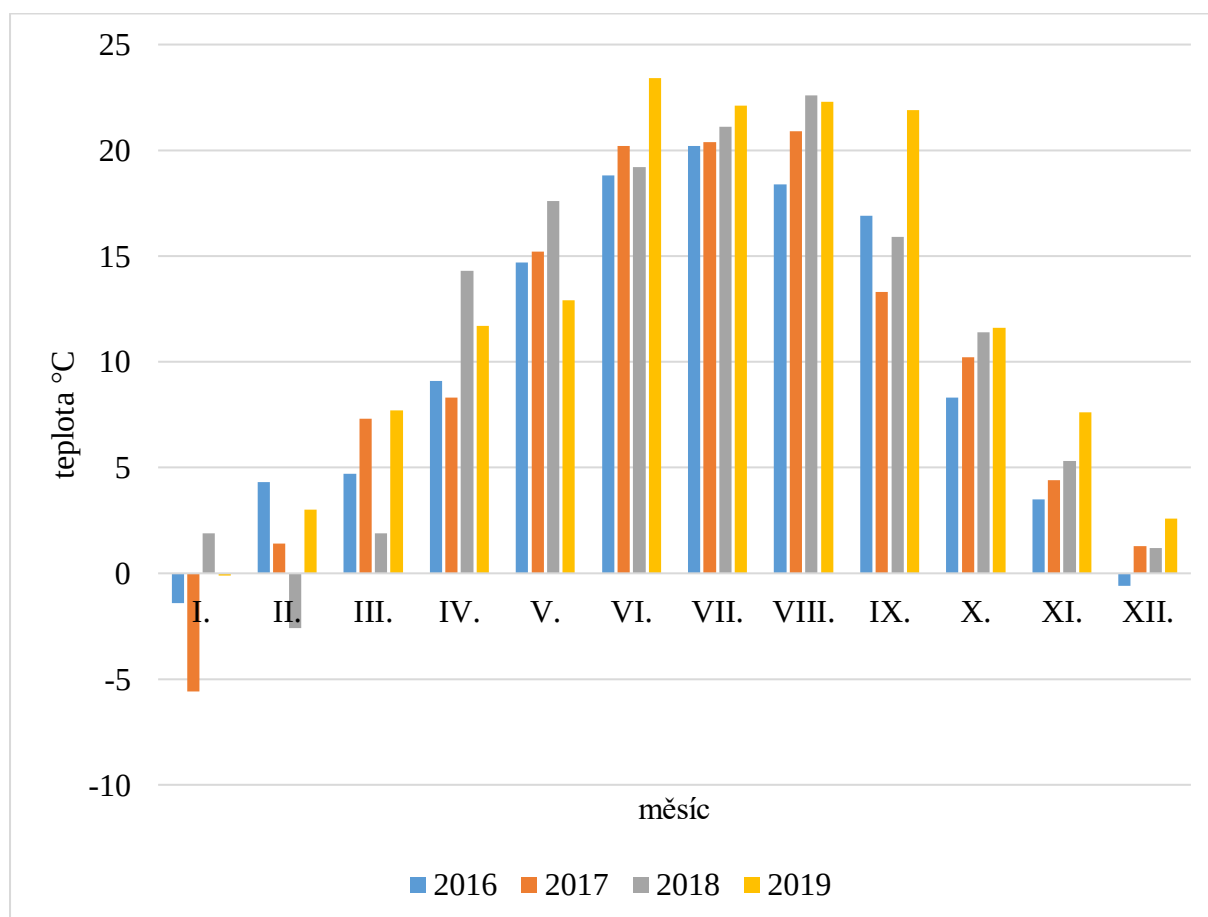
Materiál a metody

V roce 2017 byl proveden výběr stanoviště v katastru obce Litobratřice patřící do klimatické oblasti VT – suchá kukuřičná výrobní oblast. Nadmořská výška 210 m.

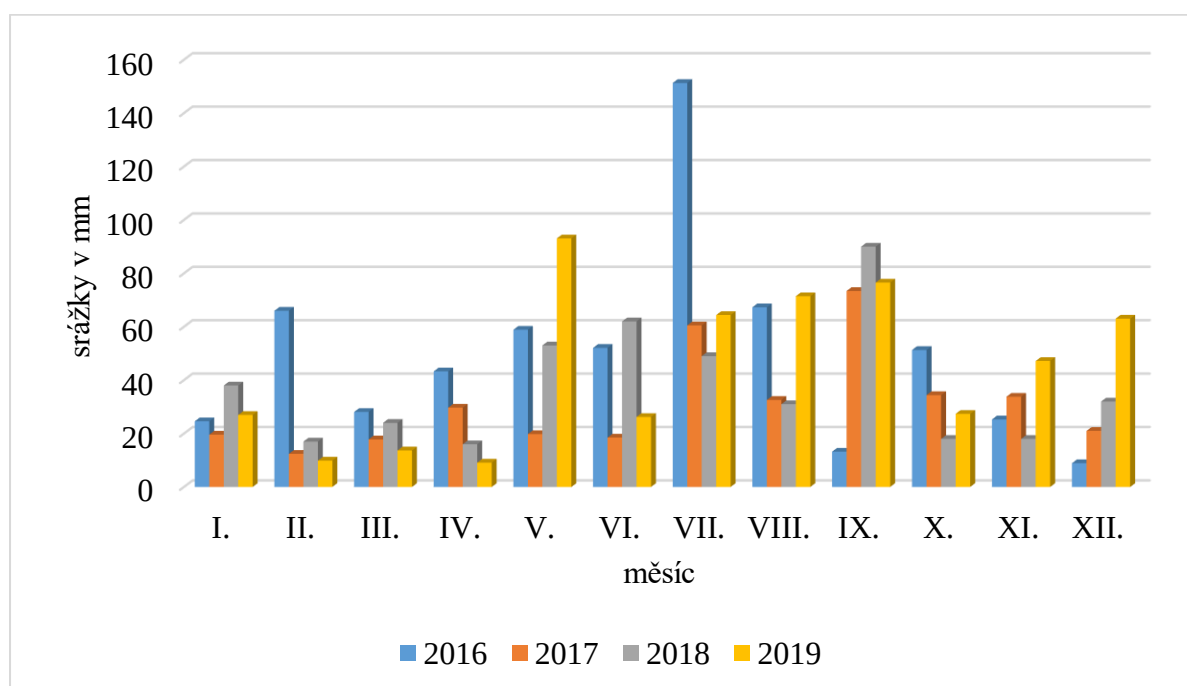
Půdní podmínky: černozem modální na spraši, středně těžká až těžká, zrnitostně hlinitá až jílovitohlinitá půda, humusový horizont sahá do hloubky 40 cm, z toho je kultivováno 30 cm. V roce 2016 byla předplodina cukrová řepa. Na jaře 2017 byl založen poloprovozní pokus s respektováním agrotechnických zásahů v rámci hospodářského podniku. Po zasetí pšenice jarní byla provedena plošná aplikace 150 kg/ha granulí půdního biostimulantu plošně. Na podzim 2018 byla zasetá pšenice ozimá a následně byla provedena plošná aplikace 120 kg/ha granulí půdního biostimulantu plošně. Po pšenici ozimé byla v roce 2019 zasetá řepka ozimá s následnou třetí aplikací půdního biostimulantu v plošné dávce 120 kg/ha.

Povětrnostní podmínky sledování průměrných ročních teplot a srážek ukazují graf 1 a 2

Graf 1: Průběh měsíčních teplot – 2016-2019



Průměrná teplota v roce 2016 činí 9,8 °C, z toho ve vegetačním období (březen-září) 14,7 °C. Průměrná teplota v roce 2017 činí 9,8 °C, z toho ve vegetačním období (březen-září) 15,1 °C. Průměrná teplota v roce 2018 činí 10,8 °C, z toho ve vegetačním období (březen-září) 16,1 °C. Průměrná teplota v roce 2019 činí 12,2 °C, z toho ve vegetačním období (březen-září) 17,4 °C.

Graf 2: Průběh měsíčních srážek – 2016-2019

Celoroční srážky na sledované lokalitě v roce 2017 byly 370 mm, z toho během vegetace (březen - 10. 7. 2017), kdy byla na pozemku pšenice jarní spadlo pouze 146,3 mm srážek.

V roce 2018 byly srážky 448 mm a během vegetace, kdy byla na pozemku pšenice ozimá (říjen - 3. 7. 2018) spadlo 295 mm srážek.

V roce 2019 byly srážky 529 mm a během vegetace, kdy byla na pozemku řepka oz. (srpen - 8. 7. 2019) spadlo 432 mm srážek.

Cílem tohoto projektu je zlepšení fyzikálních vlastností půdy pomocí zvýšení biologické aktivity v půdě a komplexní vyvážení fyziologických procesů v rostlinách. Proto byl v rámci polního experimentu sledován vliv vybraného půdního biostimulantu – granulát NeOsol, na bázi uhličitánů vápenatých a hořečnatých s příměsí makroelementů (Ca, Mg, N, P, K, S, Na) a mikroelementů Fe, Zn, Mn, B, Cu, I), podle systému MIP – Mineral Inducer Process, jako možnost vedoucí ke zlepšení půdních vlastností při nedostatku organické hmoty (dále OH) v půdě od společnosti (Olmix Group). Množství a pevnost poutání půdní vody závisí na fyzikálních, fyzikálně-mechanických a chemických vlastnostech půdy, na obsahu a kvalitě organické půdní složky. Byly sledovány fyzikální vlastnosti půdy pomocí válečků dle Kopeckého z hloubky 0-20, 20-40 cm v 5 opakováních. Získané výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu Statistica 12.0 CZ. Rovněž byla použita vícefaktorová analýza rozptylu (ANOVA) a Tukeyův test. Úroveň značení byla $\alpha = 0,05$.

Výsledky a diskuze

V rámci polního projektu byl realizován na podzim v termínech 9. 11. 2017, 5. 11. 2018, 31. 10. 2019 výkop půdních profilů. Toto podrobnější sledování bylo zaměřeno na variantu kontrola a půdní biostimulant.

Hodnoty fyzikálních vlastností půdy jsou uvedeny v tab. 1. Objemová hmotnost redukováná (OHR) je přímým ukazatelem utužení půdy. U půd strukturních a neutužených se tato hodnota pohybuje v rozmezí 1,30-1,45 g.cm⁻³ (Vopravil a kol. 2010)

Výchozí hodnoty v roce 2017 korespondují se založenými variantami. V roce 2018 již lze z hodnot usoudit, že varianta s aplikovaným půdním biostimulantem vykazovala nižší úroveň

utuzení půdy, což dokazují hodnoty (OHR). U varianty 1 – kontrola byla vysoká hodnota OHR 1,51 g.cm⁻³ a nízká pórovitost 41,9 %, což korelovalo s ostatními sledovanými veličinami fyzikálních vlastností půdy. Rok 2019 potvrdil trend roku 2018, vykazoval statisticky průkazný nárůst OHR a pórovitost oproti kontrolní variantě.

Dále byla měřena aktuální půdní vlhkost v sedmi hloubkách v pěti opakováních (vlhkoměrem Delta T Devices HH2 moisture meter). V roce 2017 pouze v pěti hloubkách z důvodů sucha, kdy měření nebylo do větších hloubek realizovatelné.

Tab. 1: Stanovení fyzikálních vlastností půdy Litobratřice 2017, 2018 a 2019

Varianta	2017			2018			2019		
	Hloubka půdy (cm)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)	Hloubka půdy (cm)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)	Hloubka půdy (cm)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)
Kontrola	0-20	1,13	57,9	0-20	1,49	42,9	0-20	1,39	41,4
	20-40	1,39	47,1	20-40	1,53	40,9	20-40	1,54	39,2
	Průměr	1,27^a	51,5^a	Průměr	1,51^b	41,9^a	Průměr	1,46^b	40,3^a
Půdní biostimulant	0-20	1,12	57,7	0-20	1,31	49,9	0-20	1,21	58,9
	20-40	1,44	45	0-40	1,26	51,9	20-40	1,34	55,4
	Průměr	1,28^a	51,4^a	Průměr	1,29^a	50,9^b	Průměr	1,28^a	57,15^b

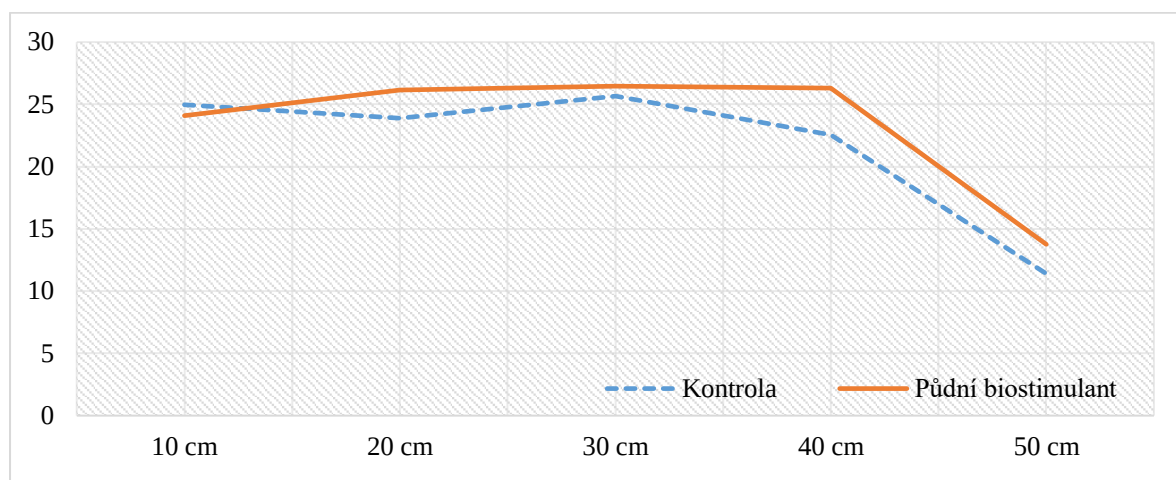
Rozdílná písmena v indexu čísel značí významný rozdíl (P < 0,05) skupin podle výsledků ANOVY

Tab. 2, graf 3 ukazují průběh aktuálních půdních vlhkostí při odkryvu celého půdního profilu v prvním roce sledování 2017. Po prvním roce sledování lze již na podzim zaznamenat patrný rozdíl mezi kontrolní variantou a variantou s půdním biostimulantem. Kdy varianta s půdním biostimulantem má rovnoměrnější rozložení vlhkosti a plynulost zasakování.

Tab. 2: Měření vlhkostí Litobratřice 9. 11. 2017

Hloubka	Průměrná vlhkost v obj. %		ROZDÍL		
	Kontrola	Půdní biostimulant	%	Voda m ³ na 1 ha	Ekvivalent srážek (mm)
10 cm	24,94 ^a	24,10 ^a	-0,84	-10,95	-1,09
20 cm	23,86 ^a	26,14 ^b	2,29	29,72	2,97
30 cm	25,66 ^a	26,46 ^a	0,81	10,48	1,05
40 cm	22,53 ^a	26,31 ^b	3,77	49,04	4,90
50 cm	11,40 ^a	13,76 ^a	13,76	30,73	3,07
Celkem v půdním profilu				109,02	10,90

Dle výpočtů můžeme konstatovat, že v roce 2017 na variantě s půdním biostimulantem, bylo ušetřeno oproti variantě kontrolní 10,9 mm srážek.

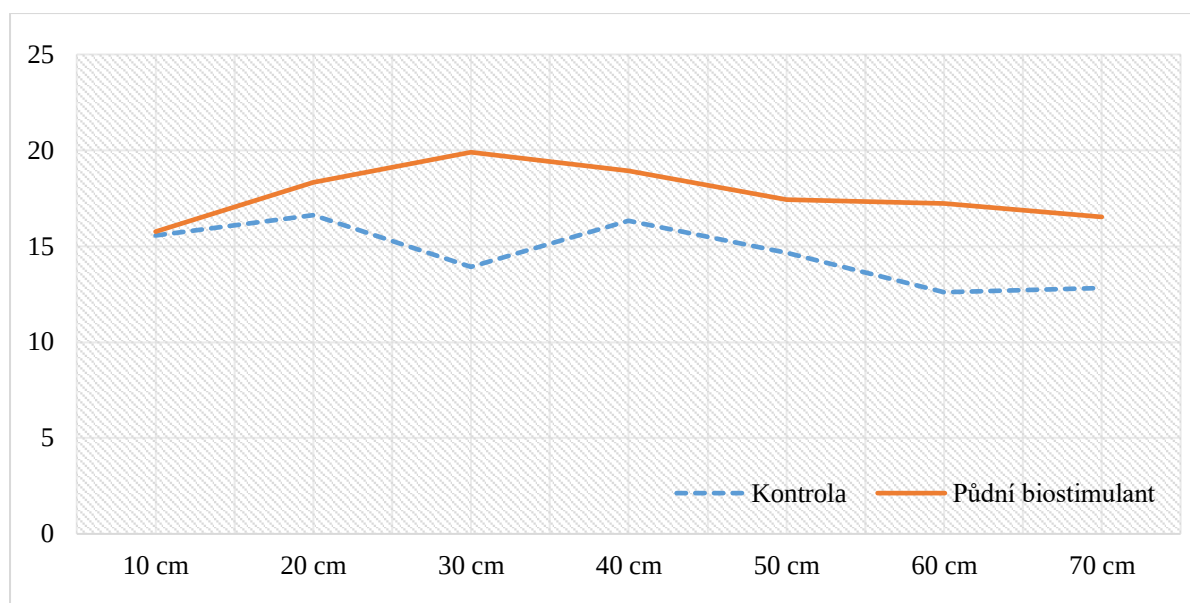
Graf 3: Aktuální půdní vlhkost, Litobratřice 2017, v obj. %

Ve druhém roce sledování půdních profilů 2018 ukazují průběh aktuálních půdních vlhkostí (tab. 3, graf 4). Na kontrolní variantě v povrchové vrstvě 10 cm je část vláhy z vydatných zářijových srážek (graf 2) odtranspirována stále ještě vegetující řepkou. Ve vrstvě 10-20 cm se nakumulovalo více srážek nad první technogenně utuženou vrstvou. Ve vrstvě 20–30 cm srážky chybí vlivem nižší retenční kapacity způsobené technogenním utužením projevujícím se polyedrickými půdními agregáty. Ve vrstvě 30-40 cm je vlhkost opět mírně vyšší podobně jako v zóně 10-20 cm; tento stav je způsoben rychlejším zasáknutím vody přes praskliny ve druhé utužené zóně, která zatím nebyla odtranspirována kořeny rostlin.

Tab. 3: Měření vlhkostí Litobratřice 5. 11. 2018

Hloubka	Průměrná vlhkost v obj. %		ROZDÍL		
	Kontrola	Půdní biostimulant	%	Voda m ³ na 1 ha	Ekvivalent srážek (mm)
10 cm	15,56 ^a	15,76 ^a	0,20	2,6	0,26
20 cm	16,62 ^a	18,32 ^b	1,70	22,1	2,21
30 cm	13,92 ^a	19,90 ^b	5,98	77,74	7,77
40 cm	16,32 ^a	18,96 ^b	2,64	34,32	3,43
50 cm	14,66 ^a	17,44 ^b	2,78	36,14	3,61
60 cm	12,60 ^a	17,24 ^b	4,64	60,32	6,03
70 cm	12,82 ^a	16,54 ^b	3,72	48,36	4,84
Celkem v půdním profilu				281,58	28,16

Varianta s půdním biostimulantem má rovnoměrnější rozložení vlhkosti a lepší plynulost zasakování vody. Tvoří se zde trvalá zásoba půdní vláhy. Drobtovitá půdní struktura ve vrstvě do 10 cm umožňuje infiltraci vody do hloubky. Hodnoty naměřené ve vrstvách 20-70 cm dokumentují rovnoměrnější zasakování srážek do celé hloubky půdního profilu a potvrzují tak skutečnost, že strukturní půda s absencí zón technogenního utužení dokáže lépe hospodařit s vláhou i v suchých podmínkách. Dle výpočtů můžeme konstatovat, že v roce 2018 na variantě s půdním biostimulantem, bylo ušetřeno oproti variantě kontrolní 28,2 mm srážek.

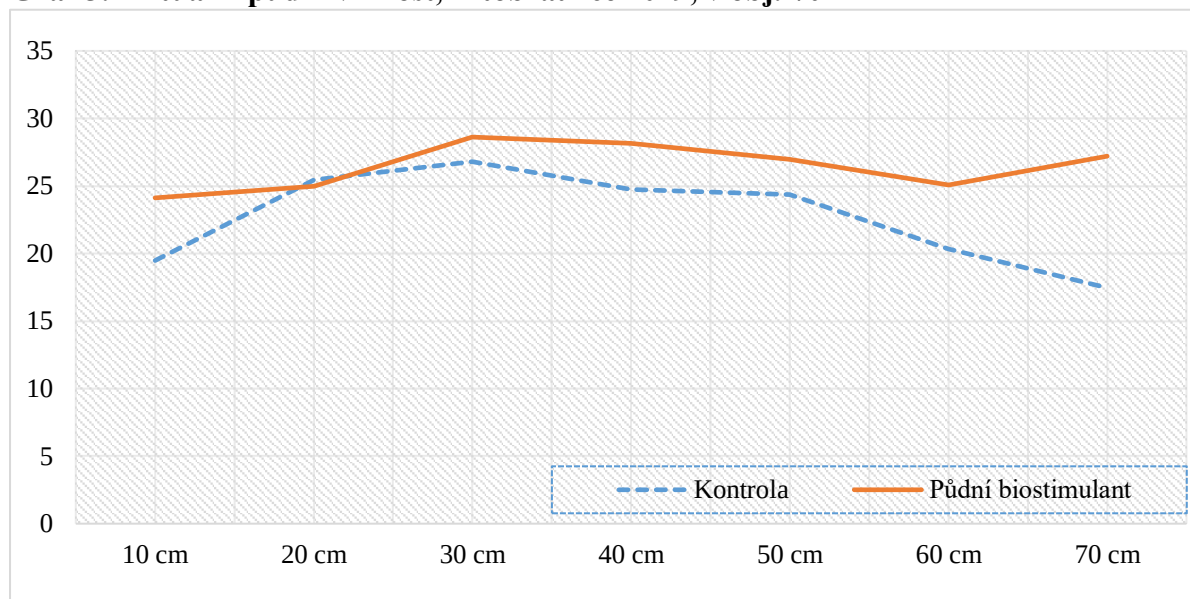
Graf 4: Aktuální půdní vlhkost, Litobratřice 2018, v obj. %

V roce 2019 bylo provedeno třetí sledování půdních profilů tab. 4, graf 5. Rozdíly mezi variantami ukazují na průběh aktuálních půdních vlhkostí v půdním profilu zcela jasně. Skutečnost, že rok 2019 přinesl větší množství srážek oproti předešlým letům, potvrdil funkčnost sledovaného systému. Kontrolní varianta nedokázala tyto cenné srážky správně zadržet a využít. Potvrdilo se, že varianta s půdním biostimulantem dokázala díky lepší struktuře půdy, zadržet průměrně o 34,4 mm na hektar srážek více, než varianta kontrolní.

Tab. 4: Měření vlhkostí Litobratřice 31. 10. 2019

Hĺoubka	Průměrná vlhkost v obj. %		ROZDÍL		
	Kontrola	Půdní biostimulant	%	Voda m ³ na 1 ha	Ekvivalent srážek (mm)
10 cm	19,48 ^a	24,12 ^b	4,64	60,32	6,03
20 cm	25,46 ^b	24,96 ^a	-0,50	-6,50	-0,65
30 cm	26,80 ^a	28,62 ^b	1,82	23,66	2,37
40 cm	24,72 ^a	28,14 ^b	3,42	44,46	4,45
50 cm	24,34 ^a	26,96 ^b	2,62	34,06	3,41
60 cm	20,34 ^a	25,06 ^b	4,72	61,36	6,14
70 cm	17,46 ^a	27,22 ^b	9,76	126,88	12,69
Celkem v půdním profilu				344,24	34,40

Graf 5: Aktuální půdní vlhkost, Litobratřice 2019, v obj. %



Z hodnot je patrné, že půdní biostimulant působí pozitivně na provzdušnění půdy díky podpoře půdní biologie, která tak přirozeným způsobem pracuje v půdě. To potvrdili i Miller a kol. (1990), kteří ve své práci popisují zlepšení půdních vlastností pomocí aplikace půdních kondicionérů a dalších pomocných látek.

Závěr

Během sledovaného provozního pokusu suché Jižní Moravy, je z měření OHR, pórovitosti a aktuálních půdních vlhkostí, průkazná tendence nárůstu schopnosti půdního profilu kumulovat větší objem srážkové vody o 314 %. To znamená trojnásobné zlepšení oproti prvnímu roku sledování. Strukturní půdní profil je tak schopný zadržet dešťové srážky a lépe je využít. Zejména v zóně pod 30 cm, která je méně náchylná na prosychání to umožňuje nárůst zásoby půdní vody pro nastávající porosty. Můžeme konstatovat, že systémová aplikace přírodního půdního biostimulantu tak napomáhá zabezpečit doplňování půdní zásoby vody. To se nám po třetím roce sledování projektu potvrzuje. Projekt bude dále sledovat tyto parametry až do roku 2022.

Použitá literatura

- Du Jardin P. (2015). Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Sci. Hortic.* 196, 3–14. 10.1016/j.scienta.2015.09.021
- Jakšík, O, Kodešová, R., Kubiš A., Stehlíková I., Drábek O., Kapička A.: Soil aggregate stability within morphologically diverse areas. *Catena.* 127, 2015, 287-299. DOI: 10.1016/j.catena.2015.01.010. ISSN 03418162.
- Miller, R. H., 1990. Soil microbiological inputs for sustainable agricultural systems. In: Edwards, C. A., Lal, R., Madden, P., Miller, R. H., House, G. (Eds.), *Sustainable Agricultural Systems*. Soil Water Conservation Society, pp. 614–623.
- Nimmo, J. R. 2013. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. DOI: 10.1016/B978-0-12-409548-9.05087-9. ISBN 9780124095489.
- Renne, R. R., Schlaepfer D. R., Palmquist K. A., Bradford J. B., Burke I. C. a Lauenroth W. K. Soil and stand structure explain shrub mortality patterns following global change-type

- drought and extreme precipitation. *Ecology*. **2019**, 100(12), e02889. ISSN 19399170. DOI:10.1002/ecy.2889
- Řeháček, D., Vopravil J. a kol. 2018: Metodický postup a testování možností zvýšení retence půdního prostředí. VUMOP.
- Stefanovits P.; 1992. Soil science. Mezőgazda Kiadó. Budapest
- Szűcs L., Zsembeli J.; 2014. Improvement of soil productivity by application of PRP-SOL in reduced tillage. Úroda 12/2014, vědecká příloha, roč. LXII, 119-126. ISSN 0139-6013.
- 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., ISBN 978-80-87361-05-4.

Dedikace

Výsledek vznikl za částečné podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1720.

Kontaktní adresa:

Ing. Ivana Šindelková,
Zemědělský výzkum spol. s r. o., Zahradní 1, 664 41 Troubsko,
e-mail: sindelkova@vupt.cz

ZLEPŠENÍ FUNKCE RHIZOSFÉRY PŠENICE OZIMÉ PROSTŘEDNICTVÍM KOŘENOVÉHO BIOSTIMULANTU

Winter wheat rhizosphere function improvement by root biostimulant

Šindelková I., Kintl A.

Zemědělský výzkum spol. s r. o., Troubsko

Abstrakt

Nádobový experiment byl zaměřen na analýzu možností zlepšení biologických půdních systémů v důsledku biostimulace kořenového systému rostlin půdními biostimulanty, s půdními biostimulanty se sníženou zálivkou ve srovnání s běžným minerálním hnojivem (NPK) a varianty kontrolní – bez hnojení. Bylo sledováno a vyhodnoceno celkem 5 variant pokusu. Po ukončení pokusu byly pozorovány změny obsahu oxidovatelného uhlíku (C_{ox}), obsahu půdní organické hmoty (POH) a obsahu živin v N-formách. Z výsledků vyplývá, že došlo ke zvýšení produkce rostlinné biomasy ve srovnání s kontrolní variantou a ke zvýšení obsahu POH ve srovnání s kontrolní variantou a variantou NPK.

Klíčová slova: pšenice oz, kořen, půda, minerální hnojení, půdní kořenová biostimulace

Abstract

The pot experiment was focused on the analysis of the improving possibilities of biological soil systems due to plants root system biostimulation through biostimulants. Soil biostimulants with reduced watering compared to conventional mineral fertilizer (NPK) and control variants - without fertilization. A total of 5 experimental variants were observed and evaluated. At the end of the experiment changes in the content of oxidizable carbon (C_{ox}), the content of soil organic matter (SOM) and the content of nutrients in N-forms were observed. The results show that there was an increase of plants biomass production compared to the control variant and an increase of SOM content compared to the control variant and the NPK variant.

Key words: winter wheat, root, soil, mineral fertilizers, soil root biostimulant,

Úvod

Základem rostlinné produkce je půda a s ní spojený kořenový systém rostlin. Kořenu jeho význam dodává schopnost spolupracovat s půdní mikrobiotou (Cordero a kol, 2020). Bez známé symbiomy prostřednictvím rhizosféry by omezeně fungovala biologie půdy a téměř nefungovala výživa rostlin (Zheng a kol. 2016). Intenzita regenerace porostu je proto úzce spjata s objemem kořenového systému a aktivitou půdní biologie. Intenzita jejich vzájemné komunikace ovlivňuje biologickou aktivitu půdy, objem půdní biomasy, látkovou výměnu a koloběh uhlíku v půdě (Nekro a kol., 2010), vodní a vzdušný režim. Zdrojem živin je půda sama, tedy její anorganická složka. Rostliny kořenovými výměšky dodávají energetické látky symbiotickým organismům v rámci rhizosféry a odumírající části kořenů jsou jedním ze zdrojů uhlíku v půdě a potravou pro vyšší půdní organismy (Kumar a kol. 2015). Na pozemcích, kde se nedostává organického materiálu z posklizňových zbytků nebo z důvodu absence živočišné výroby roste význam použití půdních biostimulantů, které mohou eliminovat zmíněné nedostatky (Du Jardin 2015). Biostimulanty mají specifické účinky a obsahují organicky aktivní látky, makro i mikro elementy (Soppelsa a kol., 2018), které působí stimulačně na rozvoj půdních mikroorganismů a následně kořenů rostlin. Obsah a kvalita POH, spolu s půdní biotou vytváří základní vlastnosti půdy odrážející produktivitu pěstované rostliny, zejména úrodnost půdy. Zvětšující se biomasa kořenů umožňuje zvětšení komunikační zóny mezi rostlinou a půdou, dostatečný příjem vody a živin a je předpokladem lepších výnosů (Kumar a kol., 2015).

Cílem práce bylo zkoumat vliv aplikace průmyslového hnojiva NPK oproti půdnímu biostimulantu na růst kořenů a kvalitu půdy, který byl vyjádřen a sledován pomocí půdních indikátorů (obsah N_{tot} , C_{ox} a POH), chlorofyl metrem a stanovením kořenové biomasy. Hypotéza spočívá v tom, že půdní biostimulanty by mohly významně nahradit konvenční hnojení.

Materiál a metody

Výše uvedená hypotéza byla testována nádobovým pokusem, který byl umístěn v kontrolovaných podmínkách ve skleníku Zemědělského výzkumu spol. s. r. o. Pokus byl nastaven na 5 variant (tab. 1), ve 3 opakováních (obr. 1).



Obr. 1: Nádobový pokus – každá nádoba měla stejnou velikost (B), šířku (1) 19 cm, výšku (2) 16 cm a obsah (3) 0,03 m²

Experimentální nádoby o stejné velikosti byly naplněny 5 kg orné půdy (o stejné polní vodní kapacitě). Na 14 dní se nádoby nechaly ustát. 4. 10. 2018 bylo do všech nádob vyseto 10 semen pšenice ozimé (odrůda Golem). Kontrolní varianta č. 1 byla ponechána bez aplikace hnojiva a biostimulantu. Na variantách 3, 4, 5 byla provedena aplikace půdního biostimulantu pod patu, při setí (přepočtená dávka 150 kg.ha⁻¹). Varianty s minerálním hnojivem NPK byly smíchány v nádobě v přepočtené dávce 2g / na nádobu (150 kg.ha⁻¹). Takto přichystaný nádobový experiment byl zalit 100 ml H₂O / nádoba u všech variant.

Pokus byl dále denně sledován a bylo v pravidelných intervalech prováděno měření aktuálních půdních vlhkostí ve 3 opakováních (vlhkoměrem Delta T Devices HH2 moisture meter). Po naměření vlhkostí následně bylo provedeno zalévání 100ml H₂O / nádoba u všech variant, kromě varianty 5 Explorer & sucho, kde bylo provedeno jen 50 ml H₂O / nádoba a byl měřen obsah chlorofylu v pravém listu. Experimentální nádoby byly sledován ve skleníku po dobu 125 dnů.

Tab. 1: Varianty nádobového pokusu

	Varianty
1	Kontrola
2	NPK
3	NPK + Explorer 20
4	Explorer 20
5	Explorer 20 & sucho

Metodika stanovení půdních analýz

Chemické vlastnosti půdy

Půdní vzorky na chemické analýzy pro zjištění základního obsahu živin v půdě byly odebírány po ukončení pokusu ve 3 opakováních z každé nádoby. Výměnná půdní reakce pH byla stanovena z výluhu KCl a měřena na pH-metru. Společným principem metod stanovení POH v půdě je oxidace uhlíku organických látek (Nelson a kol. 1982). Obsah oxidovatelného uhlíku (C_{ox}) byl stanoven klasickou metodou podle Tjurina upravenou dle Nováka a byl vypočítán obsah humusu: $\% \text{ humus} = C_{ox} \cdot 1,724$ na základě obsahu C_{ox} ve vzorcích půdy. Obsah N minerálních forem v půdě byl proveden podle (Zbírál, 2004). V půdě byl měřen obsah dvou hlavních forem N_{min} , tj. amoniaku a dusičnanu N. Jejich součet představuje půdní N_{min} . Jednotlivé formy N_{min} byly extrahovány z půdy pomocí 1% roztoku $K_2SO_4 \rightarrow$ obsah dusičnanových iontů byl měřen iontově selektivní diodou a obsah amoniaku byl stanoven spektrofotometricky.

Měření SPAD

Vývoj analýzy půdních rostlin – Soil Plant Analysis Development (SPAD) měření bylo provedeno ve stejný časovaný úsek za stejného počasí, aby nedocházelo k odečítání (SPAD) se silnými odchylkami. SPAD odečty byly provedeny pomocí chlorofylového měřiče SPAD Minolta 502 (Konica Minolta Sensing 2003, Osaka, Japonsko).

Získané výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu Statistica 12.0 CZ. Rovněž byla použita vícefaktorová analýza rozptylu (ANOVA) a Tukeyův test. Úroveň značení byla $\alpha = 0,05$.

Výsledky a diskuse

Mimo genetických vlastností vázaných na typ půdy ovlivňuje fyzikální a chemické vlastnosti půdy především biologická aktivita půdy. Strategický přístup k udržitelné produkci na půdě, musí vycházet z podpory biocenózy, která se v půdě nachází (Cordero a kol., 2020). Společnost Olmix GMBH vyvinula technologii přístupu k půdě a fyziologické stimulaci na základě MIP (Mineral Inducer Process) procesu. Cílem tohoto přístupu je zvýšení biologické aktivity v půdě a komplexní vyvážení fyziologických procesů v rostlinách prostřednictvím specifického poměru množství mikroprvků v minerální formě. Proto byl v rámci nádobového experimentu sledován vliv vybraného půdního biostimulantu – granulát Explorer 20, na bázi uhličitánů vápenatých a hořečnatých s příměsí makroelementů (Ca, Mg, N, P, K, S, Na) a mikroelementů (Fe, Zn, Mn, B, Cu, I), a s příměsí lehce rozložitelné organické hmoty, jako možnost vedoucí ke zlepšení kořenové aktivity a následně půdních vlastností při nedostatku organické hmoty (dále OH) v půdě oproti kontrolní variantě minerálního hnojiva NPK (15:15:15).

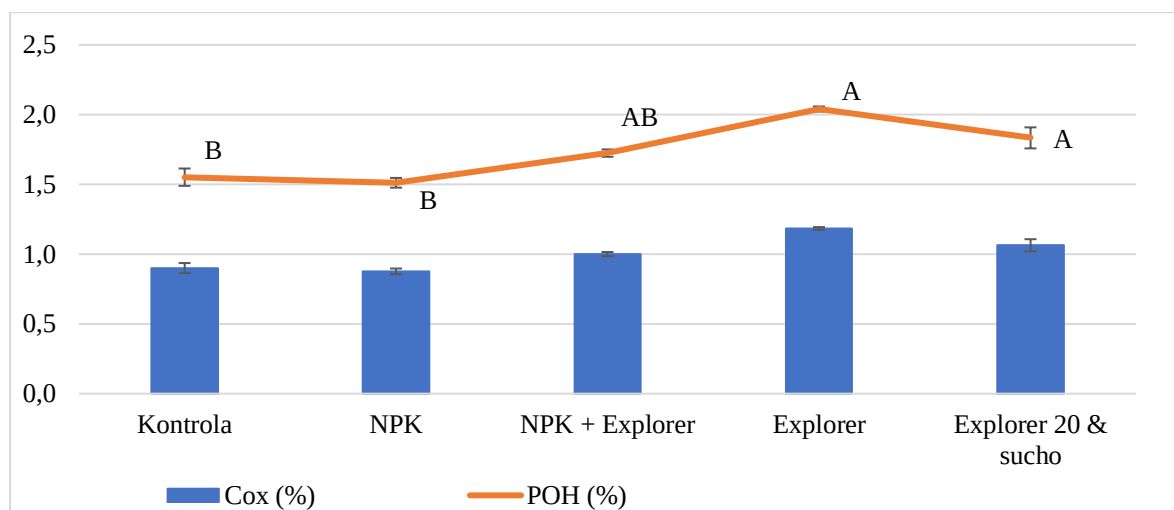
Tab. 2: Obsah minerálních N forem ve vzorcích půdy po ukončení pokusu

Variant	N/NH ₄		N/NO ₃		N/AN		Ntot
	mg/kg	Sg.	mg/kg	Sg.	mg/kg	Sg.	mg/kg
Kontrola	1.94	d	17.40	cd	22.42	a	41.76
NPK	2.89	d	48.17	a	58.34	c	51.05
NPK + Explorer	2.92	cd	47.17	a	56.40	c	50.09
Explorer	3.60	bcd	21.07	bc	28.34	a	24.67
Explorer 20 & sucho	8.07	a	24.13	b	35.81	ab	32.20

Komentář k tab. 2: Různá písmena označují významné ($\alpha = 0,05$) rozdíly mezi jednotlivými variantami experimentu.

Obsah N_{tot} a jednotlivých složek v půdě byl variabilní napříč všemi variantami a celkem N_{tot} hodnoty byly statisticky významně odlišné mezi všemi variantami. Nejvyšší N_{tot} hodnoty byly nalezeny v následujícím pořadí NPK, NPK + Explorer, Explorer & sucho, Explorer a kontrola. Nízké hodnoty u kontrolní varianty a varianty Explorer – Explorer & sucho, nejsou překvapivé. N obsahují hlavně v organických vazbách, ze kterých se postupně uvolňuje N_{org} prostřednictvím mineralizace (Yoon a kol., 2015). Ztráta N_{tot} z nádobového pokusu výluhem měřena nebyla.

Graf 1: Obsah Cox a POH v půdě po ukončení experimentu

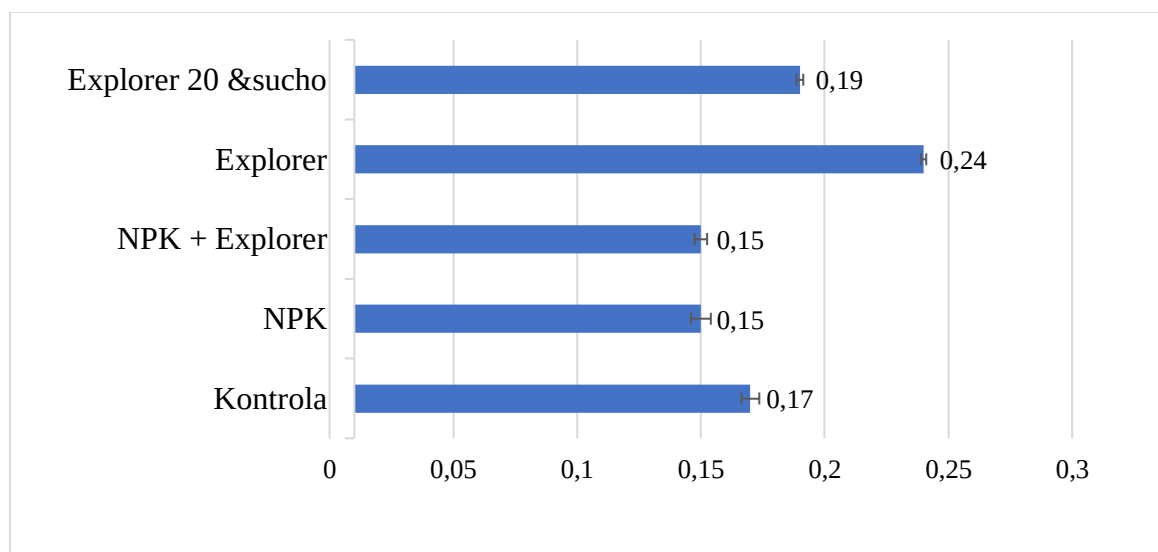


V experimentu byl sledován také obsah organických látek, které korelují s obsahem humusových látek. Na konci experimentu byl v půdě laboratorně změřen obsah oxidovatelný uhlík (C_{ox}) a následně byl přepočten na obsah půdního humusu. Graf č. 1 ukazuje, že aplikace půdního biostimulantu v kořenové zóně pšenice ozimé při setí měl pozitivní účinek na tvorbu kořenů a podporu kořenového vlášení což potvrzují i naměřené hodnoty. Tato skutečnost poukazuje na fakt, že dostatečně rozvinutý kořenový systém s případnou biostimulací může pozitivně ovlivnit zásobu POH i v případě absence organického hnojení.

Pozitivní účinek biostimulantu lze vysvětlit obsahem lehce rozložitelných látek na bázi C, které mají v počátečním stádiu rozvoje kořenového systému pozitivní vliv na symbiózu s mikrobiální aktivitou, dochází tak k tvorbě bohatšího kořenového vlášení s následným vlivem na obsah POH. Tím se zvyšuje i obsah C_{ox} (Du Jardin, 2015). Tímto směrem je možné zajistit udržování a zvyšování obsahu POH pro produktivní a neproduktivní funkce půdy (Soppelsa a kol., 2018, Šindelková a kol., 2019).

Naměřené a přepočtené hodnoty potvrzují skutečnost, že použití biostimulantu Explorer 20 ovlivňuje nárůst obsahu POH ve formě kořenového vlášení. Absence dusíkatého hnojení minerálního hnojení NPK, se u biostimulačních variant 4 a 5 projevila stimulací půdních N fixujících bakterií. Což je možné vidět z hodnot naměřeného N/NH_4 v tabulce 2. V případě abiotického stresu je zároveň je patrná přirozená snaha rostlin cíleně stimulovat mikrobiální aktivitu pro zabezpečení svých potřeb, což potvrzuje nejvyšší naměřená hodnota N/NH_4 (viz tab. 2) u varianty 5 - Explorer & sucho.

Nárůst biomasy kořenů po aplikaci biostimulantu Explorer (varianty 4 a 5) představuje graf č. 2. Za předpokladu, že bohatý kořenový systém rostlin umožňuje zvýšit účinnost příjmu živin rovněž dokáže eliminovat negativní dopady abiotického stresu – sucha.

Graf 2: Podíl kořenové biomasy k celkové biomase rostliny**Tab. 3: Sledované hodnoty nadzemní a podzemní biomasy pšenice ozimé**

Varianta	Kontrola	NPK	NPK + Explorer	Explorer	Ex 100% sucho
nadzemní biomasa (g)	3,78	3,87	4,54	3,41	3,04
podzemní biomasa (g)	0,8	0,69	0,79	1,07	0,73
součet (g)	4,58	4,56	5,33	4,48	3,77
podíl podzemní/celkové	0,17^a	0,15^b	0,15^b	0,24^d	0,19^c
podíl nadzemní /celkové	0,83^c	0,85^c	0,85^c	0,76^a	0,81^b

Naměřené a propočtené hodnoty uvedené v grafu 2, tab3., potvrzují signifikantní vliv biostimulantu Explorer 20 na nárůst kořenové hmoty. U variant (2 a 3) s aplikací NPK v porovnání s aplikací biostimulantu lze na základě dosažených výsledků vyjádřit předpoklad, že nemají pozitivní vliv na vývoj kořenového systému. Účinnost využitých živin z aplikovaných minerálních hnojiv je přímo úměrná za předpokladu, že aplikace NPK nestimuluje nárůst kořenové hmoty a biostimulací se nárůst kořenové hmoty zvyšuje. Je možné konstatovat, že zvýšení účinnosti aplikovaných živin lze dosáhnout zejména prostřednictvím biostimulace.

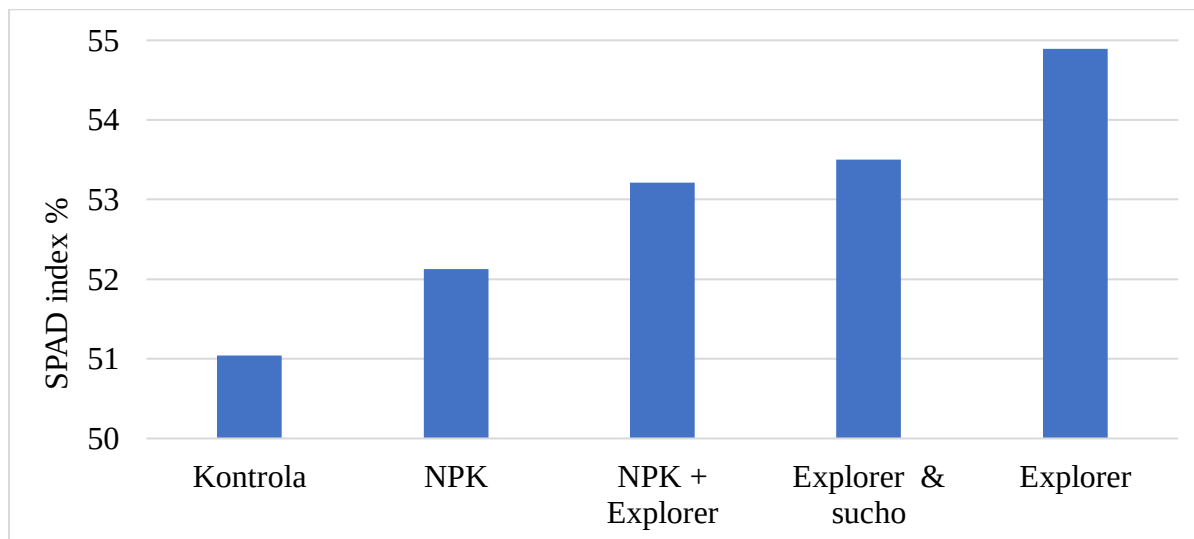
Hodnoty SPAD

Přirozená schopnost autoregulace výživy rostlinami je patrná i z měření obsahu chlorofylu (Fiorentini a kol, 2019). Výsledky měření znázorňuje graf 3. Analýza těchto výsledků dokladuje přímou souvislost mezi velikostí kořenového systému a možností autoregulace výživy rostlin. Bohatý kořenový systém po aplikaci biostimulantu Explorer 20 umožnil rostlině zabezpečit dostatečný příjem potřeby dusíku i bez aplikace NPK, to se projevilo i ve fyziologii rostlin s nejvyššími hodnotami naměřeného obsahu chlorofylu na variantách 4 a 5.

Z porovnání biostimulačních variant 4 a 5 je patrný negativní vliv abiotického stresu suchem na půdní mikrobiální aktivitu, která navzdory symbiotické komunikace kořenového vlášení omezuje příjem živin (N), to se projevilo na mírně nižším obsahu chlorofylu u varianty 5 (Explorer 20 & sucho) oproti variantě 4. Z celkové analýzy všech výsledků je možné

konstatovat, že pomocí biostimulace dochází k lepšímu využívání vody a živin z půdy, a to pozitivně ovlivňuje výnosy.

Graf 3: Hodnoty SPAD a obsahu chlorofylu v listech pšenice



Závěr

Z práce vyplývá, že ke konvenční minerální výživě existují funkční alternativy. Půdní biostimulanty dokážou pozitivně ovlivnit velikost kořenového systému rostliny a tím i strukturní kvalitu půdy, stejně jako zvýšit účinnost aplikované minerální výživy. To umožní při snížené aplikaci minerální výživy zabezpečit lepší výživu porostů s cílem snížit chemizaci zemědělství. Při nadbytku živin z dodávaných hnojiv rostlina ztrácí přirozenou motivaci pro tvorbu kořenů směrem do hloubky. Plytce kořenicí rostlina není schopna v době stresu suchem patřičně odolávat a autoregulovat si potřebu vody a živin. Pro další výzkum se doporučuje navázat další polní experimenty a delší sledování, abychom pochopili akční mechanismy biostimulací v půdě a jejich vliv na porosty.

Použitá literatura

- Cordero J., Germida J. J.: Bacterial microbiome associated with the rhizosphere and root interior of crops in Saskatchewan, Canada. *Canadian Journal of Microbiology*. 2020, 66 (1), 71-85. DOI: 10.1139/cjm-2019-0330. ISSN 14803275.
- Du Jardin P.: Plant biostimulants: definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, p 196, 3-14. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.09.021. ISSN 03044238, 2015.
- Fiorentini, M., S. Zenobi, E. Giorgini, D. Basili, C. Conti, C. Pro, E. Monaci a R. Orsini. Nitrogen and chlorophyll status determination in durum wheat as influenced by fertilization and soil management: Preliminary results. *PloS one*. 2019, 14(11), DOI: 10.1371/journal.pone.0225126. ISSN 19326203.
- Kumar, J.: Root structural and functional dynamics in terrestrial biosphere models – evaluation and recommendations. *New Phytologist*. 2015, 205(1), 59. ISSN 0028646X.
- Nakhro, N, and M. S. Dkhar, 2010. Impact of organic and inorganic fertilizers on microbial populations and biomass carbon in paddy field soil. *Journal of Agronomy*, 9: 102-110.

- Nelson, D. W., Sommers, L. E.: Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Page, A. L., Miller, R. H., Keeney, D. R. (eds.). *Methods of Soil Analysis. Part 2.* ASA, SSSA Publ., Madison, Wisconsin, 1982.
- Soppelsa S, Kelderer M. C., Casera C., Bassi M., Robatscher P., Andreotti C.: Use of biostimulants for organic apple production: effects on tree growth, yield, and fruit quality at harvest and during storage. *Front Plant Sci.* 2018; 9:1342. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01342>
- Šindelková I., Badalíková B., Kubíková Z. 2019: The soil biostimulant usage effect on soil properties in dry area. *Proceedings of the 19th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM, Soils, Forst ecosystems.* Albena, Bulgaria. Issue: 3.2, pp 561–568.
- Yoon S, Cruz-García C, Sanford R, Ritalahti K. M, Löffler F. E: 2015, Denitrification versus respiratory ammonification: environmental controls of two competing dissimilatory $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ – reduction pathways in *Shewanella loihica* strain PV-4. *ISME J* 9:1093–1104
- Zbírál J., *Analysis of soil. Unique technics, [in Czech],* Brno: Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture, 2004.
- Zheng Y. L., Chen C. Y., Luo Z. H., Zhang G, S. P. Wang a L. D. Guo. Plant Identity Exerts Stronger Effect than Fertilization on Soil Arbuscular Mycorrhizal Fungi in a Sown Pasture. *Microbial Ecology*, 2016, 72(3), 647-58. DOI: 10.1007/s00248-016-0817-6. ISSN 1432184X.

Dedikace

Výsledek vznikl za částečné podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1720.

Kontaktní adresa:

Ing. Ivana Šindelková,
Zemědělský výzkum, spol. s r. o.,
Zahradní 1, 664 41 Troubsko,
e-mail: sindelkova@vupt.cz

VYUŽITÍ A VLIV ETYLÉNU NA DOČASNOU INHIBICI KLÍČENÍ SADBY BRAMBORU

Utilization and effect of ethylene on temporary sprout inhibition of potato seed tubers

Vacek J. ¹, Ševčík R. ²

¹Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod

²Vysoká škola chemicko-technologická v Praze

Abstrakt

Etylén je plyný přírodní inhibitor klíčení hlíz bramboru, v Evropské unii se využívá především ve skladech s nízkou průvzdušností při dlouhodobém skladování stolních hlíz k praní. Protože po jeho odvětrání hlízy normálně klíčí, je využitelný i u sadby. V maloparcelkových polních pokusech byl po tři roky sledován jeho vliv při krátkodobém skladování sadbových hlíz za vyšší teploty na jejich nasazení dceřiných hlíz, při dozrání následnou velikostní výtěžnost a celkový výnos.

Klíčová slova: sadbové hlízy, inhibice klíčení etylénem, nasazení hlíz, velikostní výtěžnost

Abstract

Ethylene is a gaseous natural potato sprout inhibitor. In the European Union it is especially used in stores with low air-leakage during long-term storage of table potatoes for washing. Because when ethylene is removed by ventilation, normal potato sprouting occurs; ethylene could also be used for seed potatoes. In short-term seed potato storage at higher temperature an effect of ethylene was investigated on progeny tuber setting, size distribution at maturity and total yield in three-year small-plot field trials.

Key words: seed potatoes, ethylene sprout inhibitor, progeny tuber number, size distribution

Úvod

Od roku 2014 jsou v obchodních řetězcích v květnu a červnu prodávány přednostně před ranými bramborami s loupající se slupkou retardované hlízy s vyzrálou slupkou ze sklizně předešlého roku. Ty jsou na rozdíl od suroviny na zpracování smažením retardovány inhibitory klíčení přírodního původu (etylén, karvon). Etylén je plyn aplikovaný přímo z tlakové láhve nebo častěji systémem firmy Restrain Company Limited, který produkuje etylén ve skladu katalyticky z etanolu. Po odvětrání hlízy normálně klíčí, takže je možno jej využít i v předjaří k ovlivňování fyziologického stáří sadbových hlíz skladováním ve vyšší teplotě a tím zvyšování počtu stonků a nasazení dceřiných hlíz (Pruski 2006, Dupuis 2014, Jonkheer 2014).

Materiál a metody

Sadbové hlízy odrůdy Antonia byly skladovány během tří sezón ve dvou skladovacích režimech. Kontrolní hlízy byly vždy po celou sezónu standardně ve 2-4 °C v běžné atmosféře zatímco pokusné byly skladovány za stejných podmínek a cca 90 dnů před výsadbou byly přemístěny do skříňových exsikátorů s průtočnou atmosférou 10 ppmv etylénu umístěných v 8-10 °C (Obr. 1). Maloparcelkové polní pokusy byly vysázeny ve výzkumné stanici Valečov (Obr. 2) vždy poslední týden v dubnu, přičemž ve vegetační sezóně 2018 byla ukončena vegetace po 133 dnech od výsadby, v sezóně 2019 po 144 dnech a v sezóně 2020 po 139 dnech. Po sklizni sto trsových parcelek ve čtyřech opakováních u obou variant byl zjišťován počet a hmotnost hlíz velikostních frakcí <3cm; 3-5,5cm; 5,5-7cm; >7cm a na jejich základě přepočítán hektarový výnos.



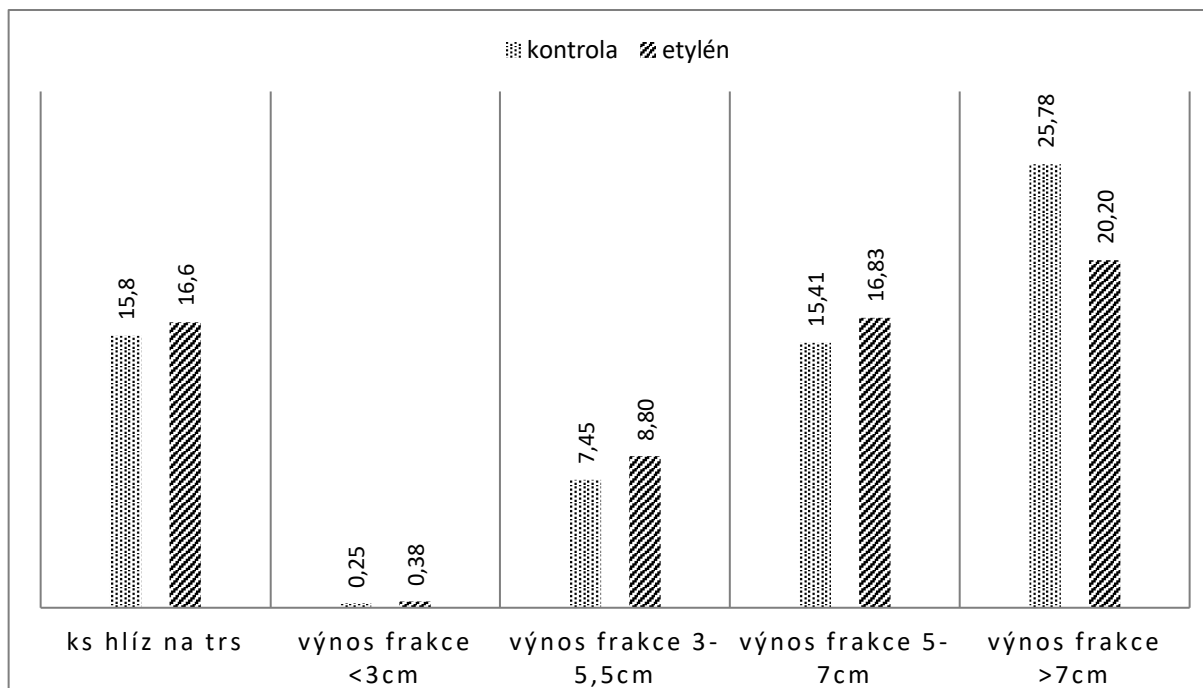
Obr. 1: Ošetření sadbových hlíz etylénem v pokusném skladovacím boxu s teplotou 8-10 °C



Obr. 2: Porost při zapojení v řádku ze sadby skladované v 10 °C s inhibicí klíčení etylénem (vyšší) a skladované ve 2 °C s inhibicí klíčení teplotou (nižší nat').

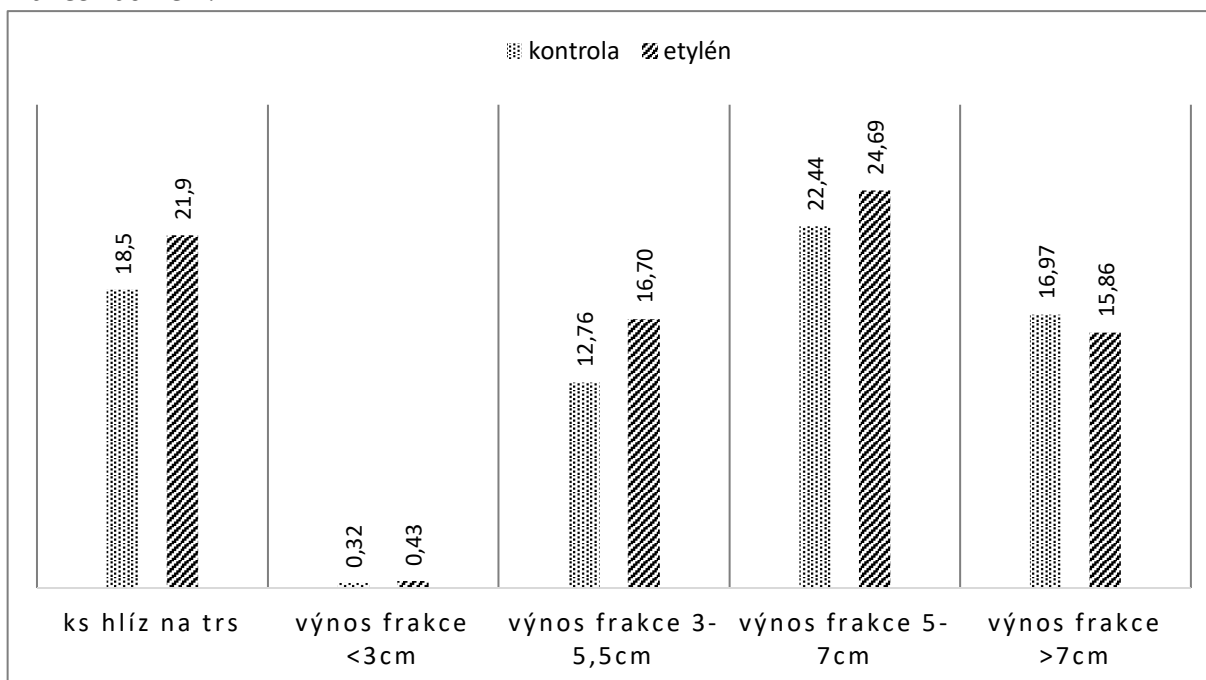
Výsledky a diskuse

V suchém roce 2018 (Graf 1) bylo nasazení hlíz u ošetřené varianty s etylénem vyšší (16,6 ks proti 15,8 ks). Celkový hektarový výnos byl nižší především z důvodu nízkého výnosu frakce nad 7cm (etylén 20,2 t.ha⁻¹, kontrola 25,8 t.ha⁻¹) ale výnos menších frakcí sadby byl vyšší.



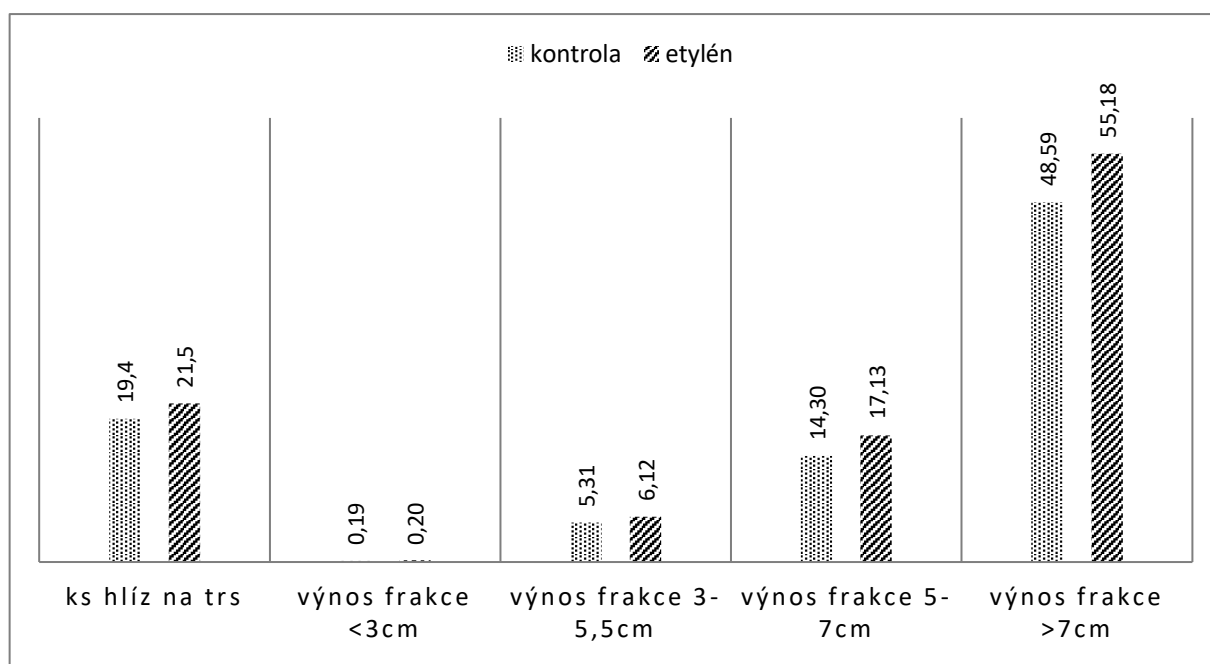
Graf 1: Počet hlíz na trs a přepočtený výnos velikostních frakcí v t.ha⁻¹ v sezóně 2018

V následujícím roce 2019 (Graf 2) bylo nasazení hlíz pod trsem u varianty s etylénem opět vyšší (21,9 ks proti 18,5 ks). Vyšší byl i celkový hektarový výnos hlíz především z důvodu vyššího výnosu frakce 3-5,5 cm (etylén 16,7 t.ha⁻¹, kontrola 12,8 t.ha⁻¹) i při poněkud nižším výnosu frakce nad 7cm.



Graf 2: Počet hlíz na trs a přepočtený výnos velikostních frakcí v t.ha⁻¹ v sezóně 2019

Ve srážkově optimálním roce 2020 (Graf 3) bylo nasazení hlíz pod trsem u varianty s etylénem také vyšší (21,5 ks proti 19,4 ks). Vyšší byl i hektarový výnos hlíz všech velikostních frakcí, přičemž největší rozdíl byl u frakce nad 7 cm (etylén 55,2 t.ha⁻¹, kontrola 48,6 t.ha⁻¹).



Graf 3: Počet hlíz na trs a přepočtený výnos velikostních frakcí v t·ha⁻¹ v sezóně 2020

Závěr

Příprava sadby ošetřením etylénem zvyšuje proti kontrole počet nasazených dceřiných hlíz, v průměru tří let o více jak dvě hlízy na trs. To se projevuje v jednotlivých letech ve výnosu velikostních frakcí a celkovém hektarovém výnosu hlíz různě v závislosti na průběhu vegetace. V suchém roce 2018 byl celkový výnos u ošetřené varianty nižší především z důvodu nízkého výnosu frakce velkých hlíz nad 7 cm, ale výnos menších frakcí sadby byl vyšší. Ve srážkově optimálním roce 2020 byl celkový výnos u ošetřené varianty naopak vyšší a to u všech velikostních frakcí.

Dedikace

Tento článek byl vytvořen se státní podporou Technologické agentury ČR v rámci projektu TH02020036 „Výzkum a vývoj energeticky úsporných technologií a zařízení pro skladování brambor“ Programu na podporu aplikovaného výzkumu a experimentálního vývoje EPSILON

Použitá literatura

- Pruski K., Prange R.K., Daniels-Lake B.J., Nowak J., Astatkie T., Ronis D.H. (2006): Growth-room and field studies with seed tubers treated with ethylene and 1-methylcyclopropene (1-MCP) during storage. *American Journal of Potato Research*, 83(2): 149-160
- Dupuis B., Tallant M., Schwärzel R. (2014): Comparison of D-carvone and ethylene treatments during storage of seed potatoes to increase the number of progeny tubers. In: Abstracts Book: Proceedings of the 19th Triennial Conference of the European Potato Association for Potato Research 6 to 11 July 2014. Brussels: EAPR, 2014. Abstract 276.
- Jonkheer E. (2014): Ethylene in seed provides higher yields and easier work. *Potato world magazine*, (4): 20-23

Kontaktní adresa

Ing. Josef Vacek, PhD.

Výzkumný ústav bramborářský, s.r.o., Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod

e-mail: vacek@vubhb.cz

ZMĚNY FYZIKÁLNÍCH VLASTNOSTÍ PŘI APLIKACI DIGESTÁTU

Changes in physical soil properties due to application of digestate

Vašínská M., Badalíková B.

Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko

Abstrakt

Změny půdních vlastností po aplikaci digestátu byly řešeny v poloprovozním pokusu v letech 2017–2019 v bramborářské výrobní oblasti. Byly zde sledovány fyzikální vlastnosti půdy. V pokusu byly zvoleny tyto 3 varianty: varianta 1 – kontrolní, bez aplikace digestátu, varianta 2 – s aplikací digestátu (20 t/ha) jednou za dva roky, varianta 3 – s aplikací digestátu (20 t/ha) každoročně. Výsledky ukázaly, že jakákoliv aplikace digestátu měla negativní vliv zejména na fyzikální stav půdy v jarních obdobích. Naopak jako prospěšná pro zlepšení fyzikálního stavu půdy se ukázala aplikace digestátu jednou za dva roky v jarním období (var. 2).

Klíčová slova: digestát, fyzikální vlastnosti, půda

Abstract

Changes of soil properties after digestate application were solved in field experiment during 2017–2019 in the potato production area. Physical properties of soil were monitored. In the experiment, the following 3 variants were chosen: variant 1 - control, no application of digestate, variant 2 - with application of digestate (20 t/ha) every two years, variant 3 - with application of digestate (20 t/ha) annually. The results showed that any application of digestate had a negative effect especially on the physical condition of the soil in the spring. On the contrary, the application of digestate once every two years (var. 2) in the spring periods was beneficial for improving the physical condition of the soil.

Key words: digestate, physical properties, soil

Úvod

Digestát je produktem anaerobní digesce živočišných i rostlinných odpadů (Mystkowski, 2015). Během procesu anaerobní digestace (AD) je přibližně 20-95 % organické hmoty odtráveno a výsledný produkt – digestát obsahující široké spektrum živin je obvykle využíván jako hnojivo. Ve srovnání s komposty je v digestátech znatelně nižší stabilita organické hmoty (Fuchs a kol., 2008). Recyklace digestátů v zemědělských systémech hraje důležitou roli navazující na omezení používání minerálních hnojiv, což vede k pozitivním výsledkům s ohledem na zachování zdrojů (méně fosilních paliv a spotřeba nerostných zdrojů), zmírňování změny klimatu a udržování kvality půdy (Möller a Stinner, 2009). Velikost částic výsledného digestátu má také významný podíl na jejich odolnosti vůči degradaci. Částice >10 µm jsou více odolné vůči půdní degradaci (Marcato a kol., 2008). Avšak z hlediska fyzikálních vlastností půd není úplně jasné, jestli dochází při aplikaci digestátu k jejich zlepšení. Podle Albiach a kol. (2001) je při vysokém obsahu organické hmoty (SOM) vhodná aplikace digestátu z hlediska zlepšení půdní textury a stability půdních agregátů. Podobně jako zlepšení půdní struktury, infiltrace vody (Amlinger a kol., 2001). Naopak v našich klimatických podmínkách bylo po 3letém experimentu aplikace digestátu na půdním typu kambizemě zjištěno zvýšení objemové hmotnosti redukované (O_{Hr}) a tím utužení půdy, snížení pórovitosti a minimální vzdušné kapacity (Jaša a kol., 2019). Podobně podle Badalíkové, Novotné (2018) bylo zjištěno, že

objemová hmotnost redukována se zvýšila po zapravení digestátu a současně se zvýšil i penetrometrický odpor půdy Tato práce popisuje vliv aplikace digestátu do půdy na fyzikální vlastnosti půdy v oblasti černozemních půd.

Materiál a metody

Experiment byl zaměřen na sledování půdních vlastností po aplikaci digestátu v řepařské výrobní oblasti během let 2017-2019. Aplikovaný digestát byl vyroben převážně z kukuřičné siláže a pocházel z bioplynové stanice zemědělského družstva Rakovec a. s.. Chemické složení digestátu bylo 8,07% sušiny, popel 1,83 %, pH 7,92, Ca 0,109 %, K 0,480 %, Mg 0,07 %, P 0,089 %, $N_{\text{celk.}}$ 0,65 %, S 25,6 %. Aplikace digestátu byla prováděna vždy na jaře hadicovým aplikátorem Wienhoff na povrch půdy a potom byl digestát zapraven diskovým náradím do půdy. Pěstovanými plodinami byly kukuřice (silážní), pšenice ozimá a žito ozimé. V tomto experimentu byly sledovány fyzikální vlastnosti ve 3 variantách.

Varianty

- 1 – kontrolní, bez digestátu
- 2 – s aplikací digestátu každý druhý rok (20 t/ha)
- 3 – s aplikací digestátu (20 t/ha) každoročně

Metody hodnocení fyzikálních půdních vlastností

Vzorky půdy na fyzikální vlastnosti byly odebírány ze třech hloubek 0-0,10, 0,10-0,20 a 0,20-0,30 m během jarního a podzimního vegetačního období. Objemová hmotnost redukována (OHr), celková pórovitost, momentální obsah vody (MOV) a vzduchu, maximální kapilární vodní kapacita (MKVK) a minimální vzdušná kapacita byla hodnocena dle Kopeckého válečků.

Výsledky a diskuze

Fyzikální vlastnosti půdy na začátku vegetace během let 2017–2019 jsou uvedeny v tab. 1–3. V jarních odběrech během sledovaných let se ukázalo, že utužení půdy vyjádřené objemovou hmotností redukovanou (OHr) se zvyšuje s četností aplikace digestátu, tedy u varianty 3 (každoroční aplikace digestátu). Utužení půdy u kontrolní varianty se v průběhu let v jarním období výrazně neměnilo. U varianty 2 s aplikací digestátu jedenkrát za 2 roky se postupně mírně snižovalo. Avšak při každoroční aplikaci digestátu (var. 3), který je aplikován právě jaře, bylo prokázáno vyšší utužení půdy ve sledovaných letech. Průměrná hodnota OHr pro jílovo-hlinité půdy České republiky je $1,45 \text{ g.cm}^{-3}$ v orniční vrstvě (Kňákal, 2000). Podle hodnocení Kutílka (1978) a Lhotského a kol. (1987) je $\text{OHr} > 1,4 \text{ g.cm}^{-3}$ nevyhovující. V jarních obdobích nebyla zaznamenána žádná nevyhovující hodnota. Utužení půdy souvisí s celkovou pórovitostí, která byla vyšší při nižší OHr a ve sledovaném období byla u všech variant dobrá. Obsah pórů vyplněných vodou v jarním odběrovém období převyšoval pouze při první aplikaci digestátu na jaře 2017 obsah pórů vyplněných vzduchem. Naopak vyšší utuženost souvisí také se zlepšením kapilarity, což je u utužených půd prokázáno (Hůla a kol., 2002; Skukla a kol., 2003). Hodnoty momentálního objemu vody (MOV) se na začátku vegetace během let snižovaly. Hodnoty minimální vzdušné kapacity (MVK) udávající podíl nekapilárních pórů v půdě, které může voda po navlžení brzy opustit, byly zjištěny nad 10 % u všech variant. Maximální vodní kapilární kapacita (MVKK) byla u všech variant $> 35 \%$, což naznačuje silnou půdní vododržnost. Hodnoty MVKK jarních odběrů byly v průměru $> 33 \%$ u všech variant, což nasvědčuje mírně porušené půdě (Pokorný a kol., 2012).

Tab. 1-3 Fyzikální vlastnosti půdy, Velešovice jaro 2017–2019

JARO 2017	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
varianta				vody	vzduchu		
				%obj.			
1	0–0,1	0,98	62,67	25,20	37,47	39,64	23,02
	0,1–0,2	1,26	52,03	26,84	25,19	37,30	14,73
	0,2–0,3	1,50	42,93	27,07	15,87	31,95	10,99
	0–0,3	1,24	52,54	26,37	26,17	36,30	16,25
2	0–0,1	1,06	59,69	26,78	32,91	41,01	18,68
	0,1–0,2	1,26	51,78	26,92	24,86	36,66	15,12
	0,2–0,3	1,44	45,20	32,94	78,14	32,87	12,33
	0–0,3	1,25	52,22	28,88	45,30	36,85	15,37
3	0–0,1	1,11	57,62	28,50	29,13	38,12	19,50
	0,1–0,2	1,38	47,42	27,39	20,03	33,37	14,05
	0,2–0,3	1,46	44,19	26,10	18,09	26,10	18,09
	0–0,3	1,32	49,75	27,33	22,41	32,53	17,21
JARO 2018	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
varianta				vody	vzduchu		
				%obj.			
1	0–0,1	0,99	62,34	12,97	49,37	40,28	22,07
	0,1–0,2	1,41	46,21	16,35	29,86	36,57	9,63
	0,2–0,3	1,33	49,30	20,31	28,99	36,75	12,55
	0–0,3	1,24	52,62	16,54	36,07	37,87	14,75
2	0–0,1	1,06	59,68	11,99	47,70	42,14	17,54
	0,1–0,2	1,34	49,01	17,28	31,73	37,05	11,96
	0,2–0,3	1,33	49,12	17,03	32,09	36,60	12,52
	0–0,3	1,24	52,61	15,43	37,17	38,60	14,01
3	0–0,1	1,05	59,98	15,61	44,37	43,82	16,16
	0,1–0,2	1,35	48,41	19,20	29,21	38,33	10,08
	0,2–0,3	1,38	47,30	19,55	27,75	37,75	9,55
	0–0,3	1,26	51,90	18,12	33,78	39,97	11,93
JARO 2019	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
varianta				vody	vzduchu		
				%obj.			
1	0 - 0,1	0,93	64,68	13,67	51,01	42,18	22,50
	0,1 - 0,2	1,37	47,85	16,84	31,01	40,10	7,76
	0,2 - 0,3	1,35	48,54	17,00	31,54	37,19	11,35
	0 - 0,3	1,21	53,69	15,84	37,85	39,82	13,87
2	0 - 0,1	1,03	60,70	23,55	37,14	42,72	17,98
	0,1 - 0,2	1,26	51,91	27,27	24,64	37,96	13,95
	0,2 - 0,3	1,28	50,96	22,00	28,96	35,11	15,85
	0 - 0,3	1,19	54,52	24,28	30,25	38,60	15,92
3	0 - 0,1	1,08	58,96	21,56	37,40	46,59	12,37
	0,1 - 0,2	1,46	44,35	21,19	23,16	36,53	7,82
	0,2 - 0,3	1,36	48,11	18,72	29,38	34,55	13,56
	0 - 0,3	1,30	50,47	20,49	29,98	39,22	11,25

V tab. 4-6 jsou uvedeny fyzikální vlastnosti půdy na konci vegetace. V letech 2017–2019 bylo z podzimních odběrů zjištěno, že utužení vyjádřené hodnotou OHr bylo nižší u variant s aplikovaným digestátem, což je opačný trend oproti jarním odběrům. Na konci vegetace 2018 se hodnoty fyzikálních vlastností příliš nelišily od jarních hodnot. Došlo pouze k nepatrnému zvýšení OHr u varianty kontrolní a ke snížení hodnot OHr u var. 2 a 3, tedy s aplikací digestátu. V roce 2017 a 2019 došlo k postupnému zvyšování hodnot utužení půdy u var. 1 (kontrolní) a 3 (každoroční aplikace digestátu) zvláště v hlubším půdním profilu 0,2-0,3 m. Na podzim 2017 byly zjištěny nižší hodnoty MOV a recipročně vyšší objem momentálního vzduchu. To mohlo být způsobeno odběrem vzorků půdy za nepříznivých vláhových podmínek. Snížené utužení může být způsobeno odběrem půdních vzorků po sklizni

dané plodiny, tedy částečným prokypřením půdy a zvýšením pórovitosti. Vyplnění pórů vodou je nejvyšší u variant s aplikovaným digestátem a v letech 2018, 2019 převyšovalo vyplnění pórů vodou v podzimním období ve srovnání s jarními odběry. U hlinitých půd by neměly hodnoty maximální kapilární vodní kapacity (MKVK) přesáhnout 36 %, jinak se voda na takovém pozemku špatně vsakuje (Pokorný a kol., 2012). Hodnoty minimální vzdušné kapacity (MVK) byly zjištěny nad 10 %, takže se jedná o průměrnou provzdušněnost. Pouze v roce 2017 byly zjištěny u var. 1 hodnoty MVK v hlubší vrstvě půdy 0,1-0,3 m a v roce 2019 také u var. 1 v hloubce 0,1-0,2 m pod 10 %.

Tab. 4–6: Fyzikální vlastnosti půdy, Velešovice podzim 2017–2019

PODZIM 2017	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
varianta				vody	vzduchu		
				%obj.			
1	0–0,1	1,14	56,39	19,04	37,36	38,34	18,06
	0,1–0,2	1,48	43,62	21,83	21,79	34,07	9,55
	0,2–0,3	1,52	42,11	21,25	20,86	33,08	9,03
	0–0,3	1,38	47,38	20,71	26,67	35,17	12,21
2	0–0,1	1,31	49,98	18,12	31,86	33,64	16,34
	0,1–0,2	1,38	47,16	21,51	25,65	33,27	13,89
	0,2–0,3	1,41	46,02	22,07	23,95	33,34	12,68
	0–0,3	1,37	47,72	20,57	27,15	33,42	14,30
3	0–0,1	1,00	61,80	14,29	47,51	39,81	21,99
	0,1–0,2	1,10	60,35	19,22	41,14	33,46	26,89
	0,2–0,3	1,34	51,83	22,51	29,32	35,17	16,66
	0–0,3	1,15	58,00	18,67	39,32	36,15	21,85
PODZIM 2018	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
varianta				vody	vzduchu		
				%obj.			
1	0–0,1	1,18	55,14	23,17	31,97	37,80	17,34
	0,1–0,2	1,27	51,55	23,71	27,84	40,36	11,19
	0,2–0,3	1,33	49,13	20,92	28,21	36,04	13,09
	0–0,3	1,26	51,94	22,60	29,34	38,07	13,87
2	0–0,1	1,15	56,08	24,26	31,81	40,79	15,29
	0,1–0,2	1,06	59,40	21,58	37,82	38,67	20,73
	0,2–0,3	1,33	49,17	23,97	25,20	35,44	13,73
	0–0,3	1,18	54,88	23,27	31,61	38,30	16,59
3	0–0,1	1,20	54,24	26,26	27,98	37,90	16,34
	0,1–0,2	1,14	58,57	22,47	36,10	34,68	23,89
	0,2–0,3	1,33	52,42	22,99	29,42	34,81	17,61
	0–0,3	1,22	55,08	23,91	31,17	35,80	19,28
PODZIM 2019	Hloubka půdy (m)	Objemová hmotnost red. (g.cm ⁻³)	Celková pórovitost (%)	Momentální obsah		Max.kapilár. kapacita	Min.vzduš. kapacita
varianta				vody	vzduchu		
				%obj.			
1	0 - 0,1	1,21	53,76	5,73	48,02	42,02	11,73
	0,1 - 0,2	1,49	43,22	25,28	17,95	35,17	8,05
	0,2 - 0,3	1,52	42,05	23,74	18,31	32,04	10,01
	0 - 0,3	1,41	46,34	18,25	28,09	36,41	9,93
2	0 - 0,1	1,07	48,44	24,04	24,40	42,87	5,57
	0,1 - 0,2	1,37	47,64	25,86	21,77	33,20	14,44
	0,2 - 0,3	1,21	53,95	24,39	29,56	25,48	28,47
	0 - 0,3	1,21	50,01	24,77	25,24	33,85	16,16
3	0 - 0,1	1,13	56,95	23,05	33,90	40,15	16,80
	0,1 - 0,2	1,38	50,21	28,67	21,53	37,01	13,20
	0,2 - 0,3	1,41	49,19	28,14	21,04	35,18	14,01
	0 - 0,3	1,31	52,11	26,62	25,49	37,45	14,67

Závěr

V experimentu rozdílné četnosti aplikace digestátu byl prokázán jeho vliv na fyzikální půdní vlastnosti. V jarních obdobích byl prokázán vliv jeho aplikace na zvýšené utužení půdy vyjádřené objemovou hmotností redukovanou a tím ke snížení pórovitosti půdy. V podzimním období došlo k postupnému zvýšení objemové hmotnosti redukované u var. 1 a 3, a to hlavně u ve spodních vrstvách půdy. Nejvyšší utužení bylo zjištěno u varianty bez přidaného digestátu.

Použitá literatura

- Albiach, R., Canet, R., Pomares, F., Ingelmo, F. (2001): Organic Matter Components and Aggregate Stability after the Application of Different Amendments to a Horticultural Soil. *Bioresource technology*, 76, 125–9.
- Amlinger, F., Nortcliff, S., Weinfurter K. and Dreher, P. (2003): “Applying compost—benefits and needs,” in *A seminar 22-23 November 2001 (BMLFUW’2003)*, European Commission, Vienna and Brussels, Brussels, Belgium, November 2003.
- Badalíková B., Novotná J. (2018): Změny fyzikálních vlastností půdy po aplikaci digestátu. (Changes in soil physical properties after digestate application). *Agromanuál 1/2018*, roč.13, s.38-39
- Fuchs, J. G.; Baier, Urs; Berner, A.; Mayer, J. and Schleiss, K. (2008): Effects of digestate on the environment and on plant production - results of a research project. Workshop at: ECN/ORBIT e.V. Workshop 2008 „The future for Anaerobic Digestion of Organic Waste in Europe“, Germany, Nuremberg
- Hůla, J., Procházková, B. a kol. (2002): Vliv minimalizačních a půdoochranních technologií na plodiny, půdní prostředí a ekonomiku. Praha: ÚZPI, 3/2002, 103 s.
- Jaša, S., B. Badalíková, J. Červinka (2019). Influence of Digestate on Physical Properties of Soil in ZD Budišov. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 67(1), 75–83.
- Kňákal, Z. (2000): Fyzikální vlastnosti hodnocené na pozorovacích plochách bazálního monitoringu půd. Interní zpráva ÚKZÚZ. Liberec: ÚKZÚZ
- Kutílek, M. (1978): Vodohospodářská pedologie. Praha: SNTL, 1978
- Lhotský J., Váchal J., Ehrlich P. (1987): Agromeliorace zhutnělých půd v Československu. *Internat. Agric. Journal* 3, p. 57–62
- Möller, K., Stinner, W. (2009): Effects of different manuring systems with and without biogas digestion on soil mineral nitrogen content and on gaseous nitrogen losses (ammonia, nitrous oxides). *European Journal of Agronomy*, 30, 1–16.
- Marcato, C. E., Pinelli, E., Pouech, P., Winterton, P., Guiresse, M. (2008): Particle size and metal distributions in anaerobically digested pig slurry. *Bioresource Technology*, 99, 2340–2348.
- Mystkowski, E. (2015): Poferment z biogazowni rolniczej nawozem dla rolnictwa, *Kukurydza*, 1(46), 52–56.
- Pokorný, E., Brtnický, M., Denešová, O., Podešvová, J. (2012): Charakteristika antropogenní degradace černozemí luvických v oblasti Hané. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2012. 91s
- Skukla, M. K., Las, R., Ebinger, M. (2003): Tillage effects on physical and hydrological properties of a typic argiaquall in Centra Ohio. *Soil Science*, 11/2003, s. 802-811.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora reg. č. MZe-RO1720.

Kontaktní adresa:

Mgr. Martin Vašínska
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko
+420 547 138 813
e-mail: vasinka@vupt.cz

HODNOCENÍ KOMPOSTŮ Z HLEDISKA ENERGETICKÉHO POTENCIÁLU A VLASTNOSTÍ TVAROVANÝCH PALIV

Evaluation of composts in terms of energy potential and properties of solid fuels

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

Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta

Abstrakt

Rostoucí zájem o využívání energetické biomasy vede k hledání nových obnovitelných zdrojů energie. Pro potřeby experimentálních měření, realizovaných v roce 2020, zaměřených na stanovení energetického potenciálu a možnosti úpravy do tvarovaných paliv byly použity 2 varianty zralého kompostu s rozdílnou recepturou. První variantu tvořil zahradnický kompost se zastoupením odpadů ze zelenin, slámy, pilin a odpadní travní hmoty v množství 60:13:3:24%. Druhou variantu tvořil kompost s příměsí matolin k původní receptuře v množství 50:26:10:4:10%. Získané výsledky naznačují, že matoliny mohou jako vstupní surovina přidávaná do kompostových základů významně ovlivnit jeho výslednou výhřevnost i užité vlastnosti v kontextu vybraných mechanicko-fyzikálních vlastností tvarovaných paliv. Z kalorimetrických měření vyplývá, že u první varianty byla výhřevnost 7,78 MJ/kg, u druhé varianty 8,04 MJ/kg, při současně vyšší mechanické odolnosti pelet.

Klíčová slova: pelety, kompost, matoliny, zahradnický odpad, výhřevnost, mechanická odolnost

Abstract

The growing interest of energy biomass use leads to search for new renewable energy sources. For the needs of experimental measurements, carried out in 2020, aimed at determining the energy potential and the possibility of processing into solid biofuels, 2 variants of mature compost with different composition were used. The first variant consisted of horticultural compost, while the waste was represented by vegetables, straw, sawdust and waste grass in the amount of 60:13:3:24%. The second variant consisted of compost with an added mixture of grape marc to the original recipe in the amount 50:26:10:4:10%. The obtained results suggest that marc as a raw material added to compost bases can significantly affect its final calorific value and utility properties in the context of selected mechanical and physical properties of solid biofuels. Calorimetric measurements show that in the first variant the net calorific value was 7.78 MJ/kg and in the second variant 8.04 MJ/kg, while the higher mechanical durability of pellets.

Key words: pellets, compost, grape marc, horticultural waste, calorific value, mechanical durability

Úvod

Omezené množství tradičních fosilních paliv a rostoucí spotřeba energie nutí lidstvo hledat alternativní zdroje energie a nové způsoby jejich využití. Snížení emisí skleníkových plynů a využití organického odpadu jako biopaliva, jako částečné náhrady fosilních paliv, jsou v současné době diskutovanou prioritou v oblasti nakládání s biologicky rozložitelnými odpady.

Biomasa je produktem slunečního světla a fotosyntézy, což z ní činí obnovitelný zdroj (Larson a kol. 2015). Kompost lze podle původu rozdělit na zemědělský a průmyslový. Zemědělský kompost se používá k obohacení půdy organickým materiálem vytvářeným v zemědělském

podniku. Zdrojem organického materiálu může být odpad ze zemědělské výroby (sláma, plevy), anorganické látky (půda, sedimenty z čistíren odpadních vod) nebo mikrobiální substrát (tekutý hnoj, kejda). Průmyslové komposty se zpracovávají v centrálních kompostárnách a výsledný substrát je určen k prodeji jako stabilizované organické hnojivo. Velmi přísné limity omezují současný potenciál využití kompostu v zemědělství a při rekultivaci půdy. Z těchto důvodů se hledají a testují nové způsoby využití kompostu (Abdullah a kol. 2009, Wu a kol. 2010). Jednou z oblastí, kde by bylo možné kompost výhodně využít, je energetický průmysl. Kompost lze použít jako obnovitelný zdroj tepla - tj. jako alternativní palivo. Využití kompostu pro výrobu energie je v České republice stále v základech (Raclavská 2011).

Zkušenosti z jiných zemí ukazují, že využití kompostu k výrobě energie závisí na řadě faktorů. Jedná se zejména o složení kompostu, které je odvislé od výrobní oblasti, jeho vlhkosti a velikosti částic (Hettiarachchi a kol. 2019). Dosavadní výsledky naznačují, že čistá výhřevnost kompostu se pohybuje od 8 do 12 MJ / kg (Narra a kol. 2010).

V rámci výzkumu a spolupráce s praxí se pracoviště ÚZAT MENDELU orientuje zejména na využití odpadů produkovaných vinohradnickými a vinařskými podniky. V surovinové skladbě odpadů těchto podniků se v značné míře objevují hroznové výlisky, třapiny a matoliny (BURG a kol. 2016).

Cílem příspěvku je zhodnocení kompostů ze zahradnických odpadů z hlediska jejich energetického potenciálního potenciálu i z hlediska výroby tvarovaných paliv a jejich vybraných vlastností.

Materiál a Metody

Popis kompostů a jejich vlastností

Pro potřeby experimentálních analýz byl zvolen vyžralý kompost vyrobený z tradičních zahradnických odpadů se zastoupením matolin, odpadu ze zeleniny, slámy, pilin a pokosené travní hmoty. Poměr těchto surovin dle receptury uvádí Tab.1. Kompost byl vyroben technologií kompostování v pásových zakládkách. Celková délka kompostovacího procesu činila 13 týdnů, s následným dozráváním na hromadě po dobu 10 týdnů. Odběr vzorků kompostu byl realizován v souladu s ČSN 465735 Průmyslové komposty a ČSN EN ISO 5667-13: Pokyny pro odběr vzorků kalů z čistíren a úpraven vod. Získané reprezentativní vzorky kompostu byly rozebrány, promíchány a následně připraveny pro kalorimetrická měření.

Tab. 1: Surovinová skladba kompostových zakládek a vlhkosti zralých kompostů

Varianta kompostu	% hmotnostní					Vlhkost
	Matolina	Odpad ze zeleniny	Sláma	Piliny	Pokosená travní hmota	
Var. 1	-	60	13	3	24	68,4
Var. 2	50	26	10	4	10	65,3

Kalorimetrická stanovení

Výhřevnost při konstantním objemu nebo při konstantním tlaku je zjištěna výpočtem z hodnoty spalného tepla analyzovaného vzorku. Pro výpočet při konstantním objemu je potřeba znát hodnoty obsahu vody a vodíku v analyzovaném vzorku. Pro stanovení spalného tepla byl použit kalorimetr Parr 6400 (Parr Instrument Company, Illinois, USA) a analytická váha pro přesné stanovení hmotnosti spalovaného vzorku Ohaus Adventurer Pro AV264C (Mettler-Toledo International Inc, Ohio, USA). Stanovení spalného tepla tuhých biopaliv bylo provedeno dle normy ČSN EN ISO 18125. Pro výpočet výhřevnosti byl využit vzorec:

$$Q_i = Q_s - 2,454.(W^r + 8.94.H_2), \quad (\text{MJ.kg}^{-1}) \quad (2)$$

Where:

Q_s – spalné teplo původního vzorku (MJ.kg^{-1})

8,94 – koeficient přepočtu hmotnosti vodíku na vodu $(-)$

W^r – obsah veškeré vody v původním vzorku $(\%)$

H_2 – obsah vodíku v původním vzorku $(\%)$

2.454 - koeficient, který odpovídá ohřevu a vypaření 1% H_2O (MJ/kg) při teplotě 25 °C (MJ.kg^{-1})

Stanovení spalného tepla a využití hodnot pro výpočet výhřevnosti tuhých biopaliv je potřebné pro zjištění využitelnosti hodnoceného vzorku paliva ve spalovacím procesu. Stanovení bylo u každého vzorku provedeno ve dvou opakováních.

Charakteristika peletizační linky

Před plněním kompostu do zásobní násypky byla surovina nejprve vysušena na 20% vlhkost a podrcena pomocí stacionárního drtiče SG – 3060. Pro výrobu pelet byla využita peletovací linka MGL 400, která je tvořena z dávkovacího šneku s uzavřenou násypkou, promíchavače hmoty, peletovacího lisu, třídičky pelet s chladičem, odsáváním a elektrickým rozvaděčem. Linka obsahuje i trysku se zásobníkem na vodu pro dodatečné vlhčení materiálu na matrici pro dosažení optimální vlhkosti pro lisování pelet. Elektrický příkon linky MGL 400 je 19 kW, byla použita matrice o průměru otvorů 6 mm.

Elementární složení pelet

Analýza elementárního složení pro prvky C, H, N byla provedena pomocí analyzátoru TOC/TN multi N/C 2100S s pecí HT 1300 (Analytik Jena, Německo) a plynového chromatografu Trace GC ultra (Thermo Fisher Scientific, USA) (EN ISO 16948).

Mechanicko-fyzikální vlastnosti pelet

Obsah vody u pelet byl stanoven podle normy ČSN EN ISO 18134-1 pomocí laboratorní pece Memmert UFE 400 (Mettler, Německo). Vzorky byly sušeny při teplotě 105 ° C do konstantní hmotnosti. Obsah popela byl stanoven dle ČSN EN ISO 18122 spálením vzorku a jeho vyžiháním do konstantní hmotnosti. Mechanická odolnost pelet byla hodnocena dle ČSN EN ISO 17831-1 a stanovení sypané hmotnosti bylo provedeno dle ČSN EN ISO 17828. Stanovení délky a průměru pelet bylo provedeno dle ČSN EN ISO 17225.

Použité statistické metody

Statistická analýza byla provedena pomocí softwarového balíčku „Statistics 12.0“ (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, USA). Byla provedena analýza rozptylu a výsledky byly porovnány pomocí testu Tukeyho rozsahu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Výsledky a diskuze

Spalování představuje technologii rozšířenou při zpracování pevných komunálních odpadů včetně kompostů, jejímž cílem je zpětné získávání energie při současné minimalizaci objemu a hmotnosti odpadů. Při spalování sehrává významnou roli zejména výhřevnost. Výhřevností se označuje veličina, která vyjadřuje množství tepelné energie, která se uvolní dokonalým spálením váhové jednotky paliva, přičemž voda obsažená ve spalínách zůstane ve formě vodní páry. Předpokládá se, že její teplo je nevyužitelné a uniká v plynném stavu se spalínami. V Tab.2 jsou uvedeny průměrné hodnoty výhřevnosti hodnocených variant pelet z kompostů.

Tab. 2.: Hodnoty spalného tepla a výhřevnosti pelet

Pelety z kompostu	Průměrná hodnota spalného tepla (MJ/kg)	Průměrná hodnota výhřevnosti (MJ/kg)
Var. 1	10,36±0,02 ^a	7,78±0,03 ^a
Var. 2	12,75±0,03 ^b	8,04±0,03 ^b

Pelety z kompostu s přidávanými výlisky (Var. 2) vykazovali vyšší výhřevnost ve srovnání s peletami z kompostu bez přidávaných výlisků (Var. 1). To souvisí s obsahem oleje v semenech, která zůstávají během procesu kompostování nerozložená a obsažený olej neuvolňují. Semena révy vinné mají výhřevnost 19,78–21,13 MJ/kg (BURG a kol. 2016). Berndes a kol. (2003) uvádí, že výhřevnost rostlinných materiálů lze zvýšit přidáním energeticky hodnotnějších složek, jako jsou pryskyřice nebo oleje. Např. Vogt (2001) uvádí, že semena obsahují 10–20% oleje, podobně jako Ohnishi a kol. (1990). Baydar a Akkurt (2001) uvádějí, že oleje tvoří 5–20% sušiny semen.

Obecně platí, že má-li se k výrobě energie použít pevné odpadní palivo, mělo by mít výhřevnost vyšší než 6,5 MJ/kg (Vyhláška 387/2016 Sb.). Požadované hodnoty lze dosáhnout různými způsoby, např. mísením s materiálem s vyšší výhřevností nebo snížením vlhkosti materiálu pomocí odpadního tepla (Evropská komise, 2018). Oba vzorky kompostu splňují tento požadavek, a to i při vyšším obsahu vlhkosti. Čistá výhřevnost kompostu je však obecně nižší než u standardních pevných biopaliv, např. ty na bázi dřevní štěpky nebo zemědělských produktů. Čistá výhřevnost těchto látek se obvykle pohybuje nad 15 MJ/kg (u pelet a briket) a obvykle neklesá pod 10 MJ/kg. Souček (2014) rovněž uvádí, že důvodem nízké čisté výhřevnosti kompostu je vyšší obsah vlhkosti a popela, tj. nadbytečné složky bez výhřevnosti. Na druhou stranu norma pro pelety z biomasy ČSN EN ISO 17225-6 uvádí minimální požadavek na výhřevnost na hodnotě 14,5 MJ/kg. Dále maximální povolený obsah vody do 15 % a popela do 10 %. Produkované pelety tyto požadavky nesplnili, i když Var. 2 se svým obsahem vody limitní hodnotě přiblížila. Naopak obsah popela až 45 % může při spalovacím procesu a plnění ohniště představovat významný problém.

Z výsledků vyplývá, že pelety nesplnili ani požadavky na mechanickou odolnost, která je normou uváděná vyšší jak 96,0 %. Této podmínce více vyhovují pelety vyrobené z kompostu s příměsí výlisků. Benetto (2015) uvádí, že matoliny jsou zodpovědné za lepší soudržnost pelet, a také zabraňují rozpadu materiálu v procesu lisování díky obsahu buničiny ve slupkách. Miranda (2012) uvádí, že se zvyšujícím se podílem matolin v peletách klesá podíl popelu. Na druhé straně, pelety s vyšším zastoupením matolin vykazují vyšší hodnoty fixního uhlíku. Naopak pelety v obou variantách splnili požadavky dané touto normou v parametrech jako je sypná hmotnost, minimální délka a průměr, obsah dusíku.

Tab. 3: Elementární složení pelet a jejich mechanicko-fyzikální vlastnosti

Pelety z kompostu	C (%)	N (%)	H (%)	Popel (%)	Vlhkost (%)	Mechanická odolnost (%)	Sypná hmotnost (kg/m ³)	Délka (mm)	Průměr (mm)
Var. 1	47	1,42	4,1	45	17,6	89,7	840,6	14,8	6,15
Var. 2	51	1,81	2,8	38	15,2	93,6	911,2	17,2	6,08

Legenda: uvedené hodnoty jsou průměrem 3 hodnot.

Závěr

Toto experimentální vyhodnocení bylo zaměřeno na stanovení výhřevnosti pelet z kompostů ze zahradnického odpadu typického pro oblast Jižní Moravy, charakteristické vinohradnickou a vinařskou výrobní oblastí. Byly testovány vzorky pelet z kompostu obsahující 50 % výlisků z

révy vinné. Výsledky jasně ukazují, že materiálové složení je důležitým faktorem ovlivňujícím výhřevnost pelet z kompostu ale i mechanicko-fyzikální vlastnosti. Vyšší čisté výhřevnosti, na úrovni 12,75 MJ/kg bylo dosaženo u pelet s přídavkem výlisků (Var. 2). To je důsledkem oleje obsaženého v semenech, které jsou nedílnou součástí výlisků a které sami o sobě mají vyšší výhřevnost. Pokud by se měli komposty používat v energetickém průmyslu v podobě palivových pelet, musí se vyřešit zvýšení mechanické odolnosti, a snížení množství nespálitelných látek v podobě popele.

Použitá literatura

- Abdullah, H., Wu, H. 2009. Biochar as a Fuel: 1. Properties and Grindability of Biochars Produced from the Pyrolysis of Mallee Wood under Slow-Heating Conditions. *Energy Fuels*, 23(8): 4174–4181. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ef900494t>.
- Baydar N.G., Özkan G., Çetin E.S. 2007. Characterization of grape seed and pomace oil extracts. *Grasasy aceites*, 58: 29–33. Dostupné z: <https://doi.org/10.3989/gya.2007.v58.i1.5>.
- Baydar, N.G., Akkurt, M. 2001. Oil content and oil quality properties of some grape seeds. *Turkish Journal of Agriculture & Forestry*, 25: 163–168. Dostupné z: <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.827.349&rep=rep1&type=pdf>.
- Berndes, G., Hoogwijk, M., Van Den Broek, R. 2003. The contribution of biomass in the future global energy supply: a review of 17 studies. *Biomass Bioenergy*, 25(1): 1–28. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0961-9534\(02\)00185-X](https://doi.org/10.1016/S0961-9534(02)00185-X).
- Burg, P., Ludín, D., Rutkowski, K., Krakowiak-Bal, A., Trávníček, P., Zemánek, P., Turan J., Višacki, V. 2016. Calorific evaluation and energy potential of grape pomace. *International Agrophysics*, 30(2): 261–265. Dostupné z: [doi:10.1515/intag-2015-0082](https://doi.org/10.1515/intag-2015-0082).
- Hettiarachchi, L., Jayatilake, N., Gunawardena, S. 2019. Effects of compost particle size, moisture content and binding agents on co-compost pellet properties. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 12(4): 184–191. Dostupné z: <https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20191204.4354>.
- ISO 1928:2009 - Solid mineral fuels - Determination of gross calorific value by the bomb calorimetric method and calculation of net calorific value.
- Jevič, P., Hutla, P., Šedivá, Z. 2013. Možnosti energetického využití kompostu a separátů z anaerobního zpracování biomasy. *Expertní neveřejná výzkumná zpráva č. 538-2013-17253-A/6/13*. Praha: VUZT, 44 s.
- Larsson, S., Lockneus, O., Xiong, S., Samuelsson, S. 2015. Cassava Stem Powder as an Additive in Biomass Fuel Pellet Production. *Energy Fuels*, 29(9): 5902–5908. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/acs.energyfuels.5b01418>.
- Narra, S., Tao, Y., Glaser, C., Gusovius, H.J., Ay, P. 2010. Increasing the Calorific Value of Rye Straw Pellets with Biogenous and Fossil Fuel Additives. *Energy Fuels*, 24(9): 5228–5234. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ef100823b>.
- Ohnishi M., Hirosh S., Kawaguchi M., Ito S., Fujino Y. 1990. Chemical composition of lipids, especially triacylglycerol, in grape seeds. *Agric. Biol. Chem*, 54: 1035–1042.
- Raclavská, H., Juchelková, D., Skrobánková, H., Wiltowski T., Campen, A. 2011. Conditions for energy generation as an alternative approach to compost utilization. *Environmental Technology*, 32(4): 407–417. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/09593330.2010.501089>.
- Souček, J. 2014. Jak využít teplo ukryté v kompostu. *Alternativní energie*, 1: 33–35.
- Ståhl, M., Berghel, J., Frodeson, S., Granström, K., Renström, R. 2012. Effects on Pellet Properties and Energy Use When Starch Is Added in the Wood-Fuel Pelletizing Process. *Energy Fuels*, 26(3): 1937–1945. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ef201968r>.
- Vogt, G. 2001. The Effects of Grape Seed Extract. *Trends in Plant Science* 2000, 6: 380–386.
- Vyhláška 387/2016 Sb. o podmínkách ukládání odpadů na skládky.

Wu, H., Yu, Y., Yip, K. 2010. Bioslurry as a Fuel. 1. Viability of a Bioslurry-Based Bioenergy Supply Chain for Mallee Biomass in Western Australia. *Energy Fuels*, 24(10): 5652–5659. Dostupné z: <https://doi.org/10.1021/ef1008105>.

Dedikace

Příspěvek vychází z řešení projektu IGA-ZF/2020–AP002 “Možnosti využití kompostu pro energetické účely a výrobu tvarovaných paliv” a projektu CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002334 “Výzkumná infrastruktura pro mladé vědce”.

Kontaktní adresa:

prof. Ing. Pavel Zemánek, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta
Ústav zahradnické techniky
Valtická 337, 691 44 Lednice, Česká republika
tel.: + 420 519 367 371
e-mail: pavel.zemaneck@mendelu.cz

SEMENA OLEJNIN JAKO VÝZNAMNÝ ZDROJ BÍLKOVIN PRO POTRAVINÁŘSKÉ APLIKACE

Oil crops seeds – important source of proteins for food applications

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

Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Abstrakt

Příspěvek pojednává o charakteristice a nutriční hodnotě bílkovin semen/plodů olejnatých plodin. Globuliny 11-12S (případně bílkoviny 7S) představují hlavní třídu zásobních bílkovin semen. Výlisky (resp. extrahované šroty) semen olejnin jsou primárně využívány pro krmení hospodářských zvířat, ale mohou být využívány také jako surovina pro výrobu mouk, koncentrátů a izolátů bílkovin. Uplatňují se zejména mechanické metody (mletí, prosévání a třídění), ale pro přípravu výrobků s vyšším obsahem bílkovin je potřebné používat metody založené na vodné extrakci případně kombinace více přístupů. Bílkovinné produkty odvozené z výlisků a šrotů olejnin mají potenciál stát se významnou surovinovou komponentou pro pekařské, masné, mléčné, nápojové a speciální potravinářské výrobky.

Klíčová slova: olejnin, bílkoviny, výlisky a šroty, metody koncentrace, potravinářské aplikace

Abstract

The paper deals with the characteristics and nutritional value of seed proteins of oil crops. 11-12S globulins (possibly 7S proteins) represent the major class of seed storage proteins. The oilseed cakes (or extracted meals) of oilseeds are primarily used for feeding farm animals, but can also be used as a raw material for the production of flours and protein concentrates or isolates. Mechanical methods as milling, sifting and air classification are used in particular, but for the preparation of products with a higher protein content it is necessary to use methods based on aqueous extraction or a combination of multiple approaches. Protein products derived from oilseed cakes and meals have the potential to become an important raw material component for bakery, meat, dairy, beverages and specialty food products.

Keywords: oil crops, proteins, oilseed cakes and meals, concentration methods, food application

Úvod

Olejnin jsou zemědělsky významné rostliny poskytující rostlinné tuky. V širším pojetí zahrnuje tato skupina plodin značné množství rostlinných druhů z mnoha botanických čeledí – sjednocujícím prvkem je významný obsah tuku v některé části rostliny, nejčastěji v semenech. Z globálního pohledu má ze semenných olejnin význam hlavně sója, řepka a slunečnice a z ostatních olejnin palma olejná. Význam však má i celá řada dalších druhů, včetně minoritně pěstovaných.

Semena olejnin obsahují kromě tuku také bílkoviny, sacharidy včetně vlákniny, minerální látky a vodu. Po vytěžení tuku pomocí lisování, extrakce organickými rozpouštědly nebo kombinací obou způsobů, se zvýší zastoupení ostatních složek ve zbytkovém materiálu (výliscích či extrahovaném šrotu). Vždy zůstává i určitý podíl zbytkového tuku, obvykle v rozpětí 2 - 12 % (ale může být i více). Výlisky či šroty jsou proto cenným vedlejším produktem vznikajícím při zpracování semen (či nažek) olejnin na tuk. Jsou využívány zejména pro krmení hospodářských zvířat. Pro výživu lidí je významně využívána sója, u ostatních druhů je využití pro lidskou výživu malé. To by se mělo v celosvětovém kontextu postupně měnit. Důvodů je hned několik

a k nejdůležitějším patří: rostoucí lidská populace na planetě a snaha ji uživit (bílkoviny rostlinného původu jsou levější a dostupnější), produkce bílkovin živočišného původu více zatěžuje životní prostředí (zejména u skotu a potažmo hovězího masa je nízký stupeň konverze), dietologické a zdravotní hledisko – poměr mezi živočišnými a rostlinnými bílkovinami v lidské dietě by měl být 1:1 (Chardigny, Walrand, 2016; Tonin et al., 2018; Liška, 2019).

Charakteristika bílkovin semen olejnin

Obsah bílkovin v semenech vybraných olejnin se pohybuje v širokém rozpětí 10 – 45 % (viz tabulku 1). Ve výliscích nebo extrahovaných šrotech je díky odtučnění zastoupení bílkovin ještě vyšší (27 – 56 %) a lze je tak považovat za velmi významné zdroje rostlinných bílkovin.

Bílkoviny semen olejnin jsou tvořeny především globuliny, které představují zejména zásobní bílkoviny (představují 40 – 90 %). Minoritní frakcí jsou albuminy (tvoří 10 – 40 %), ostatní třídy dle rozpustnosti bílkovin nejsou zastoupeny vůbec nebo jen sporadicky (Chéreau et al., 2016). U semen většiny olejnin a luskovin tvoří globulinovou frakci majoritní zásobní 11-12S protein, který má v nativním stavu hexamerní strukturu. Monomerní podjednotky dosahují obvykle molekulové hmotnosti 50-60 kDa a jsou tvořeny kyselým (≈ 20 kDa) a bazickým polypeptidem (30-40 kDa). Oba polypeptidové řetězce jsou spojeny disulfidicky (Shewry et al., 1995; Chéreau et al., 2016). Druhově specifické názvy 11-12S majoritního proteinu jsou uvedeny v tabulce 1. Kromě hexamerní sestavy (11-12S bílkoviny) jsou u sóji a slunečnice vytvářeny také 7S trimery (u sóji je tento protein nazýván β -conglycinin) a dokonce agregáty trimerů a hexamerů, které jsou nazývány 15S proteiny (González-Pérez, Vereijken, 2007; Nishinari et al., 2014).

Tab. 1: Základní charakteristika bílkovin semen a výlisků vybraných druhů olejnin

druh	rozsah obsahu bílkovin v semenech (v %)	rozsah obsahu bílkovin ve výliscích/šrotech (v %)	název globulinové frakce	název albuminové frakce
sója luštinatá ^{1,2}	35 – 43	≈ 53	glycinin β -conglycinin	albumin
řepka olejka ^{3,4}	19 – 24	35 – 40	cruciferin	napin
slunečnice roční ^{5,6}	10 – 27	27 – 40*	helianthinin	albumin
len olejný ^{7,8}	20 – 25	35 – 40	linin	conlinin
konopí seté ⁹	20 – 25	30 – 50	edestin	albumin
tykev olejná ^{10,11,12}	32 – 45	55 – 56	cucurbitin	albumin

¹Singh et al. (2008); ²Nishinari et al. (2014); ³Wanasundara et al. (2016); ⁴Von der Haar et al. (2014); ⁵González-Pérez, Vereijken (2007); ⁶Murru, Calvo (2020); ⁷Wu et al. (2019); ⁸Shim et al. (2014); ⁹Wang, Xiong (2019); ¹⁰Nourmohammadi; ¹¹Stražil; ¹²Ozuna, León-Galván (2017)

*po odstranění oplodí (slupky)

Pro albuminovou frakci jsou druhy specifické názvy používány jen u řepky a lnu (tabulka 1). Albuminy jsou označovány též jako 2S proteiny s molekulovou hmotností kolem 10 kDa (Mandal, Mandal, 2000).

Z hlediska výživy zvířat a lidí je kvalita bílkovin posuzována jejich stravitelností, obsahem esenciálních aminokyselin a jejich proporcí k esenciálním aminokyselinám referenčního proteinu resp. standardu. Jak vyplývá z tabulky 2, bílkoviny semen olejnin mají dobrou bilanci esenciálních aminokyselin. Oproti pšenici mají bílkoviny semen olejnin vyšší zastoupení

lysinu. Jako většina rostlinných bílkovin mají bílkoviny olejnin nižší zastoupení sirných aminokyselin (Chardigny, Walrand, 2016). Sójové a řepkové bílkoviny jsou na lepší úrovni z hlediska vyváženosti aminokyselin než bílkoviny slunečnice. Bílkoviny živočišného původu pochopitelně naplňují požadavky referenční bílkoviny lépe než bílkoviny semen olejnin. Stravitelnost bílkovin je ovlivňována přítomností antinutričních faktorů. U sóji se vyskytují bílkovinné inhibitory trypsinu a ostatních proteas (jsou inaktivovány tepelnou úpravou), navíc jsou bílkoviny sójových bobů alergenní. U řepkových výliskových mouk mohou být problémové glukosinoláty a sodné či vápenaté soli fytové kyseliny (fytáty). Fytová kyselina váže ve své struktuře fosfor a její anionty reagují se sodnými a vápenatými kationty do podoby nerozpustných solí, které jsou nestavitelné. U slunečnice sice nejsou vysloveně antinutriční látky, problémy však může způsobovat vysoký obsah polyfenolů, které se mohou vázat na bílkoviny a zhoršovat jejich využití. V alkalickém prostředí způsobují zelené a hnědé zbarvení mouk. V průběhu zpracování výlísků na mouky či koncentráty a izoláty bílkovin je proto snaha nežádoucí látky co nejvíce odstranit či eliminovat (Chardigny, Walrand, 2016; Wanasundara et al., 2016; Akande, 2011).

Tab. 2: Obsah esenciálních aminokyselin v různých zdrojích bílkovin (g / 100 g bílkovin)

zdroj bílkoviny	Ile	Leu	Lys	Met (+Cys)	Phe	Thr	Trp	Val
referenční protein ¹	4,2	4,8	4,2	4,2	2,8	2,8	1,4	4,2
vejce ¹	6,9	9,0	7,2	5,8	5,9	5,0	2,4	7,4
maso ¹	7,7	6,3	8,1	3,3	4,9	4,6	1,3	5,8
zrno pšenice ¹	3,9	6,5	2,7	3,8	4,4	3,0	1,1	4,5
semena sóji ¹	5,6	7,6	6,3	3,6	5,4	3,9	1,2	5,4
semena řepky ²	3,5	6,2	5,9	4,2	4,1	4,3	1,3	5,0
semena slunečnice ³	4,0	6,7	4,9	2,7	5,1	2,5	nd	4,4

¹Chardigny, Walrand (2016); ²Wanasundara et al. (2016); ³Akande (2011)

Získávání bílkovinných produktů z výlísků a extrahovaných šrotů olejnin

Podle obsahu hrubých bílkovin čili obsahu dusíkatých látek (NL), lze z výlísků či extrahovaných šrotů olejnin získat tři typy bílkovinných výrobků: **mouky** (obsah NL do 65 %), **koncentráty bílkovin** (obsah NL mezi 65 – 90 %) a **izoláty bílkovin** (obsah NL nad 90 %) (Rodrigues et al., 2012; Boye, Barbana, 2012). Jak ukazuje obrázek 1, existuje několik skupin technologických postupů koncentrace bílkovin (N látek) ve výliscích, šrotech či moukách semen olejnin nebo luskovin, avšak nejdůležitější jsou první dvě skupiny (obr. 1). O využití v praxi rozhoduje technická náročnost, vlastní účinnost koncentrace či separace a ekonomika takového provozu.

Suché metody jsou obecně jednodušší než vodná extrakce a ostatní možnosti, ale jejich účinnost koncentrace bílkovin je omezená. Jsou založeny na heterogenním mletí vstupního materiálu, kdy vznikne mouka o různorodé velikosti částic. Roli hraje též skutečnost, že většina olejnatých semen/plodů se používá na lisování i s osemením či oplodím (např. slunečnice, konopí aj.). Obalové části semen a plodů tvoří při mletí většinou hrubší částice, které obvykle mají vyšší zastoupení vlákniny a nižší zastoupení bílkovin. Naopak vnitřní části semen a plodů tvoří, po procesu lisování či extrakce tuku a následném mletí, jemné částice, ve kterých převažují zásobní bílkoviny. Těchto skutečností lze využít v následné mechanicko-fyzikální separaci hrubších a jemnějších částic pomocí prosévání, vzduchového třídění či elektrostatické nebo gravitační

separace. Koncentrace bílkovin ve finálním produktu dosahuje při použití suchých metod v průměru 40 % (maximálně 50 %) a je proto vhodná pro zvyšování obsahu bílkovin ve výrobcích typu mouk. Je třeba připomenout, že úspěšnost separačního procesu u suchých metod ovlivňuje obsah zbytkového tuku. Např. u nejběžnějšího prosévání vede vyšší obsah zbytkového tuku k zalepování ok sít, proto je vhodnějším vstupním materiálem co nejvíce odtučněná mouka či šrot (Schutyser, van der Groot, 2011; Chéreau et al., 2016; Arrutia et al., 2020).

Obr. 1: Přehled hlavních technologií koncentrace bílkovin semen luskovin a olejnin



Pozn.: Vytvořeno podle práce Arrutia et al. (2020).

Metody využívající **vodné extrakce** jsou nejvíce rozšířené. Tyto metody mají schopnost dosáhnout vyšší koncentrace bílkovin ve finálním produktu (i přes 90 %), na druhé straně jsou výrobně a ekonomicky náročnější. Pro zefektivnění koncentračního procesu je vhodné pro vodnou extrakci používat již upravený vstupní materiál, často vhodně pomleté a proseté mouky (s vyšším zastoupením bílkovin) prostřednictvím „suchých“ metod. Prvním krokem je solubilizace bílkovin, tzn. jejich rozpuštění ve vodě. Jak bylo výše uvedeno, většina bílkovin semen olejnin a luskovin patří mezi poměrně snadno rozpustné albuminy a globuliny, přesto účinnost rozpustnosti je závislá na více faktorech. Je proto nutná optimalizace pro druhově specifický materiál. Jde zejména o poměr mezi množstvím vstupní mouky a objemem vody, úpravu pH a iontové síly (přídavek soli), intenzitu míchání, teplotu směsi a délku průběhu celého procesu. Většina zásobních bílkovin olejnin jsou globuliny mající hodnotu isoelektrických bodů (pI) v kyselé oblasti. Jejich rozpustnost zvyšuje pH prostředí vzdálené hodnotě pI, tzn. alkalické prostředí. Běžně je proto využívána úprava reakce extrakční směsi na pH 8-10 (Rodrigues et al., 2012; Hadnađev et al., 2017). Rozpustnost globulinu zlepšuje také „slabé“ zvyšování iontové síly, proto jsou pro solubilizaci zásobních bílkovin olejnin používány solné roztoky (efekt vsolování). Na vodnou extrakci následuje oddělení nerozpustného podílu

odstředěním nebo filtrováním. Bílkoviny lze koncentrovat z vodného extraktu pomocí srážení (precipitace) nebo pomocí membránových technik. Nejběžnějším postupem je kombinace alkalické extrakce s následnou kyselou precipitací. Tento postup může dosahovat dobré výrobní realizace a vysokých výtěžků (po optimalizaci), avšak k nevýhodám patří poškozené funkční vlastnosti získaných bílkovin. Alternativní způsob kombinující solnou extrakci a následné odsolení dialýzou poskytuje v tomto ohledu lepší výsledky. Výrobní postup je zakončován šetrným sušením získaných bílkovin. V některých případech může být cílem vodné extrakce odstranění nežádoucích (nebílkovinných) komponent ze vstupního materiálu (např. sacharidy, polyfenoly apod.). V tomto případě se k extrakci používá okyselená voda, která podpoří rozpustnost látek nebílkovinné povahy a naopak snižuje rozpustnost bílkovin. Při produkci některých bílkovinných koncentrátů, kdy je potřeba dosáhnout obsahu bílkovin nad 65 %, může být dostačující extrakce nebílkovinných látek ze vstupní mouky, čímž dojde k jejich (částečnému) odstranění a k relativnímu zvýšení bílkovinné složky ve finálním produktu (Rodrigues et al., 2012; Arrutia et al., 2020).

Kombinované přístupy spojují extrakční metody s využitím enzymů pro zefektivnění celého procesu. Využívány mohou být enzymy, jako jsou celulasy, hemicelulasy či polysacharidasy, které degradaci buněčných struktur umožňují účinnější extrakci bílkovin nebo naopak odstranění nebílkovinných komponent či problematických látek. **Ostatní techniky** zahrnují využití technik nezmiňovaných v předešlých odstavcích, např. filtrace, sedimentace, rotační vakuová filtrace aj. Význam mají taktéž membránové techniky, které patří mezi separační metody využívající schopnosti velikostní diferenciace částic prostřednictvím rozdílně pórovitých membrán. Jde o možné využití ultrafiltrace a diafiltrace (Arrutia et al., 2020).

Funkční vlastnosti bílkovin olejnin a jejich aplikace v potravinářství

Uplatnění bílkovinných produktů odvozených z výlisků a extrahovaných šrotů olejnin v potravinářských aplikacích předurčují funkční vlastnosti, kterými tyto výrobky disponují. Funkční vlastnosti popisují chování bílkovin v průběhu zpracování a výroby finálního produktu, mají vliv na jeho vnitřní i vnější rysy a ovlivňují i skladování produktu a jeho udržitelnost. V komplexním pojetí jsou zahrnuty vlastnosti jako rozpustnost, schopnost tvořit gely, povrchové aktivity (pěnivost a emulgační aktivita), vazba vody a tuku, ale také vlastnosti vztažené ke zdraví a výživě konzumenta výrobku (Moure et al., 2006; Wouters et al., 2016).

Obecně dosahují potravinářsky využívané bílkoviny živočišného původu lepších funkčních vlastností než bílkoviny rostlinného původu, obdobně jako při hodnocení spektra aminokyselin, ale z řady důvodů (obecně nižší cena a vyšší dostupnost, zdravotní a výživová hlediska, nižší zátěž prostředí na jejich produkci) je celosvětově snaha o jejich větší využití. Detailně jsou výhody a nevýhody shrnuty v tabulce 3.

Rozsah využití bílkovin konkrétních druhů olejnin pro potravinářské aplikace je velmi rozdílné. U rozsáhle pěstovaných druhů olejnin jako jsou sója, řepka a slunečnice jsou k dispozici bílkovinné produkty na úrovni mouk i bílkovinných koncentrátů a izolátů. U sóji je nabízena široká paleta bílkovinných produktů, včetně texturované formy bílkovin (Singh et al., 2008). U řepky není využívána výlisková mouka kvůli přítomným antinutričním faktorům i kvůli specifické chuti. K dispozici jsou ale kanadské bílkovinné koncentráty a izoláty od společnosti Burcon. Nabízeny jsou dokonce i frakce s převahou globulinů nebo s převahou albuminů (Anonym, 2020). U olejnin pěstovaných a zpracovávaných v menším rozsahu jsou k dispozici jen mouky a praktické uplatnění je spíše na úrovni testování. Přesto u řady minoritních druhů

olejnin existuje celosvětově rozsáhlý výzkum řešící produkci koncentrátů a izolátů bílkovin. Stupňuje se zájem o bílkoviny konopí (Wang, Xiong, 2019) a lnu (Wu et al., 2019).

Všechny tři úrovně bílkovinných produktů lze díky příznivým hodnotám funkčních vlastností využít v potravinářských aplikacích. Mouky mohou nalézt uplatnění jako kompozit do suchých pekařských směsí nebo přímo v hotových pekařských výrobcích. Doporučuje se však spíše nižší zastoupení kolem 5 - 10 %, maximálně však do 20 % (Pojić et al., 2015). Mouky (ale i koncentráty a izoláty) mohou být uplatněny jako úplná náhrada pšeničné mouky v masných výrobcích (Kotecka-Majchrzak et al., 2020). Koncentráty bílkovin jsou vhodné spíše do mléčných výrobků a nápojů nebo ve výrobcích, kde je potřeba zlepšit želírovací schopnost. Dalším využitím výliskových mouk mohou být extrudované výrobky, finalizované do podoby racionálních snídaňových a svačinových výrobků. Velmi čisté formy (izoláty, ale i koncentráty) bílkovin mohou nalézt uplatnění v přípravě potravinářských pěn (imitace sněhu z bílků) a v produkci potravinářských emulzí (náhražky majonéz, studených omáček a dresinků). Bílkovinné produkty některých olejnin jsou navrhovány i do speciálních diet – výživa sportovců, nemocných nebo dětí (Singh et al., 2008; Wang, Xiong, 2019).

Tab. 3: Shrnutí hlavních výhod a nevýhod využití bílkovinných produktů odvozených z výlisků/šrotů olejnin

Výhody:	Nevýhody:
• Zdroj bílkovin pro výživu hospodářských zvířat • Nový zdroj pro výživu rostoucí lidské populace • Nové suroviny pro potravinářské aplikace – využití funkčních vlastností pro vegetariánské a veganské produkty • Možnost vyrovnaného poměru příjmu bílkovin živočišného a rostlinného původu (požadovaný poměr 1:1) • Zdraví prospěšné doprovodné látky (polyfenoly a ostatní antioxidanty, vláknina, minerály) • Olejnin jsou tržní plodiny, jejich pěstování přináší do podniku peníze • Spektrum pěstovaných olejnin obohacuje variabilitu pěstovaných plodin	• U konzumentů z rozvinutých zemí jsou často vnímány jako méněcenná „náhražka“ (dávána přednost konzumaci živočišných bílkovin) • U semen některých olejnin výskyt nežádoucích látek (např. u řepky fytáty) • Oproti bílkovinám živočišného původu nižší obsah některých esenciálních aminokyselin • Nižší skladovatelnost bílkovinných produktů některých olejnin v důsledku obsahu vyšší hladiny zbytkového tuku s vyšším zastoupením PUFA • Vznik hnědě až zeleně zbarvených oxidačních produktů fenolů přítomných v plodech olejnin čeledi <i>Asteraceae</i> při alkalické extrakci bílkovin

Závěr

Výlisky či extrahované šroty olejnin disponují vysokým obsahem bílkovin v rozmezí 25 – 50 %. Jde o kvalitní bílkoviny s dobrým zastoupením esenciálních aminokyselin. Výlisky a šroty olejnin mohou být dobrou surovinou pro výrobu mouk, bílkovinných koncentrátů nebo bílkovinných izolátů a mají tak značný potenciál stát se surovinou pro širokou oblast potravinářských výrobků. Přestože v určitých případech stojí v cestě k tomuto cíli nedorozumění překážky (např. odstraňování nežádoucích látek, volba optimální zpracovatelské technologie

ve vztahu k zachování funkčních vlastností finálního bílkovinného produktu), zahraniční i domácí výzkum v této oblasti ukazuje směr jejich řešení.

Použitá literatura

- Akande K. E. (2011): Proximate and amino acid analyses of full-fat sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed meal. Singapore Journal of Scientific Research 1: 179-183.
- Anonym (2020): Canola proteins. Dostupné on-line: <https://burcon.ca/products/canola-proteins/> (12. 10. 2020)
- Arrutia F., Binner E., Williams P., Waldron K. W. (2020): Oilseed beyond oil: Press cakes and meals supplying global protein. Trends in Food Science and Technology 100: 88-102.
- Boye J. I., Barbana C. (2012): Protein processing in food and bioproduct manufacturing and techniques for analysis. In: Dunford N. T. (ed.): Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing. Wiley-Blackwell, Chichester, 382 p. (Online ISBN: 9781119946083)
- González-Pérez S., Vereijken J. M. (2007): Sunflower proteins: overview of their physicochemical, structural and functional properties. Journal of the Science of Food and Agriculture 87: 2173-2191.
- Hadnađev M. S., 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
- Chardigny J.-M., Walrand S. (2016): Plant protein for food: opportunities and bottlenecks. Oilseeds and fats, Crops and Lipids 23: D404.
- Kotecka-Majchrzak K., Sumara A., Fornal E., Montowska M. (2020): Proteomic analysis of oilseed cake: a comparative study of species-specific proteins and peptides extracted from ten seed species. Journal of the Science of Food and Agriculture. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10643>
- Liška M. (2019): Situační a výhledová zpráva – Olejníky. Ministerstvo zemědělství ČR, Praha, 70 s. (ISBN 978-80-7434-505-0)
- Mandal S., Mandal R. K. (2000): Seed storage proteins and approaches for improvement of their nutritional quality by genetic engineering. Current Science 79: 576-589.
- Murru M., Calvo C. L. (2020): Sunflower protein enrichment. Methods and potential applications. Oilseeds and fats, Crops and Lipids, 27: 17.
- Nishinari K., Fang Y., Guo S., Phillips G. O. (2014): Soy proteins: A review on composition, aggregation and emulsification. Food Hydrocolloids 39: 301-318.
- Nourmohammadi E., Sadeghi Mahoonak A., Alami M., Ghorbani M. (2017): Amino acid composition and antioxidative properties of hydrolysed pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) oil cake protein. International Journal of Food Properties 20: 3244–3255
- Ozuna C., León-Galván M. F. (2017): Cucurbitaceae Seed Protein Hydrolysates as a Potential Source of Bioactive Peptides with Functional Properties. BioMed Research International 2017: Article ID 2121878, 16 pp.
- Pojić M., Dapčević Hadnađev T., Hadnađev M., Rakita S., Brlek T. (2015): Bread Supplementation with Hemp Seed Cake: A By-Product of Hemp Oil Processing. Journal of Food Quality 38: 431–440.
- Rodrigues I. M., Coelho J. F. J., Graca M., Carvalho V. S. (2012): Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. Journal of Food Engineering 109: 337-346.
- Schutyser M. A. I., Groot van der A. J. (2011): The potential of dry fractionation process for sustainable plant protein production. Trends in Food Science and Technology 22: 154-164.
- Shewry P. R., Napier J. A., Tatham A. S. (1995): Seed Storage Proteins: Structures and Biosynthesis. The Plant Cell 7: 945-956.

- Singh P., Kumar R., Sabapathy S. N., Bawa A. S. (2008): Functional and edible uses of soy protein products. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 7: 14-28.
- Stražil Z. (2011): Tykev olejná. In: Moudrý J. (ed.) *Alternativní plodiny*. Profi Press, Praha, pp: 85-86. (ISBN 978-80-86726-40-3)
- Tonin P., Gosselet N., Halle E., Henrion M. (2018): Ideal oil and protein crops – what are users ideotypes, from the farmer to the consumer? *Oilseeds and fats, Crops and Lipids* 25: D605.
- Von Der Haar D., Müller K., Bader-Mittermaier S., Eisner P. (2014): Rapeseed proteins – Production methods and possible application ranges. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 21: D104.
- Wanasundara J. P. D., McIntosh T. C., Perera S. P., Withana-Gamage T. S. (2016): Canola/rapeseed protein functionality and nutrition. *Oilseed and fats Crops and Lipids* 23(4): D407
- Wang Q., Xiong Y. L. (2019): Processing, Nutrition, and Functionality of Hempseed Protein: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 18: 936-952.
- Wouters A. G. B., Rombouts I., Fierens E., Brijs K., Delcour J. A. (2016): Relevance of the Functional Properties of Enzymatic Plant Protein Hydrolysates in Food Systems. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15: 786-800.
- Wu S., Wang X., Qi W., Guo Q. (2019): Bioactive protein/peptides of flaxseed: A review. *Trends in Food Science and Technology* 92: 184-193.

Dedikace

Příspěvek vznikl s finanční podporou výzkumného projektu MZe QK1910302. Autoři příspěvku děkují za podporu.

Kontaktní adresa:

doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.
Katedra genetiky a speciální produkce rostlinné
Zemědělská fakulta
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Na Sádkách 1780
370 05 České Budějovice
e-mail: barta@zf.jcu.cz; telefon: +420 387772922

VYUŽITÍ MIKROVLNNÉHO ROZKLADU PŘI STANOVENÍ OBSAHU BÍLKOVIN OBILNÉHO ZRNA NA PRINCIPU KJELDAHLOVY METODY

Microwave digestion utilization for assessment of protein content in cereal seeds according to Kjeldahl's method principle

Dvořáček V., Maternová A.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

Abstrakt

Předložená práce se zabývala možností využití mikrovlnného rozkladu pšeničného zrna pro stanovení obsahu celkových hrubých bílkovin na principu Kjeldahlovy metody. Byly otestovány 4 postupy lišící se podmínkami mikrovlnného rozkladu. 1) jedno – a dvoukroková analýza mikrovlnného rozkladu, 2) posouzení poměrů reakční směsi 96 % H_2SO_4 :30 % H_2O_2 , 3) vliv množství navážky vzorku a 4) vliv reakční teploty. Dle výsledků práce byly definovány 3 klíčové body pro dosažení optimální výtěžnosti hrubých bílkovin. Prvním z nich je nutnost aplikace dvoukrokové analýzy. Druhým a třetím bodem je dodržení postupu přidání správného poměru reakční složky H_2SO_4 : H_2O_2 pro každý z kroků a provádět rozklad při teplotách převyšujících 200°C. Mikrovlnný rozklad dále potvrdil, že je časově efektivnější a nezatěžuje pracovníky laboratoře agresivními vyvíjenými plyny či odpady z exhaustoru.

Klíčová slova: mikrovlnný rozklad, Kjeldahlova metoda, dusík, obilniny

Abstract

The submitted paper focused on application of microwave digestion in wheat grain for assessment of crude protein content according to Kjeldahl's method principle. There were tested 4 procedures differing in conditions of microwave digestion. 1) one- vs. two step analyses, 2) impact of the reaction mixture ratio 96% H_2SO_4 : 0% H_2O_2 , 3) effect of sample amount and 4) temperature effect of digestion. According to obtained results, the 3 key items were defined for achievement of the correct recovery of crude protein. The first one is application of the two step analysis. The second and third key item included correct option of H_2SO_4 : H_2O_2 ratio for both steps and to keep the microwave digestion above 200°C. The microwave digestion further confirmed that it is more time efficient and the laboratory technicians are not burdened with aggressive gases or waste from exhausting system.

Keywords: microwave digestion, Kjeldahl's method, nitrogen, cereals

Úvod

V roce 1883 dánský chemik Johan Gustav Christoffer Thorsager Kjeldahl vyvinul pro pivovar Carlsberg novou analytickou metodu přítomnosti dusíkatých látek, která posléze i získala jeho jméno. Přestože od její uveřejnění v časopise Zeitschrift für Analytische Chemie (Kjeldahl, 1883) uběhlo k dnešnímu roku již 137 let, princip Kjeldahlovy analýzy celkových dusíkatých látek (TKN) je široce využíván dodnes. Möller (2009) současně uvádí, že je tato, především co do analyzované matrice, univerzální metoda stále celosvětově nejfrekventovanější.

Princip této metody je založen na mineralizaci organického dusíku v prostředí koncentrované kyseliny sírové s optimálním teplotním rozpětí 360 °C - 410 °C za tvorby síranu amonného. Amonná složka se poté alkalizací uvolní a predestiluje do příslušné předlohy např. kyseliny trihydrogenborité s barevnými (pH) indikátory, kde se její množství stanoví titračně (Sáez-Plaza et al., 2013a). Je potřeba říci, že tato metoda nestanovuje přesně obsah čistých bílkovin ve vzorku, protože na výše uvedené reakci a vzniku síranu amonného se také podílí i další

organické dusíkové složky nebílkovinné povahy, kam patří například (močovina, volné aminokyseliny či amonné ionty aj.). Důkazem její bílkovinné neselektivity byl mimo jiné i skandál čínského sušeného mléka určeného pro kojence z roku 2008, kdy byl do suroviny přidán melamin, tedy chemikálie bohatá na dusík, pro zamaskování nízkého obsahu mléčných bílkovin (Sáez-Plaza et al., 2013a).

Na základě Kjeldahlovy metody jsou pro kalkulaci bílkoviny ze stanoveného min. dusíku v potravinářství široce používány konverzní faktory. Ty jsou specifické pro danou surovinu a např. v případě většiny obilnin a luskovin, či z nich připravovaných krmných směsí je široce používán faktor 6,25. Výjimkou je ale kalkulace bílkovin u pšenice, kde je používán konverzní bílkovinný faktor 5,7. Další omezení metody souvisí pro sloučeniny obsahující dusík v nitro a azoskupinách a dusík přítomný v cyklických molekulách (např. pyridin, chinolin, isochinolin), protože dusík se z těchto látek za podmínek této metody nekonvertuje na síran amonný (Prusisz et al., 2007).

Kjeldahlova analýza obsahu bílkovin je také ve srovnání především se spektrofotometrickými metodami stanovující obsah čisté bílkoviny např. metoda BCA či dle Bretforda mnohem méně citlivá a v současných proteomických analýzách se tak nevyužívá. Řada faktorů však v posledních cca 20 letech vyvolává významnější odklon uživatelů od Kjeldahlovy analýzy a naopak příklon např. k přímé spalovací technice dle Dumase. V první řadě se u Kjeldahlovy metody jedná o nízkou možnost automatizace, zdoluhavost analýzy, nutnost pracovat s koncentrovanou kyselinou i zásadou. Navíc v průběhu mineralizace unikající výpary zatěžují nejen životní prostředí, ale také často, navzdory silnému odtahu digestoře, i pracoviště. Důvody udržování Kjeldahlovy analýzy v systému hodnocení potravin je tak spíše otázkou konzervativní legislativy vyžadovaných analytických norem a pak také stále vysoká cena analyzátorů pro Dumasovu metodu.

Jednou z možností jak systém mineralizace časově i „environmentálně“ zefektivnit je tak využití systému mikrovlnného rozkladu. Řada větších analytických laboratoří navíc již podobným systémem disponuje a využívá jej např. pro analýzy elementárních prvků či významně rychlejšímu stanovení aminokyselin u řady biologických matric. Mikrovlnný rozklad v uzavřeném systému navíc zabráňuje ztrátám těkavých prvků, odparu kyseliny a zamezuje případnou kontaminaci z vnějších zdrojů. V neposlední řadě mikrovlnné záření mnohem efektivněji zahřívá reakční směs, přičemž se zkracuje jak doba reakce, tak spotřeba reakčních činidel. Přes tyto nesporné výhody bylo však publikováno jen omezené množství prací zaměřené na stanovení celkových dusíkatých látek (TKN) dle Kjeldahla s využitím mikrovlnného systému. Úspěšné zařazení otevřeného mikrovlnného rozkladu pro analýzu TKN u listů fazole se zkrácením reakční doby na 27 minut zmiňuje Korn et al. (2005). Stanovení TKN v referenčních vzorcích půdy a broskvoňových listů při využití uzavřeného dvoukrokového mikrovlnného rozkladu v přítomnosti kys. sírové a přidavkem peroxidu zmiňují také Domini et al. (2009). Čínští autoři Lo et al. (2007) pak s úspěchem zařadili mikrovlnný rozklad pro analýzu obsahu TKN u odpadních vod a kalů. Naopak citace prací popisující úspěšné zařazení mikrovlnného rozkladu pro stanovení obsahu TKN u obilného zrna se nám najít nepodařilo. Vzhledem k tomuto faktu tak bylo v této práci naším cílem optimalizovat metodu mikrovlnného rozkladu šrotu pšeničného zrna pro stanovení obsahu celkových hrubých bílkovin jako efektivní a uživatelsky příznivější alternativu za standardní mineralizační postup dle Kjeldahla.

Materiál a metody

Náhodně vybrané zrno (100 g) od 3 genotypů pšenice ozimé (*Triticum aestivum* L.) z kolekce genové banky Praha bylo standardně namleto na šrotovacím mlýnu Perten 3303. S využitím mineralizační jednotky FOSS 2020 a destilační jednotky s automatickou titrací FOSS 2300 byl dle standardního postupu dle Kjeldahla (ČSN EN ISO 5983 – 1) u vzorků stanoven s využitím

bílkovinného konverzního faktoru 5,7 obsah celkových hrubých bílkovin s ponechanou anglickou zkratkou - TKN. Jako referenční parametr byla také použita aminokyselina glycin (94119, f. Merck). Referenční hodnota obsahu hrubých bílkovin, při navážce 0,15 g glycinu s využitím bílkovinného faktoru 6,25 a ponecháním ve finální kalkulaci hypotetickou navážku 1 g, pak pro glycin činila 15,9 %.

U referenčních vzorků pšenice a aminokyseliny glycinu byly dále provedeny následující 4 varianty mikrovlnného rozkladu s identickým koncovým stanovení hrubých bílkovin s využitím destilační jednotky s automatickou titrací FOSS 2300. U následně uvedených 4 variant byly sledovány difference v obsahu hrubých bílkovin od výše uvedené standardní Kjeldahlovy metody: 1) jedno a dvoukroková analýza mikrovlnného rozkladu, 2) posouzení poměrů reakční směsi 96 % H_2SO_4 :30 % H_2O_2 , 3) vliv množství navážky vzorku a 4) vliv reakční teploty. Detailní charakteristika jednotlivých variant je uvedena ve výsledkové části.

Mikrovlnný rozklad probíhal na přístroji Multiwave GO Plus od rakouské firmy Anton-Paar s 12-místným rotorem v uzavřeném systému teflonových zkumavek s pojistným ventilem.

Pro základní statistické vyhodnocení (průměr, relativní směrodatná odchylka) byl využit program Statistika 7.0.

Výsledky a diskuze

První metodický přístup zahrnoval možnost využití jednokrokové analýzy, kdy obě reakční činidla v pořadí 96 % H_2SO_4 a 30 % H_2O_2 byla na vybraný referenční vzorek pšenice (0,2 g) i referenční vzorek glycinu (0,15g) nanášena společně ve stejném poměru 6 ml. Vlastní mikrovlnný rozklad poté probíhal v jediném kroku při udržované teplotě vzorků 190 °C, třech odlišných časech rozkladu (45, 60 a 90 min) a vycházel z postupu autorů Lo et al. (2007).

Dosažené výsledky po mikrovlnném rozsahu vykazovaly u obou referenčních materiálů podobnou opakovatelnost charakterizovanou variačním koeficientem do cca 7 %. Stanovené obsahy dusíku však byly po aplikaci mikrovlnného rozkladu u obou referenčních materiálů (pšenice a glycin) významně nižší. V případě pšeničného vzorku byla hodnota relativní směrodatné odchylky na úrovni 15 %. U glycinu pak v závislosti s prodloužením doby rozkladu klesala z cca 25 % na 20 %. Je tak zřejmé, že postup jednokrokového mikrovlnného rozkladu nepřinesl uspokojivé výsledky srovnatelné s klasickým Kjeldahlovým přístupem.

Tab. 1: Difference obsahu hrubých bílkovin ($\text{TKN}_{\text{mikro}}$) při využití různé délky jednokrokového mikrovlnného rozkladu (teplota 190 °C; H_2SO_4 = 6 ml; H_2O_2 = 6 ml; navážka 200 mg)

Referenční materiál (TKN %)	Čas rozkladu (min)	$\text{TKN}_{\text{mikro}}$ (%)	Relativní sm. odchylka (%)
Pšeničné zrnko (15,7 %)	45	12,3	15,18
Glycin (15,9 %)*		10,2	25,37
Pšeničné zrnko (15,7 %)	60	12,3	15,31
Glycin (15,9 %)*		10,8	22,57
Pšeničné zrnko (15,7 %)	90	12,2	15,57
Glycin (15,9 %)*		11,5	19,57

*Při navážce 0,15 g

Proto bylo přistoupeno k častěji využívané dvoukrokové analýze mikrovlnného rozkladu (Prusisz et al., 2007), jejíž nevýhoda je ovšem v prodloužení časového intervalu vzhledem k nutnosti vychlazení vzorků po prvním kroku a nutné další manipulaci v souvislosti s dodatečným dávkováním peroxidu. Následně bylo při tomto postupu otestováno několik variant zahrnující optimalizaci poměrů kyseliny sírové a peroxidu, otestování úrovně navážky vzorku, a nakonec i teploty rozkladu na celkovou výtěžnost hrubých bílkovin.

Význam správného vyladění poměru kyseliny sírové a peroxidu v obou krocích pro dosažení srovnatelné výtěžnosti hrubých bílkovin se standardní Kjeldahlovou analýzou potvrzují

jednoznačně výsledky uvedené v tabulce č. 2. Je zde patrné, že ve srovnání s jednokrokovou analýzou se zařazením peroxidu v 1. i 2. kroku hodnoty obsahu hrubých bílkovin více blížily referenčním hodnotám u obou pšenic. Naopak v případě glycinu byl efekt tohoto postupu ve srovnání s jednokrokovou analýzou významně horší.

Zásadní změnu na výtěžnost měřeného obsahu hrubých bílkovin a srovnatelnost mikrovlnného postupu se standardní mineralizací však přinesla až poslední kombinace se samostatným zařazením kyseliny sírové v prvním kroku a doplněním peroxidu do reakční směsi až v druhém kroku, a to ve vzájemně identickém poměru 6 ml (Tab. 2). Je zde patrné, že dosažené výsledky obsahu hrubých bílkovin, jak u obou pšeničných vzorků, tak glycinu vykazovaly relativně nízkou odlišnost od referenčních hodnot s relativní směrodatnou odchylkou 0,7 – 3,9 %.

Tab. 2: Vliv poměru reakčních činidel H_2SO_4 a H_2O_2 na obsah hrubých bílkovin ($\text{TKN}_{\text{mikro}}$) při dvoukrokovém mikrovlnném rozkladu, teplotě 200 °C a navážce pšeničného vzorku 0,2 g

Referenční materiál (TKN %)	Krok 1 (15 min)	Krok 2 (30 min)	$\text{TKN}_{\text{mikro}}$ (%)	Relativní sm. odchylka (%)
	$\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O}_2$ (ml)	$\text{H}_2\text{SO}_4 : \text{H}_2\text{O}_2$ (ml)		
Pšeničné zrn (11,8)	6:4	0:2	10,0	11,01
Pšeničné zrn (11,4)	6:4	0:2	9,7	10,42
Glycin (15,9 %)*	6:4	0:2	3,3	56,09
Pšeničné zrn (15,7)	8:4	0:4	13,8	8,47
Glycin (15,9 %)*	8:4	0:4	5,2	47,43
Pšeničné zrn (11,8)	6:0	0:6	11,2	3,87
Pšeničné zrn (11,4)	6:0	0:6	11,6	1,17
Glycin (15,9 %)*	6:0	0:6	16,1	0,67

*Při navážce 0,15 g

Efekt sledování vlivu úrovně navážky souvisel s využitím standardní destilační a titrační koncovky u klasické Kjeldahlovy analýzy. V případě standardní Kjeldahlovy analýzy je obvyklá navážka vzorku 1 g a při snižování navážky tak logicky poroste chyba měření, a tedy vyšší nepřesnost stanovení (Sáez-Plaza et al., 2013b). V případě využití našeho mikrovlnného systému jsme ovšem byly limitováni menším objemem reakčních teflonových zkumavek, v důsledku čehož musely být upraveny i max. sumární objemy reakčních směsí do cca 16 ml a navážky vzorku do max. 500 mg. Přestože hmotnost nejmenší navážky byla v případě mikrovlnného rozkladu až 5 krát nižší, dosažené výsledky byly jak v rámci jednotlivých navážek, tak ve vztahu k referenčním hodnotám obsahu TKN dosti srovnatelné. Navážka 300 mg se vzhledem k nejmenší oscilaci relativních směrodatných odchylek (0,1–1,3 %) jevila v tomto systému jako nejpřesnější.

Tab. 3: Vliv navážky pšenice na obsah hrubých bílkovin ($\text{TKN}_{\text{mikro}}$) při dvoukrokovém mikrovlnném rozkladu (1. krok - 15 min; 6 ml H_2SO_4 . 2. krok 30 min; 6 ml H_2O_2 ; teplota rozkladu 200 °C)

Referenční materiál (TKN %)	Navážka (mg)	$\text{TKN}_{\text{mikro}}$ (%)	Relativní sm. odchylka (%)
Pšeničné zrn (15,7)	200	15,8	0,45
Pšeničné zrn (11,8)		12,0	1,41
Pšeničné zrn (11,4)		11,6	1,09
Pšeničné zrn (15,7)	300	15,7	0,09
Pšeničné zrn (11,8)		11,6	1,25
Pšeničné zrn (11,4)		11,3	0,85
Pšeničné zrn (15,7)	500	15,5	0,95
Pšeničné zrn (11,8)		11,4	2,18
Pšeničné zrn (11,4)		11,3	0,50

V průběhu výše uvedených analýz byly u některých vzorků zaznamenány nižší teploty (cca o 10 °C) od udržované cílové teploty reakce 200 °C. V těchto případech byl pak i zřejmý mírný pokles výtěžnosti TKN oproti referenční hodnotě.

Přestože všechny testované teploty při mikrovlnném rozkladu byly významně nižší než deklarovaná úroveň teplot, při níž má optimálně Kjeldahlova analýza v otevřeném systému probíhat (Sáez-Plaza et al., 2013a), jako kritická teplota se zde jevila hodnota 190 °C. Při této zvolené teplotě byly zjištěné nižší výtěžnosti v obsahu TKN_{mikro} u všech 3 testovaných referenčních materiálů s relativní diferencí až o 7 % (Tab. 4). Naopak, udržování teploty na 230 °C přineslo nejpřesvědčivější výsledky s nejnižší relativní odchylkou od referenčních hodnot. Hodnoty obsahu TKN_{mikro} u jedné z referenčních pšenic (11,4 %) a glycinu převyšovaly cca o 0,2 % hodnoty zjištěné standardním procesem. Důvodem by mohla být výhoda uzavřeného systému při využití mikrovlnného rozkladu. Ten nedovolí vznik možných ztrát v obsahu TKN např. vlivem rychlého odparu kyseliny sírové při zapojení intenzivního odtahu, což bývá často zmiňováno v provozních manuálech při standardním otevřeném systému mineralizace (Anonym, 2015).

Tab. 4: Vliv dosažené teploty vzorku při mineralizaci na jeho obsah hrubých bílkovin (TKN_{mikro}) při dvoukrokovém mikrovlnném rozkladu (1. krok - 15 min; 6 ml H₂SO₄. 2. krok 30 min; 6 ml H₂O₂; navážka 400 mg)

Referenční materiál (TKN %)	Teplota (°C)	TKN _{mikro} (%)	Relativní sm. odchylka (%)
Pšeničné zrn (15,7)	190	14,0	7,59
Pšeničné zrn (11,4)		10,5	5,59
Glycin (15,9 %)*		15,3	2,83
Pšeničné zrn (15,7)	220	14,9	3,49
Pšeničné zrn (11,4)		11,0	2,56
Glycin (15,9 %)*		15,4	2,21
Pšeničné zrn (15,7)	230	15,6	0,44
Pšeničné zrn (11,4)		11,6	0,94
Glycin (15,9 %)*		16,1	1,00

*Při navážce 0,15 g

Z výše uvedených výsledků využití mikrovlnného rozkladu pro stanovení obsahu TKN dle Kjeldahla u obilnin tak lze zdůraznit 3 klíčové body. Prvním z nich je nutnost aplikace dvoukrokové analýzy. Ta sice o něco snižuje často zmiňovanou efektivitu mikrovlnného rozkladu (Lo et al., 2007), protože je nutné čekat na zchladnutí směsi (cca 10 - 20 min.) po prvním kroku. I tento postup trvající cca 1 hodinu je však o minimálně půl hodiny kratší než standardní mineralizace na topném hnízdě. Současně uzavřený systém mikrovlnného rozkladu nezatěžuje digestoř i vlastní laboratoř, resp. její pracovníky úniky odpařující se kys. sírové. Není také potřeba využívat neutralizační systém odtahu s náplní cca 18 litry roztoku NaOH (tzv. exhauster), přes nějž jsou často plyny při Kjeldahlově mineralizaci neutralizovány. Nespornou výhodou mikrovlnného procesu je i možnost individuálního monitoringu průběhu teplot v jednotlivých vzorcích. U sofistikovanějších mikrovlnných zařízení lze pak sledovat např. i tlakové parametry.

Druhým a třetím klíčovým bodem je dodržení postupu přidání správné reakční složky pro každý z kroků včetně jejich vyrovnaného poměru a provádět rozklad při teplotách převyšujících 200 °C.

Závěr

Naše pilotní metodická analýza potvrdila možnost efektivního využití mikrovlnného rozkladu pro stanovení obsahu celkového obsahu dusíku v zrně pšenice dle Kjeldahla s logickým přesahem i pro analýzu zrna u ostatních příbuzných obilnin. Při zvolení výše navrženého

optimálního dvoukrokového postupu byly dosažené hodnoty zcela srovnatelné s výsledky ze standardní Kjeldahlovy analýzy s otevřeným procesem mineralizace. Uzavřený systém rozkladu pak nezatěžuje pracovníky i příslušenství laboratoře agresivními vyvíjenými plyny či odpady z jejich neutralizace, je časově efektivnější a umožňuje preciznější monitoring průběhu reakce.

Použitá literatura

- Kjeldahl, J. G. C. T. (1883). Neue methode zur bestimmung des stickstoffs in organischen körpern. Zeitschrift für analytische Chemie, 22(1), 366-382.
- Möller, J. (2009). Kjeldahl-still going strong. focus, 33(1), 14-16. In Focus 2009, 33 (1), 14–16.
- Lo, K. V., Wong, W. T., Liao, P. H. (2007). Rapid determination of total Kjeldahl nitrogen using microwave digestion. Journal of Environmental Science and Health, 40(3), 609-615.
- Sáez-Plaza, P., Michałowski, T., Navas, M. J., Asuero, A. G., Wybraniec, S. (2013a). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part I. Early history, chemistry of the procedure, and titrimetric finish. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 43(4), 178-223.
- Sáez-Plaza, P., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michałowski, T., Asuero, A. G. (2013b). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part II. Sample preparation, working scale, instrumental finish, and quality control. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 43(4), 224-272.
- Prusisz, B., Jaśkiewicz, L., Pohl, P. (2006). High-performance ion chromatography assessment of inorganic and organic nitrogen fractions in potatoes. Microchimica Acta, 156(3-4), 219-223.
- Korn, Maria das Graças A., dos Santos, W. P., Korn, M., Ferreira, S. L. (2005). Optimisation of focused-microwave assisted digestion procedure for Kjeldahl nitrogen determination in bean samples by factorial design and Doehlert design. Talanta, 65(3), 710-715.
- Domini, C., Vidal, L., Cravotto, G., Canals, A. (2009). A simultaneous, direct microwave/ultrasound-assisted digestion procedure for the determination of total Kjeldahl nitrogen. Ultrasonics sonochemistry, 16(4), 564-569.
- Anonym (2015). Application Guide Kjeldahl Determination. Opsi AB, Box 244, SE-244 02 Furulund Sweden. pp. 6, www.obrnutafaza.com.

Dedikace

Text byl zpracován za podpory Institucionálního projektu poskytovaným MZe č. RO0418.

Kontaktní adresa:

Ing Václav Dvořáček Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Drnovská 507, Praha 6 – Ruzyně, 161 06,
e-mail: dvoracek@vurv.cz

NUTRIČNÍ HODNOTA LUSKOVINO-OBILNÍCH SMĚSEK Z MALOPARCELOVÝCH POKUSŮ ZA ROKY 2015 AŽ 2019

Nutritional value of legume-cereal mixtures from small-plot experiments in the years 2015 to 2019

Huňady I.¹, Pozdíšek J.²

¹Agritec Plant Research s.r.o.

²Agrovýzkum Rapotín s.r.o

Abstrakt

V letech 2015-2019 byly zakládány pokusy s hrachem, bobem a obilovinami (pšenice, ječmen, oves) v monokulturách a ve směskách. Cílem práce bylo ověření možnosti využití luskovino-obilných směsek (LOS) pro krmení s cílem podpořit soběstačnost v zásobení krmiv. Ve dvou růstových fázích BBCH hrachu byly v pokusech odebrány vzorky zelené hmoty (ZH). U získaných vzorků LOS a monokultur bylo chemickými analýzami, *in vitro* testy, stanoveno živinové složení a nutriční hodnota. Byly zjištěny zvýšené koncentrace dusíkatých látek (NL) ve směskách s hrachem ve srovnání s koncentracemi NL jako vážené průměry odpovídajících monokultur, což lze hodnotit jako projev interakčního efektu LOS. Sledovány byly výnosy suché hmoty (SH) monokultur luskovin, obilovin a jejich směsek vysetých v poměrech luskovina:obilovina 70:30 a 50:50. Nejvyššího výnosu SH v průměru za sledované roky dosáhla směska hrachu bezlistého typu s pšenicí v poměru 50:50.

Klíčová slova: hrách, bob, obiloviny, objemná krmiva

Abstract

In 2015-2019, experiments were established with peas, faba bean and cereals (wheat, barley, oat) in monocultures and in mixtures. The aim of the study was to verify the possibility of using legume-cereal mixtures (LOS) for feeding in order to promote self-sufficiency in feed supply. In the two growth phases (BBCH) of pea, green matter (ZH) samples were taken from the experiments. The nutrient composition and nutritional value of the obtained LOS and monoculture samples were determined by chemical analyzes, *in vitro* tests. Increased concentrations of nitrogenous substances (NL) in mixtures with peas were found in comparison with NL concentrations as weighted averages of the corresponding monocultures, which can be evaluated as a manifestation of the interaction effect of LOS. The yields of dry matter (SH) of legume and cereals monocultures and their mixtures sown in the ratios of legumes:cereals 70:30 and 50:50 were monitored. The highest yield of SH on average was achieved by a mixture of leafless peas with wheat in a ratio of 50:50.

Key words: pea, faba bean, cereals, green fodder

Úvod

O uplatnění luskovino-obilných směsek (LOS) se zvyšuje zájem, zejména pro jejich pozitivní vliv na půdu, schopnost zvyšovat a stabilizovat výnosy následných plodin (Awal et al., 2006), omezovat růst plevelů (Jensen et al., 2006), podporovat výskyt užitečných hmyzích predátorů (Hauggaard-Nielsen a Andersen, 2000) a zlepšovat zdravotní stav porostů. U LOS pro výrobu krmiv je oceňován vysoký obsah a kvalita dusíkatých látek v sušině. Příznivý je i obsah a kvalitativní skladba vlákniny a vzájemný poměr dusíkatých látek a netto energie. Pro výživu přežvýkavců je významný nejen potřebný obsah dusíkatých látek, ale také jejich kvalitativní parametry. Můžeme získat krmivo, jehož vhodným zařazením do krmných dávek skotu je možné dosahovat lepších parametrů užitkovosti, reprodukce a příznivé odezvy ve zdraví

chovaných zvířat. Využitím moderních odrůd, správnou volbou komponentů a jejich vhodným zastoupením ve výsevu a zejména při sklizni, můžeme cíleně usměrnit poměr mezi dusíkatými látkami a energií v sušině sklizené hmoty pro krmné účely.

Objektivní zjištění koncentrací živin, jejich poměrů a dietetické hodnoty krmiv, která jsou vyráběna z LOS, je nutné pro případné využití jejich potenciálu. Nutriční hodnota dusíkatých látek v krmivech pro přežvýkavce je charakterizována nejen stravitelností, ale i rychlostí degradace v batoru. V systému PDI jsou používány hodnoty deg (degradabilita dusíkatých látek) a dsi (střevní stravitelnost v batoru nedegradovaných dusíkatých látek), jejichž získání je vázáno na využití náročných metodik, případně tabelární hodnoty. K posouzení kvality dusíkatých látek krmiv je možné použít chemické a *in vitro* metody. V příspěvku jsou zpracována data, která byla získána analyzováním a *in vitro* testováním vzorků, které byly odebrány z maloparcelových pokusů za roky 2015 až 2019 na stanovišti v Rapotíně.

Materiál a metody

Ke stanovení výnosů, provedení chemických analýz a testů *in vitro*, byly z jednotlivých variant ve dvou růstových fázích (Meier, 2001) hrachu BBCH 75 (asi 50 % lusků dosáhlo druhově, resp. odrůdově specifické velikosti) a BBCH 79 (zelená zralost) odebrány vzorky zelené hmoty. Časový interval mezi oběma odběry se pohyboval v rozmezí 7-10 dní. Vzorky byly zváženy a sušeny 24 h. při 60 °C a stabilizovány po dobu 24 h. Takto získaný materiál byl znovu zvážen a byly vypočteny výnosy sušiny. U vzorků LOS a monokultur bylo chemickými analýzami stanoveno živinové složení. Vzorky z pokusů byly analyzovány v laboratoři Agrovýzkumu Rapotín, akreditované ČIA, o.p.s. pod č. 1340 dle ČSN EN ISO/IEC 17025, s použitím příslušných postupů. Použité vybavení potřebné k realizaci uvažovaných analýz: sušárny a mlýnky pro přípravu vzorků k analýzám, KJELTEC 2200 Analyzer Unit (stanovení dusíku, resp. N-látek), FIBERTEC SYSTÉM 2023 FIBERCAP FOSS (stanovení hrubé vlákniny, NDF, ADF - gravimetricky), TECATOR, SOXTEC SYSTEM HT6 TECATOR (stanovení tuku – gravimetricky po extrakci).

Dále byly prováděny *in vitro* testy na stanovení degradability dusíkatých látek a s využitím certifikované metodiky (Pozdíšek a Trojanová, 2019) byly získány koeficienty stravitelnosti organické hmoty u směsných vzorků sledovaných variant v určených dobách sklizní. S využitím získaných dat byly provedeny predikce výživné hodnoty v systému NEL-PDI. Použité druhy a odrůdy: **HI**-hrách polní listový – odrůda PROTECTA, **Hb**-hrách polní bezlistý - odrůda ESO, **B**-bob obecný - odrůda MERLIN, **P**-pšenice jarní - odrůda ALICIA, **J**-ječmen jarní - odrůda AZIT, **O**-oves setý - odrůda KOROK, **HP**-hrách peluška - odrůda TURNIA (pouze v roce 2019 místo bobu).

Výsledky a diskuse

V tabulce 1 jsou uvedeny průměrné měsíční teploty a srážky ve sledovaných letech 2015 až 2019 v blízkosti pokusných lokalit za měsíce leden až srpen, aby bylo možné porovnání vegetačních podmínek do sklizní.

Tab. 1: Porovnání teplot vzduchu, teplotního normálu, srážek a srážkového normálu leden - srpen, 2015 - 2019

Měsíc	Prům. denní teplota (°C)					Normál (°C)	Srážky (mm)					Normál (mm)
	2015	2016	2017	2018	2019		2015	2016	2017	2018	2019	
Leden	0,4	-2,4	-6,9	1,6	-2,6	-3,6	63,2	29,1	23,0	63,8	52,0	55,5
Únor	0,5	3,7	0,1	-3,4	1,5	-2,0	7,0	83,0	25,1	16,1	22,0	39,0
Březen	4,0	3,8	5,6	0,8	5,7	2,1	63,2	17,9	30,8	33,9	63,8	44,1
Duben	8,2	7,8	7,2	12,7	9,7	7,5	27,7	33,5	58,6	24,0	17,5	36,3
Květen	12,6	13,8	14,1	17,0	11,5	12,5	33,7	95,4	43,2	39,0	82,5	68,7
Červen	16,2	17,7	17,6	18,8	17,1	15,6	25,9	32,6	82,5	39,8	103,1	82,6
Červenec	20,0	18,8	18,1	14,0	18,4	16,7	40,5	85,9	127,3	41,8	37,0	77,5
Srpen	21,4	17,1	18,7	20,7	19,2	16,2	72,3	31,0	36,0	17,7	95,2	74,4

Od dubna až do konce vegetačního období hrachu v roce 2015 byl zaznamenán výrazný a postupně se prohlubující srážkový deficit. Teploty se pohybovaly nad dlouhodobým normálem. Za období leden-červenec 2015 dosáhl deficit 35 %, za období duben-červenec dokonce 52 %. Průměrná teplota v období duben-červenec dosahovala 1,3 °C nad normálem, v červenci 3,3 °C nad normálem (normál 16,7 °C).

V roce 2016 od počátku roku do sklizně bylo ve srovnání s teplotním a srážkovým normálem teplotně nadnormální (+2 °C) a srážkově podnormální. Zima byla velmi mírná se srážkovým deficitem, který nebyl ani v pozdějších měsících vyrovnán. Deštivé počasí v období sklizně (červenec) však způsobilo zhoršení zdravotního stavu rostlin a zpoždění sklizně.

V roce 2017 byl průběh počasí z hlediska zdravotního stavu a výnosů příznivější než v letech předcházejících (2015, 2016). Ve srovnání s teplotním a srážkovým normálem bylo období od počátku roku do sklizně většinou (kromě ledna a dubna) teplotně nadnormální (cca +2 °C) a s výjimkou dubna, června a července srážkově podnormální. Červencové srážky, zejména po 10. 07. činily 163 % normálu. Období leden-březen se vyznačovalo srážkovým deficitem.

V roce 2018 byl duben srážkově podprůměrný, srážky činily 30 mm, což je oproti srážkovému normálu (36 mm) o 6 mm méně. Srážkově podprůměrný byl také květen (42 mm), což je 61 % srážkového normálu, červen (32 mm), což je 39 % srážkového normálu a podobně i v měsíci červenci, kdy úhrn srážek byl 43 mm, což je 55 % srážkového normálu. V srpnu činily srážky 16 mm (22 % normálu). Za období květen až srpen činil srážkový deficit 54 % srážkového normálu. Oproti teplotnímu normálu byly vyšší i průměrné teploty - a to až o 3-5 °C.

Rok 2019 byl z hlediska průběhu teplot srovnatelný s normálem. Nad normálem byly teploty v březnu a dubnu. V dubnu byly srážky pod normálem, ale to bylo kompenzováno nadnormálními srážkami v měsíci březnu.

V tabulkách 2 a 3 jsou přehledně sestaveny zjištěné průměrné hodnoty obsahu živin a parametry výživné hodnoty za sledované roky a hodnoty variability (V%). Obsah dusíkatých látek v sušině vzorků se významně lišil podle druhů a také ve vztahu k deficitním srážkám, kdy byl nejnižší v letech 2016 a 2018. Hodnoty byly nízké u obilovin i luskovin. Dalším momentem ovlivňujícím koncentraci dusíkatých látek byl změněný poměr komponent ve směskách v době sklizně, který mimo klimatických podmínek má souvislost se zdravotním stavem porostů a jeho složek ve směskách.

Pomocí poměru PDIN / PDIE je možno sledovat pozitivní vliv luskovin na výhodné zařazení do krmných dávek:

$$\mathbf{PDIN} = \mathbf{PDIA} + \mathbf{PDIMN}$$

PDIMN - množství mikrobiálního proteinu, které může být syntetizováno v bachoru z degradovaného dusíku krmiva, jestliže energie a další živiny nejsou limitující.

$$\mathbf{PDIE} = \mathbf{PDIA} + \mathbf{PDIME}$$

PDIME - množství mikrobiálního proteinu, které může být syntetizováno z využitelné energie v bachoru, jestliže degradovaný dusík a další živiny nejsou limitující.

Dalším parametrem, z hlediska uplatnění LOS ve výživě přežvýkavců, je obsah **PDIA** (PDIA - protein krmiva nedegradovaný v bachoru, ale skutečně stravitelný v tenkém střevě). Podobná tendence jako u koncentrací dusíkatých látek byla zaznamenána i u koncentrací PDIA, zde však jde o zvýšení kvalitativně lépe charakterizovaných dusíkatých látek, jejichž zastoupení v krmných dávkách zvířat s vyšší užitkovostí je naléhavé, jedná se o tzv. „bypass protein“. Pro hodnocení nutriční hodnoty krmiv a jejich zařazení do systému výživy skotu je možné v systému PDI uvažovat o zjištěných koncentracích PDIN a PDIE v sušině. U hodnocených vzorků je možno v tabulce 3 sledovat zvyšování koncentrací PDIN ve směskách se zvyšujícím se podílem leguminóz. Pro zařazení krmiv do krmných dávek je možno pozitivně hodnotit zvýšení poměru PDIN : PDIE nad hodnotu 1,0. Taková krmiva mají charakter bílkovinného krmiva a s jako takovými je možno počítat při sestavování krmných dávek. U analogických siláží LOS bylo možno příznivě hodnotit, i v bilančních pokusech na skotu zjištěné, hodnoty retence dusíku, jak uvádí Pozdíšek et al. (2019).

Na základě získaných dat je možné konstatovat, že obsah a zejména kvalita dusíkatých látek LOS má potenciál příznivě ovlivnit hospodářsky významné parametry produkce, zdraví a reprodukce zvířat, jak potvrzují i praktické krmné pokusy (Hanuš. O. et al., 2018).

Tab. 2: Výsledky organických rozborů ze sklizní vzorků 2015-2019

Složení vzorku		ADF	NDF	N-lát.	Tuk	Hr.vlák.	BNLV	Popel	SH/ha	lusk. v SH
		g/kg suš.							t	%
P 100	AVG	364,5	632,4	96,4	18,7	311,9	495,4	77,6	6,71	0
2015-2019	V%	5,9	3,7	22,5	7,5	7	7,6	17,9	17,01	
J 100	AVG	303,7	589,4	105,5	20,4	260,1	525,3	88,8	6,02	0
2015-2019	V%	3,1	3,8	19,5	11,9	6,3	6,3	30,1	25,42	
O100	AVG	343,2	599,4	100,5	24,8	299,1	487,9	87,7	8,48	0
2015-2019	V%	3,7	2,8	15	10,5	4,5	5,4	13,8	20,85	
HI 100	AVG	336,1	474,9	165,2	17,1	300,7	427,4	89,6	7,79	100
2015-2019	V%	6,8	7	8,7	14,9	5	7,5	28,9	14,04	
Hb 100	AVG	385,7	530,2	152	18,4	330,9	419,4	79,3	8,19	100
2015-2019	V%	7,7	6,3	7,9	10,1	5,9	7,6	15,4	8,77	
B 100	AVG	309,3	433	193,7	17,1	260,5	425,4	103,3	5,47	100
2015-2019	V%	11,2	11,1	7,1	26,6	10,6	8,8	5,8	35,39	
HI 70+P30	AVG	349,2	531,9	141,7	19,4	304,7	446,4	85,9	7,92	67,7
2015-2019	V%	4,7	5,8	15	13,4	3,2	8	21,9	8,9	9,7
HI 50+P50	AVG	355,7	567,4	131,4	18,7	310,7	460	79,2	7,48	47,9
2015-2019	V%	4,1	3,9	18,8	5,1	4	4,1	20,6	41,25	12,2
HI 70+J30	AVG	322,1	529	142,5	18,9	288,6	462,6	87,4	7,92	65,2
2015-2019	V%	5	7	14,9	10,5	4	7,7	25,2	20,17	8
HI 50+J50	AVG	320,7	548,8	132,8	19,4	278,1	481	88,8	7,96	43,9
2015-2019	V%	3,1	7,5	20,5	9,3	5,9	8,9	24,7	20,87	20,1
Hb 70+P30	AVG	371,4	556,3	134,2	17,8	320,3	447,4	80,3	8,41	61,1
2015-2019	V%	5,6	6,2	16,1	10,8	1,7	6,7	13,7	11,64	12,8
Hb 50+P50	AVG	363,4	564,1	125,2	17,9	310,3	464,4	82,3	8,73	48,2
2015-2019	V%	2,5	6	18,9	11,5	5,2	6,4	18	11,23	17,5
Hb 70+J30	AVG	346,4	539,2	137,7	18,5	295	470,3	78,5	7,47	60,8
2015-2019	V%	6,5	7,5	18,2	12,8	4,6	8,3	15,6	15,17	16,1
Hb 50+J50	AVG	323,5	560,8	127,7	18,7	280,2	492,7	79,4	7,98	41,6
2015-2019	V%	2,9	7,5	21,8	10,1	2,9	7,8	16,1	22,45	33,5
B70+O30	AVG	340,4	552,8	136,5	23,3	286,4	462,4	91,5	7,94	56,1
2015-2018	V%	3,4	2,9	20,4	19,5	3,8	6,2	12,2	19,12	15,9
B 50+O50	AVG	340,5	570,6	115,1	22,7	291,9	458	112,3	8,66	38,1
2015-2018	V%	5	1,4	19,1	13,3	3,5	8,3	19,9	26,62	26,6
AVG...průměr										
V%...variance (%)										

Pokud jsou za nepříznivých okolností rostliny hrachu napadeny například komplexem krčkových a kořenových chorob, virózami či padlím hrachovým (*Erysiphe pisi*), může dojít k výraznému snížení zastoupení hrachu ve směskách a tím i ke snížení obsahu dusíkatých látek v sušině vzorků.

Tab 3: Výsledky nutriční hodnoty ze sklizní vzorků 2015-2019

Složení vzorku		SOH %	NEL MJ	PDIA g/kg suš.	PDIN g/kg suš.	PDIE g/kg suš.	PDIN:PDIE	SH t/ha	lusk. v SH %
P 100	AVG	56,2	4,47	25,2	57,9	67,9	0,85	6,71	0
2015-2019	V%	3,8	3,77	13,7	21,8	3,7	18,33	17,01	
J 100	AVG	62,5	5,01	26,7	64	73,9	0,86	6,02	0
2015-2019	V%	4,2	2,43	11,9	19,2	4,7	14,82	25,42	
O100	AVG	58,6	4,64	26,2	60,7	69,7	0,87	8,48	0
2015-2019	V%	2,1	1,86	8,8	14,6	3,4	11,26	20,85	
HI 100	AVG	59,6	4,71	32,7	98,7	76,8	1,28	7,79	100
2015-2019	V%	3,2	4,09	2,2	8,3	2,4	7,67	14,04	
Hb 100	AVG	55,7	4,39	32,3	90,5	73,4	1,23	8,19	100
2015-2019	V%	3,6	5,32	2,2	7,7	3,4	6,69	8,77	
B 100	AVG	64,8	5,12	32,8	115,8	80,5	1,44	5,47	100
2015-2019	V%	4,2	4,94	1	6,5	2,7	9,11	35,39	
HI 70+P30	AVG	58,6	4,64	31,1	85,9	74,5	1,15	7,92	67,7
2015-2019	V%	3,5	2,93	4,3	16,7	3	14,01	8,9	9,7
HI 50+P50	AVG	57,3	4,55	30	78,7	72,8	1,07	7,48	47,9
2015-2019	V%	3,1	3,6	7,1	18,6	4,7	13,54	41,25	12,2
HI 70+J30	AVG	60,3	4,79	31,2	85,6	76	1,12	7,92	65,2
2015-2019	V%	2,3	1,54	5,7	14,6	2,6	12,06	20,17	8
HI 50+J50	AVG	61,1	4,87	29,9	80	75,5	1,05	7,96	43,9
2015-2019	V%	4	2,46	7,3	20	3,1	16,92	20,87	20,1
Hb 70+P30	AVG	56,3	4,46	30,4	80,2	72,4	1,1	8,41	61,1
2015-2019	V%	1,2	0,95	6,3	15,7	2,9	12,93	11,64	12,8
Hb 50+P50	AVG	57,5	4,56	29,3	75	72,4	1,03	8,73	48,2
2015-2019	V%	3,2	2,36	8	18,5	3,3	15,31	11,23	17,5
Hb 70+J30	AVG	59	4,72	30,7	82,6	75	1,1	7,47	60,8
2015-2019	V%	0,9	1,47	7,7	17,6	2,7	15,05	15,17	16,1
Hb 50+J50	AVG	60,3	4,85	29,5	77,6	75	1,03	7,98	41,6
2015-2019	V%	2,5	2,02	10	22,6	4,5	18,59	22,45	33,5
B70+O30	AVG	60,5	4,79	30,4	82,1	74,9	1,09	7,94	56,1
2015-2018	V%	3,2	2,57	7,9	20	4,5	15,78	19,12	15,9
B 50+O50	AVG	60,6	4,69	27,9	69,5	71,7	0,96	8,66	38,1
2015-2018	V%	2,8	1,74	9,8	18,7	3,7	15,4	26,62	26,6
AVG...průměr									
V%...variance (%)									

Závěr

Luskovino-obilní směsky a z nich vyráběná konzervovaná krmiva (siláže) mají pro výživu přežvýkavců potenciál zvyšování krmné hodnoty základních krmných dávek. Koncentrace živin a jejich poměry se mění podle termínu sklizně ve vztahu k vývojové fázi komponent a jejich zastoupení v porostech. Významně může být výživná hodnota ovlivněna ročníkem, to je zejména množstvím a rozložením srážek v průběhu vegetačního období. Dále je důležitým předpokladem zajištění výroby krmiv dobrý zdravotní stav porostů. Podmínkou nižšího

napadení jak obilovin, tak luskovin houbovými chorobami v LOS je vyrovnaný porost s pravidelným zastoupením obou plodin na ploše. V letech, kdy byly rostliny hrachu v důsledku napadení virózami a kořenovými a krčkovými chorobami slabé a velmi nízkého vzrůstu nebo dokonce odumíraly, nebyly u obilovin zjištěny významné rozdíly v napadení listovými chorobami v LOS ve srovnání s monokulturou.

Získané poznatky potvrzují možné přínosy využívání luskovin, které mohou také nahradit část nákladnějších bílkovinných krmiv pro výživu skotu. V bilančních pokusech byla zjištěna retence dusíku, jako významného ukazatele pro využití ve výživě zvířat. Byly zjištěny vyšší koncentrace PDIA ve směskách, a to jednak podílem luskovin, ale i projevem interakce komponent. 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.

Dedikace

Výsledky byly vytvořeny v rámci řešení projektu MZe NAZV č. QJ1510312 – „Využití luskovinoobilních směsek ke zvýšení schopnosti udržitelné produkce objemných krmiv se zvýšeným obsahem energie a živin za účelem zlepšení kvality živočišných produktů v konvenčním i ekologickém zemědělství“.

Použitá literatura

- Awal M. A., Kothi H., Ikeda T. (2006): Radiation interception and use by maize/peanut intercropp canopy. *Agricultural and Forest Meteorology*. 139, s. 73–84.
- Hauggaard-Nielsen, H., Andersen M. K. (2000): Intercropping grain legumes and cereals in organic cropping systems. *Grain Legumes*, 30, s. 18–19.
- Hanuš O., Hegedúšová Z., Huňady I., Pozdíšek J., Kučera J., Klimešová M., Ponížil A., Roubal P., Žák P., Kopecký J., Jedelská R. (2018): Vliv krmení dojníc luskovino-obilnou směskou na jejich mléko a reprodukci. Influence of dairy cow feeding with legume-cereal mixture on their milk and reproduction. (In Czech) *Mlékařské listy - zpravodaj*, 29, 168, 3, ISSN 1212-950X, 2018, 1-5.
- Jensen E. S., Ambus P., Bellostas N., Boisen S., Brisson N., Corre-Hellou G., Crozat Y., Dahlmann C., Dibet A., Von Fragstein P., Gooding M., Hauggaard-Nielsen H., Kasyanova E., Launay M., Monti M., Pristeri A. (2006): Intercropping of cereals and grain legumes for increased production, weed control, improved product quality and prevention of N-losses in European organic farming systems (INTERCROP). Project QLK5-CT-2002-02352, Final report 257–258.
- Pozdíšek J., Trojanová H. (2018): Stanovení stravitelnosti NDV in vitro s využitím zařízení ANCOM DAISY^{II} Incubator. Metodika.
- Pozdíšek J., Huňady I., Dufek A., Látal O. (2019): Assessment of the Parameters of Nutritional Value and Nitrogen Retention in Silage of the Selected Type of Legume-Cereal Intercrop Harvested in Two Phenological Stages. In: Jambor et al. (Eds) *Proceedings from the 18th International Symposium „Forage Conservation“*, 13th-16th August 2019, Brno, pp. 178-181

Kontaktní adresa:

Ing. Igor Huňady
Zemědělský výzkum spol. s r. o.,
Zahradní 400/1, 66441 Troubsko,
Email: hunady@vupt.cz

FUNKČNÍ VLASTNOSTI SLIZOTVORNÉ FRAKCE Z LNĚNÉHO SEMENE

Functional properties of the mucilage fraction from flaxseed

Jarošová M.¹, Bárta J.¹, Bártová V.¹, Bjelková M.²

¹ Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

² Agritec Plant Research, s.r.o. Šumperk

Abstrakt

Tato práce byla zaměřena na studium funkčních vlastností rozpustných slizotvorných látek semen lnu olejného ve vodném prostředí. Jako výchozí materiál bylo vybráno šest odrůd lnu. Zahrnuty byly odrůdy klasické i s pozměněným obsahem α -linolenové kyseliny. Byla zjišťována emulgační aktivita a stabilita, která byla nejvyšší u odrůdy Raciol. Značné rozdíly mezi odrůdami byly prokázány u parametru rozpustnost, kterou měla nejvyšší odrůda Agriol (80 %).

Klíčová slova: lněný sliz, emulgační aktivita, bobtnavost, rozpustnost

Abstract

This study was focused on the topic of functional properties of soluble flaxseed mucilage in the water environment. Six cultivars of flax were selected as the source material. There were involved the common cultivars as well as the cultivars with changed content of α -Linolenic acid. It was studied the emulsifying activity and stability which was highest by the cultivar Raciol. The significant differences between cultivars were found within the solubility parameter, which has the highest variety Agriol (80 %).

Keywords: flaxseed mucilage, emulsifying activity, swelling power, solubility

Úvod

Lněný sliz je směs přírodních polysacharidů a proteinu získatelná z lněného semene (Liu et al., 2016). Látky tvořící sliz se nachází v druhé vrstvě osemení. Slizotvorné látky jsou snadno extrahovatelné ve vodě. Při hydrataci buňky obsahující sliz bobtnají a slizotvorné látky se dostávají na povrch semene. Výťažnost slizu se pohybuje v rozmezí od 3,5 do 10,2 % z celkové hmotnosti semene, přičemž jeho obsah závisí na fenotypu rostliny. Výťažnost slizotvorných látek ovlivňují velkou měrou podmínky extrakce. Lněný sliz je heterogenní směsí složenou z 50–80 % sacharidy, 4–20 % bílkovinami a 2 % popelovinami. Lněný sliz se skládá ze dvou polysacharidových složek, neutrální a kyselá. Neutrální frakce je zastoupena: L- arabinózou, D- xylózou, D- galaktózou, kyselá frakce obsahuje L-ramnózu, L-fukózu, L-galaktózu a kyselinu D-galakturonovou. (Roulard et al., 2016; Bouaziz et al., 2016, Kaewmanee et al., 2014).

Lněný sliz je hydrokoloid s dobrou schopností zadržovat vodu, díky značné bobtnavosti a vysoké viskozitě, ve vodném prostředí. Funkčně se lněný sliz podobá arabské gumě. Má vynikající reologické vlastnosti, včetně zahušťování, emulgace a gelování (Chen et al., 2005). Použití lněného slizu s jinými hydrokoloidy má řadu výhod, například zvýšení tepelné stability nebo pevnosti gelu (Kaur et al., 2018). Ve srovnání s nerozpustnými vlákninami se rozpustná vláknina snáze přidává do nápojů a mléčných výrobků (Chen et al., 2005). Behikt a kolektiv (2018) uvádí, že roztok lněného slizu může být lyofilizován, nebo sušen rozprašováním, za vzniku prášku. Lněný sliz může být prospěšný při léčbě cukrovky a kardiovaskulárních chorob, prevenci rakoviny tlustého střeva a snižování obezity, přičemž nejvíce se diskutuje jeho potenciální využití jako potravinářské gumy (Singer et al., 2011).

Cílem této práce bylo zjistit, zdali se prokáže odrůdová variabilita lnu v rámci vybraných funkčních parametrů lněného slizu, zejména emulgační aktivity a stability, rozpustnosti, bobtnavosti.

Materiál a metody

Pro extrakci lněného slizu ve vodném prostředí při 50 °C byly vybrány tři odrůdy žlutosemenné (Amon, Agriol, Raciol) a tři 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 získány od společnosti „AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o.“. Extrakce lněného slizu probíhala v deionizované vodě za teploty 50 °C. K 100 g vzorku semene bylo přidáno 1000 ml deionizované vody a po dobu tří hodin byla směs inkubována ve vodní lázni za teploty 50 °C, poté byl roztok oddělen od semen. Získaný sliz byl vysušen za teploty 50 °C v sušárně a následně rozemlet na jemný prášek na planetovém mlýnu Pulverisette 6 (FRITSCH, Německo).

Gravimetricky byla stanovena **rozpustnost** a **bobtnavost** podle metodiky Kaewmanee a kol. (2014). Do 5 ml centrifugační zkumavky bylo naváženo 25 mg slizu, který byl dispergován ve 2 ml deionizované vody po dobu 10 minut třepáním. Poté byly vzorky centrifugovány (4500 rpm, 20 °C, 15 min). Supernatant byl převeden do centrifugačních mikrozkuvek a lyofilizován. Pelet i lyofilizovaný supernatant byly zváženy. Rozpustnost a bobtnavost byly spočítány podle následujících vzorců:

$$\text{Rozpustnost (\%)} = (M_s / M_0) * 100$$

M_0 = hmotnost vzorku v g

$$\text{Bobtnavost (g vody/g sušiny slizu)} = M_{sw} / (M_0 - M_s)$$

M_s = hmotnost lyofilizovaného supernatantu v g

M_{sw} = hmotnost peletu v g

Index emulgační aktivity (EAI) a **emulgační stability (ESI)** byly stanoveny podle metodiky Djurardi (2020) a Kaewmanee (2014). Do 50 ml centrifugačních tub bylo odváženo 45 mg slizu, který byl smíchán s 15 ml deionizované vody. Poté bylo přidáno 5 ml řepkového oleje. Tato směs byla míchána po dobu 2 minut při 18 000 otáček/min homogenizátorem ULTRA TURRAX IKA T 18 basic (USA). Mezitím byly připraveny kyvety s roztokem 0,1 % SDS o objemu 2 000 μ l. Následně bylo do připravených kyvet s roztokem SDS odebráno 10 μ l suspenze která se vytvořila pod vrstvou emulze. Po promíchání byla měřena absorbance při vlnové délce 500 nm na spektrofotometru BioMate 5(Thermo Scientific Electron, UK). Index emulgační schopnosti (EAI) byl stanoven ve třech opakováních. Pro stanovení emulgační stability bylo odebráno opět 10 μ l ze dna centrifugační zkumavky a postup měření byl stejný jako u EAI. Pro výpočet byly použity vzorce:

$$T = (2,303 * A * DF) / I$$

T = turbidita

T_0 = po emulgaci v čase 0

T_{30} = po 30 minutách

A = absorbance vzorku při 500 nm

DF = ředící faktor (200)

I = délka kyvety (0,01 m)

Φ = objemová frakce oleje v dispergované fázi

$$\text{EAI (m}^2\text{/g sušeného slizu)} = (2 * T_0) / (\Phi * C)$$

$$\text{ESI (\%)} = T_{30} / T_0$$

Před statistickým šetřením dat pomocí analýzy variance (ANOVA) byla ověřena homogenita rozptylů jednotlivých statistických souborů využitím kombinovaného Cochran C, Hartley, Bartlettova testu. Byla také ověřena normalita rozdělení dat pomocí Shapiro-Wilkova testu. Celkové statistické hodnocení vybraných parametrů bylo provedeno prostřednictvím

jednocestné analýzy variance a srovnání jednotlivých odrůd pomocí post-hoc Tukeyho HSD testu pro stejně velké výběry. V případě rozdílně velkých skupin byla použita varianta Tukeyho testu pro různě velké výběry. Pro srovnání parametru EAI mezi odrůdami byl z důvodu narušení předpokladů normálního rozdělení dat a homogenity rozptylů použit neparametrický, jednocestný Kruskal–Wallisův test a jeho varianta pro mnohonásobné porovnání mezi jednotlivými odrůdami. Pro statistické hodnocení výsledků parametru ESI, uváděné v relativních hodnotách, byla výsledná data upravena pomocí arcsinové transformace. Statistické hodnocení bylo prováděno na hladině významnosti $\alpha = 0.05$ pomocí programu Statistica v10.0.

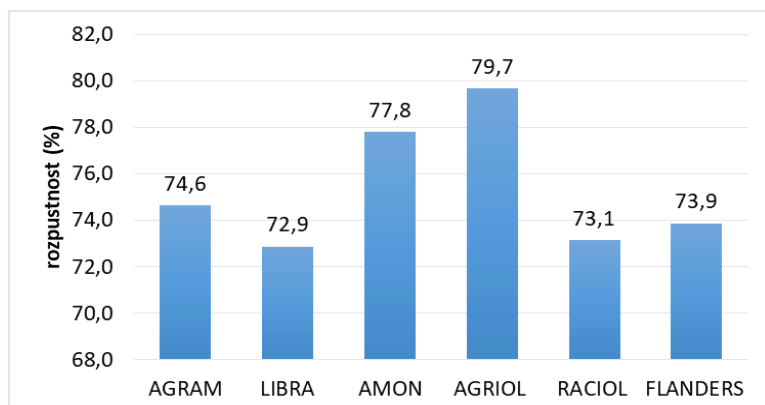
Výsledky a diskuze

Hodnoty stanovených funkčních parametrů jako je rozpustnost a bobtnavost jsou na grafech 1 a 2.

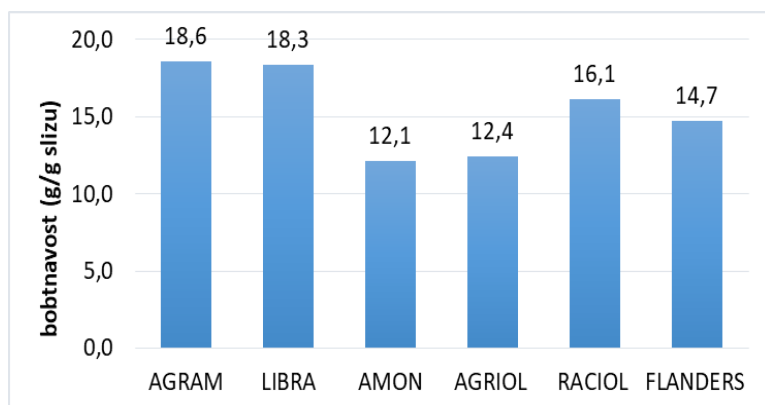
Statisticky významné rozdíly byly potvrzeny v parametrech rozpustnosti ($F_{5,10} = 4,580$, $p = 0,020$), nejvyšší rozdíl byl zjištěn mezi odrůdami Agriol a Libra ($p = 0,028$).

V případě bobtnavosti nebyly zjištěny průkazné rozdíly ($F_{5,10} = 3,291$, $p = 0,051$), přestože byl výsledek blízký významné odlišnosti. Ve srovnání s výsledky italských odrůd (Kaewmanee et al., 2014) byla rozpustnost v případě našich odrůd téměř dvakrát vyšší (graf 2). Vyšší rozpustnost, lze přisoudit postupu získání lněného slizu, kdy nebyl použit ethanol. Nejvyšší rozpustnost byla zjištěna u odrůdy Agriol (80 %), naopak nejvyšší schopnost bobtnat po přidání vody měla odrůda Agram (18,6 g/g suš. slizu).

Graf 1: Rozpustnost lněného slizu

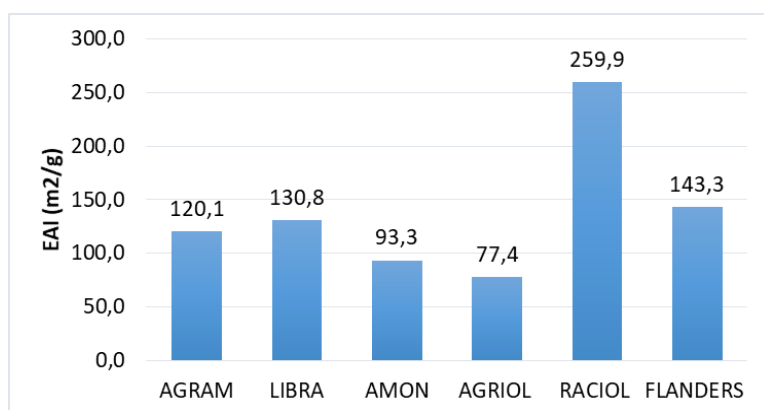


Graf 2: Bobtnavost lněného slizu

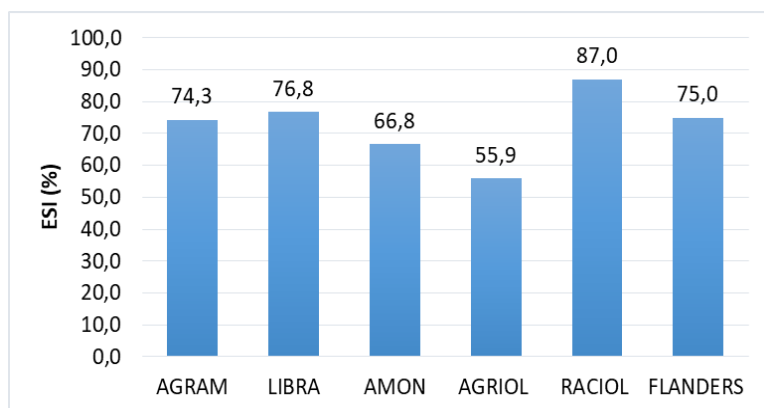


Výsledky EAI a ESI jsou uvedeny na grafech 3 a 4. Index emulgační aktivity se při použití neparametrického testu statisticky významně mezi odrůdami nelišil ($H_5 = 9,889$, $p = 0,078$), přestože hodnota p byla blízká $\alpha = 0,05$. Nebyly zaznamenány významné rozdíly mezi jednotlivými odrůdami, přičemž nejvyšší rozdíl byl zjištěn mezi odrůdami Raciol a Agriol ($p = 0,070$). Byly zjištěny rozdíly v indexu stability emulze (ESI) mezi odrůdami ($F_{5,12} = 3,760$, $p = 0,028$), konkrétně byl zaznamenán významný rozdíl mezi odrůdami Raciol a Agriol ($p = 0,014$). Kaewmanee a kol. (2014) ve své práci uvádí u italských odrůd lnu olejného hodnoty EAI od 300 do 900 m^2/g slizu, naopak Wang a kol. (2010) uvádí nižší hodnoty pohybující se kolem 50-70 m^2/g slizu bez ohledu na odrůdu lnu. V naší studii prokázala nejvyšší EAI odrůda Raciol (260 m^2/g slizu) a nejnižší naopak odrůda Agriol. Emulgační stabilita stanovená po 30 minutách byla vyšší než 70 %, kromě odrůdy Amon a Agriol.

Graf 3: Index emulgační aktivity – EAI u lněného slizu



Graf 4: Index emulgační stability – ESI u lněného slizu



Závěr

Provedené analýzy prokázaly u všech odrůd schopnost lněného slizu tvořit stabilizované emulze oleje ve vodě. Nejvyšší emulgační aktivitu měla odrůda Raciol, u které byla po 30 minutách stanovena i nejvyšší stabilita emulze. Všechny odrůdy prokázaly rozpustnost ve vodě nad 70 %. U parametru bobtnavost nebyl průkazný rozdíl mezi odrůdami. Lněný sliz je pro své funkční vlastnosti velmi zajímavý a perspektivní materiál v oblasti potravinářského průmyslu,

zejména díky schopnostem vázat vodu a tvořit gel. Významné jsou také jeho zdravotní přínosy jako vlákniny.

Použitá literatura

- Behikt, A. E.-D. A., A. Shavandi, T. Jodjaja, et al. Flaxseed: Composition, detoxification, utilization, and opportunities. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2018, 13, 129-152.
- Chen, H.-H., S.-Y. Xu a Z. Wang. Gelation properties of flaxseed gum. *Journal of Food Engineering*. 2006, 77(2), 295-303.
- Djuardi, A. U. P., N. D. Yuliana, M. Ogawa, T. Akazawa a M. T. Suhartono. Emulsifying properties and antioxidant activity of soy protein isolate conjugated with tea polyphenol extracts. *Journal of Food Science and Technology*. 2020, 57(10), 3591-3600.
- F.A.W. Singer, F.S. Taha, S.S. Mohammad, A. Gibriel, M. El-Nawaway, Preparation of mucilage/protein products from flaxseed, *Am. J. Food Technol.* 6 (2011) 260–278.
- Kaewmanee, T., L. Bagnasco, S. Benjakul, S. Lanteri, C. F. Morelli, G. Speranza a M. E. Cosulich. Characterisation of mucilages extracted from seven Italian cultivars of flax. *Food Chemistry*. 2014, 148, 60-69.
- Kaur, M., R. Kaur a S. Punia. Characterization of mucilages extracted from different flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) cultivars: A heteropolysaccharide with desirable functional and rheological properties. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2018, 117, 919-927.
- Liu, Jun, Youn Young Shim, Aaron G. Poth a Martin J.T. Reaney. Conlinin in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) gum and its contribution to emulsification properties. *Food Hydrocolloids* [online]. 2016, 52, 963-971.
- Wang Y., D. Li, L.-J. Wang, S.-J. Li, B. Adhikari. Effects of drying methods on the functional properties of flaxseed gum powders, *Carbohydrate Polymers*, 81 (2010), 128-133.
- Ziolkovska, A., 2011: Laws of flaxseed mucilage extraction. *Food Hydrocolloids*. (26), 197-204.

Dedikace

Príspevek vznikl v rámci řešení výzkumného projektu GAJU 033/2018/Z a MZe NAZV QK1910302.

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

POROVNÁNÍ ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITY U VÝLISKŮ VYBRANÝCH OLEJNIN

Comparison of antioxidant activity from selected oilseed cakes

Jarošová E., Bárta J., Bártová V.

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

Abstrakt

Výlisky, které zůstávají jako vedlejší či odpadní produkt po lisování semen olejnin, jsou nadále hodnotným zdrojem proteinů, vlákniny, barviv, antioxidantů, vitaminů, minerálů, a dalších zdravých prospěšných látek. Nachází uplatnění ve výživě zvířat a také jako vhodný doplněk pro lidskou výživu. V tomto příspěvku byla hodnocena a porovnána antioxidační aktivita a celkový obsah polyfenolů mouk z výlisků semen 10 vybraných olejnin: slunečnice, konopí, ostropestřec, saflor, mák, tykev, vinná réva a rakytník. Byly prokázány rozdíly v hodnotách antioxidační aktivity a obsahu celkových polyfenolů. Nejvyšší antioxidační aktivitu vykazovaly mouky z výlisků semen rakytníku, vinné révy, slunečnice, ostropestřce a řepky.

Klíčová slova: antioxidační aktivita, polyfenoly, výlisky, olejnin

Abstract

Oilseed cakes generated from edible oil processing as a by-product or waste product are rich in proteins, fiber, dyes, antioxidants, vitamins, minerals, and other health-promoting substances. Oilseed cakes have been in use for feed preparation and also suitable for human food supplementation. In this study the antioxidant activity and the total polyphenol content of oilseed cake flours from 10 selected oilseeds were evaluated and compared: rape, sunflower, flax, hemp, milk thistle, safflower, poppy, pumpkin, vine and sea buckthorn. Differences in the values of antioxidant activity and content of total polyphenols were proved. The highest antioxidant activity was measured in sea buckthorn, vine, sunflower, milk thistle and canola.

Keywords: antioxidant activity, antioxidant capacity, polyphenols, oilseed cake, oilseeds

Úvod

Výlisky neboli pokrutiny jsou zbytky získané po lisování oleje ze semen olejnin. Extrakce oleje ze semen nebo plodů se provádí dvěma způsoby: lisováním nebo organickými rozpouštědly. Vedlejší produkt získaný lisováním semen nese označení výlisek (oilcake). Tyto výlisky jsou hodnotným zdrojem bílkovin, antioxidantů, vlákniny, barviv, vitaminů a minerálů.

Olejnata semena jsou na druhém místě za obilnými plodinami v dodávce rostlinných bílkovin pro výživu lidí a zvířat (Sunil et al., 2015). Produkce živočišných bílkovin, zejména masa, syrovátky a albuminu, není udržitelná z důvodu vyšší spotřeby uhlíku a vody. Využití vedlejších zemědělských produktů, jako jsou výlisky po lisování olejnatých semen, proto představuje vhodnou možnost zaplnění mezery v poptávce po bílkovinách (Teh, Bekhit, 2015). Na globálním trhu dominuje těchto osm výlisků/mouk získaných po lisování semen olejnin, mezi nimiž se sója umístila na prvním místě (54 % z celkové produkce), následovala řepka (10 %), bavlna (10 %), podzemnice, slunečnice, kokos, světlice a len (Gupta et al., 2019). Mouky z výlisků jsou vedle výživy zvířat vhodnou složkou jako přídavek do pekárenských výrobků splňujících zvyšující se poptávku konzumentů po obsahu biologicky aktivních látek v potravinách (Pojic et al., 2015; Dini et al., 2012).

Antioxidační aktivita představuje schopnost určité látky omezit účinek volných radikálů a tím chránit biologicky významné sloučeniny před oxidační degradací (Ertaş, Aslan, 2020). Látky

s antioxidační aktivitou jsou účinné při inhibici volných radikálů a tím přispívají ke zpomalení vzniku degenerativních onemocnění (Zuk et al., 2011).

Cílem této práce bylo stanovit a porovnat antioxidační aktivitu a obsah polyfenolů v mouce z výlisků deseti olejnin získaných po lisování za studena.

Materiál a metody

Výchozím materiálem byly výlisky ze semen olejnin po lisování oleje za studena, které byly dodány po rozemletí společností AGRO-EL Znojmo spol. s r.o. Porovnávány byly mouky ze semen těchto plodin: řepka (*Brassica napus* L.), slunečnice (*Helianthus annuus* L.), len (*Linum usitatissimum* L.), konopí (*Cannabis sativa* L.), ostropestřec (*Silybum marianum* L.), saflor (*Carthamus tinctorius* L.), mák (*Papaver somniferum* L.), tykev (*Cucurbita pepo*, var. *oleifera*), vinná réva (*Vitis vinifera* L.) a rakytník (*Hippophae rhamnoides* L.) **Sušina** byla stanovena gravimetricky. Obsah **zbytkového tuku v sušině** mouk byl stanoven pomocí extraktoru Ankom XT10 (Ankom, USA) za použití petroletheru jako rozpouštědla.

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; 25 mg rozpuštěno v 1 l methanolu). Úbytek absorbance byl měřen při vlnové délce 515 nm po 30 minutách po smíchání 25 μ l vzorku a 975 μ l radikálu DPPH (blank methanol). DPPH radikál reaguje pouze s donory atomu vodíku a tím se redukuje. Jde o nepřímou metodu, jejíž výsledky jsou antioxidačnímu potenciálu úměrné. Výsledky metody DPPH byly vyjádřeny jako ekvivalenty askorbové kyseliny v mg (EAK – ekvivalent askorbové kyseliny) v přepočtu na 1 g sušiny vzorku. Další použitou metodou byla **metoda FRAP** (ferric reducing antioxidant potential). Metoda FRAP měří redukční vlastnosti látek, které jsou mírou antioxidační aktivity (HUANG D., 2005). Při této metodě redukují antioxidanty ze vzorku komplex Fe^{3+} -2,4,6-tri (2-pyridyl-1,3,5-triazin) (Fe^{3+} -TPTZ). Nárůst absorbance při 593 nm odpovídající množství komplexu Fe^{2+} -TPTZ je mírou antioxidační aktivity vzorku.

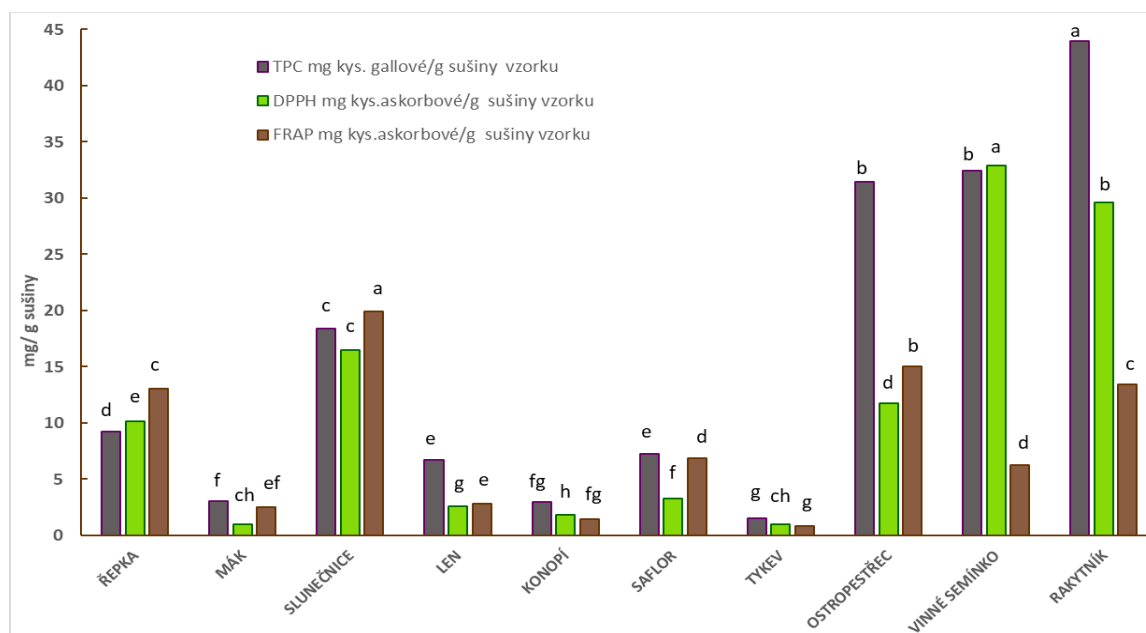
Uvedené analýzy byly prováděny vždy ve třech opakování. Získaná data byla statisticky vyhodnocena pomocí programu STATISTICA CZ, verze 12 (StatSoft, Inc.). Pro zjištění a porovnání rozdílů mezi skupinami dat a jejich závislostmi byla použita metoda jednocestné analýzy variance (ANOVA) využívající testu homogenity rozptylů pomocí Fisherova LSD testu.

Výsledky a diskuze

Výsledné průměrné hodnoty antioxidační aktivity a celkového obsahu polyfenolů zobrazuje Graf 1. Nejvyšší hodnoty celkového obsahu polyfenolů (TPC) vykazovala mouka z výlisků rakytníku, vinného semene a ostropestřce. Tabulka 1 shrnuje průměrné hodnoty antioxidační aktivity (metodou DPPH a FRAP) a parametry celkový obsah polyfenolů, obsah sušiny a obsah zbytkového tuku v sušině. Zjištěný celkový obsah polyfenolů (TPC) a antioxidační aktivita se u jednotlivých výliskových mouk lišila a byly potvrzeny průkazné rozdíly.

Výsledky antioxidační aktivity se lišily dle použité metody. Antioxidační aktivita stanovená za použití radikálu DPPH byla nejvyšší u vinného semínka, rakytníku, slunečnice a ostropestřce. U stanovení metodou FRAP byly nejvyšší hodnoty u slunečnice, ostropestřce, rakytníku a řepky. Metoda FRAP má své limity – probíhá při fyziologicky nízké hodnotě pH (3,6) a nejsou zachyceny s komplexem pomalu reagující polyfenolické látky a thioly. Metoda tak odráží pouze schopnost látek redukovat ion Fe^{3+} a s celkovou antioxidační aktivitou vzorku nemusí pozitivně korelovat (Paulová et al., 2004), což se u některých vzorků ukazuje.

Graf 1: Antioxidační aktivita a celkový obsah polyfenolů



Pozn.: Neshodná písmena u hodnot ve sloupcích indikují statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti $p < 0,05$

U parametru obsahu sušiny jednotlivých mouk z výlisků semen olejnin nebyly průkazné rozdíly. Nejvíce zbytkového tuku bylo stanoveno ve výliscích lnu (17,74 %). Vyšší podíl zbytkového tuku byl stanoven ve výliscích slunečnice, tykve, řepky (přes 13 %) a máku (11,38 %). Nejméně zbytkového tuku obsahovaly výlisky ostropestřce (5 %), vinného semínka (5,31 %) a rakytníku (6,39 %). Oleje a potraviny obsahující nenasycené lipidy podléhají během skladování velice snadno nežádoucí oxidaci (Raikos et al., 2015). Čím vyšší je tedy hodnota zbytkového tuku ve výliscích, tím je vyšší také náchylnost k oxidačnímu žluknutí (dle skladby mastných kyselin ve zbytkovém tuku) a potřeba zvolit vhodné skladovací podmínky (chlad, temno, vakuové balení), tak aby byly nežádoucí oxidační procesy zpomaleny.

Tab. 1: Antioxidační aktivita, sušina, celkový obsah polyfenolů a obsah tuku v sušině mouky z výlisků semen olejnin

	TPC mg EGK/g sušiny vzorku	DPPH mg EAK/g sušiny vzorku	FRAP mg EAK/g sušiny vzorku	Sušina [%]	Tuk v sušině [%]
RAKYTNÍK	44,00 a	29,58 b	13,40 c	94,17	6,39
VINNÉ SEMÍNKO	32,43 b	32,87 a	6,25 d	93,95	5,31
OSTROPESTŘEC	31,41 b	11,72 d	15,02 b	96,91	4,99
SLUNEČNICE	18,43 c	16,45 c	19,89 a	93,40	13,36
ŘEPKA	9,21 d	10,15 e	13,04 c	91,92	13,62
SAFLOR	7,22 e	3,26 f	6,88 d	94,02	8,51
LEN	6,73 e	2,58 g	2,85 e	91,08	17,74
MÁK	3,08 f	0,96 ch	2,51 ef	92,16	11,38
KONOPÍ	2,94 fg	1,79 h	1,47 fg	92,44	9,31
TYKEV	1,53 g	0,97 ch	0,80 g	95,01	13,01

Pozn.: TPC – celkový obsah polyfenolů, DPPH – antiox. aktivita použití radikálu DPPH, FRAP – antiox. aktivita redukcí komplexu Fe^{3+} -2,4,6-tri(2-pyridyl-1,3,5-triazin), 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 porovnány antioxidační aktivity a obsah polyfenolů u mouky z výlisků semen 10 olejnin. Nejvyšší antioxidační aktivita a celkový obsah polyfenolů byl zaznamenán u mouky z vinného semene a rakytníku a dále u ostropestřce, slunečnice a řepky. Nejnižší hodnoty vykazovaly mouky ze semen tykve, máku a konopí. Mouky ze semen olejnin nacházejí uplatnění v bezlepkových produktech a také ve „funkčních“ pekárenských a masných výrobcích. Přídavkem těchto mouk z výlisků semen lze docílit vyšší antioxidační aktivity (kapacity) potravinářských výrobků. Takto obohacené potraviny poskytují zdroj funkčních složek (antioxidantů, barviv, proteinů, vlákniny, vitamínů a minerálů) a splňují zvyšující se požadavky konzumentů na alternativní funkční potraviny, které mají pozitivní přínos pro lidské zdraví.

Použitá literatura

- Dini, Cecilia & García, María & Viña, Sonia. (2012). Non-traditional flours: Frontiers between ancestral heritage and innovation. *Food & function*. 3. 606-20. 10.1039/c2fo30036b.
- Ertaş, Nilgün & Aslan, Mine. (2020). Antioxidant and physicochemical properties of cookies containing raw and roasted hemp flour. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 19. 177-184. 10.17306/J.AFS.0795.
- Gupta, Antima & Sharma, Rajan & Sharma, Savita & Singh, Baljit. (2019). Oilseed as potential functional food Ingredient.
- Huang D., Ou B., Prior R.L (2005): The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J. Agric. Food Chem.*, 53: 1841-1856.
- 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.
- Oreopoulou, V. and Tzia, C. (2007): "Utilization of plant by-products for the recovery of proteins, dietary fibers, antioxidants, and colorants". In V. Oreopoulou, & W. Russ (Eds.), *Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry*. Vol. 3. New York, EU, pp. 209-232.
- Paulová H., Bochořáková H, Táborská E. (2004): Metody stanovení antioxidační aktivity přírodních látek in vitro. *Chemické listy* 98: 174 –179.
- Pojić, Milica & Dapčević Hadnađev, Tamara & Hadnađev, Miroslav & Rakita, Slađana & Brlek, Tea. (2015). Bread Supplementation with Hemp Seed Cake: A By-Product of Hemp Oil Processing. *Journal of Food Quality*. 38. 10.1111/jfq.12159.
- Raikos, Vassilios & Konstantinidi, Vasiliki & Duthie, Garry. (2015). Processing and storage effects on the oxidative stability of hemp (*Cannabis sativa* L.) oil-in-water emulsions. *International Journal of Food Science & Technology*. 50. 10.1111/ijfs.12896.
- Sunil, L. & Appaiah, Prakruthi & P K, Prasanth Kumar & A.G., Gopala Krishna. (2015). Preparation of food supplements from oilseed cakes. *Journal of Food Science and Technology*. 52. 10.1007/s13197-014-1386-7.
- 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.
- Teh, Sue-Siang & Bekhit, Alaa. (2015). Utilization of Oilseed Cakes for Human Nutrition and Health Benefits. 10.1007/978-3-319-13847-3_10. of waste in the food industry. Vol. 3. New York, EU, 2007, pp. 209-232.
- Zuk, Magdalena & Dymińska, Lucyna & Kulma, Anna & Boba, Aleksandra & Prescha, Anna & Szopa, Jan & Maczka, M. & Zajac, Adam & Szołtysek, K & Hanuza, J. (2011). IR and Raman studies of oil and seedcake extracts from natural and genetically modified flax seeds. *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*. 78. 1080-9. 10.1016/j.saa.2010.12.054.

Dedikace

Příspěvek vznikl v rámci řešení výzkumného projektu MZe NAZV QK1910302.

Kontaktní adresa:

Ing. Eva Jarošová, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta – katedra Genetiky a speciální produkce rostlinné, Na Sádkách 1780, 370 05 České Budějovice, email: jarose02@zf.jcu.cz

REFORMULACE RECEPTURY PŠENIČNÝCH MÁSLOVÝCH SUŠENEK A VLIV NA KVALITU BĚHEM SKLADOVÁNÍ

Reformulation of the recipe of wheat butter biscuits and effect on quality during storage

Jurkaninová L., Švec I., Lamačová L.

Ústav sacharidů a cereálií, VŠCHT Praha

Abstrakt

Pšeničné sušenky byly vyrobeny z kompozitních mouk, obsahujících 75 % celozrnné hladké mouky ječné a čirokové. Základní recepturní tuk (máslo) bylo nahrazeno stolním řepkovým olejem, resp. 100 % ztuženým tukem. Sledované vlastnosti sušenek byly vlhkost, aktivita vody, měrný objem, senzorický a texturní profil sušenek (např. tuhost a ohebnost první den po upečení, tak dále v týdenním intervalu (15., 22., 29. a 36. den od upečení). Vlhkost a aktivita všech variant sušenek nepřekročila legislativou dané limity 10 % a $a_w = 0,60$, kdy by hrozil rozvoj mikroorganismů. Měrný objem sušenek nebyl změnou receptury významně ovlivněn (148 proti 136-166 ml/100 g); neprůkazně vyšší hodnoty byly zaznamenány pro varianty se ztuženým tukem. Nejlepší senzorický profil si zachovaly pšeničné sušenky s máslem, naopak nejhorší byla kvalita obou ječných variant a čirokových s olejem.

Klíčová slova: pšeničné sušenky; ječná mouka; měrný objem; senzorické hodnocení; textura sušenek

Abstract

Wheat biscuits were prepared from flour mix, containing 75% whole-grain fine barley and sorghum flours. The basic recipe fat (butter) was replaced by rapeseed oil, resp. 100% shortening. Observed biscuits properties were moisture content, water activity, specific volume, sensory and texture profile (e.g. stiffness or elasticity) in 1st day after baking, and in 15th, 22nd, 29th and 36th day after baking. The moisture content and water activity in all biscuit types did not exceed the limits of 10% and $a_w = 0.60$, which would threaten the development of microorganisms. Biscuits specific volume was not affected by the recipe change (148 vs. 136-166 ml / 100 g); for variants containing the shortening, insignificantly higher values were determined. Containing butter, the best sensory profile was evaluated for wheat biscuits control, while the worst ones were accessed for both barley variants and sorghum one with oil.

Key words: wheat biscuits; barley flour; specific volume; sensory evaluation; biscuit texture

Úvod

Obiloviny, také často označovány jako cereálie, se řadí do trav čeledi Lipnicovité (*Poaceae*; Sluková *et al.*, 2017). Vzhledem k jejich pozici na každodenním jídelníčku jsou důležitým zdrojem živin. Obsahují sacharidy, proteiny, lipidy, minerální látky a vitaminy (Labuschagne, 2018) a tvoří dominantní zdroj energie (Thondre *et al.*, 2011).

Celozrnné produkty, bohaté na vlákninu, jsou doporučovanou součástí zdravé výživy. Konzumace celozrnných potravin snižuje riziko chronických onemocnění. Pozitivně ovlivňuje diabetes druhého typu, některé typy kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny, hladinu LDL i celkového cholesterolu, hladinu homocysteinu a glykémie v krvi i snižuje riziko nadváhy. Celozrnné výrobky obsahují také vyšší množství antioxidantů a fytochemikálií (Lappi *et al.*, 2013).

Vláknina má také vliv na kvalitu výrobku. Při tvorbě a hnětení těsta zvyšuje vaznost vody a díky rovnoměrnějšímu rozdělení vody v těstě zlepšuje jeho zpracovatelnost a reologické vlastnosti. Snižuje objem výrobku, prodlužuje trvanlivost výrobku, může zvyšovat měkkost a vláčnost střídy (Gabrovská *et al.*, 2015).

Pokud je při výrobě sušenek nahrazována pšeničná mouka ječnou moukou celozrnnou, dochází ke snížení obsahu lepkových proteinů a následkem toho ke zmenšení objemu sušenky. Vyšší množství β -glukanů zvyšuje vaznost vody. Použitím ječné mouky se obvykle znásobí počet prasklin na povrchu sušenky, naroste pevnost výrobku, změní se i barva a navýší se antioxidační aktivita až o 22 % v porovnání se sušenkami z pšeničné mouky. Dochází také k mírným změnám chuti a vůně výrobků. Proto se zdá ječmen jako vhodná surovina pro výrobu sušenek se zvýšenou nutriční hodnotou, vzhledem připomínající ruční výrobu (Sharma a Gujral, 2014). Tuk je jednou z nejdůležitějších složek sušenek (Manley, 2011). Zjemňuje povrch těsta, podílí se na ochraně sušenek před vlhnutím a na také tvorbě křupavosti (Hui a Lin, 2006). Kromě toho, že je bohatým energetickým zdrojem (Kadlec, 2002), tuk také zlepšuje kvalitu a chuť produktu, utváří rozplývavou texturu a drobivost (Manley, 2011). V receptuře sušenek se uplatňuje máslo, ale lze využít ostatní živočišné tuky nebo rostlinné oleje. Záměna 100% tuku jiným většinou vyžaduje zohlednění zastoupení vody a rozdílné konzistence tuku a následně úpravu receptury (Manley, 2011).

Důležitým parametrem hodnocení kvality sušenek je textura, která závisí na mnoha faktorech, například způsobu výroby a struktuře sušenky. Pro sušenky je dále důležitá tvrdost a křehkost neboli lámavost (Garcia-Armenta *et al.*, 2017).

Materiál a metody

Pro výrobu sušenek a laboratorní analýzy byla použity hladké mouky pšeničná pečivářská, ječná celozrnná a čiroková celozrnná. Ve všech případech se jednalo o mouky dodané společností Mlýn Perner Svijany, spol. s r.o., vyrobené v roce 2019. Sušenky byly vyrobeny v laboratorním měřítku za použití farinografu (Brabender, SRN), který rovněž posloužil ke stanovení farinografické vaznosti trojice čistých mouk (ČSN EN ISO 5530-1). Pekařský pokus a následné jakostní hodnocení hmotnosti, objemu a měrného objemu bylo provedeno podle interní metodiky Cereální laboratoře VŠCHT Praha. Sušenky byly skladovány v uzavřených PE sáčkách po dobu pěti týdnů v přirozeně větrané temné místnosti (teplota 22 °C, RH 56 %) po dobu pěti týdnů. V pěti termínech (1., 15., 22., 29. a 36. den od upečení) byly odebrány tři sušenky pro stanovení texturních tuhostí na texturometru TA-XTplus (Stable Microsystems, UK), vlhkosti v horkovzdušné sušárně Venticell 55 (BMT Brno, ČR; ČSN 56 0116-3) a aktivity vody pomocí přístroje LabMaster Neo (Novasina, Švýcarsko). Desintegrace sušenek byla provedena po rozdrocení 2 kg závažím nahrubo za použití nožového mlýnku Concept KM 5001 (Elko Valenta, ČR).

Příprava sušenek

Pro přípravu sušenek byly použity všechny uvedené druhy mouk. Sušenky byly připraveny ze dvou směsí mouk (pšeničná pečivářská a ječná/čiroková celozrnná v poměru 25:75), kontrolní pak ze samotné pšeničné mouky (100% zastoupení v receptuře). Součástí receptury byly cukr krystal, chlorid sodný p.a., hydrogenuhličitan sodný p.a., tuk a destilovaná voda (24,4 % a 22,6 % na mouku v případě másla s 18 % vlhkostí). Tradičně používané máslo (tuk 82,0; sacharidy 0,7; bílkoviny 0,7; sůl 0,2 g na 100 g) bylo v rámci reformulace alternováno komerčně vyráběným rostlinným nízkotukovým řepkovým olejem a 100 % ztuženým tukem (shorteningem, v tomto případě palmovým tukem) při zohlednění podílu vody.

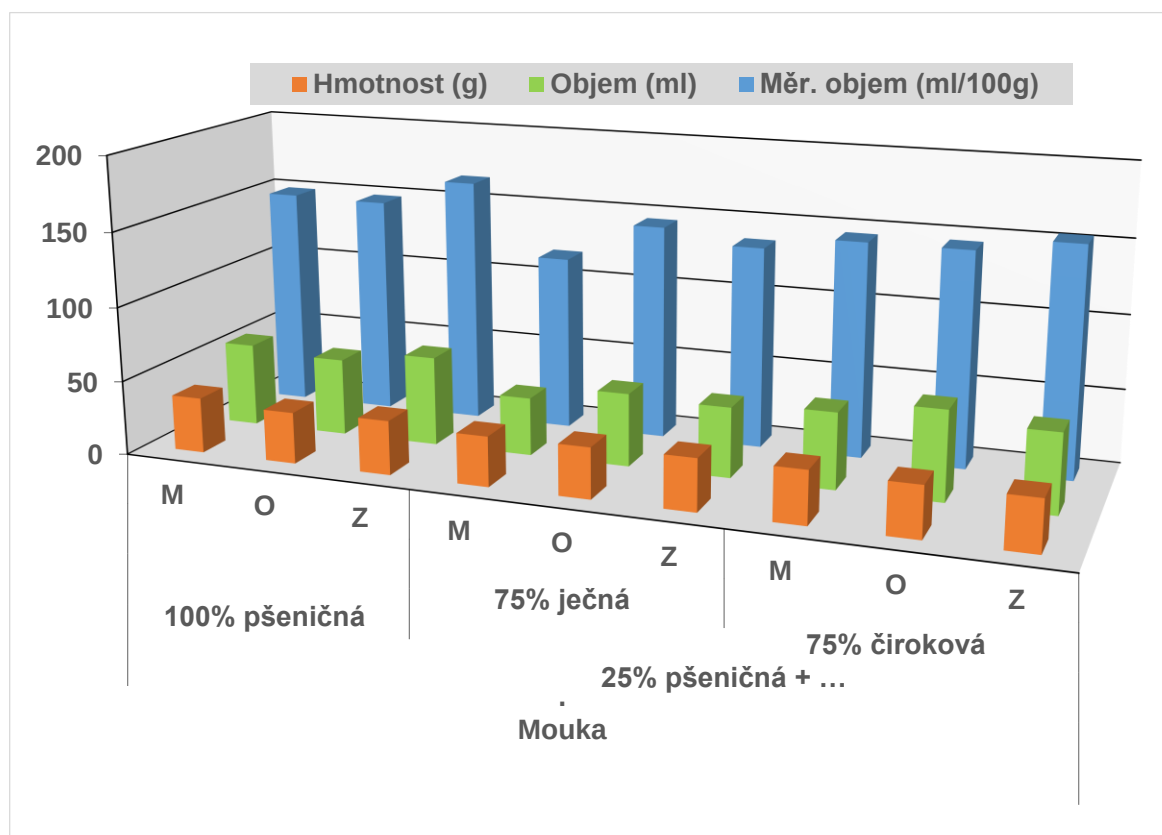
Výsledky a diskuze

Zpracovatelnost těst

Pšeničná mouka pečivářská byla ze 75 % nahrazena celozrnnou, v prvním kroku ječnou a ve druhém čirokovou. V obou variantách došlo stejně jako pro kontrolní pšeničné sušenky k záměně másla rostlinným olejem, resp. 100 % ztuženým tukem – při zpracování těsta nebyly zaznamenány významné rozdíly. Vlastní nahrazení pšeničné mouky celozrnnou ječnou se však při zpracování projevilo. Během hnětení nevzniklo kompaktní těsto, bylo spíše drobivé. V tomto směru se uplatnilo vyšší zastoupení vlákniny a β -glukanů, které zvýšily i vaznost vody na počátku farinografické zkoušky. Během rozvalování těsta docházelo ke vzniku prasklin a šupinek na povrchu lemy těsta. Samotné těsto bylo tužší v porovnání s ostatními připravenými těsty. Při pečení však nedocházelo ke změně tvaru vykrojených sušenek. Zlepšení zpracovatelnosti těsta by přinesl vyšší přídavek vody nebo tuku. Při nahrazení pšeničné mouky čirokovou vzniklo těsto jen mírně horší kvality než při použití pouze pšeničné pečivářské mouky. Těsto bylo drobivější, ale po odležení tvořilo jednolitou hmotu, která se dobře vyvalovala a nelepila se k podložce. Těsto nebylo pružné, tedy po rozvalení udrželo tvar. Během rozvalování docházelo jen ojediněle ke vzniku prasklin. Během upečení se tvar sušenek výrazně nezměnil.

Spotřebitelská kvalita sušenek

V případě všech variant sušenek se hmotnost dvojic pohybovala v relativně úzkém v rozmezí 33 - 37 g. Ze statistického hodnocení proto vyplynulo, že se v hmotnosti prokazatelně lišily pouze sušenky z pšeničné pečivářské mouky s máslem proti ječným kompozitním s olejem nebo máslem (data neuvedena). Objem sušenek byl recepturou více ovlivněn a pohyboval se



Graf 1: Spotřebitelská kvalita testovaných sušenek z pšeničné pečivářské a celozrnných mouk a vliv typu tuku (M – máslo O — řepkový olej, Z — ztužený tuk)

v rozmezí 39 – 60 ml (Graf 1). Je možné říci, že v souboru devíti variant se vzájemně statisticky průkazně odlišovaly pouze čtyři druhy sušenek: pšeničné s máslem / se ztuženým tukem a ječno-pšeničné s máslem / se ztuženým tukem. Z výsledků nevyplývá žádný významný vliv záměny tuků na hmotnost a objem sušenek. Je však podle předpokladu vidět, že se snížily hodnoty obou fyzikálních parametrů při náhradě pšeničné mouky moukami celozrnnými, byť statisticky neprůkazně.

Jelikož se kvalita laboratorně vyrobeného pečiva hodnotí pomocí měrného objemu, byla tato charakteristika vypočtena také pro sušenky. Nejnižší měrný objem dosáhly sušenky na bázi ječné mouky se ztuženým tukem, a naopak nejvyšší ze stejné směsi mouk s máslem. Statisticky významně se měrný objem sušenek liší pouze pro tři druhy (data neuvedena). Lze shrnout, že výpočtem měrného objemu proto došlo k dílčímu potlačení rozdílů, zjištěných pro hmotnost a objem.

Fyzikální znaky sušenek

Sušenky jako podskupina trvanlivého pečiva smějí dle vyhlášky č. 18/2020 Sb. obsahovat nejvýše 10 % hmotnostních vody. Z výsledků je patrné, že všechny druhy sušenek po testované dobu skladování 5 týdnů legislativní požadavky splňují. Ze zjištěných hodnot vyplývá, že při použití stejné receptury, avšak různých mouk, se mění vlhkost sušenek. To může být způsobené různou vlhkostí mouky i přítomností vlákniny (ječných β -glukanů). Vlhkost mouky nebyla zohledněna v receptuře (nebyl korigován recepturní přírůstek vody). Při porovnání sušenek ze stejných mouk, ale s použitím jiného tuku, je zastoupení vody v sušenkách rozdílné, přestože bylo množství přidané vody přepočítané na podíl vody v tuku. To může být způsobeno skladovacími podmínkami – obal, mírně kolísající vlhkost a teplota skladovacích prostor. Ze statistického hlediska však není změna významná mezi dny hodnocení ani druhy sušenek (Tab. 1). Mění se vlhkost v sušenkách během skladování nevykazovala žádný významný trend. Je zřejmé, že při porovnání 29. dne a 36. dne skladování klesá vlhkost vyjma tří druhů sušenek. Jsou to sušenky z ječno-pšeničné sušenky s rostlinným olejem, čirokovo-pšeničné s rostlinným olejem, resp. se 100 % ztuženým tukem.

Znalost aktivity vody ve výrobku je důležitá zejména z důvodu bezpečnosti při skladování. Hraniční hodnota mikrobiologické bezpečnosti je podle Velíška (1999) rovna a_w 0,60; tehdy již začínají vegetovat xerofilní plísňe a osmofilní kvasinky. Běžné plísňe, kvasinky a bakterie potřebují aktivitu vody poněkud vyšší. Z tohoto pohledu jsou všechny varianty sušenek bezpečné – aktivita vody v sušenkách se pohybovala v rozmezí a_w 0,13 - 0,58. V tomto ohledu

Tab. 1: Vliv recepturního složení a doby skladování na fyzikální znaky sušenek

Mouka	Tuk	Vlhkost sušenek (%)				Aktivita vody sušenek (1)			
		1. den		36. den		1. den		36. den	
Pšeničná 100 %	M	8,60	l	6,70	i	0,58	k	0,41	g
	O	7,70	k	7,00	j	0,52	j	0,37	de
	Z	6,30	g	7,70	k	0,44	h	0,47	i
Ječná 75 %	M	2,10	a	4,40	c	0,13	a	0,48	i
	O	4,00	b	6,60	hi	0,24	b	0,38	ef
	Z	5,50	e	5,00	d	0,35	d	0,37	e
Čiroková 75 %	M	9,20	m	6,00	f	0,56	k	0,40	fg
	O	6,20	fg	5,60	e	0,38	e	0,29	c
	Z	4,50	c	6,40	gh	0,30	c	0,41	g

Ječná 75 %, Čiroková 75 % – podíl pšeničné mouky v receptuře 25 %.

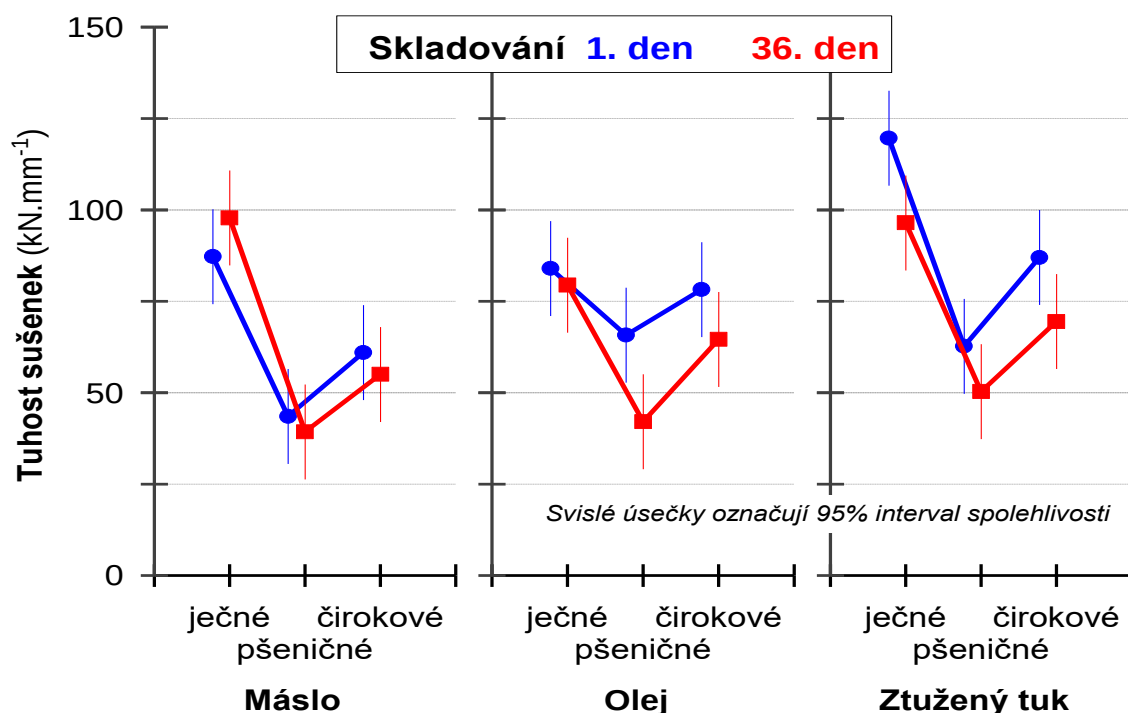
M – máslo, O – řepkový olej, Z – ztužený tuk.

a-m: průměrné hodnoty ve sloupcích „1. den“ a „36. den“, označené stejným písmenem, nejsou statisticky odlišné ($P = 95\%$)

Lze diskutovat hygienickou jakost pšeničných sušenek s máslem, které po upečení (tj. 1. den) dosahovaly nejvyšší uvedené hodnoty ($a_w = 0,58$); následně hodnoty aktivity vody však klesly. Druhou mírně rizikovou byla varianta z pšeničné pečivářské mouky a ztuženého 100 % rostlinného tuku, která 22. skladovací den dosahovala stejně vysoké úrovně a_w . Z výsledků se potvrdil předpoklad, že se aktivita vody v čase mění. Statisticky se aktivita vody v jednotlivých druzích čerstvých sušenek lišila, průkaznější vliv však lze pozorovat po dobu skladování. Stejně tak jsou i během stárnutí rozdíly aktivity vody některých jednotlivých druhů sušenek významné. V rámci jednotlivých dnů hodnocení se rozpětí hodnot aktivity vody zmenšují a dokládají tak průběžné vysychání a tvrdnutí sušenek. Korelační analýza však nepotvrdila vazbu mezi vlhkostí sušenek a aktivitou vody v nich v rámci pětidenního skladování ($r = 0,379$ proti $r_{krit}(0,05) = 0,666$; $N = 9$).

Textura sušenek

Měření texturních vlastností na texturometru (tuhosti, tvrdosti, ohebnosti a lomové práce) poukázala na největší rozdíly právě v tuhosti (14–144 N/mm). Pro konstrukci grafu byla vybrána data z prvního a 36. dne hodnocení (Graf 2). Podle předpokladu byly jako nejméně tuhé („nejměkčí“) označeny pšeničné sušenky s máslem. Reformulace receptury použitím oleje nebo ztuženého tuku tuhost průkazně zvýšily, přídavek druhého uvedeného typu tuku v průměru souboru znamenal neprůkazně nižší tuhost. Skladováním se tuhost máslových sušenek nezměnila. Po pěti týdnech skladování neprůkazně vzrostla tuhost ječných sušenek s máslem, pro ostatní odpovídající varianty nastal nevýznamný pokles. V případě ostatních dvou typů tuku byla vyhodnocena nejhorší kvalita pro ječné sušenky se ztuženým tukem.



Graf 2: Porovnání tuhosti sušenek z pšeničné pečivářské a celozrnných mouk a vliv typu přidaného tuku

Závěr

V práci byly testovány kompozitní směsi z vybraných, u nás pro sušenky málo využívaných mouk, s pšeničnou pečivářskou moukou. Cílem použití kompozitních směsí bylo zvýšit výživovou hodnotu sušenek i rozšířit sortiment o netradiční suroviny se specifickou chutí. Při vývoji receptury bylo záměrem vytvořit sušenky s dlouhou trvanlivostí, křupavostí i dobrou chutí. Zároveň byly použité různé druhy tuků a sledoval se jejich vliv na technologické a senzorické vlastnosti sušenek. Statisticky byl posouzen vliv receptury na hmotnost, objem a měrný objem sušenek po upečení a dále vliv na vlhkost a aktivitu vody v sušenkách po dobu pětitydenního skladování. Náhradou většinového podílu pšeničné pečivářské mouky dvěma celozrnnými a záměnou druhu použitého tuku došlo k dílčímu snížení hmotnosti i objemu sušenek. Nejvyšší spotřebitelská kvalita byla doložena pro sušenky z pšeničné mouky a másla, pro reformulace má vyšší potenciál čiroková mouka. Nejlepší texturní vlastnosti měly pšeničné sušenky, naproti tomu nejhorší varianty na bázi ječné mouky.

Použitá literatura:

- Gabrovská D., Hálová I., Chrpová D. et al.: *Obiloviny v lidské výživě. Stručné shrnutí poznatků se zvýšeným zaměřením na problematiku lepku*. Praha: Forsapi, 2015. Publikace České technologické platformy pro potraviny, 52 s. ISBN 978-80-87250-28-0.
- Garcia-Armenta E., Gutierrez G., Anand S. et al. (2017): Analysis of the failure of cracked biscuits. *Journal of Food Engineering* 196: 52-64.
- Hui H.M., Lin T.C. (ed.): *Bakery Products: Science and Technology*. New Jersey, USA: Blackwell Publishing, 2006. 575 s. ISBN 9780813801872.
- Kadlec P. (ed): *Technologie potravin II*. Praha: VŠCHT Praha, 2002. 236 s. ISBN: 978-80-7080-510-7.
- Labuschagne M.T. (2018): A review of cereal grain proteomics and its potential for sorghum improvement. *Journal of Cereal Science* 84: 151-158.
- Lappi J., Mykkänen H., Kolehmainen M. et al.: 4 - Wholegrain foods and health (s. 76-95). In: Delcour J.A., Poutanen K. (ed.): *Fibre-Rich and Wholegrain Foods*. Cambridge, V. Británie: Woodhead Publishing Woodhead Publishing, 2013. 496 s. ISBN 978-0-85709-038-6.
- Manley D. (ed) (2011): *Manley's technology of biscuits, crackers and cookies*. Cambridge, Velká Británie: Woodhead Publishing Woodhead Publishing, 2011. 632 p. ISBN 978-1-84569-770-9.
- Sharma P., Gujral H.S. (2014): Cookie making behavior of wheat-barley flour blends and effects on antioxidant properties. *LWT – Food Science and Technology* 55: 301-307.
- Sluková M., Skřivan P., Hrušková M.: *Cereální chemie a technologie: Zpracování obilovin - mlýnská a těstářská výroba*. Praha: VŠCHT Praha, 2017. 217 s. ISBN 978-80-7592-000-3.
- Thondre P.S., Ryan L., Henry C.J.K. (2011): Barley β -glucan extracts as rich sources of polyphenols and antioxidants. *Food Chemistry* 126(1): 72-77.
- Velišek J.: *Chemie potravin 2*. Tábor: Osis, 1999. 644 s. ISBN 978-80-86659-16-9.

Kontaktní adresa:

Ing. et Ing. Lucie Jurkaninová, PhD,
Ústav sacharidů a cereálií,
VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6 – Dejvice,
Email: Lucie.Jurkaninova@vscht.cz

ŠETRNÉ UCHOVÁVÁNÍ ZELENINY - VÝHODY A NEVÝHODY FERMENTACE

Friendly storage of vegetables – advantages and disadvantages of fermentation

Kováříková E., Novotná P., Rysová J., Pokorná Bartošková M.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Abstrakt

Fermentace zeleniny za pomoci mléčných bakterií je velmi tradiční metoda zpracování, která je v našich zemích spojována zejména se zelím. Lze ji úspěšně aplikovat i na jiné druhy zeleniny. Pokusně jsme ověřili vliv fermentace různých druhů zeleniny (rajčata, červená řepa, zelí) na obsah lykopenu a antioxidační aktivitu. Hodnotili jsme také jejich změny během skladování. Na senzorické hodnocení zeleniny po fermentaci a během skladování má vliv hlavně výběr vhodné startovací mikrobiální kultury. Benefitem fermentace je uchování antioxidačních vlastností kysané zeleniny a obsah lykopenu uvolněný procesem fermentace. Tradičně zmiňovaný obsah vitamínu C, zejména v kysaném zelí, se nepotvrdil. Velmi přínosné je zachování vysokého počtu živých bakterií mléčného kvašení, které mohou být zdrojem probiotických kmenů.

Klíčová slova: bakterie mléčného kvašení, fermentovaná zelenina, probiotika

Abstract

Vegetable fermentation by mean of lactic acid bacteria is a traditional method used mainly for sauerkraut production in central Europe. However, this method can be readily applied also to other kinds of vegetables. In the presented work, the effect of fermentation on lycopene and antioxidation activity was estimated for different kinds of vegetables (tomatoes, beetroot, cabbage). We also evaluated the changes encountered during storage of the fermented products. It was found, that the choice of starter microbial culture mainly influenced the sensorial qualities. The fermented products were found to be rich in lycopene and retained strong antioxidation activity. The high content of vitamin C that is traditionally attributed to sauerkraut was not detected. High quantity of live lactic acid bacteria contained in fermented vegetables can be the source of probiotic cultures.

Key words: lactic acid bacteria, fermented vegetables, probiotics

Úvod

Čerstvá zelenina je zdrojem mnoha cenných a obtížně nahraditelných látek v lidské potravě. Uchování zeleniny je klíčovým problémem všude tam, kde jsou růst a sklizeň ovlivněny střídáním ročních období. Bezpečné uchování zeleniny ve formě a atraktivní pro konzumenta zahrnuje škálu fyzikálních a chemických nástrojů, které ovšem často uchovají pouze část nutričně významných látek. Fyzikální ošetření jako pasterace, var nebo sterilace nejsou dostatečně šetrné k termolabilním látkám jakým je například vitamín C. Mražení je sice metoda šetrná, ale je nesmírně energeticky náročná a u citlivých komodit nevratně poškozuje texturu. Čerstvá zelenina obsahuje vysoké procento vody, řadu jednoduchých i složitých cukrů a další látky, které jsou atraktivní pro mikroorganismy. Jejich pomnožením je vyprodukovaná komodita znehodnocena po organoleptické stránce a rovněž může dojít i ke kontaminaci toxiny. Zelenina zpracovaná pomocí mléčného kvašení je celosvětově rozšířená a oblíbená. Kromě benefitů běžné zeleniny doporučené World Health Organization (WHO - www.who.int/) a Food and Agriculture Organization (FAO – www.fao.org/) obsahuje fermentovaná varianta navíc

prospěšné bakterie mléčného kvašení a jejich produkty. Tyto bakterie jsou obecně považovány jako zdroj potenciálních kmenů s probiotickými účinky (Zielinska a Kolozyn-Krajewska, 2018). Probiotika ve formě čistých kmenů, často z řad mléčných bakterií, byla a jsou široce testována. Prokázaný efekt mají v terapii průjmů, střevních zánětů, colitidy až po preventivní efekt na rozvoj střevních nádorů (Gupta and Garg, 2010).

Zelenina obsahuje celou řadu vitamínů a biologicky aktivních látek, které se liší obsahem nejen v jednotlivých druzích zeleniny, ale i vlivem pěstebních podmínek a posklizňových úprav. Lykopen je často zmiňovanou složkou rajčat. Jeho účinky jako antioxidantu jsou studovány a pozitivně je hodnocen jeho účinek proti rakovině. Kromě rajčat je nalézán též v šípčích, vodním melounu a růžových grepech, ale tento zdroj lykopenu se nepovažuje za významný. Jeho využitelnost stoupá významně po tepelné úpravě rajčat, což je způsobeno nejspíše uvolněním lykopenu z chloroplastů, oslabení vazby na bílkoviny a také částečná cis-izomerizace (Kalač, 2009).

Materiál a metody

Zelenina (rajčata, červená řepa, bílé zelí) byla před fermentací omyta pitnou vodou, zbavena stopek a poškozených částí, v případě řepy oloupana. Doplňková zelenina (cibule, česnek) byla očištěna a nakrájena. Zelí bylo nakrouháno společně s cibulí, podobně byla zpracována řepa. Rajčata byla nakládána kusově. Koření bylo povařeno ve vodě. Nálev byl nachystán jako 5% roztok soli a sterilován varem.

Startovací mikrobiální kultury (startery) jsme vybírali jako kultury obsahující bakterie mléčného kvašení buď čisté (LP - *Lactobacillus plantarum*, Milcom a.s.), nebo směsné adaptované na zeleninu (ZS- šťáva z kysaného zelí, ZP Otice a.s.). Jako další dostupnou kulturu jsme vybrali směsnou populaci určenou pro okyselení pekařských výrobků (LV2 – kultura pro zákvas žitného chleba Lesaffre Česko, a. s.).

Počet živých mikroorganismů byl stanoven jako množství kolonie tvořících jednotek spočtených po příslušném naředění na povrchu agarové plotny. Pro stanovení celkového počtu mikroorganismů jsme použili Plate count agar (Himedia), pro stanovení bakterií rodu *Lactobacillus* jsme použili půdu MRS (Oxoid).

Kvantitativní analýza lykopenu byla měřena metodou interního standardu. Vzorky rajčat se extrahují směsí cyklohexanu a ethylacetátu a následně vodného roztoku NaCl. Organický extrakt se odebere, ihned změní na kapalinovém chromatografu s MS detekcí. Ke každému vzorku se připravuje vzorek s interním standardem. K separaci byla využita kolona Agilent Poroshell 120 EC-C18, 3,0 mm x 150 mm, 2,7 μ m. Mobilní fáze A je směs methanolu, acetonitrilu a dichlormethanu v poměru 20:65:15, mobilní fáze B je methanol. Obě mobilní fáze obsahují navíc 0,5 g HCOONH_4 na 1 litr mobilní fáze.

Antioxidační kapacita byla stanovena spektrofotometrickou metodou s DPPH

Vitamín C byl stanoven metodou HPLC na reverzní fázi s UV detekcí po extrakci 3 % kyselinou metafosforečnou a filtraci.

Výsledky a diskuze

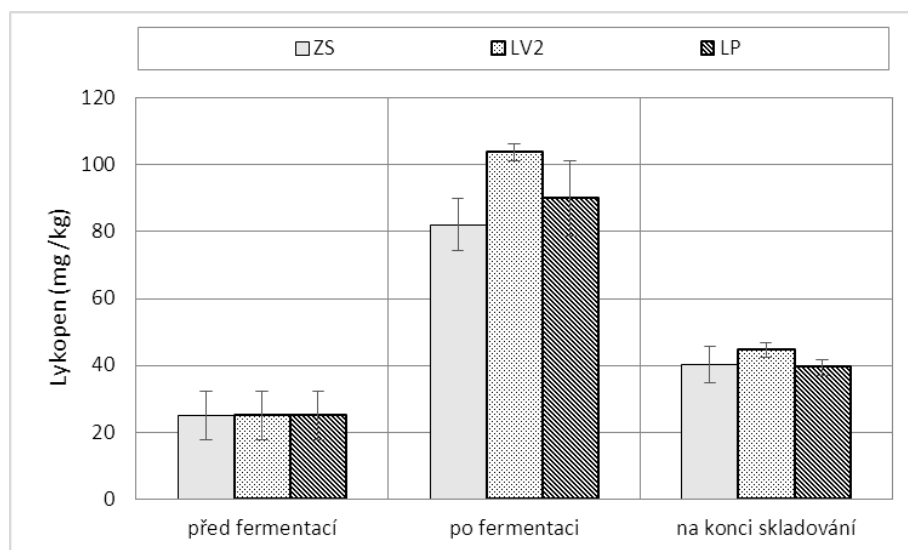
Správný průběh mikrobiálního kysání zeleniny byl sledován pomocí měření pH. Pokles pH pod hodnotu 4,5 obvykle znamená dostatečné okyselení schopné zabránit rozvoji spor a ostatních technologicky i zdravotně škodlivých bakterií. K dostatečně rychlému nastartování kvasných procesů se běžně využívají startovací kultury (startery) obsahující živé bakterie schopné růstu v daných podmínkách. Srovnávali jsme průběh kvašení různé zeleniny s různými startovacími kulturami. Jejich výběr se odvíjel od požadavku schopnosti rychle okyselit nálev nebo krájenou zeleninu. Ve všech námi sledovaných varinátách byl nástup mléčného kvašení dostatečně

rychlý (1-2 dny do zahájení poklesu pH), aby to vyhovovalo technologickému postupu – zabránění rozvoje nežádoucích bakterií. Po dokvašení kleslo pH nálevu na rozmezí hodnot 3,5 - 4,0 a udrželo se v rozmezí pH 3,2 - 3,9 po celou dobu skladování ve všech variantách, tedy nezávisle na druhu zeleniny a starteru. V rozmixované zelenině se pH pohybovalo v rozmezí 3,2 až 4,0, což odpovídá naměřeným hodnotám v nálevu. Množství živých mikroorganismů po zaočkování a nastavení anoxických podmínek rychle vzrostlo na hodnoty $2 \cdot 10^6$ až $6 \cdot 10^7$ KTJ/g a v tomto rozmezí se udrželo i po čtyřech měsících skladování při 8°C a to u všech testovaných typů zeleniny i starterů. Vzhledem k tomu že počet stanovených mléčných bakterií byl s tímto údajem srovnatelný, můžeme předpokládat pomnožení hlavně skupiny mléčných bakterií a potlačení rozvoje ostatních skupin. Obsah živých mikroorganismů je jedním z hlavních zdravotních benefitů konzumace kvašené zeleniny. Ačkoliv WHO zatím neakceptuje zařazení obecné směsi blíže nedefinovaných kultur mezi probiotika, výzkum napovídá, že jsou mléčné bakterie prospěšné (Zielinska a Kolozyn-Krajewska, 2018). Dokonce i neaktivní buňky mohou vykazovat probiotické vlastnosti. Živé buňky ovlivňují střevní mikroflóru a imunitní systém a složky mrtvých buněk mají prokazatelný protizánětlivý efekt (Adams, 2010). Tudíž fermentovaná zelenina, na rozdíl od lékové formy, může příznivě působit na více úrovních. Obsahuje, jak nezanedbatelný počet živých buněk, tak celou řadu již naštěpených a degradovaných zbytků.

Ačkoliv by se mohlo zdát, že okyselení je dostatečné pro stabilitu produktu, identifikovali jsme další rizika, která je nutno vzít v úvahu při navrhování technologie. Při nevhodném skladování – kontakt zeleniny se vzduchem – může dojít k rozvoji plísní, které jsou schopné nejen růstu při nízkém pH, ale využívají organické kyseliny pro svůj metabolismus. Výskyt plísní na povrchu není ovšem pouze estetická záležitost, ale hlavně zdravotní riziko, protože by mohlo dojít ke hromadění mykotoxinů. Cestou ochrany je důsledná dezinfekce kvasných nádob, zařízení a obalů, ale také dezinfekce koření, které je častým zdrojem plísňové kontaminace. Důležitou ochranou je zejména důsledné zamezení kontaktu produktu se vzduchem. Dalším rizikem, zejména pekařských kultur, jsou kvasinky, které se mohou uplatnit při skladování zeleniny více než 3 měsíce. Kyselé prostředí není pro kvasinky limitujícím faktorem, stejně jako nepřítomnost kyslíku. Kvasinky vytváří na plodech povlak, na povrchu nálevu křís a jejich metabolické produkty interagují s kyselinami za vzniku látek zodpovědných za netypické příchutě a vůně (vznik esterů). Dalším nepříjemným efektem je produkce kvasného plynu, který komplikuje skladování (vytváření přetlaku, nafukování obalů). Ačkoliv je výskyt kvasinek nerizikový z hlediska zdravotního, jedná se o proces nežádoucí, který může komplikovat skladování a distribuci fermentované zeleniny. Z těchto důvodů nedoporučujeme využití pekařských kultur a kultur na bázi kombucha pro kvašení zeleniny v nálevu. Výběr kultury schopné nastartovat kvašení musí respektovat kromě mikrobiálních rizik i vliv kultur na výslednou chuť a aroma produktu. Startery, pocházející z jiných oblastí potravinářské technologie, mohou zanášet do produktů netypické chutě. Tento efekt jsme identifikovali při použití čisté kultury *Lactobacillus plantarum*, kde se v hodnoceních opakovaně objevovalo hodnocení chuti jako „sýrové, s příchutí syrečků atp.“. Je to zřejmě způsobeno spektrem produkovaných kyselin a nejedná se o zdravotní riziko, ale může výrazně ovlivnit názor konzumenta. U zeleniny fermentované s použitím starteru z kysaného zelí se hodnocení chuti jako „netypické“ nevyskytovalo. V případě použití starteru LV2 nebylo hodnocení chuti jednoznačné a případné nepříjemné příchutě se obtížněji charakterizovaly, což je nejspíše způsobeno širokou škálou vznikajících aromatických sloučenin.

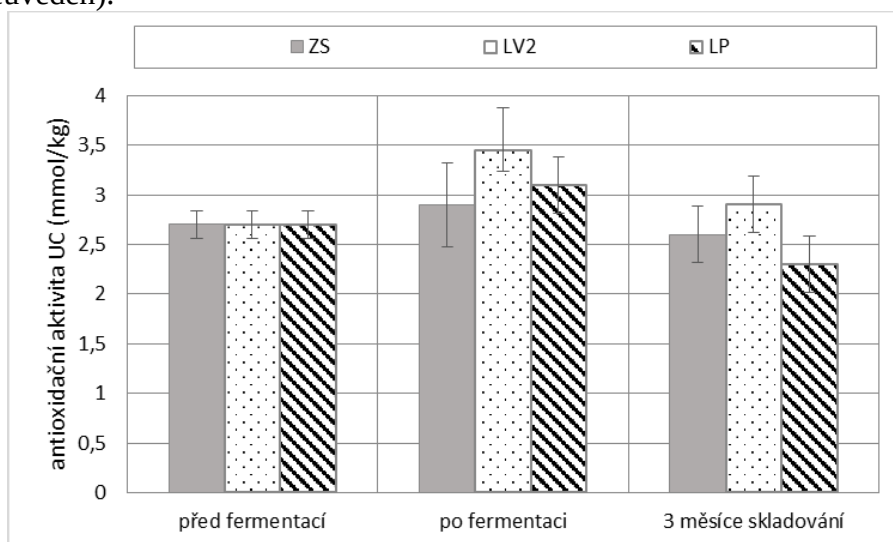
Kvašení zeleniny má na uvolnění lykopenu stejně pozitivní vliv, aniž by došlo ke ztrátě termolabilních živin. Po fermentaci vzrostl obsah lykopenu v rajčatech až na čtyřnásobek původní hodnoty. Při dlouhodobém skladování dochází ovšem k postupnému snižování obsahu, což je zřejmě následek trvale nízkého pH v celém systému. Graf 1 ilustruje nárůst obsahu

lykopenu i snižování jeho obsahu po šesti měsících skladování v chladírenských podmínkách (8 °C).



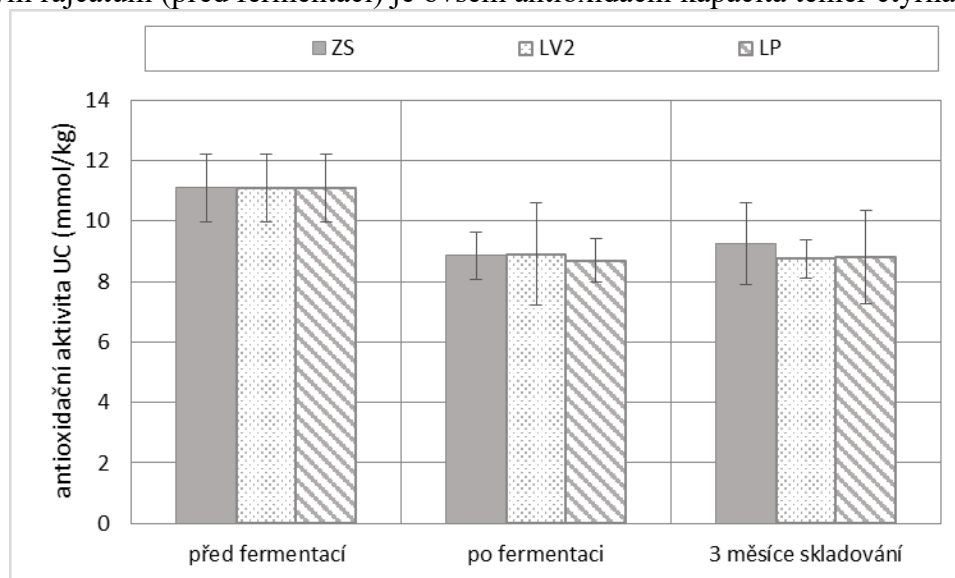
Graf 1: Vliv fermentace na obsah lykopenu ve vzorku fermentovaných rajčat po fermentaci a po šesti měsících skladování fermentovaných rajčat s ohledem na různé startovací kultury (ZS – šťáva z kysaného zelí; LV2 – směsná pekařská startovací kultura; LP – čistá kultura *Lactobacillus plantarum*)

Antioxidační aktivita nevypovídá o obsahu jednotlivých látek, ale postihuje vlastnost celého komplexu sloučenin, které jsou pro jednotlivé druhy zeleniny do značné míry specifické. U rajčat a červené řepy jsme sledovali tento parametr v syrové, nezpracované zelenině, v materiálu těsně po skončení hlavního kvašení (pokles pH pod 3,5, ukončení masivního vývoje plynu) a po 3 měsících skladování. U rajčat (Graf 2) došlo k účinnému „zakonzervování“ stavu. Mírné navýšení hodnoty těsně po kvašení, pokles po skladování ani rozdíly mezi jednotlivými startery nejsou dostatečně průkazné. Podobné výsledky jsme zaznamenali pro tradičně kysané bílé zelí (obrázek neuveden).



Graf 2: Změna antioxidační aktivity ve vzorku fermentovaných rajčat po fermentaci a po třech měsících skladování fermentovaných rajčat s ohledem na různé startovací kultury (ZS – šťáva z kysaného zelí; LV2 – směsná pekařská startovací kultura; LP – čistá kultura *Lactobacillus plantarum*)

Graf 3 shrnuje vliv fermentace, skladování a jednotlivých starterů pro červenou řepu. Podobně jako u rajčat se stav oproti nefermentovanému vzorku výrazněji nezměnil. Došlo k velmi žádoucímu uchování cenné antioxidační aktivity i bez tepelného ošetření nebo nutnosti dodání konzervantů. Červená řepa je vnímána jako výtečný zdroj antioxidantů, ale její konzumace v syrovém stavu není příliš rozšířená. Z ostatních kuchyňských úprav dominuje řepa sterilovaná, která ovšem ztrácí některé termolabilní látky v důsledku tepelného ošetření. Oproti testovaným rajčatům (před fermentací) je ovšem antioxidační kapacita téměř čtyřnásobná.



Graf 3: Změna antioxidační aktivity ve vzorku fermentované červené řepy po fermentaci a po 3 měsících skladování fermentovaných rajčat s ohledem na různé startovací kultury (ZS – šťáva z kysaného zelí; LV2 – směsná pekařská startovací kultura; LP – čistá kultura *Lactobacillus plantarum*)

Ve člancích určených pro širokou veřejnost je konzumace kysaného zelí doporučována zejména z důvodů doplnění vitamínu C. Bohužel naše experimenty tento efekt nepotvrdily. Prvotní obsah vitamínu C se často snížil už zpracováním zeleniny (krouhání zelí). Obsah vitamínu C se během kvašení nezvyšoval, a naopak docházelo k jeho významným ztrátám, až úplnému vymizení. Je politováníhodné, že je kysané zelí prezentováno jen jako zdroj vitamínů a obvykle se opomíjí jako ideální zdroj bakterií mléčného kvašení, vlákniny a unikátního mixu organických kyselin, na který jsme generacemi adaptováni jak my, tak naše střevní mikroflora.

Závěr

Kysaná zelenina je tradiční a bezpečný zdroj cenných látek. Kvašení okyseluje zeleninu a tím potlačuje růst nežádoucích mikroorganismů, na rozdíl od neupravených salátů, které jsou z hlediska rozvoje bakteriální kontaminace značně rizikové, pokud nedojde k jejich tepelnému nebo chemickému ošetření. Antioxidační aktivita je kvašením ovlivněna málo a kyselé prostředí během skladování je vůči této kvalitě šetrné. Obsah lykopenu je srovnatelný s rajčaty tepelně ošetřenými, ale kvašení zachovává cenné termolabilní látky. Vzhledem k tomu že, analytické metody neprokázaly jednoznačný rozdíl mezi testovanými startery, nabízí se k výběru vhodných kultur využít sensorické hodnocení produktů, pokud vyloučíme technologicky závadné startery s obsahem kvasinek. Problémem zůstává široká škála osobních preferencí. Pro kysané zelí je snazší identifikovat chuť a vůně netypické pro danou komoditu, ale pro fermentovaná rajčata (chuť, vůně) a řepu (textura) mohou osobní názory a zkušenosti značně ztížit interpretaci. Nicméně u zcela nových produktů, u kterých se standard chuti a vůně teprve tvoří, lze s pomocí specifických kultur vytvořit nový a originální produkt. Naše poznatky

z průběhu kvašení a skladování jsou velmi podobné výsledkům shrnutým ve studii publikované v roce 2013. Jako nejvhodnější starter se zde doporučuje kultura „autochtoní“ tedy vyselektovaná z materiálu stejného typu jako výsledný produkt (Di Cagno et al., 2013). V našich podmínkách se tímto způsobem uplatnila šťáva z kysaného zelí. Ostatní dva startery vedly k výskytu netypických chutí nebo k problémům v průběhu delšího skladování. Fermentace tedy nabízí cestu ke zhodnocení zeleniny, jejímu uchování s ohledem na cenné biologicky aktivní látky a obohacuje ji o přidanou hodnotu potenciálně probiotických bakterií. Z hlediska moderních způsobů stravování je fermentovaná zelenina zahrnutelná do atraktivní skupiny „raw food“, potraviny bez konzervantů a oblast potravin „ready to eat“. Nevýhodou je citlivý postup technologického zpracování s rizikem kontaminace nežádoucími mikroorganismy. Anoxické prostředí nutné pro rozvoj žádoucích bakterií je technologickou výzvou. Dalším problémem je energetická náročnost skladování v chladu a problematika distribučních obalů. Problém převodu kysané zeleniny z domácího do průmyslového prostředí ovšem existuje i v jiných zemích. V Asii oblíbená kysaná zeleninová směs kimchi je příkladem že v nekontrolovaných podmínkách může docházet i k rozvoji potenciálně patogenních mikroorganismů a standardizace výroby přispěla k bezpečnější produkci (Jung et al. 2014).

Použitá literatura

- Zielińska D., Kolożyn-Krajewska D., 2018. Food-Origin Lactic Acid Bacteria May Exhibit Probiotic Properties: Review. Biomed. Res. Int. Vol. 2018, Article ID 5063185.
- Gupta V., Garg R., 2009: Probiotics. Indian Journal of Medical Microbiology. 27(3), 202-9
- Kalač P., 2009. Lykopen a tomatin v rajčatech. Výživa a Potraviny 2009/4
- Adams C.A., 2010: The probiotic paradox: Live and dead cells are biological response modifiers. Nutrition research Reviews 23, 37-46.
- Di Cagno R., Coda R., De Angelis M., Gobbetti M., 2013. Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. Food Microbiology 33, 1-10.
- Jung J.Y., Lee S.H., Jeon C. O., 2014: Kimchi mikroflora: history, current status, and perspectives for industrial kimchi production. Appl Microbiol Biotechnol 98, 2385-2393.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO0318

Kontaktní adresa:

Ing. Eliška Kovářiková, Ph.D.
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.
Radiová 1285/7, 102 00 Praha 10 – Hostivař
eliska.kovarikova@vupp.cz

ANTIOXIDANTY V RAJČATECH DOSTUPNÝCH NA ČESKÉM TRHU

Antioxidants in tomatoes available on the Czech market

Laknerová I., Novotná P.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.

Abstrakt

U osmi komerčních odrůd rajčat pěstovaných v České republice a šesti odrůd zahraniční produkce byla sledována antioxidační aktivita. Pro měření antioxidační aktivity byly použity metody DPPH a FRAP, které jsou založeny na zcela odlišných principech stanovení. Výsledné hodnoty antioxidační aktivity extraktů rajčat se lišily podle odrůdy a použité metody. Nejvyšší hodnoty antioxidační aktivity byly zaznamenány u odrůdy Sweetelle pěstované v ČR a Mini Roma z Maroka, metodou DPPH u rajčat NL z Nizozemska a Chockmato ze Španělska a metodou FRAP u rajčat E ze Španělska. V rostlinných matricích byla nalezena těsná korelace mezi výsledky obou metod. Pro svoji oblíbenost patří rajčata k velmi dobrým antioxidačním potravinovým zdrojům.

Klíčová slova: antioxidační aktivita, DPPH, FRAP, antioxidační potravinový zdroj

Abstract

Eight commercial varieties of tomato produced in the Czech Republic and six varieties of tomato of foreign origin were analysed for their antioxidant activity. The antioxidant activity was measured using the DPPH and FRAP assays, which are based on completely different principles of determination. The antioxidant activity of tomato extracts varied with the tomato variety and the assay method used. The highest antioxidant activity determined by both assays were measured in Sweetelle tomato variety grown in the Czech Republic and Mini Roma from Morocco, using DPPH assay for NL tomatoes from Netherlands, Chockmato from Spain and FRAP assay for E tomatoes from Spain. A close correlation was found in the plant matrices between the results of both assays. Due to its popularity, tomatoes are one of the very good antioxidant food sources.

Key words: antioxidant activity, DPPH, FRAP, antioxidant food source

Úvod

Antioxidanty jsou důležité v prevenci nemocí, protože inhibují nebo zpomalují oxidaci biomolekul tím, že zabráňují zahájení nebo šíření oxidačních řetězových reakcí (Velioglu et al. 1998). Lze je rozdělit do dvou skupin: na syntetické, tzn. uměle vytvořené a na přirozené, v přírodě nebo dané potravině se běžně vyskytující. Ověření bezpečnosti syntetických antioxidantů při použití v potravinách vyžaduje rozsáhlé a nákladné testy, a z tohoto důvodu i nadále trvá zájem o využití přirozeně se vyskytujících antioxidantů (Frankel, 1995). Hledání přírodních náhrad syntetických antioxidantů vedlo k vyhodnocení celé řady rostlinných zdrojů. Mezi bohaté zdroje patří zejména byliny, rostlinné oleje, ořechy, luštěniny, houby, káva, čaj, červené víno a samozřejmě také ovoce a zelenina. Naše tělo sice samo antioxidanty produkuje, ovšem pouze v omezeném množství, a proto je důležité doplňovat je vhodnou stravou. Je obecně známo, že skladba, tzn. kvalita a kvantita stravy, jsou důležitými faktory v prevenci chronických onemocnění, jako jsou rakovina, kardiovaskulární a neurodegenerativní onemocnění. Zvýšená konzumace ovoce a zeleniny se zdá být velmi dobrým prostředkem ochrany před volnými radikály. Preventivní účinky těchto rostlin jsou dány přítomností některých molekul, jako jsou polyfenoly, karotenoidy a určité vitaminy (Harasym and Oledzki, 2014). Některé vědecké studie ukázaly souvislost mezi velkou spotřebou rajčat a nízkým

rizikem některých typů rakoviny, kardiovaskulárních chorob a věkem podmíněné degenerace makuly. Rajčata (*Solanum lycopersicum*) patří mezi jednu z nejvíce oblíbených a konzumovaných potravin na světě, zejména pro své mnohostranné využití. V České republice v roce 2018 činila spotřeba čerstvých rajčat určených na prodej spotřebitelům, výrobní spotřebu i naturální spotřebu 11,8 kg/osobu/rok, což je přibližně dvakrát více než spotřeba okurky salátové nebo papriky (ČSÚ, 2019). Rajčata jsou široce konzumována jak v syrovém stavu, tak po zpracování a mohou poskytovat podstatnou část celkového příjmu antioxidantů ze stravy. Při skleníkovém pěstování je jejich dostupnost v čerstvém stavu po celý rok.

Předpokládá se, že divoce rostoucí druh rajčat pochází ze severní a střední části Jižní Ameriky, odkud se rozšířil do Střední a Severní Ameriky v průběhu lidských migrací před zhruba dvěma sty lety. Evropané se s touto rostlinou setkali poprvé v Mexiku a okolo roku 1523 bylo rajče poprvé dovezeno do Evropy. Ovšem až do 19. století zde bylo pěstováno jen jako okrasná rostlina a plody se nekonzumovaly (Biggs, 2000).

Zájem spotřebitelů o rajčata zvyšují i četné informace o jejich nutriční hodnotě a příznivých zdravotních účincích. Epidemiologické studie potvrzují, že pozorované účinky na zdraví po konzumaci rajčat jsou způsobeny přítomností různých antioxidantních molekul, jako jsou karotenoidy, kyselina askorbová, vitamin E a fenolické sloučeniny. Ačkoliv se rajčata běžně konzumují v čerstvém stavu, více než 80 % spotřeby pochází ze zpracovaných produktů, jako jsou rajčatová šťáva, protlak, pyré, kečup a omáčka. Sledování vlivu zpracování na hladinu antioxidantů v rajčatech je součástí celé řady odborných prací (Kamiloglu et al., 2012). Tepelně upravená rajčata obsahují více využitelného lykopenu než rajčata syrová, protože při vyšších teplotách se lykopen uvolňuje a je v lidském organismu lépe absorbován. V případě čerstvých rajčat je vhodná konzumace neloupaných plodů, protože převážná část jednoho z nejvýznamnějších antioxidantů a karotenoidů - lykopenu je obsažena právě ve slupkách (Elbadrawy and Sello, 2016). Cílem této studie bylo screeningově stanovit antioxidantní aktivitu v komerčních odrůdách rajčat dostupných na tuzemském trhu v období měsíce května 2020 a zjistit, zda odrůdy a použité metody DPPH a FRAP mají vliv na výsledné hodnoty antioxidantní aktivity. Zároveň předmětem prezentované práce bylo zjištění korelace použitých metod.

Materiál a metody

Rostlinný materiál: V tuzemské obchodní síti bylo zakoupeno 9 vzorků 8 odrůd rajčat pěstovaných v České republice a 6 vzorků rajčat zahraniční produkce. Analyzované vzorky jsou uvedeny pod názvem odrůdy, s uvedením kalibru; barvy; země původu; značky odbytového družstva a šarže (pozn. N – v případě neuvedení):

Bamano (20-30 mm; oranžová; ČR; Čerozfrucht s.r.o.; š:5714206), Briosio (35-45 mm; červená; ČR; Čerozfrucht s.r.o.; L:2201), Chica (N; červená; Španělsko; N; N), Chockmande (N; hnědá; Španělsko; N; N), Chockmato (N; hnědá; Španělsko; Čerozfrucht s.r.o.; N), Juanita (25-30 mm; červená; ČR; Čerozfrucht s.r.o.; L:2107), Karkulka (47-67 mm; červená; ČR; Čerstvě utrženo; N), Mini Roma (N; červená; Maroko; N; Lot:1023097204534S0 B), Nelinka (21-35 mm; červená; ČR; Čerstvě utrženo; N), Rubín (25-35 mm; červená; ČR; Česká farma; š:5714226), Strabena (23-35 mm; červená; ČR; Čerstvě utrženo; N), Sweetelle 1 (20-25 mm; červená; ČR; Čerozfrucht s.r.o.; š:5715067); Sweetelle 2 (25-35 mm; červená; ČR; Albertova tržnice; š:5713181), rajčata E – odrůda neuvedena (N; žlutá; Španělsko; Čerozfrucht s.r.o.; N), rajčata NL - odrůda neuvedena (N; červená; Nizozemsko; Albert Excellent; L:2101).

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)

Odstředivka Universal 32R (Hettich, Německo)

Stolní mixér NutriBullet (Delimano, ČR)

Metody:

Stanovení sušiny – metoda 925.09, 926.08 (AOAC).

Příprava vzorků: Rajčata z každého vzorku byla omyta pitnou vodou, osušena papírovou utěrkou, nakrájena na poloviny a homogenizována 1 minutu v NutriBulletu. Získané homogenáty byly skladovány při $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do doby analyzování.

Příprava metanolového extraktu rajčat: 3 g rajčatového homogenátu byly extrahovány do 7 ml metanolu sonifikací v ultrazvukové lázni třikrát po dobu 15 minut při pokojové teplotě. Připravený metanolový extrakt byl následně odstředěn při teplotě $5\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 15 minut při otáčkách 7 000 RPM. Získané supernatanty byly filtrovány přes polyamidové membrány (porozita $0,45\text{ }\mu\text{m}$) a použity pro stanovení antioxidační aktivity (AOA) metodami DPPH a FRAP (Nour et al. 2013).

Stanovení antioxidační aktivity (AOA) pomocí metody DPPH – modifikovaná metoda vycházející z publikace Brand-Williams et al., 1995: 100 μl extraktu bylo přidáno do 4 ml roztoku DPPH v metanolu ($27,5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). 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 FeCl_3 . K 4 ml činidla bylo přidáno 100 μl extraktu a po reakční době 30 min při $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ byl měřen nárůst absorbance při 593 nm.

Statistická analýza: K určení statisticky významného rozdílu mezi jednotlivými odrůdami a metodami byl použit Studentův-t test (Excell Microsoft). Dvoufaktorová analýza rozptylu byla použita k sledování vlivu dvou faktorů současně – použité analytické metody a odrůdy rajčat (QC Expert 3.1.). Korelace mezi výsledky metod byla zjišťována regresní analýzou (Excell Microsoft).

Výsledky a diskuze

Pro kvantifikaci kapacity vzorků rajčat eliminovat volné radikály byla zvolena antioxidační aktivita, která byla měřena fotometricky. V oblasti chemické analýzy bylo vypracováno množství metod, které slouží ke stanovení celkové antioxidační aktivity vzorku. Srovnání výsledků poskytovaných jednotlivými metodami není ovšem snadné, protože antioxidantů i reaktivních látek, které způsobují oxidační změny, je celá řada a prakticky žádná z metod není schopna obsáhnout tento fakt v celé jeho šíři. Z tohoto důvodu se doporučuje používat více metod najednou. K charakterizaci sledovaného potravinového materiálu z hlediska antioxidačních vlastností byly vybrány dvě nejčastěji používané metody DPPH a FRAP, které jsou založeny na zcela odlišných principech stanovení (Sochor et al., 2010). Princip metody DPPH spočívá v eliminaci radikálů, konkrétně při reakci stabilního radikálu 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil s antioxidanty za doprovodu barevné změny. Pokles absorbance při 517 nm se měří po uplynutí konstantního času nebo v kinetickém režimu.

Metoda FRAP je založena na principu redoxní reakce (ferric reducing antioxidant potential). Při této metodě redukují antioxidanty ze vzorku komplex Fe^{3+} -TPTZ, přičemž nárůst absorbance při 593 nm odpovídající množství komplexu Fe^{2+} -TPTZ je mírou antioxidační aktivity vzorku.

Screeningové hodnocení antioxidační aktivity metodami DPPH a FRAP ve vzorcích rajčat je uvedeno v Tab. 1. Naměřené výsledné hodnoty jsou uvedeny jako průměrné hodnoty tří paralelních měření, včetně směrodatné odchylky (SD) a v případě obou metod vyjádřeny jako

mg ekvivalentu Troloxu (TE) na gram čerstvého vzorku. Získaná data byla zpracována Studentovým t-testem (Obr. 1-2) a dvoufaktorovou analýzou rozptylu (Tab. 2).

Na Obr. 1 - 2 jsou statisticky vyhodnocené výsledky antioxidační aktivity stanovené metodami DPPH a FRAP. Sloupce představují průměrné hodnoty ze tří měření a úsečky pak intervaly spolehlivosti Studentova t-testu, přičemž byl sledován průnik intervalů spolehlivosti mezi jednotlivými hodnotami antioxidační aktivity sledovaných odrůd rajčat. Pokud nebyl zjištěn rozdíl mezi dvěma odrůdami, odrůdy pak byly označeny stejným písmenem. Postupovalo se dle výše hodnoty, přičemž nejnižším hodnotám bylo přiřazeno písmeno „a“.

Tab. 1: Sušina čerstvých rajčat a antioxidační aktivita metanolových extraktů rajčat stanovená metodami DPPH a FRAP

Odrůda	Země původu	Sušina ^a	Antioxidační aktivita	
			DPPH ^b	FRAP ^b
Bamano	ČR	8,41	0,461±0,01	0,702±0,01
Brioso	ČR	5,41	0,373±0,01	0,503±0,01
Juanita	ČR	6,49	0,440±0,01	0,659±0,02
Karkulka	ČR	5,53	0,366±0,01	0,500±0,01
Nelinka	ČR	7,95	0,419±0,01	0,709±0,03
Rubín	ČR	7,25	0,427±0,02	0,659±0,03
Sweetelle 1	ČR	8,05	0,560±0,01	0,937±0,02
Sweetelle 2	ČR	9,17	0,590±0,01	1,039±0,02
Strabena	ČR	7,41	0,353±0,01	0,543±0,01
Chica	Španělsko	8,60	0,420±0,01	0,724±0,02
Chockmande	Španělsko	6,03	0,467±0,02	0,677±0,03
Chockmato	Španělsko	8,39	0,598±0,01	0,812±0,01
Mini Roma	Maroko	8,08	0,597±0,01	1,122±0,07
rajčata E (odrůda neuvedena)	Španělsko	8,46	0,508±0,01	1,175±0,03
rajčata NL (odrůda neuvedena)	Nizozemsko	7,69	0,625±0,01	0,796±0,01

^ag.100 g⁻¹; ^b mg TE. g⁻¹±SD; n₁ = 9 (rajčata pěstovaná v ČR); n₂ = 6 (rajčata ze zahraniční produkce)

V rámci sledování AOA bylo zakoupeno v měsíci květnu v tuzemské tržní síti 9 vzorků 8 odrůd rajčat pěstovaných v ČR a tento soubor byl pro srovnání doplněn šesti vzorky odrůd rajčat zahraniční provenience. Úroveň bioaktivních látek v čerstvých rajčatech může být ovlivněna celou řadou před a posklizňových faktorů, jako je teplota, světlo, závlaha, odrůda, stupeň zralosti při sklizni, zemědělské postupy apod. Pro omezený výběr vzorků dostupných na našem trhu v daném období lze výsledky považovat pouze za screeningové a platné pro sledovaný soubor rajčat.

Hodnoty antioxidační aktivity metanolových extraktů odrůd rajčat pěstovaných v ČR a dostupných na českém trhu stanovené metodami DPPH a FRAP se pohybovaly od 0,353 do 0,590 mg TE.g⁻¹, resp. od 0,500 do 1,039 mg TE.g⁻¹ (Tab. 1). Antioxidační aktivita měřená metodou DPPH stoupala v pořadí Strabena, Karkulka, Brioso < Juanita, Nelinka, Rubín < Bamano < Sweetelle 1, Sweetelle 2 (Graf 1). Antioxidační aktivita stanovená metodou FRAP stoupala v pořadí Brioso, Karkulka < Strabena < Bamano, Juanita, Nelinka, Rubín < Sweetelle 1 < Sweetelle 2 (Graf 2). Statisticky významně nejnižší hodnoty AOA získané metodou DPPH

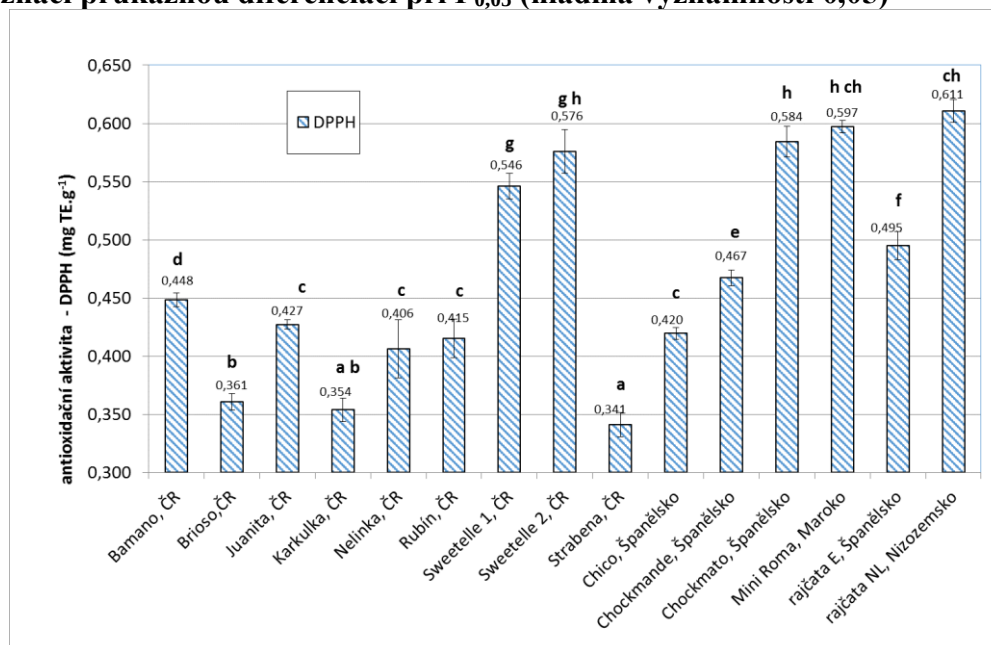
vykazovaly odrůdy Strabena, Karkulka a Brioso, v případě metody FRAP odrůdy Brioso a Karkulka. Naopak nejvyšší statisticky významné hodnoty v případě obou metod vykazovala odrůda Sweetele, konkrétně vzorek Sweetelle 2.

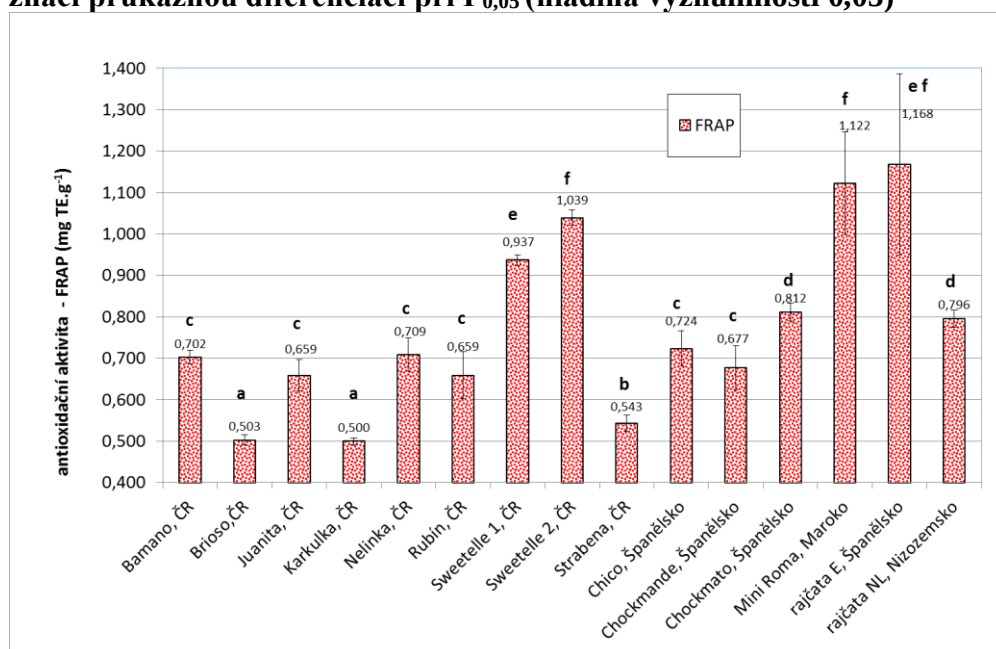
V případě souboru rajčat zahraniční produkce se hodnoty AOA získané metodami DPPH a FRAP pohybovaly v rozmezí 0,420 – 0,625 mg TE.g⁻¹, resp. 0,677 – 1,175 mg TE.g⁻¹ (Tab. 1), přičemž statistiky významně nejvyšší hodnoty sledovaného faktoru dosahovaly odrůdy Chica ze Španělska, resp. Chica a Chockmande ze Španělska. Naopak nejvyšší hodnoty naměřené metodou DPPH byly zaznamenány u vzorků rajčat NL z Nizozemska, Mini Roma z Maroka a Chockmato ze Španělska a metodou FRAP u vzorků Mini Roma a rajčata E ze Španělska. AOA měřená metodami DPPH, resp. FRAP stoupala v pořadí Chica < Chockmande < rajčata E < Chockmato, Mini Roma, rajčata NL, resp. Chockmande, Chica < rajčata NL, Chockmato < Mini Roma, rajčata E (Grafy 1 a 2).

Z celého souboru rajčat (domácí i zahraniční provenience) vykazovala statisticky významně nejvyšší antioxidační aktivitu stanovenou metodou DPPH rajčata NL z Nizozemska, Mini Roma z Maroka, Chockmato ze Španělska a Sweetelle pěstovaná v ČR (Graf 1). U výsledků AOA měřených metodou FRAP nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi odrůdami nejbohatšími na obsah antioxidantů vypěstovanými v ČR nebo v zahraničí, přičemž nejvyšší hodnoty byly nalezeny u rajčat E ze Španělska, Mini Roma z Maroka a u odrůdy Sweetelle pěstované v ČR (Graf 2). Z výsledků je také patrné, že hodnoty antioxidační aktivity stanovené metodou DPPH jsou pro všechny odrůdy rajčat statisticky významně nižší oproti hodnotám stanovených metodou FRAP.

Metodou regresní analýzy byla zjišťována korelace mezi výsledky antioxidační aktivity získanými metodami DPPH a FRAP u vzorků rajčat pěstovaných v ČR. Na základě získaných dat lze konstatovat, že mezi výsledky existuje těsná lineární závislost (korelační koeficient $R = 0,7674$; $n = 15$).

Graf 1: Antioxidační aktivita v rajčatech stanovená metodou DPPH (rozdílná písmena značí průkaznou diferenciaci při $P_{0,05}$ (hladina významnosti 0,05))



Graf 2: Antioxidační aktivita v rajčatech stanovená metodou FRAP (rozdílná písmena značí průkaznou diferenciaci při $P_{0,05}$ (hladina významnosti 0,05))**Tab. 2: Dvoufaktorová analýza rozptylu**

Zdroj měnlivosti (faktor)	Součet čtverců	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	Test. kritérium F	p-hodnota	Závěr
rozdíly v hodnotách AOA při měření pomocí daných metod	2,573	1	2,573	4608,828	7,95E-76	Významný
rozdíly v hodnotách AOA při měření v jednotlivých odrůdách rajčat	2,248	14	0,161	287,623	2,94E-65	Významný
interakce	0,614	14	0,044	78,518	2,03E-42	Významný
reziduální	0,047	85	0,001			
celkový	5,384	114	0,047			

Na základě p-hodnot z Tab. 2 bylo zjištěno, že vlivy použité metody měření a odrůdy rajčat jsou statisticky významné ($p=7,95E-76 < 0,05$, resp. $p=2,94E-65 < 0,05$). Rovněž vliv interakce těchto dvou faktorů byl významný ($p=2,03E-42 < 0,05$).

Závěr

Hlavním úkolem antioxidantů je přispět k nastolení rovnováhy, tak aby volné radikály nepoškozovaly zdraví člověka. Na rozdíl od příjmu izolovaných antioxidantů je obecně uznáván pozitivní význam konzumace ovoce a zeleniny pro lidské zdraví. Mezi bohaté zdroje antioxidantů patří i rajčata. Výsledné hodnoty antioxidační aktivity metanolových extraktů rajčat se lišily jak podle odrůdy, tak podle použité metody stanovení. Ve sledovaném souboru odrůd rajčat pěstovaných v ČR a dostupných na tuzemském trhu patří odrůda Sweetelle

k nejbohatším zdrojům antioxidantů. Ve vzorcích rajčat zahraniční provenience vykazovaly nejvyšší AOA stanovenou metodou DPPH rajčata NL z Nizozemska, Mini Roma z Maroka a Chockmato ze Španělska. Metodou FRAP byly naměřeny nejvyšší hodnoty AOA u vzorků rajčat E ze Španělska a Mini Roma z Maroka. Hodnoty antioxidační aktivity stanovené metodou DPPH byly pro všechny odrůdy rajčat statisticky významně nižší oproti hodnotám stanovených metodou FRAP. V ověřovaných rostlinných matricích byla v metanolových extraktech nalezena těsná korelace mezi výsledky metod DPPH a FRAP.

Dedikace

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.
- Biggs, M., 2000. *Matthew Biggs's Complete Book of Vegetables: The practical Sourcebook to Growing, Harvesting and Cooking Vegetables*. Kyle Cathie. 256 s. ISBN-10: 185626355X.
- 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.
- ČSÚ (2019): Spotřeba potravin, nápojů a cigaret na 1 obyvatele v ČR v letech 2009-2018 (on line). Staženo 3. 9. 2020.
- Elbadrawy, E., Sello, A.: Evaluation of nutritional value and antioxidant activity of tomato peel extracts. *Arabian Journal of Chemistry*. 2016, 9(2), S1010-S1018.
- Frankel, E.N.: Natural and biological antioxidant systems. Their mechanisms of action, applications and implications. *Lipid Technol.* 1995, 7, 77-80.
- Harasym, J., Oledzki, R.: Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma. *Nutrition*. 2014, 30(5), 511-517.
- Kamiloglu, S., Boyacioglu, D., Capanoglu, E.: The effect of food processing on bioavailability of tomato antioxidants. *Journal of Berry Research*, 2013, 3(2), 65-77.
- Nour, V., Trandafir, I., & Ionica, M.E.: Antioxidant Compounds, Mineral Content and Antioxidant Activity of Several Tomato Cultivars Grown in Southwestern Romania. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2013, 41(1), 136-142.
- Sochor, J., Ryvolova, M., Krystofova, O., Salas, P., Hubalek, J., Adam, V., Trnkova, L., Havel, L., Beklova, M., Zehnalek, J., Provaznik, I., Kizek, R.: Fully Automated Spectrometric Protocols for Determination of Antioxidant Activity: Advantages and Disadvantages. *Molecules*, 2010, 15(12), 8618-8640.
- Velioglu, Y.S., Maza, L., Gao, L., Oomah, B.D.: Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J.Agric Food Chem.* 1998, 46, 4113-4117.

Kontaktní adresa:

Ing. Ivana Laknerová
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.
Radiová 1285/7, 102 00 Praha -10, Hostivař
ivana.laknerova@vupp.cz; +420 775 888 019

STANOVENÍ LYKOPENU V RAJČATECH METODOU LC-MS/MS

Determination of Lycopene in Tomatoes by LC-MS/MS

Pokorná Bartošková M.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Abstrakt

Lykopen patří mezi karotenoidy, jde o červené rostlinné barvivo, které má silné antioxidační vlastnosti. Vyskytuje se především v zelenině, ale také v ovoci, které má oranžovou až červenou barvu. Nejvýznamnějším zdrojem lykopenu jsou rajčata. V této práci jsme se zaměřili na stanovení lykopenu v čerstvých cherry rajčatech z české produkce. Lykopen byl ze vzorků vyextrahován pomocí směsi organických rozpouštědel a poté změřen kapalinovým chromatografem s tandemovou hmotnostní detekcí.

Klíčová slova: lykopen, antioxidant, rajče, kapalinová chromatografie, hmotnostní spektrometrie

Abstract

Lycopene belongs to the carotenoids, it is a red plant pigment that has strong antioxidant properties. It occurs mainly in vegetables, but also in fruits, which have an orange to red color. The most important source of lycopene is tomatoes. In this work, we focused on the determination of lycopene in fresh cherry tomatoes from Czech production. Lycopene was extracted from the samples using a mixture of organic solvents and then measured by liquid chromatography with tandem mass detection.

Key words: lycopene, antioxidant, tomato, liquid chromatography, mass spectrometry

Úvod

Lykopen je červené rostlinné barvivo, které patří mezi karotenoidy a má silné antioxidační vlastnosti. Chrání lidský organismus před působením volných radikálů, například před spálením pokožky slunečním zářením a může zmírňovat projevy zčervenání kůže po ozáření UV zářením. Dále je využíván k prevenci některých druhů rakoviny a kardiovaskulárních onemocnění^{1,2}.

Obecně lze karotenoidy najít ve většině červených a růžových čerstvých potravin. Nejznámějším a nejdostupnějším zdrojem lykopenu v našich zeměpisných podmínkách jsou rajčata, dále vodní meloun, papája nebo goji. Obsah lykopenu se v rajčatech zvyšuje s tepelnou úpravou, proto rajčatový protlak obsahuje více lykopenu než čerstvá rajčata. Dále jsou významné rozdíly mezi čerstvými velkými odrůdami rajčat a cherry rajčaty^{3,4,5}.

V této práci jsme si pro stanovení lykopenu vybrali odrůdy keříkových a cherry rajčat. Vzorky byly výhradně z české produkce a analyzovali jsme obsah lykopenu v čerstvém vzorku. Pro stanovení jsme vyvinuli metodu kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí. Kapalinová chromatografie s různými detektory se pro toto stanovení využívá velmi často^{6,7,8}.

Materiál a metody

LC-MS/MS analýza pro stanovení lykopenu byla převzata z práce Lucini a kol. a optimalizována pro kapalinový chromatograf 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 využíván⁸. Pro separaci byla využita kolona InfinityLab

Poroshell 120 EC-C18, 3.0 mm x 150 mm, 2.7 µm. Podmínky analýzy jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2.

Tab. 1: Podmínky LC-MS/MS analýzy

Teplota kolony	35°C	
Objem nástřiku	1 µl	
Mobilní fáze	A	B
	Methanol:Acetonitril:Dichlormethan (20:65:15) v/v/v	Methanol
Aditivum mobilní fáze	0,5 g/l HCOONH ₄	0,5 g/l HCOONH ₄
Doba analýzy	15 min	
Gradient	Čas (min)	%B
	0	25
	15	25

Tab. 2: Podmínky MS

Mód iontového zdroje	ESI-JET	
Teplota sušícího plynu	350 °C	
Průtok sušícího plynu	12 l/min	
Tlak při nebulizaci	45 psi	
Teplota kolizní cely	300 °C	
Průtok plynu v kolizní cele	10 l/min	
MRM přechody	Prekurzorový iont	Produktový iont
Lykopen	536.4	444.2
		281.1
		147
		105
		69.1

Chemikálie

K přípravě mobilních fází byl použit methanol v kvalitě LC/MS-grade (≥ 99.9%) firmy Fisher Scientific, acetonitril v kvalitě OPTIMA® LC/MS-grade také od Fisher Scientific a dichlormethan LiChrosolv® od firmy Merck. Standard lykopenu (≥ 98%, HPLC from tomato) a mravenčan amonný (≥ 99%, eluent additive for LC/MS) byly dodány firmou Sigma Aldrich. K extrakci lykopenu ze vzorků rajčat byla dále použita demineralizovaná voda ze zařízení Milli-Q od firmy Merck Millipore, ethylacetát a cyklohexan v kvalitě HPLC LiChrosolv® od firmy Merck a chlorid sodný p.a. od firmy Lach-Ner.

Standard lykopenu (1 mg) byl kvantitativně převeden do 100 ml odměrné baňky a rozpuštěn v cyklohexanu. Přesná výsledná koncentrace roztoku se získala spektrofotometrickým měřením proti čistému cyklohexanu v křemenné kyvetě při vlnové délce 476 nm podle vzorce 1.

Vzorec 1

$$c = \frac{A_{\max}}{\varepsilon \cdot l}$$

c ... koncentrace lykopenu v µg/ml

A_{max} ... absorbance při 476 nm

ε^{1µg/ml}_{1 cm} ... extinkční koeficient lykopenu v cyklohexanu (0,177)⁹

l ... tloušťka kyvety (1 cm)

Vzorky

K analýze byly vybrány vzorky cherry rajčat, které byly vypěstovány výhradně v České republice a jsou běžně dostupná v obchodních řetězcích. Celkem bylo otestováno 8 vzorků rajčat a 7 různých odrůd. Seznam vzorků je uveden v tabulce 3. Vzorky byly zhomogenizovány pomocí mixéru Nutribullet a uchovávány při -40 °C.

Tab. 3:**Seznam vybraných vzorků cherry rajčat**

Číslo vzorku	Odrůda	Kalibr	Pěstitel	Prodejní značka	Obchodní řetězec
1	Rubín	25-35 mm	Blanická s.r.o.	Česká farma	BILLA
2	Sweetelle	20-25 mm	Farma Bezdínek s.r.o.	Česká farma	BILLA
3	Bamano	20-30 mm	Farma Bezdínek s.r.o.	Česká farma	BILLA
4	Strabena	23-35 mm	Farma Mutěnice	Čerstvě utrženo	Albert
5	Sweetelle	25-35 mm	Blanická s.r.o.	Albertova tržnice	Albert
6	Nelinka	21-35 mm	Farma Velké Němčice	Čerstvě utrženo	Košík.cz
7	Juanita	25-30 mm	Čerozfrucht s.r.o.	-	Košík.cz
8	Brioso	35-45 mm	Čerozfrucht s.r.o.	-	Košík.cz

Obrázek 1

Vzorky českých cherry rajčat: 1-Rubín, 2-Sweetelle, 3-Bamano, 4-Strabena, 5-Sweetelle, 6-Nelinka, 7-Juanita, 8-Brioso.

**Extrakce lykopenu ze vzorků rajčat**

Pro extrakci lykopenu byla použita směs organických rozpouštědel cyklohexanu a ethylacetátu v poměru 1:1 (v/v). Nejprve bylo do centrifugační zkumavky o objemu 50 ml naváženo 0,25 g vzorku, dále bylo přidáno 5 ml směsi organických rozpouštědel, směs byla lehce protřepána a pro zvýšení odezvy se přidalo 5 ml vodného roztoku chloridu sodného o koncentraci 200 g/l.

Směs byla třepána 2 minuty na třepačce při 1200 ot/min. Poté byly vzorky centrifugovány 10 minut při 3000 ot/min a 20 °C. Po centrifugaci byla z každé zkumavky odebrána pipetou organická fáze, která byla převedena do 2 ml vialky z hnědého skla. Takto připravené vzorky byly změřeny na kapalinovém chromatografu s hmotnostní detekcí.

Instrumentální analýza

Lykopen byl stanovován metodou přidavku standardu a vzorky byly připravovány vždy ve dvou opakováních. U vzorků se standardem byla část směsi organických rozpouštědel nahrazena standardem lykopenu o přesné koncentraci. Výsledná koncentrace lykopenu se poté vypočetla ze vzorce 2.

Vzorec 2

$$c_i = \frac{A_i \cdot c_s \cdot V_s}{(A_{is} \cdot (V_i + V_s) - A_i \cdot V_i)}$$

c_i ... koncentrace analytu v $\mu\text{g/ml}$

c_s ... koncentrace standardu v $\mu\text{g/ml}$

A_i ... odezva analytu

A_{is} ... odezva analytu s přidavkem standardu

V_i ... objem přidané směsi rozpouštědel

V_s ... objem přidaného standardu

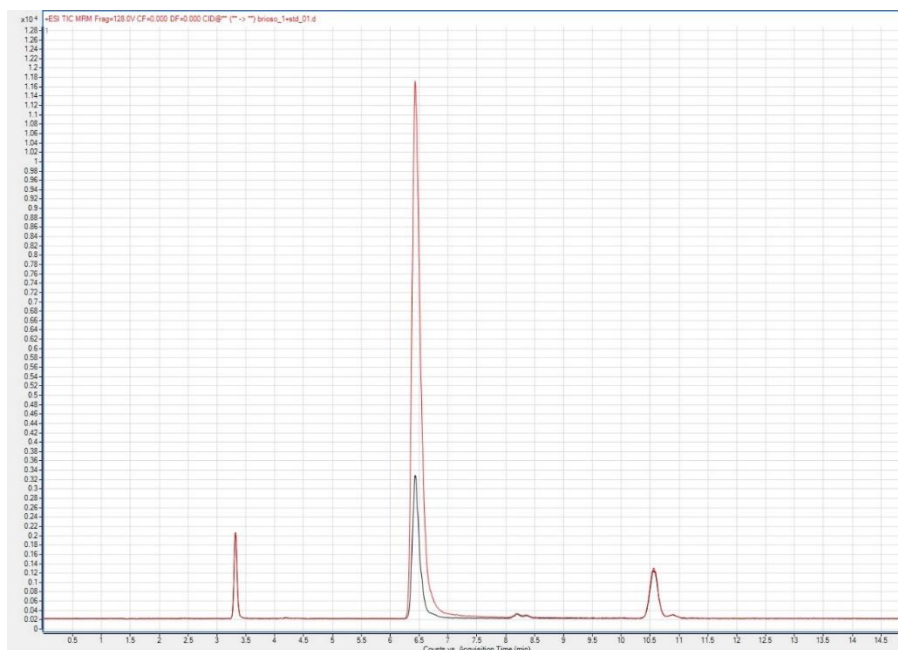
Vyhodnocení probíhalo pomocí softwaru MassHunter (záznam ze SW je zobrazen na obrázku 2) a statistické zpracování pak v tabulkovém procesoru Excel.

Výsledky a diskuze

Je známo, že čerstvá rajčata obsahují méně lykopenu než rajčata, která jsou tepelně zpracována. V této práci byla k analýze vybrána čerstvá cherry rajčata z důvodu nejčastější konzumace zasyrova.

Lykopen v rajčatech byl stanovován metodou přidavku standardu. Standard lykopenu byl přidáván ke vzorkům již při extrakci, aby byl eliminován efekt matrice. Rajče je složitá matrice a obsah lykopenu se liší v jednotlivých částech rajčete, jako je slupka, dužina či semena. Z toho důvodu byly vzorky rozmixovány.

Vzorky byly měřeny paralelně ve dvou opakováních a z výsledků byla poté stanovena relativní směrodatná odchylka (RSD). Výsledky měření jsou uvedeny v tabulce 4.



Obrázek 2

Záznam měření reálného vzorku rajčat ze softwaru MassHunter. Černý záznam vzorku bez přídavku standardu, červený záznam vzorku s přídavkem standardu.

Tab. 4: Výsledky stanovení lykopenu ve vybraných vzorcích cherry rajčat

Číslo vzorku	Odrůda	Obsah lykopenu [mg/kg]			Odchylka	RSD %
		1	2	Průměr		
1	Rubín	67,22	71,72	69,47	3,177	4,57
2	Sweetelle	77,36	70,12	73,74	5,116	6,94
3	Bamano	19,32	21,45	20,38	1,509	7,40
4	Strabena	65,39	68,41	66,90	2,138	3,20
5	Sweetelle	73,64	79,57	76,61	4,194	5,47
6	Nelinka	32,65	31,71	32,18	0,663	2,06
7	Juanita	13,84	12,92	13,38	0,651	4,86
8	Brioso	12,00	11,68	11,84	0,222	1,87

K analýze bylo vybráno 7 vzorků červených cherry rajčat a jeden vzorek oranžových cherry rajčat Bamano. U vzorku oranžových rajčat byl předpoklad, že díky světlejší barvě bude obsah lykopenu výrazně nižší, což se také potvrdilo. Překvapením bylo, že odrůdy Juanita a Brioso měly lykopenu ještě méně. Avšak obě odrůdy měly po rozmixování patrný vysoký podíl vody. Dále byla měřena odrůda Sweetelle od dvou různých dodavatelů. Výsledky byly srovnány Studentovým t-testem shodnosti výsledků a porovnány s kritickou hodnotou t_{α} . Dle tohoto testu jsou oba výsledky shodné, výsledky t-testu jsou uvedeny v tabulce 5.

Tab. 5: Výsledky Studentova t-testu shodnosti výsledků měření odrůdy Sweetelle

Dodavatel	Obsah lykopenu [mg/kg]	Odchylka [mg/kg]	t	t_{α}^*
Farma Bezdínek s.r.o.	73,74	5,116	0,4337	12,706
Blanická s.r.o.	76,61	4,194		

*Kritická hodnota Studentova rozdělení t_{α} pro vylučování odlehlých výsledků ($n_a=n_b=n=2$)

Závěr

Pro stanovení lykopenu byla optimalizována metoda kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí. Dále byla provedena extrakce lykopenu ze vzorku na základě literární rešerše. Byl vybrán postup extrakce směsí organických rozpouštědel cyklohexan a ethylacetát v poměru 1:1 (v/v) s přidavkem roztoku chloridu sodného pro zvýšení odezvy analytu. K vyhodnocení obsahu lykopenu byla využita metoda přidavku standardu. Komerční standard lykopenu byl rozpuštěn v cyklohexanu a přesná koncentrace roztoku byla stanovena spektrofotometricky.

Metoda je rychlá, spolehlivá, avšak relativně náročná na chemikálie, ať už rozpouštědla, tak standard lykopenu. Nevýhodou může být zpracování vzorků rajčat, protože je potřeba, aby byly vzorky řádně zhomogenizovány. Další možný postup je lyofilizace rajčat a následná extrakce lykopenu.

Použitá literatura

- Voutilainen S., Nurmi T., Mursu J., Rissanen T. H.: Carotenoids and Cardiovascular Health, The American Journal of Clinical Nutrition, 83 (6), 2006, str. 1265-1271. <https://doi.org/10.1093/ajcn/83.6.1265>
- Fiedor J., Burda K.: Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease, Nutrients, 6 (2), 2014, str. 466-488. <https://doi.org/10.3390/nu6020466>
- Kuti J. O., Konuru H. B.: Effects of genotype and cultivation environment on lycopene content in red-ripe tomatoes, Journal of the Science of Food and Agriculture, 85 (12), 2005, str. 2021-2026. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2205>
- Marković K., Hruškar M., Vahčić N.: Stability of lycopene in tomato purée during storage, Acta Alimentaria, 36 (1), 2007, str. 89-98. <https://doi.org/10.1556/aalim.36.2007.1.10>
- Gärtner Ch., Stahl W., Sies H.: Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes, The American Journal of Clinical Nutrition, 66 (1), 1997, str. 116-122. <https://doi.org/10.1093/ajcn/66.1.116>
- Cucu T., Huvaere K., Van Den Bergh M.-A., Vinkx Ch., Van Loco J.: A Simple and Fast HPLC Method to Determine Lycopene in Foods, Food Analytical Methods, 5, 2012, str. 1221-1228. <https://doi.org/10.1007/s12161-011-9354-6>
- Daood H. G., Bencze G., Palotás G., Pék Z., Sidikov A., Helyes L.: HPLC Analysis of Carotenoids from Tomatoes Using Cross-Linked C18 Column and MS Detection, Journal of Chromatographic Science, 52 (9), 2014, str. 985-991. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmt139>
- Lucini L., Pellizzoni M., Baffi C., Molinari G. P.: Rapid determination of lycopene and β -carotene in tomato by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry, Journal of the Science of Food and Agriculture, 92 (6), 2011, str. 1297-1303. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4698>
- Takehara M., Nishimura M., Kuwa T., Inoue Y., Kitamura Ch., Kumagai T., Honda M.: Characterization and Thermal Isomerization of (all-E)-Lycopene, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 6 (1), 2014, str. 264-269. <https://doi.org/10.1021/jf404497k>

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.

Kontaktní adresa:

Mgr. Marie Pokorná Bartošková,
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.,
Radiová 1285/7, 102 00 Praha,
Email: marie.pokorna@vupp.cz

VYUŽITÍ BAZALKY POSVÁTNÉ DO POTRAVIN

The application of *Ocimum sanctum* into the foods

Rysová J., Houška, M., Novotná, P., Laknerová, I., Strohalm J.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Abstrakt

Bazalka posvátná (*Ocimum sanctum*) je tradiční léčivá bylina v oblasti jižní a jihovýchodní Asie, která se vyznačuje širokými léčebnými a profylaktickými účinky. Z natě bazalky byl připraven bylinný homogenát ošetřený přídatkem kyseliny askorbové a vysokotlakou pasterací při 410 MPa. Z homogenátu byl připraven bazalkový sirup, homogenát byl přidán do ovocného džemu. Sirup i džemy byly senzorycky hodnoceny s velmi dobrými výsledky. V jogurtových dipech homogenát z bazalky nahradil v rámci reformulace část přidané soli, intenzita slané chuti byla dále závislá na obsahu tuku nebo bílkovin v jogurtové matici. Při extrakci homogenátu vodným roztokem etanolu byly získány optimální podmínky pro získání extraktu s maximální antioxidační aktivitou.

Klíčová slova: bazalka posvátná, *Ocimum sanctum*, homogenát, potraviny, antioxidační aktivita

Abstract

Holy basil (*Ocimum sanctum*) is a traditional medicinal herb in the region of South and Southeast Asia, which is characterized by broad therapeutic and prophylactic effects. Herbal homogenate treated with ascorbic acid and high pressure at 410 MPa was prepared from the basil leaves and stem. Basil syrup was prepared from the homogenate, the homogenate was added also into the fruit jam. The syrup and jams were sensory evaluated with very good results. In yoghurt dips basil homogenate replaced part of the added salt within the reformulation trends. The intensity of the salty taste depended also on the fat or protein content in the yoghurt matrix. The optimal conditions to obtain an extract with maximum antioxidant activity were obtained by extraction the homogenate with an aqueous solution of ethanol.

Key words: holy basil, tulsi, *Ocimum sanctum*, homogenate, foods, antioxidant activity

Úvod

Bazalka posvátná (*Ocimum sanctum*, tulsi, holy basil) je jedno až víceletá bylina z čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*) dorůstající výšky 30-60 cm, výjimečně až 100 cm. Lodyha je vzpřímená, větvená, listy vstřícné se zelenou (Rama tulsi) nebo nafialovělou barvou (Krishna tulsi) a charakteristickou vůní. Pochází z jižní a jihovýchodní Asie, je využívána jako léčivá rostlina hlavně v Indii, arabských zemích, Indonésii a tichomořských ostrovech, ale dnes se už pěstuje po celém světě. Významné postavení má bazalka posvátná v tradiční ajurvédské medicíně. Používají se všechny části rostliny, tj. listy nebo celá natě, kořeny, květy i semena. V sušině listů je obsaženo 39,58 % sacharidů, 20,64 % bílkovin a 3,6 % tuku, vitamin C 65,41 mg/100 g a fenolické látky 1,88 mg/g (Joshi 2017).

Tato bazalka má specifickou vůni způsobenou esenciálním olejem koncentrovaným v listech. Kromě toho bazalka obsahuje alkaloidy, glykosidy, saponiny a karoteny (Garg a kol. 2019). Esenciální oleje bazalek jsou komplexní směsi 20-60 složek obsažených v různém poměru. Jedná se o celou řadu silic vonících po hřebíčku a skořici. Jsou pro ně typické 2-3 složky s obsahem vyšším jak 20 %. Obsaženy jsou terpenické uhlovodíky, terpenoidy, alkoholy, alifatické aldehydy a aromatické fenoly (Pandey a kol. 2014). Aroma zelené bazalky obsahovalo například 41,7 % eugenolu 3,8 % limonenu a 24,4 % karyophyllenu. U červené

bazalky pak bylo v aromatu nalezeno více eugenolu – až 77,5 %. Jiní autoři uvádějí mimo jiné obsah methyleugenolu, beta-elemenu, dále copaen, cubeben, germacren D, citral, metylchavikol, chavikol či chavibetol. Významnou účinnou látkou je ursolová kyselina. Z fenolických látek jsou obsaženy kyselina gallová, chlorogenová, p-hydroxybenzoová, kávová, kumarová, sinapová a ferulová (Tangpao a kol. 2018, Hussain a kol. 2017, Verma 2016).

Olej je získáván i ze semen (fixed oil) a dominuje v něm kyselina palmitová, stearová, olejová, linolová a linolenová (Singh a kol. 2007). Řada látek v bazalce posvátné vykazuje vysokou antioxidační aktivitu (Keshari a kol. 2016). Bazalka posvátná má v tradiční medicíně velmi pestré využití, které zahrnuje mimo jiné prevenci a léčbu nachlazení a respiračních infekcí, malárie, zažívacích potíží, hojivé účinky při poranění, ale také únavu, podporu imunitního systému a antistresové působení (Mondal a kol. 2009). Poznatky tradiční medicíny se ověřují v řadě studií antimikrobní aktivity proti bakteriím, plísním, virům i prvokům jako pomoc v případě antibiotické rezistence (Mallikarjun a kol. 2016, Gadiyar a kol. 2017), testuje se i případná protinádorová aktivita, využití při diabetu, hypertenzi a v léčbě psychických problémů (Kadian a Parle 2015, Venkatachalam a Muthusamy 2018, Navrátilová a Patočka 2015). Bazalka posvátná je uvedena na tzv. on hold seznamu Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (SZÚ 2013).

Celkově je bazalka považována za tzv. adaptogen, tj. za zdroj látek mírnících následky stresu a nadměrné fyzické námahy. Bazalka je aplikována ve formě čajů, tinktur, esenciálního oleje, extraktů v doplňcích stravy a v kosmetice. Přestože nebyly při užívání prokázány toxické účinky, nedoporučuje se těhotným nebo kojícím ženám a malým dětem (WHO 2002). V potravinářství je bazalka posvátná využitelná jako koření, ale zkouší se i jako prostředek prodlužující údržnost potravin (Anand a kol. 2016, 2018). Cílem naší práce bylo najít možnost využití bazalky posvátné do potravin a doplňků stravy přijatelných pro konzumenty a zachovat její zdravotní benefity.

Materiál a metody

Nať bazalky posvátné byla získána z pokusných porostů VÚRV, v.v.i. v Praze – Ruzyni. Nať byla po vytržení tvrdých stonků homogenizována s přídavkem vody mixerem Coupe R 301, případně byla z důvodu lepší stability (úprava na cca pH 4) přidána kyselina askorbová v množství 21 g/kg. Homogenáty byly naplněny do Al/PE obalů, vakuově uzavřeny a ošetřeny vysokým tlakem 410 MPa po dobu 10 minut s teplotou vzorků na 20 °C na vysokotlakém lisu CYX 6 / 0103 (ŽĎAS a.s.). Skladovány byly v chladu.

Ostatní suroviny na přípravu potravin byly nakoupeny v obchodní síti.

Při přípravě extraktů z bazalkového homogenátu bylo 5-10 g homogenátu (bez přídavku vody a kyseliny askorbové, tj. pH 6,24) extrahováno pod zpětným chladičem vodou nebo 40-80 % lihovým roztokem při teplotě 25-85 °C po dobu 1-3 hodin. Výsledné roztoky byly doplněny na objem 100 ml, filtrovány a zamraženy. V extraktech byla stanovena antioxidační aktivita.

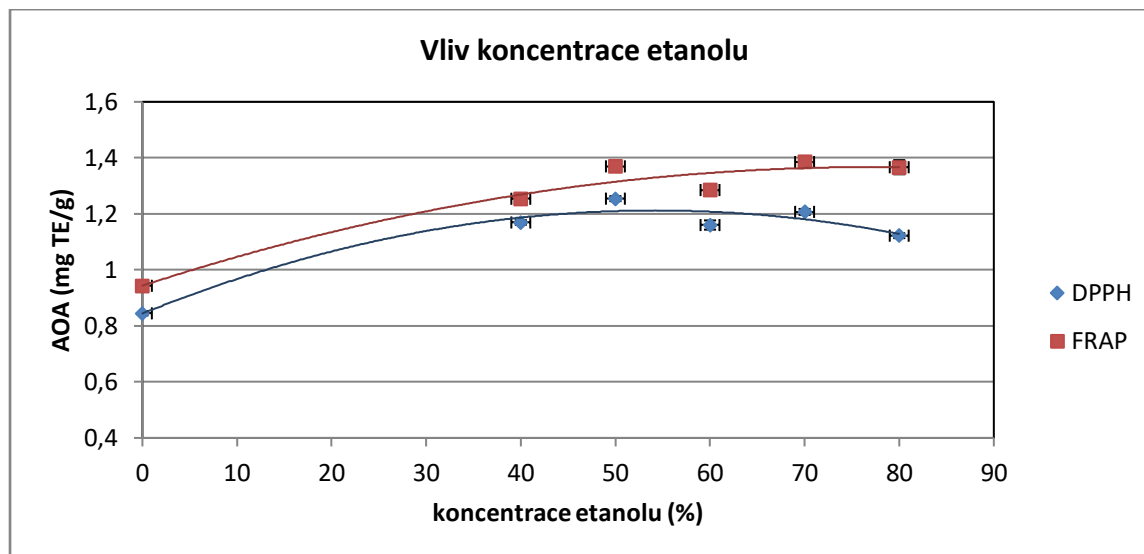
Sušina byla stanovena sušením při 105 °C, *antioxidační aktivita* (dále AOA) metodami FRAP a DPPH. Výsledky AOA jsou průměrem 4 paralelních stanovení.

Senzorické hodnocení probíhalo ve specializované laboratoři. Byla použita stupnicová metoda s grafickou stupnicí (úsečka 100 mm). Součástí statistického vyhodnocení je Shapiro-Wilkův test normality (na hladině významnosti 5 %), test odlehlosti výsledků podle Dean-Dixona ($Q_{krit11} = 0,338$; $Q_{krit10} = 0,349$ (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$)). V případě bazalkového sirupu byla zvolena stupnicová metoda s pětibodovou kategorovou ordinální stupnicí hédonického a intenzitního typu a při vyhodnocení byla sledována četnost jednotlivých stupňů daného hodnocení.

Výsledky a diskuze

Jednou z možností využití bazalky posvátné je extrakce účinných látek do vody nebo různě koncentrovaných roztoků etanolu nebo jiných organických rozpouštědel. Při práci jsme vycházeli ze zkušeností získaných s jinými bylinami. Přesto bylo třeba ověřit nejvhodnější podmínky pro extrakci do roztoku etanolu, kdy jsou extrahovány mimo jiné fenolické látky a barviva, která se podílejí na vysoké antioxidační aktivitě (Keshari a kol. 2016, Garg a kol. 2019). Navážka 10 g homogenátu/100 ml roztoku a teplota extrakce 85 °C se osvědčila v minulosti například u levandule, tymiánu nebo máty. Jak je zřejmé z grafu 1, optimální koncentrace etanolu dosahuje cca 55-65 %.

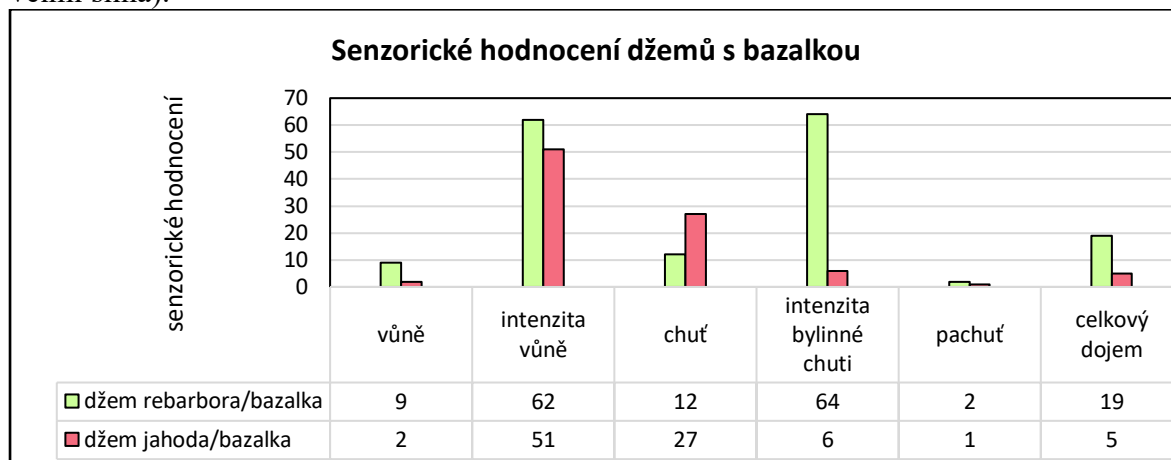
Graf 1: Závislost antioxidační aktivity na koncentraci etanolu



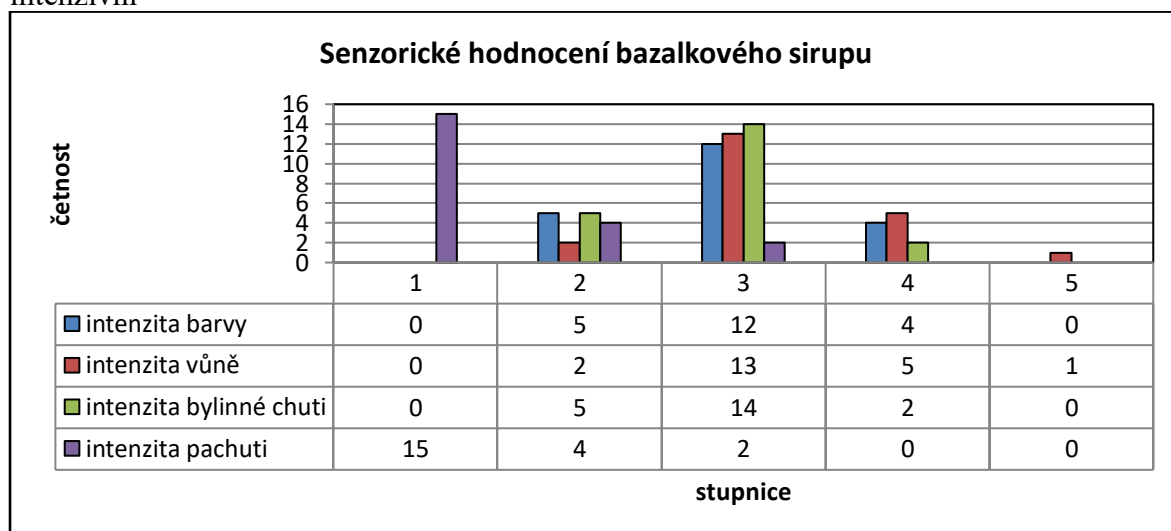
Homogenát bazalky posvátné byl přidán v množství 1,3 % do jahodového a 1,95 % do reveňového džemu. Výsledné pH jahodového džemu bylo 3,07 a refrakce 60,1 %, pH reveňového džemu bylo 3,21 a refrakce 67,2 %. Hodnocení všech sledovaných senzoričských deskriptorů bylo u analyzovaných vzorků džemu velmi dobré, žádný z uvedených znaků nepřesáhl hranici 50 bodů. Výsledné hodnoty se pohybovaly v rozmezí 7 - 27 bodů. Jahodový džem měl příjemnější vůni a minimální intenzitu pachuti i bylinné chuti, což bylo dáno nižší dávkou bazalkového homogenátu a intenzivním aromatem jahod. Vůně reveňového džemu byla více určena bazalkou, ale celkový senzoričský dojem byl stále velmi příznivý (Graf 2).

Z bazalkového homogenátu byl připraven v poloprovozních podmínkách firmy Ing. Pavel Cvrček, s.r.o. sirup obsahující 43% podíl bazalkového výluhu. Sirup měl pH 2,94, obsah sacharidů 54 %, z toho cukrů 45 %. Senzorické hodnocení sirupu je součástí ročního skladovacího pokusu, prezentujeme tedy pouze úvodní část. Hodnocení sirupu probíhalo s účastí většího počtu hodnotitelů (n=21), včetně neškolených osob. Proto byla zvolena jednoduchá pěti bodová verze stupnicové metody, kde se jako kritérium používala četnost jednotlivých stupňů hodnocení (viz Grafy 3 a 4). Z obrázků je patrné, že většina hodnotitelů ohodnotila bazalkový sirup velmi kladně, v rozmezí dobrý – výborný.

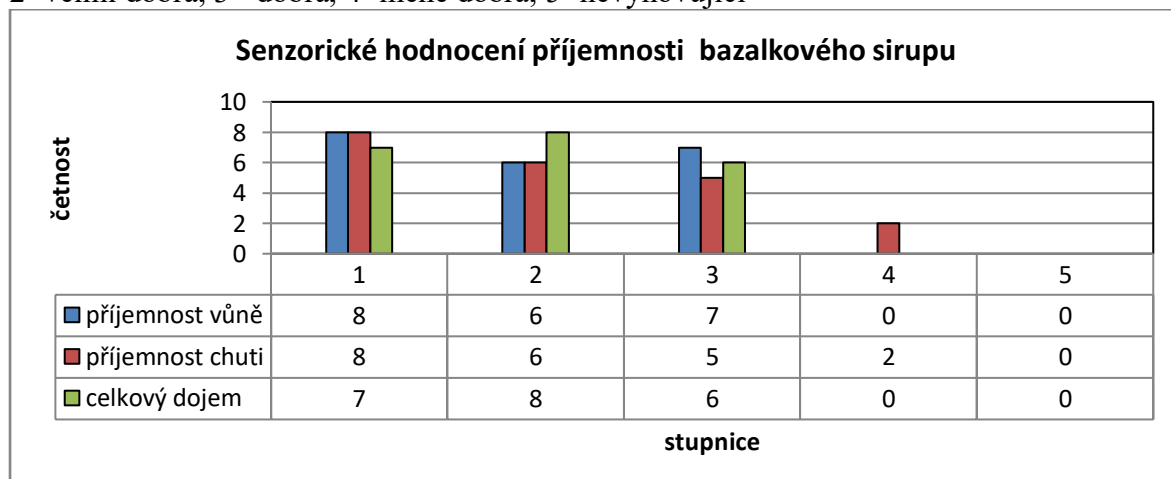
Graf 2: Výsledky senzorického hodnocení džemů s vyloučením odlehlých výsledků dle Dean-Dixonova testu (stupnice 0 – 100 bodů: vůně, chuť a celkový dojem 0 = vynikající, 100 = velmi špatný; intenzita vůně, intenzita bylinné chuti, intenzita pachuti 0 = nepřítomna, 100 = velmi silná).



Graf 3: Senzorické hodnocení bazalkového sirupu – intenzity jednotlivých parametrů. Stupnice 1=neznatelná, 2=málo intenzivní, 3=středně intenzivní, 4=dosti intenzivní, 5=velmi intenzivní



Graf 4: Senzorické hodnocení příjemnosti bazalkového sirupu. Stupnice 1=výborná, 2=velmi dobrá, 3= dobrá, 4=méně dobrá, 5=nevyhovující



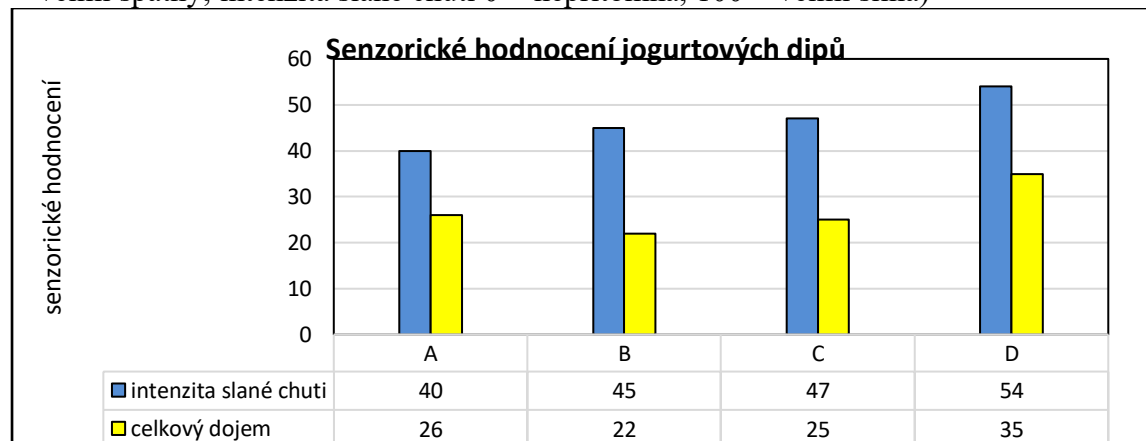
Přídavek homogenátu z bazalky posvátné byl vyzkoušen také jako částečná náhrada soli v jogurtových dípech. Běžné komerční výrobky obsahují 1,5 - 2,3 % soli, přitom v současné době je snaha v rámci reformulací receptur potravinářských výrobků snižovat obsah soli a omezit její příjem na 5 - 6 g/den. Na přípravu dipů byly využity různé typy bílých jogurtů, dále se receptura skládala z česneku, oleje, 2 g bazalkového homogenátu a 0,8 g soli na 100 g jogurtu. Charakteristika jednotlivých typů jogurtu je uvedena v Tab. 1, jedná se o údaje získané z obalu výrobků. Pozornost je třeba věnovat zejména obsahu tuku a bílkovin, protože tyto složky měly vliv na vnímání intenzity slané chuti. Rozdíly v obsahu soli v původních jogurtech byly z hlediska vlivu na senzorické hodnocení zanedbatelné.

Tab. 1: Nutriční složení jednotlivých jogurtů

Kód	Jogurt	Tuk (%)	Bílkoviny (%)	Sůl (%)
A	Hollandia	3,8	3,7	0,12
B	Zorba	10,1	3,2	0,11
C	Skyr	0,3	12,0	0,08
D	Hollandia Jarmark	0,1	3,8	0,15

Nejlepší senzorický dojem zanechal dip ze smetanového jogurtu, naopak nejhůře působil dip z nízkotučného jogurtu. Ve vzorku D byla také pocítována nejvyšší intenzita slané chuti. Mezi vzorky B a C je nevýznamný rozdíl. Příčinou dobrého celkového hodnocení je patrně vyšší sušina jogurtů daná u vzorku B vysokým obsahem tuku a u vzorku C vysokým obsahem bílkovin. S podobnou situací se velmi pravděpodobně setkáme i při ochucování pomazánek, majonéz nebo omáček.

Graf 5: Výsledky senzorického hodnocení jogurtových zálivek s vyloučením odlehlých výsledků dle Dean-Dixonova testu (stupnice 0 – 100 bodů: celkový dojem 0 = vynikající, 100 = velmi špatný; intenzita slané chuti 0 = nepřítomna, 100 = velmi silná)



Závěr

Bazalka posvátná je léčivá bylina s rozmanitou možností využití. Byl připraven bazalkový homogenát ošetřený vysokým tlakem a byly vyzkoušeny možnosti využití homogenátu do potravin. Byly ověřeny optimální podmínky extrakce látek s vysokou antioxidační aktivitou z bazalkového homogenátu do roztoku etanolu. Bazalkový homogenát byl s úspěchem přidán do ovocného džemu. V jogurtového dipu homogenát umožnil snížit obsah přidané soli, intenzita slané chuti se měnila v závislosti na složení jogurtu. Senzorické hodnocení sirupu poloprovodně

připraveného z homogenátu naznačuje možnosti praktického využití homogenátu jako ochucující a částečně i konzervující složky v potravinách.

Použitá literatura

- Anand, S., Grover, Ch. R., Beniwal, A.: Evaluation of *Ocimum sanctum* Essential Oil as Potential Preservative for Fermented Dairy Products. J. Pure Applied. Microbiol., 10(4), 2016, 2763-2771.
- Anand, S., Gaare, M., Saini, P., Beniwal, A., Grover, Ch. R.: Synbiotic Yogurt Supplemented with *Ocimum sanctum* Essential Oil. Int. J. Current Microbiol. Applied Sci., 7(3), 2018, 1250-1262.
- Gadiyar, A., Ankola, A. V., Rajpurohit, L.: Evaluation of the Antimicrobial Activity of *Ocimum Sanctum* L. (Tulsi) Extract against *Streptococcus Mutans* and *Lactobacillus Acidophilus* - An in Vitro Study. Int. J. Health Sci. Res., 7(4), 2017, 224.
- Garg, P., Garg, R.: Phytochemical screening and quantitative estimation of total flavonoids of *Ocimum sanctum* in different solvent extract. Pharma Innov. J, 8(2), 2019, 16-21.
- Hussain, A. I., Chatha, S. A. S., Kamal, G. M., Ali, M. A., Hanif, M. A., Lazhari, M. I.: Chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from *Ocimum sanctum*. Int. J. Food Properties, 20(7), 2017, 1569-1571.
- Joshi, R. K.: Phytoconstituents, traditional, medicinal and bioactive uses of Tulsi (*Ocimum sanctum* Linn.): A review. J. Pharm. Phytochem., 6(2), 2017, 261-264.
- Kadian, R., Parle, M.: Antipsychotic Potentials of *Ocimum sanctum* Leaves. Int. J. Pharm. Sci Drug Res., 7(1), 2015, 46-51.
- Keshari, A. K., Srivastava, A., Verma, A. K., Srivastava, R.: Free Radicals Scavenging and Protein Protective Property of *Ocimum sanctum* (L). British J. Pharm. Res., 14(4), 2016, 1-10.
- Mallikarjun, S., Rao, A., Rajesh, G., Shenoy, R., Pai, M.: Antimicrobial efficacy of Tulsi leaf (*Ocimum sanctum*) extract on periodontal pathogens: An *in vitro* study. J. Indian Soc. Periodontol., 20(2), 2016, 145–150.
- Mondal, S., Mirdha, B. R., Mahapatra, S. C.: The science behind sacredness of *tulsi* (*OCIMUM SANCTUM* LINN.). Indian J. Physiol. Pharmacol., 53 (4), 2009, 291–306.
- Navrátilová, Z., Patočka, J.: Bazalka posvátná a její účinky na nervový systém. Psychiatrie, 19(2), 2015, 85-89.
- Pandey, A. K., Singh, P., Tripathi, N. N.: Chemistry and bioactivities of essential oils of some *Ocimum* species: an overview. Asian Pac. J. Trop. Biomed., 4(9), 2014, 682-694.
- Singh, S., Taneja, M., Majumdar, D. K.: Biological activities of *Ocimum sanctum* L. fixed oil – An overview. Ind. J. Experimental. Biol., 45, 2007, 403-412.
- Tangpao, T., Chung, H. H., Sommano, S. R.: Aromatic Profiles of Essential Oils from Five Commonly Used Thai Basils. Foods 2018, 7, 175.
- Venkatachalam, G., Muthusamy, A.: Phytochemical evaluation and anticancer activity of *Ocimum sanctum* L. - A review. J. Pharm. Res., 112(7), 2018, 917-92
- Verma S. Chemical constituents and pharmacological action of *Ocimum sanctum* (Indian holy basil-Tulsi). J. Phytopharmacol, 5(5), 2016, 205-207.
- WHO Monographs on Selected Medicinal Plants Vol. 2. WHO 2002. 362 p.
- Zdravotní tvrzení.** Základní informace k používání zdravotních tvrzení na obalech potravin a v reklamě na potraviny. SZÚ 2013, přístup říjen 2020.
<http://www.szu.cz/tema/bezpecnost-potravin/zdravotni-tvrzeni>

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu METROFOOD-CZ, grant MŠMT: LM2018100 a za podpory projektu NAZV QK1910103

Kontaktní adresa

Ing. Jana Rysová, Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.,
Radiová 7, 102 00 Praha 10 Hostivař
Email: j.rysova@vupp.cz

<i>Název publikace:</i>	Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů
<i>Druh publikace:</i>	Vědecká příloha časopisu Úroda 12/2020
<i>Autoři publikace:</i>	Kolektiv autorů dle obsahu
<i>Editor:</i>	Ing. Barbora Badalíková Ing. Ivana Šindelková
<i>Náklad:</i>	5. 500 výtisků
<i>Forma:</i>	CD
<i>Vydal:</i>	Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko a časopis Úroda