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 12/2021, vědecká příloha časopisu

Hlavní mediální partneři konference

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

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

Úroda 12/2021, vědecká příloha časopisu

Editor:
Ing. Barbora Badalíková
Ing. Jakub Prudil

Organizační výbor:

Ing. Barbora Badalíková - předseda
Ing. Pavel Kolařík
Ing. Jaroslav Lang, Ph.D.
Ing. Jakub Prudil
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 ml., Ph.D.
Ing. Pavel Kolařík
Ing. Petr Míša, Ph.D.
Ing. Jan Pelikán, CSc.
Ing. Karel Vejražka, Ph.D.
Mgr. Tomáš Vymyslický, Ph.D.

Příspěvky byly recenzovány členy vědeckého výboru

Doporučená citace příspěvků:
Autoři příspěvků: Název příspěvku. Úroda 12, roč. LXIX, 2021, vědecká příloha, s. od – do

ISSN 0139-6013

OBSAH

Úvodní slovo 9

Přednášky

Hauptvogel P., Korchanová Z., Valárik M., Zahradníková E. , Švec M.: Markermi asistovaná selekcia (MAS) - jednoduchý nástroj na zlepšenie tolerancie pšenice na sucho 11

Holubec V., Dvořáček V., Leišová Svobodová L, Matějovič M.: Morfologické, genetické a biochemické hodnocení kolekce Dasypyrum villosum (L.) P. Candargy 19

Švec M. , Korchanová Z. ,Valárik M., Zahradníková E. , Hauptvogel P.: Karpatská rezistencia – nádejný genetický zdroj pre biologickú ochranu pšenice voči múčnatke trávovej 27

Drápalová I., Trněný O., Matoušková M., Macháč R.: Asociační analýza (GWAS) odrůd a klonů mezirodového křížence ×Festulolium a identifikace SNP markerů pro genomickou selekci hospodářsky významných znaků..... 33

Kubíková Z., Smejkalová H., Hutyrová H., Šafář J.: Výsledky desikačních pokusů u štírovníku růžkatého: hodnocení účinnosti zkoušených účinných látek a jejich kombinací 43

Ondráčková E., Seidenglanz M., Arbeláez M. M., Smýkalová I., Klem K., Fajmon L.: Vliv složení porostu na disperzi škodlivých organismů a prostorovou asociaci mezi nimi..... 51

Seidenglanz M., Muñoz-Arbeláez M., Ondráčková E., Smýkalová I., Šafář J.: Nalákat a zadržet: způsob, jak kontrolovat disperzi zrnokaza hrachového v porostu..... 59

Macháč R., Cabáková M., Petřeková P.: Tolerance trav pěstovaných na semeno vůči vybraným herbicidům..... 67

Rožnovský, J., Střeštík, J.: Změny teploty vzduchu za posledních 30 let na území České republiky..... 75

María Muñoz-Arbeález, Marek Seidenglanz, Petr Heděnec: Effects of intercropping field pea (pisum sativum) and spring barley (hordeum vulgare) on weed suppression and yield parameters on field pea..... 81

Smutný V., Rábek M., Elzner P.: Produkce biomasy podsevových meziplodin pěstovaných v kukuřici..... 89

Holátko J., Hammerschmiedt T., Látal O., Kintl A., Veselý A., Brtnický M.: Vliv přídavku biouhlu a bentonitu na kvalitativní parametry digestátu 95

Čížek M., Komárková Z.: Výsledky pěstování brambor v podmínkách technologie aeroponie v letech 2019 – 2021 103

Kováříková E., Rysová J.: Fermentované zeleninové směsi jako alternativní zpracování i nestandardní zeleniny..... 111

Bjelková M.: Vliv ročníku na obsah tuku v semenech odrůd olejného lnu 119

Postery

Sekce „Šlechtění“

Bilavčík A., Faltus M., Zámečník J.: Vyhodnocení odolnosti generativních orgánů odrůd a perspektivních genotypů meruňky k mrazům v průběhu jejich jarní ontogeneze 125

Bilavčík A., Hammond Hammond S., Faltus M., Zámečník J.: Kryoprezervace in vitro kultury maliníku pomocí vitrifikačního postupu. 131

Faltus M., Domkářová J., Horáčková V., Bilavčík A., Zámečník J.: Otužení explantátů bramboru vůči působení kryogenních teplot 135

Frei I., Hutyrová H., Pelikán J.: Porovnání výkonnosti českých a srbských odrůd jetele lučního 141

Hoštičková I., Vráblová M. , Hejna O., Čurn V.: Využití metody SPRi pro studium reakce rostlin máku na stres suchem, ... 145

Jozová E., Stará M., Rychlá A., Čurn V.: DNA barcoding a traceabilita novošlechtění máku 149

Kosová K., Vítámvás P., Prášil I.T.: Hodnocení odolnosti souboru ozimých pšenic (Triticum aestivum L.) vůči suchu 157

Krobotová E., Dostálová R., Seidenglanz M, Muñoz Arbeláez M, Šafář J.: Hledání zdrojů rezistence u rodu Pisum sp. proti škodlivým organismům je běh na dlouhou trať 165

Ludvíková M., Griga M., Prokopová M., Hudzieczek V.: Transformace lnu s využitím TALENs 173

Nešporová T., Vítámvás P., Renaut J.: Rostlinná vodní strategie „plýtvač a šetřič“: metabolomické a proteomické objasnění reakce pšenice na sucho 181

Prokopová M., Bjelková M.: Hodnocení vlivu sucha na hospodářské parametry vybraných genotypů lnu 189

Prokopová M., Seidenglanz M., Ondráčková E., Munoz-Arbeláez M., Šafář J.: Hodnocení napadení genových zdrojů hrachu (Pisum sativum L.) zrnokazem hrachovým (Bruchus pisorum L.) 195

Leišová-Svobodová L., Stavělíková H., Zámečník J.: Identifikace odrůd česneku pomocí analýzy mikrosatelitů 205

Votavová A.: Hibernace čmeláka zemního (Bombus terrestris) v laboratorním chovu 211

Zámečník J., Domkářová J., Lukáš J., Faltus M., Švecová R., Ptáček J.: Fyziologické charakteristiky jednotlivých trsů novošlechtění bramboru získané z bezpilotního multispektrálního snímání 217

Žďárská I., Rejlová M., Podlipný J., Vávra R., Čmejlová J.: Uplatnění markery asistované selekce ve šlechtění jabloní 223

Sekce „Rostlinolékařství“

Kopecký P., Frei I., Brus J., Balarynová J., Smýkal P.: Dormance a klíčivost semen rostlin z čeledi fabaceae 231

Frydrych J., Bradáčová L.: Nové herbicidy na ochranu rostlin do pohanky seté 239

Jílková B., Víchová J., Pokorný R.: Účinnost vybraných silic druhů z čeledi Lamiaceae k patogenu Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum 245

Kmoch M., Nevolová H., Jílková B., Pokorný R., Vacek J.: Vliv vybraných rostlinných silic na růst mycelia houby Rhizoctonia solani Kühn, 1858..... 251

Kolařík P., Kolaříková K.: Citlivosti nosatčíků rodu Apion k účinným látkám insekticidů v letech 2018 – 2020 259

Kolařík P., Kolaříková K.: Dynamika populace bázlivce kukuřičného (Diabrotica virgifera virgifera LeConte) na vybraných lokalitách jižní Moravy..... 265

Macková H., Horáček J., Ludvíková M., Dostálová R.: Screening genotypů hrachu na odolnost k virům PEMV a PSbMV..... 271

Rožnovský J., Muška A., Muška F., Mušková A.: Dynamika hospodářsky významných výskytů mandelinky bramborové (Leptinotarsa decemlineata) v bramboru v České republice v letech 1945–2020 279

Růžek P., Kusá H., Mühlbachová G., Vavera R.: Emise co2 a ztráty vody z půdy po různém zpracování před setím ozimů..... 285

Rychlá A., Plachká E., Gališová V.: Rozdíly v meziodrůdové citlivosti hořčice bílé k napadení semen houbovými patogeny 291

Smejkalová H., Kubíková Z.: Herbicidní ochrana lničky seté..... 299

Šafář J., Plachká E., Seidenglanz M.: Vlivy snižující účinnost fungicidů vůči bílé hnilobě řepky (Sclerotinia sclerotiorum)..... 307

Walterová L., Tonka T., Hejna O., Čurn V.: Mykoviry hub r. Armillaria jako potencialní biopreparáty?..... 315

Winkler J., Vaverková M.D., Černý M., Hurajová E., Děkanovský I., Havel L.: Hodnocení vegetace rekultivované skládky z pohledu rizika vzniku požáru..... 321

Žabka M. , Pavela R.: Inhibiční efekt vybraných alternativních nízkorizikových látek proti Phytophthora infestans s dominancí chitosanu 329

Sekce „Technologie pěstování plodin a ekologie“

Badalíková B., Vašinka M., Prudil J.: Změny půdní struktury na svažitých pozemcích..... 335

Boturová K., Prudil J., Pospíšilová L., Horáková E.: Změny vybraných půdních vlastností po zatravnění a zalesnění orné půdy..... 341

Čížková A., Burg P., Mašán V., Zemánek P.: Aplikace peletizovaného kompostu ve vinicích 347

Dryšlová T., Smutný V., Rábek M.: Hodnocení vybraných půdních vlastností při pěstování kukuřice seté (Zea mays l.) s podsevovými plodinami 353

OBSAH

Ferby V., Kopta T.: Hodnocení alternativních substrátů pro hydroponické pěstování zeleniny s různou úrovní hnojení 359

Frydrych J., Jezerská L., Bradáčová L., Sassmanová V., Zegzulka J.: Výzkum a využití trav pro energetické účely 367

Haberle J., Moulík M., Svoboda P., Raimanová I., Kurešová G.: Efektivnost využití vody u pšenice ve srážkově odlišných letech 2018–2021 375

Hammerschmiedt T., Holátko J., Húska D., Škarpa P., Kintl A., Brtnický M.: Aplikace různých druhů elementární síry a ovlivnění aktivity půdních mikroorganismů 383

Janovská D., Mühlbahová G., Capouchová I., Vavera R., Hlásná Čepková P.: Pěstování pšenice ve směsných kulturách s leguminózami pro zvýšení kvality zrna 391

Horniaček I., Lukas V., Neudert L., Duffková R., Smutný V.: Vyhodnotenie družicového a bezpilotného prieskumu pre plošný monitoring stavu porastov obilnín 399

Hutyrová H. , Frei I., Pelikán J.: Porovnání vybraných znaků kozince cizrnovitého a kozince sladkolistého 407

Jágr M., Dvořáček V., Čermák P., Schilling B., Hangen E.: Stanovení pesticidů triazinového a neonikotinoidového typu ve vzorcích archivních a recentních půd metodou uhplc-ms/ms 411

Jambor V., Janoušek J., Marcoň P., Dohnal P., Raichl P., Synková H., Loučka R.: Odhad doby sklizně kukuřice s využitím multispektrální kamery 419

Jiroušek M., Frei I., Winkler J., Fabšičová M., Zdražílková M., Smetanová S., Vymyslický T.: Orba travních porostů – pohroma nebo přínos pro biodiverzitu? 427

Kobes, M., Jarošová, M.: Vliv dlouhodobého hnojení digestátem na pícninářské charakteristiky trvalého travního porostu a půdní prostředí 435

Kováč L., Porvaz P.: Vplyv aplikácie pôdneho kondicionéru prp sol na úrody amarantu (Amaranthus sp. L.) Na ťažkých pôdach 441

Kracíková M., Haňáčková Z.: In vivo testy účinnosti fungicidů proti chorobám kůry a dřeva na hostitelských rostlinách 449

Kučera J., Papaj V., Podhrázská J., Vojtěchovský T., Janoušek M.: Využití modelu WEM při modelování ohroženosti území větrnou erozí 457

Kurešová G., Raimanová I., Moulík M., Balážová K., Svoboda P.: Vliv teploty na příjem a využití nitrátové formy dusíku u pšenice jarní 465

Kusá H., Růžek P., Kasal P., Watzlová E.: Vliv různých způsobů hnojení brambor dusíkem na výnos hlíz a využití N rostlinami 471

Mayerová M., Madaras M., Stehlík M.: Možnosti a limity detekce zasolení půdy pomocí terénních přístrojů 479

Matějovič M., Hlásná Čepková P., Čurn V.: Možnosti nechemického ošetření osiv 487

Mezera J., Lukas V., Elbl J., Horniaček I., Neudert L., Smutný V.: Diagnostika výživného stavu pšenice ozimé pomocí družicových dat sentinel–2 a senzorového systému OptRx 497

Motis J., Beneš K., Rost M., Čurn V.: Identifikace přírodních látek z pylu vhodných pro zlepšení detoxifikačního mechanismu u včel 505

Mühlbachová G., Růžek P., Vavera R., Káš M., Watzlová E.: Vliv zpracování půdy na přijatelnost živin 511

Plisková J., Nerušil P., Sedlák L., Pospíšilová L., Menšík L.: Vliv hnojení (NPK, hnůj, kejda, digestát) TTP na výnos, kvalitu píce a půdu 519

Porčová L., Rábek M., Smutný V., Elzner P.: Porovnání produkce nadzemní biomasy vybraných odrůd čiroku 529

Pospíšilová L., Ryant P., Dryšlová T., Smutný V., Rábek M., Prudil J.: Vliv agrotechnických faktorů na kvalitu půdní organické hmoty 537

Prudil J., Badalíková B.: Vliv aplikační dávky digestátu na pedokompakci 543

Raab, S., Frydrych, J.: Studium klíčivosti vybraných druhů trav obalovaných metodou wasp v podmínkách simulovaného sucha..... 551

Raimanová I., Kurešová G., Haberle J., Svoboda P.: Využití dusíku a rychlost stárnutí listů během období tvorby zrna u vybraných odrůd pšenice: vliv dusíku a dostupnosti vody 559

Růžek P., Kusá H., Mühlbachová G., Vavera R.: Emise co2 a ztráty vody z půdy po různém zpracování před setím ozimů..... 565

Staveníková J., Trněný O., Malec J., Vejražka K., Hofbauer J.: Testování účinnosti kmenů dusík fixujících bakterií u cizrny beraní var. Olga 571

Svobodová A.: Netradiční plodiny pěstované v oblasti Vysočiny..... 579

Šafář J., Kubíková Z., Seidenglanz M.: Možnosti desikace porostů lnu setého (Linum usitatissimum) a svazenky vratičolisté (Phacelia tanacetifolia) 585

Vargová V., Kováčiková Z., Pangyová E., Baxa S., Dimitrov F.: Pôdne vlastnosti a esenciálne oleje v plodoch borievky 591

Vargová V., Kováčiková Z.: Trávne porasty s výskytom borievky obyčajnej 599

Vítámvás P., Holubec V., Raab S., Vymyslický T., Hlásná Čepková P.: Testování fyziologických parametrů genetických zdrojů trav pro projekt TAČR „genofondy pro města a krajinu“..... 605

Vlček V., Pospíšilová L.: Mikrobiální aktivita erozně-akumulačních ploch černozemní oblasti 611

Sekce „Kvalita a zpracování produktů“

Bárta J., Bártová V., Jarošová M., Jarošová E.: Technologické postupy zvyšující koncentraci bílkovin v produktech odvozených z výlisků olejnin..... 621

Béres T., Sestrienková A.M., Krchňák M., Novotná K., Kopecký P.: Analýza nutričně významných látek u vybraných genotypů ředkve seté..... 629

Hartman I.: Vliv odrůdy, stanoviště a ročníku na extrakt a barvu karamelového sladu 635

Hlásná Čepková P., Viehmannová I., Janovská D., Jágr M., Dvořáček V.: Nutriční a bioaktivní látky v naklíčených semenech vybraných druhů plodin 639

Jambor V, Janoušek J, Marcoň P, Dohnal P, Raichl P, Synková H, Loučka R: Predikce výživných hodnot kukuřice přímo na poli..... 647

OBSAH

Jarošová E., Jarošová M., Kyselka J., Bárta J., Lorenc F., Bártová V., Kobes M.: Hodnocení stability a možnosti ovlivnění přídavkem dl-alfa-tokoferolu u lněného a konopného oleje . 653

Lang J., Nedělník J., Loučka R., Jambor V.: Kvalita píce vojtěšky seté v podmínkách sucha 659

Némethová M., Psota V., Musilová M., Babulicová M., Ondrejovič M.: Sladovnícka kvalita vybraných odrôd jačmeňa od 19. storočia po súčasnosť 665

Pechar R., Morávková M., Kostovová I., Babák V., Staněk S., Brychta A.: Biochemická charakterizace laktobacilů z divokých a domácích prasat a vliv krmných směsí na jejich růst 671

Rysová J., Laknerová I: Možnosti snížení obsahu soli v chlebu..... 677

Švec I., Petríková E., Sluková M., Skřivan P.: Porovnání metod stanovení viskozity suspenzí základních obilných mouk 685

Úvodní slovo

Vážené dámy, vážení pánové, vážení účastníci konference,
již se stalo tradicí, že vždy v listopadu se setkáváme v Brně na mezinárodní konferenci Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů. Letos Vás v konferenčních prostorách hotelu Avanti vítáme již po **pětadvacáté.** Stalo se již také tradicí, že v prosincovém čísle časopisu Úroda najdete CD, jehož obsah tvoří desítky odborných příspěvků z různých oblastí zemědělského výzkumu. Pořadatelem konference je Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko a jeho dceřiná společnost Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko. Významnými spolupořadateli a partnery 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 již tradičně vystoupil zástupce Ministerstva zemědělství ČR. Počet odborných příspěvků je více než 100. Všechny příspěvky byly recenzovány členy vědeckého výboru konference, za což jim patří moje velké poděkování.
V době psaní tohoto úvodníku byla 21. 10. 2021 Evropským parlamentem schválena nová strategie evropské komise Od vidlí po vidličku. Byl tak završen schvalovací proces materiálu, který výrazným způsobem ovlivní budoucnost evropského i českého zemědělství. Cíle do roku 2030 kvantifikované v této strategii jsou velmi ambiciózní. Osobně jsem trochu skeptik, že jsou vůbec realizovatelné bez především ekonomických dopadů do ceny potravin i objemu produkce. Stejnou skepsi vyslovují i autoři první evropské dopadové studie publikované také v říjnu letošního roku. Na druhé straně jsou tyto cíle určitě velkou výzvou pro výzkum a šlechtění. Rychlé inovační vstupy, nové technologie či nové odrůdy mohou být alternativou. Věřím, že v souboru konferenčních příspěvků jsou již mnohé, které naznačují cestu. Precizní zemědělství, prvky biologické ochrany, nové technologie kultivace rostlin na orné půdě jsou malým příkladem. Ve sborníku není publikována, ale jako první na konferenci zazněla přednáška nositele České hlavy profesora Doležela o významu studia genetiky pro budoucí vývoj.
Znovu si dovolím na tomto místě zopakovat svůj názor, že každý si 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, účastníky konference, 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.
Dámy a pánové, přeji vám příjemný pobyt v moravské metropoli a již nyní se těším na příští setkání v roce 2022.

Jan Nedělník

Markermi asistovaná selekcia (MAS) - jednoduchý nástroj na zlepšenie tolerancie pšenice na sucho

Marker assisted selection (MAS) - a simple tool for improvement of wheat tolerance to drought

Hauptvogel P.[1], Korchanová Z.[2], Valárik M.[2], Zahradníková E.[3], Švec M.[3]

[1]Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – VÚRV Piešťany, SR
[2]Ústav experimentální botaniky AV ČR, Centrum regionu Haná, Olomouc
[3]Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, SR

Abstrakt

Súčasťou efektívnej a dlhotrvajúcej adaptácie poľnohospodárstva na klimatické zmeny by malo byť šľachtenie rastlín na toleranciu voči suchu. Jedným z mechanizmov adaptácie rastlín na sucho je produkcia dehydrínových proteínov. V našich experimentoch na toleranciu na sucho sme fenotypovali a genotypovali 167 dihaploidných línií pšenice letnej pochádzajúcich z kríženia kontrastných odrôd Venturero (tolerantná) x Aladin (citlivá). Taktiež sme sekvenovali dehydrínový gén u 67 odrôd pšenice letnej. V konzervovaných oblastiach tohto génu sme našli tri mutácie asociované s odolnosťou na sucho. Tieto mutácie sú ideálnym markerom pre sledovanie prítomnosti génu odolnosti. Introgresia mutantnej alely do nových odrôd pšenice pomocou markermi asistovanej selekcie (MAS) má veľký potenciál pre znižovanie negatívneho vplyvu sucha na produkciu pšenice.
Kľúčové slová: pšenica, šľachtenie, sucho, dehydríny, mutácia

Abstract

Stable and effective adaptation of agriculture to climate change include plant breeding for drought tolerance. One of the mechanisms of plant adaptation to drought is the production of dehydrin proteins. In our experiments, we phenotyped for drought and genotyped A 167 dihaploid lines of bread wheat were genotyped and phenotyped for drought. The dihaploid lines are originating from the cross of cultivars Venturero (drought tolerant) x Aladin (drought sensitive). Moreover, a dehydrin gene from 67 selected bread wheat varieties was sequenced. In the conserved regions of the gene, the three SNPs fully associated with drought tolerance were identified. Introgression of the mutated allele into new wheat varieties could be facilitated by marker assisted selection (MAS) what has great potential for reducing of drought negative impact on wheat production.
Key words: wheat, breeding, drought, dehydrins, marker assisted selection

Úvod

Klimatické zmeny, znížená produkcia potravín, nedostatok vody a populačný rast sú najväčšie hrozby pre ľudstvo, ktorým čelí dnešný svet. Stres zo sucha predstavuje neustálu hrozbu pre poľnohospodárske plodiny a považuje sa za vážne obmedzenie globálnej poľnohospodárskej produkcie. Je nesporné, že sucho má za následok znižovanie úrod a celkovej produktivity plodín. Negatívnymi dôsledkami sucha trpí aj pšenica (*Triticum* L.). Je plodinou, ktorá sa pestuje na najväčšej ploche (223,67 milióna hektárov v roku 2016) a je druhá najproduktívnejšia plodina s globálnou produkciou 735,3 milióna ton (USDA, 2017). Nedávne štúdie predpovedajú, že úroda pšenice poklesne o 4,1 % až 6,4 %, ak sa v dôsledku

klimatických zmien zvýši teplota o 1 °C (Liu et al., 2016). Sucho a teplo sú dva hlavné abiotické stresové faktory obmedzujúce produktivitu pšenice na celom svete, ktoré spôsobujú straty výnosov až do výšky 86 % alebo 69 % (Fischer a Maurer, 1978). Podľa najnovších údajov tímu profesora Trnku publikovaných v časopise *Science Advances* (Trnka et al., 2019) do konca tohto storočia až 60 % plôch na ktorých sa vo svete pestuje pšenica bude postihnutých dôsledkami sucha v porovnaní so súčasnými 15 % plochy. Rastliny v priebehu evolúcie vytvorili rôzne adaptačné mechanizmy, aby mohli prežívať v podmienkach sucha. Tieto adaptačné mechanizmy predstavujú buď ich morfologickú, fyziologickú, alebo molekulárnu odpoveď. Adaptáciou rastlín na molekulárnej úrovni je zvýšená tvorba mnohých molekúl, ktoré v sérii kaskádových reakcií zabezpečia expresiu transkripčných faktorov ako napr. WRKY, DREB, ERF a MYB a následnú transkripciu a expresiu efektorových proteínov predstavujúcich odpoveď rastlín na stres (Nadeem et al., 2019). K uvedeným génom podieľajúcim sa na prenose signálov v rámci reakcie rastliny na sucho patria aj gény *DREB1* a *DREB2* (dehydration responsive element binding, *ERA* gény (enhanced response to abscisic acid) a *1-FEH* (fructan 1 – eco hydrolase, ktoré boli identifikované u pšenice letnej (Edae et al., 2013). Významnú úlohu v reakcii rastlín na stres hrajú dehydríny, ktoré sú efektorovými proteínmi, a ktoré sú charakterizované ako ochrancovia buniek rastlín – ich úlohou je najmä podpora integrity membrán. Sú to vysoko hydrofilné a termostabilné proteíny, patria ku skupine proteínov označovaných ako Late Embryogenesis Abundant (LEA), akumulovaných v rastline počas environmentálneho stresu a v štádiu vývinu zrna. Expresia dehydrínov môže byť indukovaná vplyvom abiotického stresu, alebo fytohormónov ako je napríklad kyselina abscisová (ABA). Okrem sucha a ABA, môže byť expresia dehydrínov stimulovaná aj kyselinou giberelovou (GA), salinitou, alebo chladom (Kosová et al., 2014, Graether et Boddington, 2014).

Cieľom štúdie bolo poskytnúť sekvenčnú charakteristiku dehydrínového génu *DHN3* a jeho regulačných oblastí, a zistiť či polymorfizmus DNA v tejto sekvencii súvisí s toleranciou voči suchu. Našim zámerom bolo tiež zistiť, ktoré české a slovenské odrody nesú mutácie v tomto géne, aby takéto odrody mohli šľachtitelia využiť v šľachtiteľskom procese.

Materiál a Metódy

Modelovými objektmi pre skríning sekvencie dehydrínových a DREB génov boli odrody Venturero, Aladin, Seladon a Dagmar. Odroda Venturero bola prinesená autorom tohto článku z Mexika, kde bola súčasťou mnohých experimentov zameraných na toleranciu voči suchu (Miranda-Domínguez, 2016). Je súčasťou skupiny tzv. kreolských pšeníc, ktoré do Mexika priviezli španielski dobyvateľmi. Ostatné tri odrody boli vybrané na základe úrodnosti v pokusoch ÚKSUZ-u v suchom roku 2012 v porovnaní k normálnemu roku 2013 (Bohatcová et Horáková, 2012). Mapujúca populácia dihaploidných línií bola získaná metódou peľnicových kultúr z F_1 generácie kríženia Venturero x Aladin. Populácia bola vytvorená na objednávku vo firme Saaten-Union Biotec GmbH, Biotechpark Gatersleben, Nemecko. Sekvencie dehydrínových génov v genómoch A, B a D u pšenice letnej sme získali pomocou PCR analýzy s nasledovným protokolom:

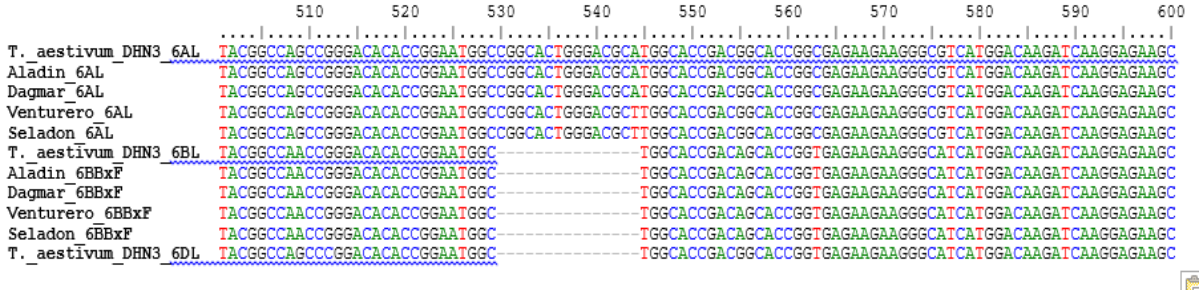
Všetky PCR reakcie sa uskutočnili v 48-jamkovom gradientovom termocykléri Bio-Rad MJ Mini v 30 µl reakčných objemoch. Reakcie obsahovali 1 µl DNA, 200 µmol zmesi deoxynukleozid trifosfátov (Solis BioDyne, Tartu, Estónsko), 0,3 µmol z každého primeru, 3 µl 10 × pufra B1, 1,5 mM MgCl2 a 1 U HOT FIREPol® DNA Polymerázy (Solis BioDyne, Tartu, Estónsko). Štandardné podmienky amplifikácie boli 95 ° C počas 15 minút počas 1 cyklu; 95 ° C počas 1 minúty, 54-55 ° C počas 30 sekúnd a 72 ° C počas 1 minúty počas 30 cyklov; a konečný krok predĺženia pri 72 ° C počas 5 minút počas 1 cyklu. V testoch PCR na detekciu

mutácie vntr/aldn bol použitý roztok „S“ pre templát bohatý na GC bázy (Solis BioDyne, Tartu, Estónsko) a protokol touch down s upravenými podmienkami hybridizácie - po počiatočnom denaturačnom cykle prebiehalo 8 cyklov pri anelačnej teplote 70 ° C - 62 ° C počas 25 s poklesom -1 ° C/cyklus, ďalších 20 cyklov malo anelačnú teplotu 62 ° C po dobu 25 s.

Výsledky a diskusia

Sekvenovanie DREB génov kontrastných odrodách neodhalilo žiadnu zmenu a preto boli DREB gény z ďalších pokusov vyradené. Sekvenovanie dehydrínových génov v genómoch A, B a D odhalilo, že iba DHN3 gén na 6A chromozóme má mutáciu v exone 2 v pozícii 495 u tolerantných odrôd Venturero a Seladon. Pôvodná báza adenínu je u tolerantných odrôd zamenená za tymínovú bázu. To, že ancestrálna je A báza dosvedčuje prítomnosť kodónu CAT u predkov pšenice, keďže je prítomný u divorastúcich druhov *Brachypodium distachyon, Hordeum spontaneum, Triticum dicoccoides,* ale aj u domestikovanej raže *Secale cereale.* Mutácia v tejto bázovej pozícii je nesynonymická (funkčná), lebo v jej dôsledku je v proteíne dehydrínu zamenená aminokyselina histidín (H) za leucín (L) a to v 129 pozícii proteínu. Mutácia sa nachádza v oblasti exonu 2, ktorá sa nazýva Ψ2 segment a nachádza tesne pred KIKEKLPG doménou (Ucarli, 2016). Funkcia génu môže byť tiež ovplyvnená prítomnosťou regulačných elementov v sekvenciách exónov (Stergachis et al., 2013). V blízkosti mutácie (4 bp) je rozpoznávacie miesto pre DRE element ACCGAC (na ktorý nasadá DREB transkripčný faktor. Blízkosť SNP a rozpoznávacieho miesta regulátoru má veľký potenciál ovplyvňovať transkripciu. Interakcie exónov s promótormi a enhancermi boli preukázané aj v ľudskom genóme (Mercer et al., 2013). Sekvencia oblasti génov *DHN3* kde sa popísaná mutácia vyskytuje, je uvedená na obr. 1. U génov *DHN3* na 6BL a 6DL chromozómoch sa v oblasti Ψ2 segmentu nachádza delécia, čo nasvedčuje ich pravdepodobnú funkčnú diferenciáciu

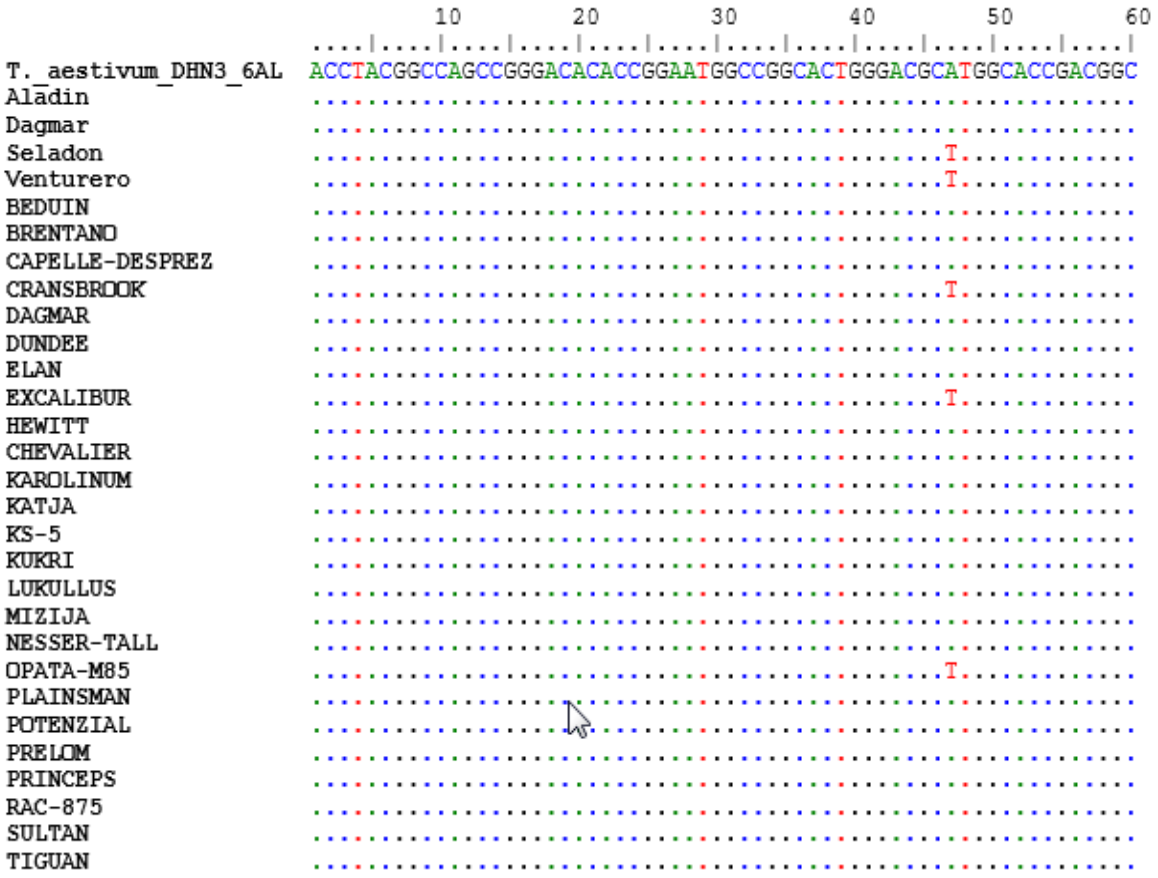
Obr. 1: Sekvencia génu *DHN3* na chromozómoch 6AL, 6BL a 6DL u 4 testovaných odrôd Venturero, Seladon, Aladin, Dagmar a u Chinese Spring – vzorka Traes CS6A02G350700 (www.gramene.org). Poznámka: číslovanie nukleotidových báz (1. riadok) sa na tomto obrázku nezačína od štartovacieho kodónu.



Výsledky na obr. 1 naznačili, že mutácia v exone 2 je u pšenice letnej asociovaná s toleranciou voči suchu. Mutácia bola identifikovaná aj u ďalších troch odrôd zo súboru TaS (tolerantné a senzitívne k suchu), ktorý bol vytvorený na základe výsledkov ÚKZUZ-u z rokov 2012 a 2013 a takisto na základe literárnych údajov (obr. 2). Sú to austrálske odrody Excalibur a Cranbrook, a mexická odroda Opata M85. Odroda Excalibur bola použitá ako donor tolerancie voči suchu v experimentoch s genomickou selekciou (Fleury et al., 2010). V štúdii Nguyena et al. (2019) bola sledovaná dynamika rastu nadzemnej biomasy a bolo potvrdené, že odroda Excalibur mala najvyššie hodnoty úrody spomedzi 15 testovaných kultivarov

pestovaných pri nízkom a optimálnom hnojení dusíkom. To podporuje predpoklad, že zvýšená expresia mutantnej alely *DHN3* môže tiež prispievať k vyššej účinnosti dusíka.

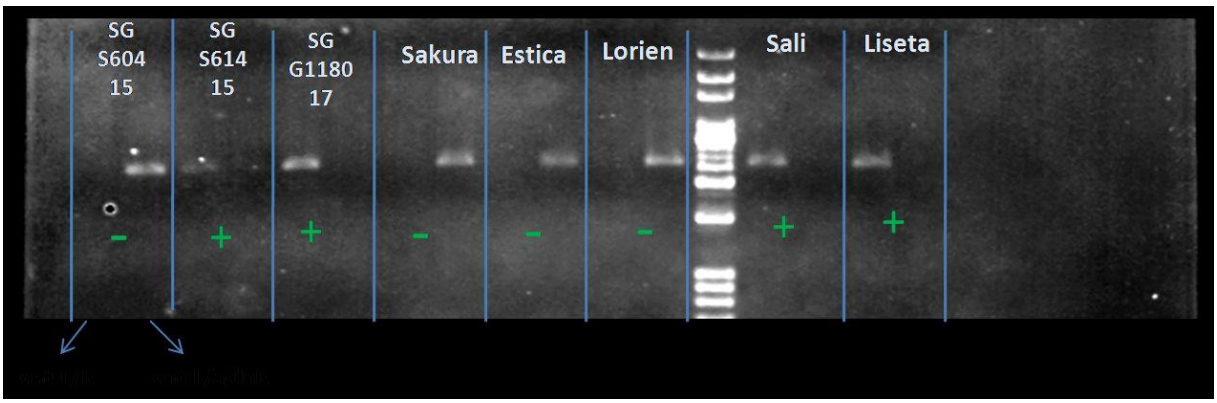
Obr. 2: Výskyt mutácie v bp 495 exonu 2 v súbore tolerantných a senzitívnych odrôd (TaS) pšenice letnej. Poznámka: číslovanie nukleotidových báz (1. riadok) sa na tomto obrázku nezačína od štartovacieho kodónu.



Mutácia v bp 495 sa nachádza v oblasti exonu 2 bohatej na GC páry. Aj napriek tejto skutočnosti sa nášmu tímu podarilo dizajnovať primerové páry pomocou ktorých bude možné s využitím PCR analýzy diagnostikovať mutáciu, respektíve ancestrálnu alelu v ktoromkoľvek genotype pšenice. Primerový pár *Vntr* identifikuje prítomnosť mutácie, pretože forward primer na 3´ konci má mutovanú bázu T, kým primerový pár *Aldn* identifikuje pôvodnú nemutovanú alelu s bázou A na 3´ konci (u reverse primer). Sekvencie použitých primerov sú nasledovné: *Vntr* forward- GTGCAAGATGGAGTACCAGGGACAT (Sense), *Vntr* reverse- CGGTGCCGTCGGTGCCAA (AntiSense); *Aldn* forward- GTGCAAGATGGAGTACCAGGGACAT (Sense), *Aldn* reverse- CGGTGCCGTCGGTGCCAT (AntiSense). Pomocou týchto diagnostických primerov sme zistili, že odroda Seladon zdedila túto mutáciu od stupickej odrody Svitava, ktorá ju získala od slovenskej odrody Viginta, Pôvod mutácie v odrode Viginta sa nám doposiaľ nepodarilo zistiť, avšak jej autor Ing. Róbert Kábrt ju charakterizoval ako veľmi ekostabilnú odrodu (osobné oznámenie, Kábrt 1984). Prítomnosť mutácie v DHN3 géne sme identifikovali aj u vybraných odrôd a novošľachtencov zo ŠS Stupice (obr. 3). Okrem odrôd Sally a Liseta túto mutáciu nesú aj odrody Svitava, Seladon, Matylda, Elly a Dulina. Mutácia *Vntr* bola v rámci šľachtiteľského

procesu neuvedomelým spôsobom prenesená aj do niektorých odrôd, ktoré majú vo svojom pedigree odrodu Viginta. Sú to nasledovné odrody: Astella (reselektovaná), Bardotka, Blava, Solara a Solida.

Obr. 3: Elektroforetogram 8 stupických vzoriek pšenice u ktorých bola amplifikovaná časť dehydrínového génu s výskytom mutácie. Šípka vľavo = amplifikácia s *Vntr* primerovým párom, šípka vpravo = výsledok amplifikácie s primerovým párom *Aldn.* Schéma platí pre všetkých 8 vzoriek v ôsmich stĺpcoch. Výsledné reakcie + a – znamenajú prítomnosť, alebo neprítomnosť mutácie suchovzdornosti. Zo schémy vyplýva, že mutáciu od odrody Svitava zdedili odrody Sali a Liseta, ako aj novošľachtence SG-S614 a SG-G1180-17, ktoré by mali byť tolerantné voči suchu. Odrody Sakura, Estica a Lorien, ako aj nšľ. SG-S604-15 túto mutáciu nemajú.



Na prítomnosť mutácie v *DHN3* géne bola testovaná aj mapujúca populácia dihaploidných línií. Bolo zistené, že spomedzi 167 analyzovaných DH línií túto mutáciu nesie 77 z nich a 90 DH línií ju nemá. DH línie s mutáciou vykazovali takmer o 4 % menšiu redukciu znaku hmotnosť tisíc semien vo variante sucho ako DH línie bez mutácie. Túto hodnotu považujeme za kvantitatívny efekt danej mutácie.

Vybrané DH línie boli použité aj v experimente, v ktorom sme sledovali obsah chlorofylu pomocou parametra SPAD vo variantoch sucho a závlaha. Z výsledkov v tabuľke 1 vyplýva, že nižší obsah chlorofylu u DH línií s mutáciou je štatisticky preukazný.

Tab.1: Analýza rozptylu (ANOVA) parametrov sucha DSI, ESI a obsahu listového chlorofylu (SPAD) vypočítaná pre línie DH s mutáciou vntr+ a bez nej

	F	df1	df2	p
DSI	2.05	1	19.7	0.168
ESI	7.65	1	11.8	**0.017**
SPAD	4.71	1		**0.042**

Zaujímavé je aj zistenie, že dve mutácie sme zistili aj v regulačnej oblasti operónu *DHN3* génu, nazývanú ako enhancer. Jeho úlohou je zosilovať expresiu génu a pravdepodobne vplýva aj na rýchlosť expresie. Avšak iba mutácia v pozícii -942 bp je asociovaná s mutáciou v exone 2.

Záver

Na základe získaných výsledkov môžeme predpokladať, že dehydríny hrajú významnú úlohu v adaptácii pšenice na sucho. Dehydrín DHN3 je však iba jeden z viac ako 60 dehydrínov, ktoré sa nachádzajú v bunke. Doterajšie výsledky naznačujú, že mutácia v tomto géne podmieňuje vyššie hodnoty kvantitatívneho znaku hmotnosti tisíc semien (HTS) a je asociovaná s obsahom chlorofylu. Zatiaľ však s istotou nemôžeme povedať, akým spôsobom táto mutácia ovplyvňuje biochemické procesy v bunke, nevieme či ovplyvňuje expresiu tohto génu, alebo či má aj nejakú signálnu úlohu v kaskáde reakcií v bunke. Riešenie tejto otázky bude vyžadovať realizáciu ďalších experimentov a to najmä sledovania interakcií typu proteín – DNA .Už teraz je však možné konštatovať, že mutáciu v tomto géne je možné využiť v šľachtiteľskom procese pomocou metódy markermi asistovanej selekcie (MAS). História pestovania úspešných odrôd ako napr. Excalibur, Viginta a Seladon naznačuje, že mutácia v DHN3 géne v ich genóme pravdepodobne významnou mierou prispela k ich značnému rozšíreniu. Na zistenie prítomnosti tejto mutácie v hociktorom genotype nebude nutné tento gén sekvenovať, postačí jednoduchá PCR analýza, výsledky ktorej je možné vidieť na agarózovom géli. Diagnostické markery umožnia detegovať mutáciu v každom genotype, či už ide o odrodu, štiepiacu populáciu, a dokonca umožnia určiť heterozygotný stav individuálnej rastliny. Je nutné však brať do úvahy fakt, že konečný efekt mutácie na úrodu nemusí byť rovnaký u všetkých genotypov – to môže byť podmienené genetickým pozadím, t.j. genetickou informáciou zodpovednou za hodnoty kvantitatívnych znakov.

Poďakovanie

Autori ďakujú Dr. Tomášovi Kuchtovi z Výskumného ústavu potravinárskeho NPPC SR za metodickú pomoc, pani Ivete Madunickej, Anne Michalíkovej, Jozefovi Hrúzovi a Ing. Marie Seifertovej za vynikajúcu technickú pomoc. Autori tiež ďakujú Dr. Heike Gnad za produkciu dihaploidných rastlín. Výskum bol financovaný pomocou nasledovných grantov: Grant slovenskej Agentúry pre výskum a vývoj č. APVV-15-0156 a č. APVV-20-0246, grantu Národného štipendijného programu Agentúry SAIA, Slovenská republika (G. Bonchev), grantu Českej republiky 18-11688S, grantu Ministerstva poľnohospodárstva Českej republiky QK1710302, Projektu EFRR „Rastliny ako nástroj trvalo udržateľného globálneho rozvoja“ grant č. CZ.02.1.01/0,0/0,0/16_019/0000827.

Použitá literatúra

Bohatcová I., Horáková V., 2012. Central Agricultural Inspection and Testing Institute (ÚKZUZ), Czech Republic, Brno.

Domínguez, Luis Eduardo Miranda, et al., 2016. Desarrollo radical y rendimiento en diferentes variedades de trigo, cebada y triticale bajo condiciones limitantes de humedad del suelo. Revista Terra Latinoamericana, 34.4: 393-407.

Edae, Erena A., et al., 2013. Association mapping and nucleotide sequence variation in five drought tolerance candidate genes in spring wheat. The plant genome, 6.2: plantgenome2013.04.0010. https://doi.org/10.3835/plantgenome2013.04.0010

Fischer, RA., Maurer, R., 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses Australian Journal of Agricultural Research 29, 897-912. https://doi.org/10.1071/AR9780897

Fleury, Delphine, et al., 2010. Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat. Journal of experimental botany, 61.12: 3211-3222. https://doi.org/10.1093/jxb/erq152

Graether S.P. and Boddington K.F., 2014. Disorder and function: a review of the dehydrin protein family. Front. Plant Sci. 5:576. https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00576

Kosová, K.; Vítámvás, P.; Prášil, I.T., 2014. Wheat and barley dehydrins under cold, drought, and salinity–what can LEA-II proteins tell us about plant stress response? Frontiers in Plant Science, 5: 343. doi: https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00343

Liu, B., Asseng, S., Müller, C. et al., 2016. Similar estimates of temperature impacts on global wheat yield by three independent methods. Nature Clim Change 6, 1130–1136. https://doi.org/10.1038/nclimate3115

Mercer, T., Edwards, S., Clark, M. et al., 2013. DNase I–hypersensitive exons colocalize with promoters and distal regulatory elements. Nat Genet 45, 852–859. https://doi.org/10.1038/ng.2677

Nadeem, M.; Li, J.; Yahya, M.; Wang, M.; Ali, A.; Cheng, A.; Wang, X.; Ma, C., 2019. Grain Legumes and Fear of Salt Stress: Focus on Mechanisms and Management Strategies. Int. J. Mol. Sci. 20, 799. https://doi.org/10.3390/ijms20040799

Nguyen G.N., Maharjan P., Maphosa L., Vakani J., Thoday-Kennedy E. and Kant S., 2019. A Robust Automated Image-Based Phenotyping Method for Rapid Vegetative Screening of Wheat Germplasm for Nitrogen Use Efficiency. Front. Plant Sci. 10:1372. https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01372

Stergachis, Andrew B., et al., 2013, Exonic transcription factor binding directs codon choice and affects protein evolution. Science, 342.6164: 1367-1372. https://www.science.org/lookup/doi/10.1126/science.1243490

Trnka, M., et al., 2019. Mitigation efforts will not fully alleviate the increase in water scarcity occurrence probability in wheat-producing areas. Science Advances, 5.9: eaau2406. https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.aau2406

Uçarli, Cüneyt, et al., 2016. Genetic diversity at the Dhn3 locus in Turkish Hordeum spontaneum populations with comparative structural analyses. Scientific reports, 6.1: 1-10. https://doi.org/10.1038/srep20966

USDA, World agricultural production. 2017. Washington, DC, USA: United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service.

Kontaktní adresa:

Ing. Pavol Hauptvogel, PhD.
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav rastlinnej výroby
Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany
Telefón: +421-33-7947272;
E-mail: pavol.hauptvogel@nppc.sk

Morfologické, genetické a biochemické hodnocení kolekce *Dasypyrum villosum* (L.) P. Candargy

Morphological, genetic and biochemical evaluation of *Dasypyrum villosum* (L.) P. Candargy germplasm

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

[1]*Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6 – Ruzyně*

Abstrakt

Kolekce *Dasypyrum villosum* v genobance byla zhodnocena morfologicky, geneticky, na resistenci listovým chorobám a na kvalitativní ukazatele semen se zaměřením na obsah a polymorfismus proteinů a škrobu. Shromážděný materiál representuje téměř celou oblast rozšíření druhu ve Středomoří. Fenotypování morfologických znaků umožnilo identifikaci klastrů v souhlase s geografickým původem materiálu. Kolekce vykázala vysokou odolnost vůči padlí travnímu, rzi pšeničné, plevové a travní. Analýza mikrosatelitů ukázala na vysokou míru genetické diverzity avšak s neprůkaznými rozdíly mezi genotypy z různých geografických oblastí. Biochemická analýza semen vykázala vysoký obsah hrubého proteinu a průkazný poměr prolaminů a Σglutelinů. SDS-PAGE HMW a LMW glutelinů potvrdily polymorfismus jednotlivých položek a velké rozdíly mezi genotypy.

Klíčová slova: genetické zdroje; fenotypování; genotypování; SDS Page; HMW-LMW-Glu

Abstract

The *Dasypyrum villosum* gene bank collection was characterized morphologically and genetically for resistance to leaf diseases and for quality parameters of seeds with specific accent to protein polymorphism and protein and starch composition. The collected material represented nearly the whole distribution area in the Mediterranean. Morphological phenotyping allowed distinguishing of clusters tracing the geographical origin of accessions. The collection showed a high resistance to powdery mildew, brown, stripe and stem rusts. Genetic diversity studied by SSR markers showed high diversity but without significant differences between regions of origin. Biochemical analyses of seeds in selected populations showed a high content of crude proteins with a significant proportion of prolamins and Σglutelins. The SDS-PAGE of HMW and LMW glutelins confirmed both the high population polymorphism and the intra-population differences.

Keywords: genetic resources; phenotyping; genotyping; SDS Page; HMW-LMW-Glu

Úvod

Plané příbuzné druhy kulturním plodinám (CWR) jsou velmi významné genetické zdroje pro šlechtění rostlin. Jejich přirozený výskyt v exterémních podmínkách a jejich odolnost vůči biotickým a abiotickým faktorům je předurčuje jako potenciální donory významných genů pro šlechtění. CWR obilnin obsahují znaky resistence chorobám a škůdcům a tolerance abiotickým stresům jako sucho, vysoké teploty zaplavení (Hodgkin a Hajjar, 2008). Tyto znaky mohou být a byly využity ve šlechtění ke zlepšení plodin, zvýšení výnosů, nutriční kvality, a dalších hospodářských znaků ke kompenzaci klimatických změn nebo požadavků trhu (Maxted et al., 2007).

Rodu *Dasypyrum* (Coss. and Dur.) T. Dur. (*Poaceae*, tribus *Triticeae*) dosud šlechtitelé nevěnovali dostatečnou pozornost, kterou by si zasloužil. *Dasypyrum villosum* je jednoletý

diploid s genomem VV odvozeným Searsem (1953) s výskytem ve Středomoří po Kavkaz (Gradzielewska 2006).
Dasypyrum villosum nese vysokou odolnost vůči důležitým rzím a virózám pšenice (WSSMV, Zhang et al. 2010), geny odolnosti k padlí travnímu *Pm21* (Chen et al. 1995). Geny odolnosti padlí v dospělosti *Pm62* byly přeneseny do pšenice jako Robertsonianská translokace T2BS.2VL#5 (Zhang et al. 2018). Odolnost vůči rzi plevové založená genem *Yr26* byla vložena do pšenice (Yildirim a Jones 2000). Liu (2020) sumarizoval geny získané z CWR: 17 genů resistence vůči rzi plevové, 35 vůči rzi pšeničné, 30 rzi travní, 41 padlí travnímu, 3 Fusarium, 2 *Septoria* a řada genů odolnosti vůči virózám. Současně *Dasypyrum* obsahuje geny, které mohou zvýšit množství zásobních proteinů, lysinu a kvalitu lepku (De Pace et al., 2001). Na chromosomu 1V jsou geny kódující vysokomolekulární prolaminy (Glu-V1) a nízkomolekulární prolaminy (Glu-V3) (Montebove et al., 1987; Shewry et al., 1987). Kozub et al. (2020) identifikoval osm alel Glu-V1 a čtyři alely Gli-V1 kódující ω-gliadin v krymských populacích *D. villosum*.
Cílem práce bylo charakterizovat kolekci *Dasypyrum villosum* v Genové bance v Praze, zjistit genetickou a fenotypovou variabilitu, otestovat odolnost vůči listovým chorobám, a získat podrobné informace o vybraných parametrech kvality semen se zaměřením na polymorfismus proteinu a na obsah a složení proteinů a škrobu.

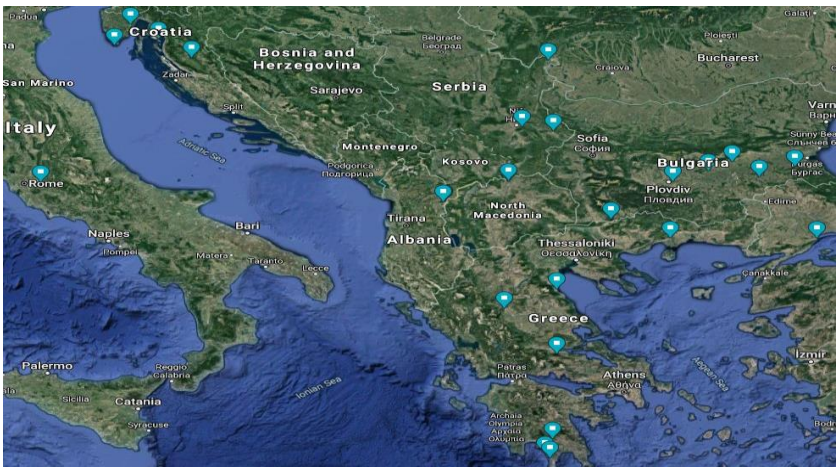
Materiál a metody
Kolekce *Dasypyrum villosum* v Genové bance zahrnuje 32 položek, pasportní data jsou doplňována do informačního systému GRIN Czech (GRIN Czech Release 1.10.3 (vurv.cz)). Všechny položky byly sebrány ve Středomoří v letech 1988-2019 (obr. 1). 29 položek bylo zhodnoceno morfologicky, otestováno na odolnost listovým chorobám a 21 položek bylo zahrnuto do genotypování. Vybraných 18 vitálních položek bylo užito na studium proteinu. Hodnocení bylo prováděno během regenerace v řádkových parcelkách v izolaci dalších nepříbuzných druhů *Triticeae* opakovaně po 3 nebo více let v období 2008-2020. Pro morfologickou charakterizaci byl využit Klasifikátor *Aegilops* (Holubec a Matějovič 2020) a data byla zhodnocena pomocí Principal Component Analysis (PCA).
DNA byla extrahována pomocí CTAB dle optimalizovaného protokolu Saghai-Maroof et al. (1984). Pro SSR analýzu byla použita sada 40 SSR markerů pro pšenici (Röder et al. 1998). Produkty PCR reakcí byly separovány pomocí kapilární elektroforézy (ABI 3130). Shluková analýzy byla provedena v programu DARwin.
Kolekce byla hodnocena na polní odolnost listovým chorobám na pozemku hraničícího s infekčím polem, kde je přesah umělé infekce. Rostliny na infekčním poli byly inokulovány směsí spor nejvirulentnějších ras sebraných v České republice. Byly testována odolnost vůči rzem (*Puccinia recondita* Rob. ex Desn., *P. striiformis* Westend, *P. graminis* f. sp. *tritici* Erikss. & Henn) a padlí travnímu (*Blumeria graminis* (DC.) Speer f. sp. *tritici* (DC.) Marchal). Hodnocení bylo prováděno dle klasifikátoru *Aegilops*.
Polymorfismus zásobních bílkovin byl zkoušen na vybraných 8 vzorcích. Modifikovaná metoda SDS-PAGE (Singh et al. 1991) s interpretací HMW-GS a LMW-GS byla užita na 18 vzorků *Dasypyrum*. Vzhledem k tomu, že neexistuje katalog pro Glu alely u *Dasypyrum*, detekované HMW- a LMW-Glu proteiny byly numericky označeny (HMW-Glu-V1: 1) a charakterizovány jejich relativní mobilitou a molekulární hmotností v polyacrylamidovém gelu. Vzorky semen byly analyzovány na obsah hrubého proteinu dle Kjeldahlovy metody (ČSN EN ISO 20483), obsah škrobu dle Ewersovy polarimetrické metody (ČSN EN ISO10520), a Micro-SDS sedimentační test (dle Axforda 1978). Upravená metoda dle Osborna (Dvořáček et al. 2001) byla užita pro hodnocení tří proteinových frakcí: albuminů a globulinů

(Alb + Glo), prolaminů (Pro) a Sumu glutelinů (ΣGlu). Obsah amylosy byl stanoven enzymaticky (K-AMYL). Statistica 7.0 CZ byla použita pro hodnocení. Dendrogram založený na posici HMW- a LMW glutelinů byl vytvořen pomocí Jaccard's dissimilarity index.

Výsledky

3.1. Charakterizace sběrových lokalit

Položky *Dasypyrum* byly sebrány z geograficky velkého území SV Středomoří mezi 36°40' - 45°14′ a 12°50′ - 27°30′ (obr. 1). Lokality byly rozděleny na přirozené a přírodě blízké stanoviště s více méně původní vegetací (primární P) a sekundární (S) představující stanoviště s ruderální a segetální vegetací. Primární naleziště předtavovaly stepi na mělké půdě na vápencích, vápencové výchozy s mělkými půdními kapsami, vápencové štěrkové pobřežní lemy a přechod do Středomořské tvrdolisté vegetace (garrigue a macchie). Sekundární stanoviště byly lemy silnic, pastvin, okraje polí a městské disturbované habitaty. Nejsevernější lokality byly krasové trávníky a pobřežní stálezelené křoviny s *Quercus ilex* v okolí Premantura na Istrii, což považujeme za severní hranici rozšíření tohoto druhu.



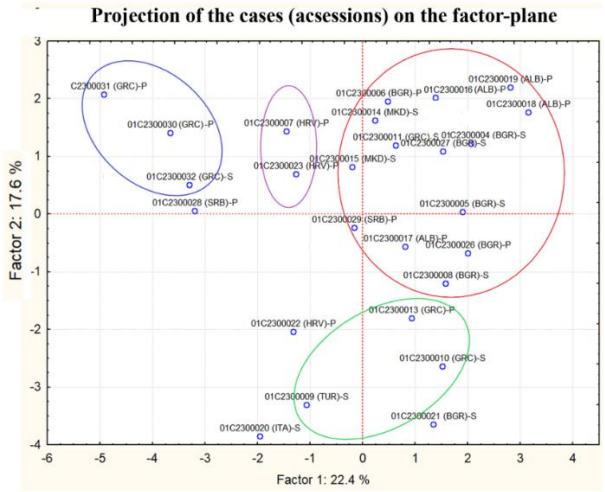
Obr. 1: Mapa testovaných položek kolekce *Dasypyrum villosum*

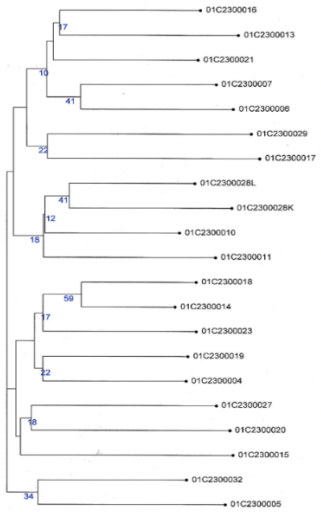
3.2. Fenotypování kolekce Dasypyrum

Fenotypování 20 morfologických znaků ukázalo velkou diverzitu mezi položkami. Z morfologických znaků je oddění plev velmi typické pro rod *Dasypyrum;* větvené trichomy uspořádané ve svazečcích vycházející z kýlu plevy bylo možné rozdělit do dvou typů: 1. hrubé, štětinovité, v oddálených svazečcích, 2. měkčí trichomy, obvylke propojené mezi sebou. Toto oddění bylo hrubé u 14 položek a měkké u 12 položek. Výsledky PCA založené na morfologickách znacích umožnily oddělit čtyři klastry odpovídající geografii (Obr. 2). Největší klastr představuje centrální Balkán. Nejsevernější položky ze severního Chorvatska byly oddělené jako zamostatný shluk. Další klastr zahrnoval jižní Balkán a evropské Turecko. Samostatný klastr separoval Pelopones.

3.3. Genotypování kolekce Dasypyrum

Z celkových 40 SSR lokusů jich pouze 28 (70%) bylo polymorfních. Hodnota genové diverzity (Nei, 1973) byla 0.457 a Shannonova indexu 0.980 (Shannon and Weaver, 1949), což jsou poměrně vysoké hodnoty. Populační analýza ukázala na nevýraznou strukturu studovaných genotypů (Obr. 3).





Obr. 2: Principal component analysis kolekce *Dasypyrum villosum* založená na morfologickém hodnocení (fialová - severní Balkán, červená – Centrální Balkán, zelená - jižní Balkán, modrá - Peloponés).
Obr. 3: Dendrogram shlukové analýzy založený na hodnocení mikrosatelitů *Dasypyrum villosum*

3.4. Testování odolnosti Dasypyrum villosum vůči listovým chorobám

Všechny testované položky vykazovaly polní odolnost padlí travnímu a rzi pšeničné i při vysokém infekčním tlaku. Tři položky byly náchylné na infekci rzi plevové, lese byly obklopeny mírnou hypersensitivní reakcí. Procento napadené plochy listu bylo 10 - 60%. Napadení rzí travní bylo detekováno pouze u dvou položek, napadení představovalo pouze jednotlivé léze na listové ploše pod 1%.

3.5. Biochemické hodnocení kolekce Dasypyrum

Všechny testované vzorky *Dasypyrum* měly průkazně nižší podíl HMW glutelinů a vyšší podíl LMW glutelinů (45–66 kDa) ve srovnání s kultivary pšenice. Celkem bylo identifikováno 52 glutelinových peptidů u 18 položek *Dasypyrum*.

Tab 2: Polní odolnost položek *Dasypyrum villosum* k padlí ntravnímu, rzi plevové, pšeničné a travní

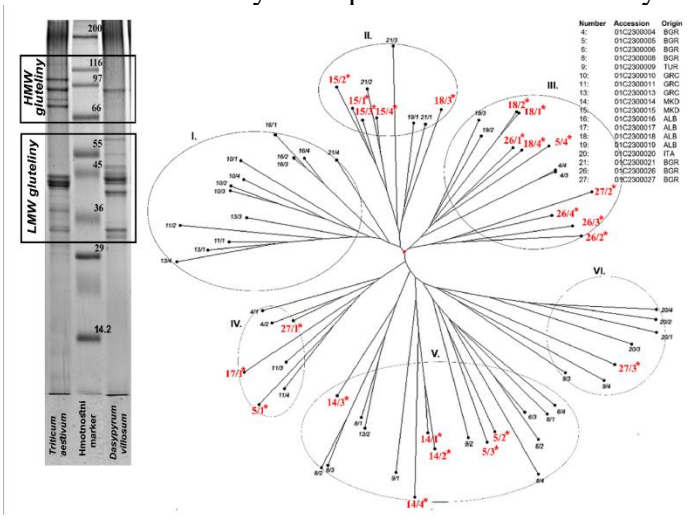
ECN	Poč. roků hodnocení	Padlí travní*	Rez plevová*	Rez pšeničná*	Rez travní*
01C2300004	7	9	9	9	9
01C2300005	9	9	9	9	9
01C2300006	9	9	3 (2/50) **	9	9
01C2300007	2	9	9	9	9
01C2300008	1	-	-	9	9
01C2300009	1	-	-	9	9
01C2300010	5	9	2 (2/60)**	9	9
01C2300011	6	9	9	9	9
01C2300013	1	9	9	9	9

01C2300014	7	9	9	9	9
01C2300015	7	9	9	9	9
01C2300016	3	9	9	9	9
01C2300017	2	9	9	9	9
01C2300018	7	9	9	9	9
01C2300019	3	9	9	9	9
01C2300020	7	9	6 (2/10)**	9	9
01C2300021	5	9	9	9	9
01C2300026	4	9	9	9	9
01C2300027	4	9	9	9	8 (2/1)**
01C2300028	4	9	9	9	9
01C2300029	5	9	9	9	7 (2/1)**
01C2300030	1	9	9	9	9
01C2300031	1	9	9	9	9

* stupnice 9–1, 9—resistentní, Klasifikátor (Holubec and Matejovič, 2020); ** stupnice 0–4, % napadeného povrchu listu (Stakman et al. 1962).

Pouze 6 glutelinových kombinací bylo detekováno v kategorii HMW-gluteninů s molekulovou hmotností 80-93 kDa. Naopak 46 LMW-glutelinů mělo molekulovou hmotnost 24-63 kDa. Shluková analýza charakterizovala individualní variabilitu 18 testovaných položek *Dasypyrum vilosum* na základě jejich složení glutelinů (Obr. 4). Umožnila vyčlenit dvě odlišné geografické zóny: Z1: central Balkan (Chorvatsko, Albanie, Bulharsko a Z2: jižní Balkan (Řecko, evropské Turecko). Nejčetnější bulharské položky se vyskytovaly ve všech klastrech jako nositelé největší variability ve složení glutelinů. Extremní glutelinová variabilita byla zjištěna u srbské položky 01C2300027.

Hodnocení složení zrna u 7 vybraných položek representovalo populace z Bulharska, Albánie, a Makedonie. U položek Dasypyrum byl shledán vyšší podíl proteinů, frakcí prolaminů a Σglutelinů a vyšší Micro-SDS test ve srovnání se standardním kultivarem jarní pšenice *T. aestivum* L. ´Granny´. Naopak obsah škrobu a amylózy byl nižší.



Obr. 4. Příklad elektroforetické charakteristiky (SDS-PAGE) složení vysokomolekulárních (HMW) a nízkomolerkulárních (LMW) glutelinů u pšenice seté a druhu *Dasypyrum villosum* s následnou klastrovou analýzou zobrazující genetické vztahy mezi jednotlivými vzorky *D. villosum* na podkladě této analýzy. Jednotlivé římské číslice (I-VI) definují více vzájemně podobné skupiny testovaných vzorků. Červěně označené sběrové položky byly dále použity pro hodnocení kvalitativních parametrů zrna.

Diskuze

Presentovaná kolekce *Dasypyrum villosum* české Genobanky zahrnuje asi 80% známého rozšíření druhu mimo S Afriku a Kavkaz (Tutin et al. 1980, Gradzielewska 2006). V Itálii a Řecku *Dasypyrum villosum* dominuje v minimálně 5 asociacích (např. *Vulpio-Dasypyretum* Fanelli 1998, *Laguro-Dasypyretum* Fanelli 1998 (Fanelli 2011). Diverzita morfologických znaků byla v našich pokusech vyšší než u Cabi et al. (2009), protože náš materiál byl z mnohem většího geografického areálu a z lokalit s vyšší ekologickou amplitudou. Na rozdíl od fenotypových dat genetická diverzita studovaného souboru genotypů je sice vysoká, ale vykazuje jen nevýraznou strukturu, které svědčí o značném genovém toku mezi jednotlivými populacemi. Avšak pro testování této hypotézy by bylo třeba analyzovat větší počet jedinců z každé lokální populace.

Vysoká míra odolnosti testovaných položek *Dasypyrum villosum* vůči listovým chorobám je v souladu s mnohými autory, geny resistence vůči alespoň jedné pšeničné chorobě jsou lokalizovány na chromosomech 1V, 4V a 6V (sumarizováno Gradzielewska 2006).

Polymorfismus zásobních bílkovin je silně genotypově vázaný, proto zásobní peptidy jsou vhodné markery pro studium genetické diverzity populací *D. villosum* (Gradzielewska et al. 2006). Na druhé straně podíl studovaného genomu zodpovědného za polymorfismus proteinů je průkazně nižší ve srovnání s počtem genů řídící pozorované morfologické znaky. Zhong a Qualset (1993) detekovali 14 alel HMW Glu-V1, v našich pokusech to bylo pouze 6 kombinací HMW glutelinů. Polymorfismus LMW-glutelinů v našich populacích byl vyšší a ukázal velkou variabilitu (plasticitu) těchto druhů. Vnitrodruhová variabilita glutelinů je pravděpodobně výsledkem několika faktorů odrážejících vývoj populace na dané lokalitě, možný genetický drift menších populací a případný kontakt s jinou populací stejného druhu. Uniformní albánská populace 01C2300017 mohla mít nízkou genetickou variabilitu na počátku svého vývoje podpořenou následnou izolací od okolních populací. Naopak vysoký polymorfismus bulharských položek *Dasypyrum* může být spojen s častými kontakty různých populací, např. prostřednictvím lidské činnosti. Pro podporu těchto hypotéz by bylo zapotřebí analyzovat velké množství materiálu z různých blízkých i vzdálených populací.

D. villosum může být považován za zdroj zlepšování kvality pšeničného zrna. Nicméně nezaznamenali jsme žádné podrobnější studie obsahového složení zrna. V tomto ohledu naše tříletá studie analýzy složení zrna se zdá být jedinečná. Vysoké hodnoty obsahu proteinu a Micro-SDS test potvrzují výsledky šlechtitelů, že vložení genových segmentů v Glu V1 lokusu z *D. villosum* průkazně zvýšilo obsah proteinu a pekařskou kvalitu pšeničného zrna (Vaccino et al. 2010).

Navzdory výzkumu a šlechtitelskému využití CWR, *Dasypyrum villosum* je podhodnoceným druhem v kolekcích genetických zdrojů i ve šlechtění.

Dedikace

Výzkum byl prováděn za podpory projektu MZE_RO0418 a Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity 51834/2017-MZE-17253/6.2.14.

Použitá literatura

Axford, D.W.E.; McDermott, E.E.; Redman, D.G. Small-scale tests of bread-making quality. *Milling Feed Fertil.* **1978**, *66*, 18–20.

Cabi, E.; Pehlivan, S. Morphological and palynological features of the genus Dasypyrum (Poaceae) in Turkey. *Phytol. Balc.* **2009**, *15*, 393–400.

Chen, P.D.; Qi, L.L.; Zhou, B.; Zhang, S.Z.; Liu, D.J. Development and molecular cytogenetic analysis of wheat Haynaldia villosa 6VS/6AL translocation lines specifying resistance to powdery mildew. *Theor. Appl. Genet*. **1995**, *91*, 1125–1128.

De Pace, C.; Snidaro, D.; Ciaffi, M.; Vittori, D.; Ciofo, A.; Cenci, A.; Tanzarella, O.A.; Qualset, C.O.; Scarascia-Mugnozza, G.T. Introgression of Dasypyrum villosum chromatin into common wheat improves grain protein quality. *Euphytica* **2001**, *117*, 67–75.

Dvořáček, V.; Curn, V. Evaluation of protein fractions as biochemical markers for identification of spelt wheat cultivars (*Triticum spelta* L.). *Plant Soil Environ.* **2011**, *49*, 99–105.

Fanelli, G. The ecology of Dasypyrum villosum in Italy: Highlights from phytosociology. In *Transferring Genes from the Wild Species D. Villosum to Wheat for Increasing Adaptation to Sustainable Agricultural Systems*; Conference paper; Acad. Nazionale delle Scienze, Scritti e Documenti XLIV, Roma 2011; pp. 105–119.

Gradzielewska, A. The genus Dasypyrum-part 2. *Dasypyrum villosum*: A wild species used in wheat improvement. *Euphytica* **2006**, *152*, 441–454.

GRIN Czech Release 1.10.3 (vurv.cz)

Hodgkin, T.; Hajjar, R. Using crop wild relatives for crop improvement: Trends and perspectives. In *Crop Wild Relative Con-servation and Use*; Maxted, N., Ford-Lloyd, B.V., Kell, S.P., Iriondo, J., Dulloo, E., Turok, J., Eds.; CAB International: Wallingford, UK, 2008; pp. 535–548.

Holubec, V.; Matějovič, M. Descriptor list Aegilops. 2020. Available online: https:/www.gzr.cz/klasifikarory (accessed on 30.05.2021).

Kozub, N.O.; Sozinova, O.I.; Blume, Y.B. Variation of Storage Proteins in Crimean Populations of Dasypyrum villosum. *Cytol. Genet.* **2020**, *54*, 91–95.

Liu, C.; Han, R.; Wang, X.L.; Gong, W.P.; Cheng, D.G.; Ca, X.Y.; Liu, A.F.; Li, H.S.; Liu, J.J. Research Progress of Wheat Wild Hy-bridization, Disease Resistance Genes Transfer and Utilization. *Sci. Agric. Sin.* **2020**, *53*, 1287–1308.

Montebove, L.; De Pace, C.; Jan, C.C.; Scarascia-Mugnozza, G.T.; Qualset, C.O. Chromosomal location of isozyme and seed storage protein genes in *Dasypyrum villosum* (L.) Candargy. *Theor. Appl. Genet.* **1987**, *73*, 836–845.

Nei, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1973**, *70*, 3321–3323.

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

Saghai-Maroof, M.A., Soliman, K.M., Jorgensen, R.A., Allard, R.W. Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1984, 81, 8014–8018.

Sears E., R. Addition of the genome of H. villosa to T. aestivum. Am. J. Bot. 1953, 40, 168–174.

Shannon, C.E.; Weaver, W. *The Mathematical Theory of Communication*; University of Illinois Press: Urbana, IL, USA, 1949.

Shewry, P.R.; Parmar, S.; Pappin, D.J.C. Characterization and genetic control of the prolamins of Haynaldia villosa: Relationship to cultivated species of the Triticeae (rye, wheat and barley). *Biochem. Genet.* **1987**, *25*, 309–325.

Singh, N.K.; Shepherd, K.W.; Cornish, G.B. Simplified SDS-PAGE Procedure for Separating LMW Subunits of Glutenin. *J. Cereal Sci.***1991**, *14*, 203–208.

Stakman, E.C.; Stewart, P.M.; Loegering, W.O. Identification of Physiologic Races of *Puccinia graminis* var. *tritici*; Agricultural Research Service E617; United States Department of Agriculture: Washington, DC, USA, 1962; pp. 1–53.

Tutin, T.G.; Heywood, V.H.; Burges, N.A.; Moore, D.M.; Valentine, D.H.; Walters, S.M.; Webb, D.A. *Flora Europaea*; Cambridge University Press: Cambridge, UK, 1980; Volume 5, p.203.

Vaccino, P.; Banfi, R.; Corbellini, M.; De Pace, C. Improving the Wheat Genetic Diversity for End-Use Grain Quality by Chromatin Introgression from the Wheat Wild Relative *Dasypyrum villosum*. *Crop. Sci.* **2010**, *50*, 528–540.

Yildirim, A.; Jones, S.S. Evaluation of *Dasypyrum villosum* populations for resistance to cereal eyespot and stripe rust pathogens. *Plant Dis.* **2000**, *84*, 40–44.

Zhang, R.; Cao, Y.; Wang, X.; Feng, Y.; Chen, P. Development and characterization of a Triticum aestivum-H. villosa T5VS. 5DL translocation line with soft grain texture. *J. Cereal Sci.* **2010**, *51*, 220–225.

Zhang, R.; Fan, Y.; Kong, L.; Wang, Z.; Wu, J.; Xing, L.; Cao, A.; Feng, Y. Pm62, an adult plant powdery mildew resistance gene introgressed from *Dasypyrum villosum* chromosome arm 2VL into wheat. *Theor. Appl. Genet.* **2018**, *131*, 2613–2620.

Zhong, G.Y.; Qualset, C.O. Allelic diversity of highmolecular- weight glutenin protein subunits in natural populations of *Dasypyrum villosum* (L.) Candargy. *Theor. Appl. Genet.* **1993**, *86*, 851–858.

Kontaktní adresa:

Ing. Vojtěch Holubec, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 16106 Praha 6 Ruzyně
telefon: 233022497, e-mail: holubec@vurv.cz

Karpatská rezistencia – nádejný genetický zdroj pre biologickú ochranu pšenice voči múčnatke trávovej

Carpathian resistance - a hope genetic resource for the biological protection of wheat against powdery mildew

Švec M. [1], Korchanová Z.[2] ,Valárik M.[2], Zahradníková E.[1] , Hauptvogel P.[3]

[1] Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave, SR
[2] Ústav experimentální botaniky AV ČR, Centrum regionu Haná pro biotechnologický a zemědělský výzkum, Olomouc, ČR
[3] NPPC – Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, SR

Abstrakt

Na základe realizovaného skríningu vzoriek pšenice patriacich k divorastúcim aj domestikovaným druhom tetraploidných a hexaploidných pšeníc, bol identifikovaný genetický zdroj pšenice vyznačujúci sa totálnou rezistenciou voči múčnatke trávovej. Tento genetický zdroj patrí do druhu *Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl., a pochádza z územia Slovenska. Pomocou fenotypovania a DArT genotypovania dvoch mapujúcich populácií zložených z rekombinantných línií bola zostrojená genetická mapa. Prvé výsledky naznačili, že tento typ rezistencie je podmienený interakciou dvoch génov lokalizovaných na rôznych chromozómoch A genómu pšenice. Vzhľadom k tomu, že tento typ rezistencie bol zozbieraný v podhorí Malých Karpát, rezistencia bola nazvaná ako karpatská rezistencia. Po transfere génov rezistencie do súčasných odrôd pšenice tvrdej a pšenice letnej bude karpatská rezistencia predstavovať významný prínos v ochrane životného prostredia a takisto aj ekonomický prínos pre farmárov pestujúcich odrody s týmito génmi rezistencie.

Kľúčové slová: pšenica, šľachtenie, múčnatka trávová, padlí, biologická ochrana, gény rezistencie, DArT polymorfizmus

Abstract

Based on the screening of wheat samples belonging to wild and domesticated species of tetraploid and hexaploid wheat, a genetic source of wheat characterized by total resistance to powdery mildew was identified. This genetic source belongs to the species *Triticum dicoccum* Schübler and comes from Slovakia. A genetic map was constructed by phenotyping and DArT genotyping of two mapping populations composed of recombinant lines. The first results indicated that this type of resistance is conditioned by the interaction of two genes located on different chromosomes of the wheat A genome. Because this type of resistance was collected in the foothills of the Little Carpathians, the resistance was called as Carpathian resistance. Following the transfer of resistance genes into current durum wheat and bread wheat varieties, Carpathian resistance will make a significant contribution to environmental protection as well as an economic benefit to farmers growing varieties with these resistance genes.

Key words: wheat, breeding, powdery mildew, biological protection, resistance genes, DarT polymorphism

Úvod

Pšenica (*Triticum* L.) je plodinou, ktorá sa pestuje na najväčšej ploche (223.67 milióna hektárov v roku 2016) a je druhá najproduktívnejšia plodina s globálnou produkciou 735.3 milióna ton (USDA, 2017). Jej ekonomický prínos a dôležitosť vo výžive človeka a hospodárskych zvierat sú nespochybniteľné. Pšenice je základnou potravinou pre 40% ľudskej populácie (http://www.CIMMYT.org/). Výnos pšenice je ovplyvnený mnohými biotickými a abiotickými faktormi (stresmi). V súčasnosti je výnos ohrozený hlavne nedostatkom vlahy, ale aj epidémiami spôsobenými rôznymi bakteriálnymi a hubovými patogénmi. K najvýznamnejším hubovým patogénom pšenice patrí múčnatka trávová (*Blumeria graminis* f.sp. *tritici* DC Speer). Múčnatka trávová môže redukovať až o 60 % (Singh et al., 2016). Farmári môžu v boji proti tejto chorobe používať buď chemickú ochranu vo forme postrekovania rastlín fungicídmi, alebo pestovať odolné odrody (biologická ochrana). Produkcia rezistentných komerčných kultivarov pomocou introdukcie účinných génov rezistencie je ekonomicky a ekologicky najefektívnejším prístupom, pretože redukuje počet nutných postrekov fungicídmi čo šetrí náklady farmárov a zároveň znižuje ekologickú záťaž prostredia mechanizáciou a hlavne používaním fungicídov. (Alam et al., 2013). Dosiaľ bolo identifikovaných viac ako 66 génov špecifickej rezistencie voči múčnatke trávovej na pšenici (Huigai et al., 2018), ktoré sa vyznačujú rôznou efektivitou. Sú označované symbolmi *Pm 1 – Pm66* ak sú lokalizované na chromozómy, alebo *Ml,* ak dosiaľ neboli zmapované. Poľnohospodársky najpoužívanejšie gény rezistencie v Európe, Ázii a Stredomorí sú *Pm5a, Pm5b, Pm2, Pm6* a *Pm8* (Alam, 2011). Vo Veľkej Británii bola zistená dobrá účinnosť i génov *Pm17* a *Ml Sh* (Hubbard et al.,2019). V strednej Európe bola efektivita génov *Pm5, Pm6, Pm8* a *Mli* už prekonaná a virulencia voči nim dosahuje 100 %. Na Slovensku boli ako najefektívnejšie gény označené *Pm3b, Pm2 + Mld* a kombinácia *Pm1 + Pm2 + Pm9* (Švec et Miklovičová, 1998). Tieto sa však nevyskytujú v žiadnej zo slovenských odrôd. Najčastejšími donormi génov rezistencie sú línie z primárneho okruhu zdrojov, čo sú súčasné odrody, alebo v minulosti pestované krajové odrody z druhov *Triticum aestivum* (Hysing, 2007). Donormi spomedzi sekundárnych zdrojov boli *Triticum durum, Triticum spelta, T. carthlicum, T. dicoccoides, T. dicoccum, T. timopheevii, Secale cereale* a druhy z rodu *Aegilops,* ako napr. *Ae. tauschii, Ae. speltoides, Ae. longissima, Ae. ovata*. Z terciarneho okruhu genetických zdrojov boli ako donory *Pm* génov použité druhy *Haynaldia villosa* a *Thinopyrum intermedium*. Donory zo sekundárneho a terciárneho okruhu však v rámci transgresívnej hybridizácie často prenášajú do pšenice letnej aj viaceré negatívne vlastnosti. Aj napriek širokej škále genetických zdrojov rezistencie voči múčnatke trávovej neexistuje dosiaľ taký zdroj, ktorý by zabezpečoval úplnú rezistenciu a pritom neprenášal negatívne vlastnosti. Z týchto dôvodov neexistuje žiadna registrovaná odroda pšenice letnej, ktorá by bola úplne rezistentná voči všetkým izolátom múčnatky trávovej. Aj napriek značnému počtu lokalizovaných a zmapovaných génov rezistencie, dosiaľ bolo klonovaných iba 8 z nich: *Pm2, Pm3, Pm8, Pm21, Pm 38, Pm41, Pm46* a *Pm60* (Xing et al., 2017**;** Zou et al., 2018**;** Chen et al., 2019). Cieľom nášho výskumu je fenotypová charakteristika interakcií medzi hostiteľskými genotypmi (rezistentnými a citlivými) pšenice a patogéna, a takisto klonovanie dvoch génov u genetického zdroja zabezpečujúcich totálnu rezistencie voči múčnatke trávovej. Úloha je riešená v rámci projektu CARPATHIA (APVV-20-0246).

Materiál a Metódy

Na skríning odolnosti voči múčnatke trávovej sme použili 483 vzoriek druhov *Triticum dicoccoides* (Körn. ex Asch.&Graebn.)Schweinf.) a *Triticum dicoccum* Schrank ex Schübl.,

ako aj 25 vzoriek hexaploidného druhu *Triticum aestivum* subsp. *spelta* ((L.) Thell.). Spomedzi nich iba vzorka zo Slovenska, ktorú sme pracovne označili ako GZ1, bola úplne rezistentná voči múčnatke trávovej. Vzorku GZ1 sme použili ako donora rezistencie do kríženia s náchylnými vzorkami DIM 25 a EBL, za účelom vytvorenia mapujúcej populácie. Rastliny F_2 generácie sme genotypovali s využitím DArT DNA polymorfizmu. Potomstvá F_2 rastlín sme v F_3 generácii fenotypovali na odolnosť voči trom izolátom múčnatky trávovej. Tri najagresívnejšie izoláty múčnatky trávovej boli vybrané zo zbierky izolátov na VÚRV v Piešťanoch. Fenotypovanie F_3 rodín sme uskutočnili v sklenených Petriho miskách o priemere 8 cm obsahujúcich agarovú pôdu (5g/1 L vody) s prídavkom 50 mg . L^{-1} benzimidazolu. Z každej rodiny sme na agarovú pôdu umiestnili 15 rastlín s dvomi segmentami dlhými 1.2 cm. Na tieto listové segmenty sme v inokulovacej veži sfúkli spóry múčnatky namnožené na listových segmentoch dlhých 2 cm. Z každého izolátu sme sfúkli do jednej PM po 2 listové segmenty so spórami. Petriho misky s nainokulovanými listovými segmentami sme umiestnili na 12 dní do klimatizovanej miestnosti so stálou tepltou 18 °C pri kontinuálnom osvetlení 850 luxov. Po uplynutí tejto doby sme vyhodnocovali výsledné fenotypové reakcie. DArT DNA polymorfizmus sme získali formou objednávky u firmy Diversity Array Technology, Ltd., Austrália. Genetická väzbová mapa bola zostrojená s použitím softvéru MultiPoint, verzia UltraDense v4.1 multiqtl.com (Ronin et al., 2017).

Výsledky a diskusia

Genetický zdroj GZ1 bol nájdený v podhorí Malých Karpát v rámci zberovej expedície organizovanej P. Hauptvogelom, Š. Masárom z Výskumného ústavu rastlinnej výroby v Piešťanoch, F. Kühnom z Mendelovej Univerzity v Brne a V. Holubcom z VURV Praha-Ruzyně v roku 1990. Je pravdepodobné, že túto vzorku priniesli na Slovensko okolo roku 7 500 pred súčasnosťou prví farmári patriaci ku kultúre LBK (Linear Band Keramik). Pšenica dvojrnová (emmer), ku ktorej patrí aj vzorka GZ1, bola pestovaná na území Slovenska, Moravy a Čiech už v skorom neolite (early LBK) (Hajnalová, 2007; Hajnalová et Dreslerová, 2010).Všeobecne akceptovaným faktom je, že pšenica dvojzrnová bola domestikovaná v juhovýchodnom Turecku, na úpätí pohoria Karacadag, odkiaľ by mali pochádzať aj prví farmári migrujúci do Európy. Slovenské vzorky domestikovanej dvojzrnky DIM 140 (GZ1) a DIM 183 však vykazujú väčšiu genetickú príbuznosť s divorastúcou dvojzrnkou DCS 58 z okolia irackého mesta Dohuk ako so vzorkami divorastúcej dvojzrnky z juhovýchodu Turecka (napr. DCS 41, DCS 45). Ešte väčšiu podobnosť s populáciou DCS 58 vykazuje domestikovaná dvojzrnka DIM 114 z bývalej Juhoslávie (Tab. 1). Z okolia Belehradu je známa neolitická kultúra Starčevo, pre ktorú bolo typické pestovanie jednozrnky, dvojzrnky a šesťradoveho jačmeňa (Budja, 2005). Kultúra Starčevo predchádzala kultúre LBK. Genetická príbuznosť analyzovaných dvojzrniek naznačuje, že obe kultúry pestovali rovnaké plodiny a zrejme majú aj rovnaký pôvod. Rezistencia voči múčnatke trávovej mohla byť do vzorky GZ1 (DIM 140 – kód vzorky v databáze Univerzity Komenského) prenesená formou génového toku zo vzorky DCS 58, ktorá sa vyznačuje relatívne vysokým podielom DArT markerov typických pre divorastúcu pšenicu *Triticum timopheevii* (Zhuk.) Zhuk. subsp. *armeniacum* (Jakubz.) van Slageren (genóm GGAA), ktorá je známym donorom rezistencie voči múčnatke aj ostatným hubovým chorobám pšenice.

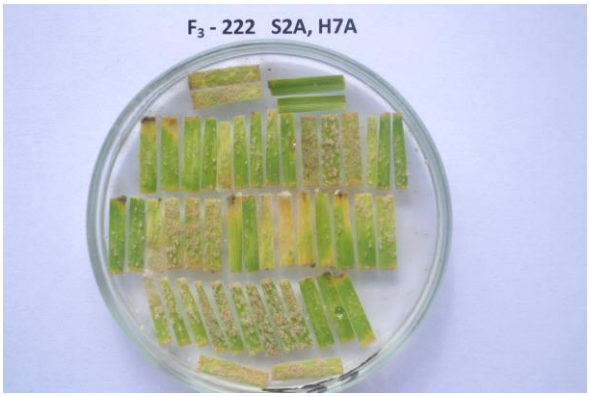
Tab.1: Matica genetických vzdialeností podľa Jaccarda medzi vzorkami divorastúcich populácií dvojzrnky (DCS) a domestikovanými dvojzrnkami (DIM).
Vzorky DIM 114 (býv. Juhoslávia) a DIM 140 (GZ1 – Slovensko) vykazujú najväčšiu podobnosť so vzorkou DCS 58 z okolia mesta Dohuk, Irak.

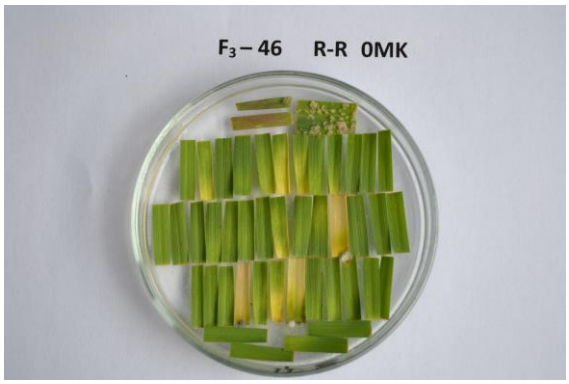
	DCS10	DCS111	DCS18	DCS19	DCS29	DCS3	DCS30	DCS31	DCS34	DCS35	DCS41	DCS45	DCS5	DCS58	DCS59	DCS60	DCS61	DCS63	DCS64	DCS65
DCS10	0,0000																			
DCS111	0,5609	0,0000																		
DCS308	0,4731	0,4087	0,4098	0,3896	0,4209	0,4032	0,4027	0,4124	0,4294	0,4090	0,4350	0,4292	0,4016	0,3782	0,3679	0,4007	0,4565	0,4550	0,4375	0,4680
DIM114	0,4731	0,5461	0,5661	0,5325	0,5322	0,5321	0,5366	0,5175	0,5763	0,5601	0,4942	0,4917	0,5304	0,4298	0,5076	0,5328	0,4969	0,4713	0,4813	0,4801
DIM132	0,5255	0,5617	0,5598	0,5196	0,5271	0,5339	0,5189	0,5435	0,5784	0,5504	0,5165	0,4763	0,5344	0,4662	0,5065	0,5450	0,4747	0,4692	0,4374	0,4696
DIM140	0,5061	0,5721	0,5835	0,5165	0,5302	0,5349	0,5140	0,5297	0,5760	0,5579	0,5101	0,4898	0,5340	0,4396	0,5020	0,5460	0,5050	0,4861	0,4598	0,4964
DIM182	0,4799	0,5363	0,5580	0,5250	0,5258	0,5358	0,5223	0,5260	0,5466	0,5586	0,4685	0,4575	0,5325	0,4456	0,5088	0,5442	0,4753	0,4618	0,4575	0,4764
DIM183	0,4938	0,5545	0,5783	0,5265	0,5296	0,5464	0,5320	0,5437	0,5742	0,5601	0,5086	0,4752	0,5451	0,4442	0,5124	0,5342	0,5050	0,4782	0,4621	0,5040
DIM198	0,4926	0,5565	0,5666	0,4949	0,5041	0,5958	0,4834	0,5113	0,5278	0,5349	0,4387	0,4240	0,5948	0,4691	0,5444	0,5055	0,5093	0,4974	0,4951	0,4361
DIM200	0,4699	0,5298	0,5346	0,4836	0,4970	0,5469	0,4916	0,5164	0,5478	0,5454	0,4326	0,4440	0,5446	0,4597	0,5271	0,5213	0,4955	0,5020	0,4949	0,4676
DIM202	0,4853	0,5372	0,5390	0,5149	0,5236	0,5600	0,5000	0,4778	0,5320	0,5292	0,4156	0,4389	0,5618	0,4661	0,5188	0,4722	0,4904	0,4968	0,5011	0,4477
DIM210	0,5009	0,5333	0,5250	0,5081	0,5146	0,5635	0,4942	0,4838	0,5272	0,5299	0,4219	0,4372	0,5658	0,4826	0,5315	0,4859	0,5112	0,5083	0,5084	0,4626
DIM211	0,4952	0,5294	0,5225	0,4956	0,5273	0,5532	0,4921	0,4911	0,5286	0,5315	0,4203	0,4267	0,5536	0,4787	0,5239	0,4788	0,5036	0,5008	0,4996	0,4569
DIM220Q	0,6085	0,6211	0,6340	0,6129	0,5932	0,6297	0,6065	0,6393	0,6260	0,6117	0,6088	0,5798	0,6266	0,5597	0,6082	0,6370	0,5794	0,5891	0,5576	0,5757
DIM220q	0,4868	0,5774	0,5720	0,5240	0,5393	0,5667	0,5217	0,5182	0,5770	0,5524	0,4702	0,4849	0,5642	0,4714	0,5293	0,5359	0,5045	0,5045	0,5105	0,4790
DIM233	0,4844	0,5361	0,5357	0,4872	0,4949	0,5675	0,4885	0,5043	0,5306	0,5258	0,4222	0,4352	0,5687	0,4643	0,5232	0,5130	0,4996	0,4965	0,5053	0,4446
DIM237	0,5562	0,5440	0,5418	0,4964	0,5000	0,5591	0,4902	0,5213	0,5515	0,5351	0,4968	0,4615	0,5585	0,5026	0,5371	0,5188	0,5155	0,5048	0,4887	0,4413
DIM272	0,5159	0,5266	0,5213	0,4880	0,4688	0,5458	0,4758	0,5030	0,5398	0,5203	0,4655	0,4306	0,5452	0,4544	0,5061	0,5004	0,5020	0,4821	0,4620	0,4631
DIM84	0,4824	0,5323	0,5319	0,4805	0,4974	0,5610	0,4835	0,5043		c	0,4219	0,4381	0,5637	0,4594	0,5159	0,5064	0,4964	0,4872	0,5065	0,4433
DIM89	0,4820	0,5262	0,5477	0,5195	0,5075	0,5262	0,5030	0,5123	0,5443	0,5656	0,4739	0,4464	0,5288	0,4387	0,5140	0,5376	0,4635	0,4831	0,4414	0,4740

Pri fenotypovaní mapujúcich populácií sme zaznamenali viaceré fenotypové reakcie, počnúc úplnou reakciou náchylnosti s veľkými kolóniami, náchylnosťou s typickými malými kolóniami, cez miernu náchylnosť až po úplnú rezistenciu (Obr. 1).

Obr. 1: Fenotypové reakcie F_3 rodín v mapujúcich populáciach

Obrázok vľavo: F_3 rodina č.222 z mapujúcej populácie GZ1 x DIM 25. V rodine sa vyskytujú rastliny s veľkými aj malými kolóniami. V hornom riadku vľavo je náchylná kontrola DIM 25, vpravo donor rezistencie GZ1. Obrázok vpravo: F_3 rodina č.46 z mapujúcej populácie GZ1 x EBL. V rodine sa vyskytujú iba rezistentné rastliny. V hornom riadku vľavo je donor rezistencie GZ1, vpravo náchylná kontrola EBL.

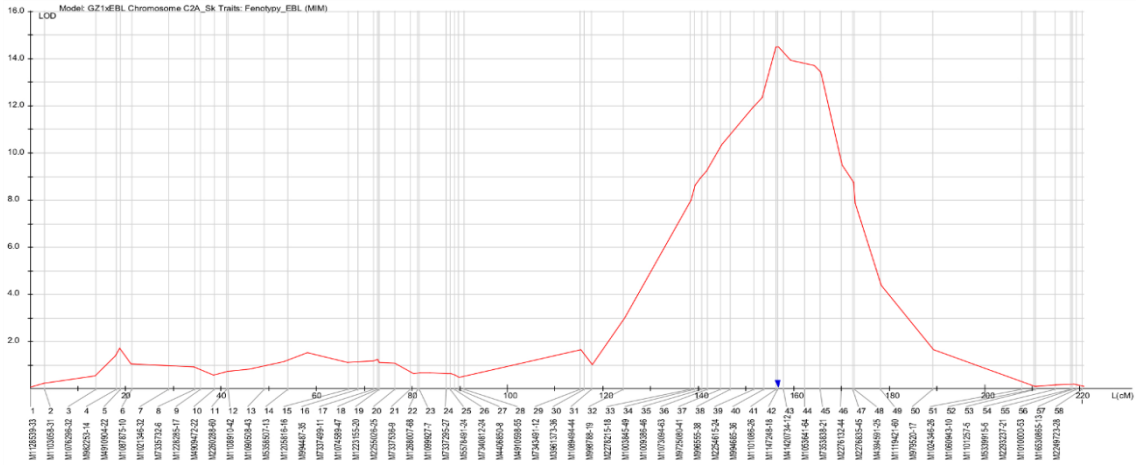




V každej mapujúcej populácii bolo identifikovaných viac ako 23 000 markérov. Pre mapujúcu populáciu GZ1 x EBL má mapa genetickú dĺžku 2865 cM, s priemernou vzdialenosťou medzi markérmi 3.73 cM. QTL analýza lokusov pomocou metódy MIM odhalila dva lokusy spojené s odolnosťou proti múčnatke lokalizované na chromozóm 2A (QTL označené ako *QPm.GZ1-2A*) a chromozóm 7A (QTL označené ako *QPm.GZ1-7A*). Efekt QPm.GZ1-2A QTL vysvetľuje 31% z celkovej fenotypovej variancie pozorovanej u rezistencie voči múčnatke. QTL

QPm.GZ1-7A na chromozóme vysvetľuje 20 % celkovej fenotypovej variancie. Lokus *QPm.GZ1-2A* je dlhý 7,9 cM a pozostáva zo 4 markérov - 1101086-26, 1147248-18, 41420734-12, 1053641-64. Zarovnanie s referenčnou sekvenciou cv. Zavitan (Avni et al., 2017) odhalil synténiu s oblasťou dlhou 1,65 Mbp. Región v cv. Zavitan obsahoval 18 génov, z ktorých iba jeden súvisel s reakciou na odolnosť rastlín. Lokus detegovaný na chromozóme 7A pokrýval oblasť 28,3 cM. Táto oblasť obsahuje 14 markérov . Markéry 1011397-23, 2282553-59, 1043460-61, 1129987-36 ohraničujú vrchol QTL. V genóme Zavitanu (Avni et al., 2017) to zodpovedá syntennej oblasti 2 Mbp. Táto oblasť obsahuje 21 génov, z ktorých osem génov má vzťah odolnosti rastlín voči patogénom (Korchanová, 2020).
Oblasť DNA vymedzujúca markery asociované s rezistenciou na chromozóme 2A ukazuje obrázok 2.

Obr. 2: QTL lokus *QPm.GZ1-2A* QTL na chromozóme 2A



Záver

Biologická ochrana rastlín pšenice voči hubových chorobám je významným nástrojom šľachtiteľov aj farmárov zabezpečujúcim zvýšenú efektivitu produkcie tejto plodiny. V patosystéme pšenica – múčnatka trávová však neexistuje žiadny genetický zdroj s úplnou rezistenciou voči tomuto patogénovi, ktorý by významne neredukoval hospodársky cenné vlastnosti asociované s rezistenciou. Náš genetický zdroj GZ1 pochádzajúci z územia Slovenska takýmto zdrojom je. Dosiaľ sme nenašli ani jeden izolát múčnatky trávovej, ktorý by prekonával túto rezistenciu. Keďže donorom rezistencie je domestikovaná pšenica, je pravdepodobné, že spolu s génmi rezistencie sa do súčasných odrôd pšenice tvrdej a pšenice letnej neprenesie veľa negatívnych vlastností. Výhodou tohto genetického zdroja je aj to, že rezistencia je podmienená dvomi génmi na rôznych chromozómoch. To znamená, že pravdepodobnosť vzniku nových mutácií v populácii patogéna pomocou ktorých by prekonal rezistenciu voči dvom génom súčasne, je veľmi malá. Aj keď na klonovanie oboch génov bude nutné vykonať ešte veľa experimentov, je reálny predpoklad pre to, že nájdeme diagnostické markery pre oba gény, ktoré bude možné využívať v šľachtení pšenice na odolnosť voči múčnatke trávovej pomocou markermi asistovanej selekcie (MAS). Našim cieľom preto je, aby sa na poliach pestovala pšenica s karpatskou rezistenciou, výsledkom čoho bude znížený nápor na životné prostredie a nižšie náklady pestovateľov pšenice v dôsledku aplikácie menšieho množstva fungicídov.

Poďakovanie

Autori ďakujú pani Ivete Madunickej, pani Anne Michalíkovej, Jozefovi Hrúzovi a Ing. Marie Seifertovej za vynikajúcu technickú pomoc. Výskum bol financovaný pomocou nasledovných grantov: Grant slovenskej Agentúry pre výskum a vývoj č. APVV-15-0156 a č. APVV-20-0246, grantu Národného štipendijného programu Agentúry SAIA, Slovenská republika (G. Bonchev), grantu Českej republiky 18-11688S, grantu Ministerstva poľnohospodárstva Českej republiky QK1710302, Projektu EFRR „Rastliny ako nástroj trvalo udržateľného globálneho rozvoja“ grant č. CZ.02.1.01/0,0/0,0/16_019/0000827.

Použitá literatúra

USDA, World agricultural production. Washington, DC, USA: United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service (2017).

Singh R.P., et al., 2016. Annu Rev Phytopathol 54:303–322.

Alam M.A. et al.. 2013. African J. of Microbiology Research, 7: 477-482.

Huigai S. et al., 2018. Theoretical and Applied Genetics 131:2085–2097. doi.org/10.1007/s00122-018-3135-1

Alam M. A., 2011. Journal of Molecular Biology Research. 1(1): 20;

Hubbard A., Wilderspin S., Holdgate S., 2019. United Kingdom Cereal Pathogen Virulence Survey (UKCPVS) Annual Report.

Švec M. and Miklovičová M., 1998. *European Journal of Plant Pathology* 104**,** 537–544.

Hysing S.C., 2007. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences Alnarp, ISBN 978-91-576-7308-4.

Xing L. et al., 2017. *bioRxiv* doi: 10.1101/114058.

Zou S. et al., 2018. *New Phytologist* 218: 298–309 doi: 10.1111/nph.14964;

Chen F. et al., 2019. The Crop Journal 7,771– 783 https://doi.org/10.1016/j.cj.2019.08.0042214-5141 ;

Ronin I.Y. et al., 2017. Genetics, 206, 1285-1295

Hajnalová, M., 2007. Early farming in Slovakia: an archaeobotanical perspective. In: Colledge S., Conolly J. (eds.) The Origins and Spread of Domestic Plants in Southwest Asia and Europe. UCL Institute of archaeology Publications. Left Coast Press. Walnut Creek. CA.

Hajnalová M., Dreslerová D., 2010. Ethnobotany of einkorn and emmer in Romania and Slovakia: towards interpretation of archaeological evidence. Památky archeologické, 169-202

Budja M., 2005. The process of Neolithisation in South-eastern Europe: from ceramic female figurines and cereal grains to entoptics and human nuclear DNA polymorphic markers. Documenta Praehistorica 32, 53–72.

Avni R.M. et al., 2017. *Science* 357 (6346):93-97

Korchanová Z ,2020. Master´ s Thesis, Palacky University Olomouc, 66 pages

Kontaktní adresa:

Ing. Ivan Švec, Ph.D.
Ústav sacharidů a cereálií
VŠCHT Praha
Technická 5
166 28 Praha 6 – Dejvice
Ivan.Svec@vscht.cz

Asociační analýza (GWAS) odrůd a klonů mezirodového křížence ×*Festulolium* a identifikace SNP markerů pro genomickou selekci hospodářsky významných znaků

Association Analysis (GWAS) of ×*Festulolium* and Identification of SNP Markers for Genomic Selection of Economically Important Traits

Drápalová I.[1], Trněný O.[2], Matoušková M.[2], Macháč R.[1]

[1] OSEVA vývoj a výzkum s.r.o, Zubří
[2] Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko

Abstrakt

U odrůd a klonů mezirodového křížence ×*Festulolium* byla provedena asociační analýza (GWAS) za účelem vzniku sady asociovaných SNP markerů s vybranými specifickými agronomicky významnými kvantitativními a kvalitativními znaky. Ve Výzkumné stanici travinářské Rožnov-Zubří bylo v letech 2019 a 2020 hodnoceno 47 položek odrůd a klonů mezirodového křížence ×*Festulolium.* Výsledkem je sada o počtu 88 SNP markerů, které byly vybrány na základě analýzy referenční populace 47 genotypů ×*Festulolium* (38 unikátních položek + 9 biologických replik – klonů). Pozice SNP markerů v jednotlivých kontizích referenční sekvence jílku a v uvedených SNP přiléhajících okolních sekvencích je jednoznačně určena. Tato informace slouží pro potřeby návrhu metody detekce těchto SNP markerů a může být využita pro všechny známé technologické postupy detekce markerů typu SNP (např. hybridizačně, enzymaticky, sekvenačně i fyzikálně založené metody detekce SNP).
Klíčová slova: *Festulolium*, agronomické znaky, kvalitativní znaky, asociační analýza (GWAS), SNP markery, genomická selekce, jílek, kostřava

Abstract

Varieties and clones of the interbreed ×*Festulolium* were subjected to an association analysis (GWAS) to generate a set of associated SNP markers with selected specific agronomically significant traits and qualitative features. In 2019 and 2020, 47 items of varieties and clones of the intergeneric hybrid ×*Festulolium* were evaluated at the Grassland Research Station Rožnov-Zubří. The result is a set of 88 SNP markers, which were selected on the basis of the analysis of the reference population of 47 genotypes ×*Festulolium* (38 unique items + 9 biological replicas - clones). The position of the SNP markers in the individual contours of the rye reference sequence and in the said SNP-adjacent surrounding sequences is unambiguously determined. This information is used for the design of a method for the detection of these SNP markers and can be used for all known technological procedures for the detection of SNP-type markers (eg hybridization, enzymatically, sequentially and physically based methods of SNP detection).

Keywords: *Festulolium,* agronomic traits, qualitative traits, association analysis (GWAS), SNP markers, genomic selection, ryegrass, fescue

Úvod

Kostřavy a jílky se navzájem poměrně snadno kříží. V průběhu meiózy se jejich homeologní chromozómy párují a dochází k častým homeologním rekombinacím, což umožňuje kombinaci komplementárních znaků v jednom genotypu (KOSMALA *et al*. 2003). Mezirodoví kříženci jsou buď amfiploidní (rovnoměrné zastoupení genomu rodičů) nebo introgresní (převaha genomu jednoho z rodičů) (YAMADA 2005) Kříženci ×*Festulolium* tak kombinují výnosový potenciál a kvalitu píce jílků s odolností kostřav vůči abiotickým a biotickým stresům. Kříženci rodu ×*Festulolium* se vyskytují spontánně v přírodě. Vyšlechtěné odrůdy pocházejí zejména z tetraploidních genotypů vytvořených reciprokým křížením druhů *Lolium multiflorum* (2n = 4x = 28) × *Festuca pratensis* (2n = 4x = 28) a *Festuca arundinacea* (2n = 6x = 42) × *Lolium multiflorum* (2n = 4x = 28) (CAGAŠ *et al*. 2010). Kostřava luční náleží mezi nejhodnotnější pícní druhy trav. Je odolná k mrazům a chladnému klimatu. Nevýhodou je malá vytrvalost a slabá konkurenční schopnost. Je diploidní (2n = 2x =14). Velikost genomu kostřavy luční je 3,175 Gbp. Kostřava rákosovitá je vysoce produkční pícní tráva, ovšem její pícninářská hodnota je nižší z důvodu drsnosti stébel a listů. Ve šlechtění trav se pro svou vysokou produktivitu a odolnost vůči stresům uplatňuje při tvorbě mezirodových hybridů s rodem jílku. Je hexaploidní (2n= 2x = 42). Velikost genomu kostřavy rákosovité se pohybuje od 5,27 do 5,83 Gbp (YANHONG *et al*., 2015). Jílek vytrvalý je jednou z nejvýznamnějších pícních trav. Píce jílku vytrvalého je velmi kvalitní, s vysokým obsahem vodorozpustných cukrů. Jílek vytrvalý je diploidní (2n = 2x = 14), jsou však vyšlechtěny i tetraploidní odrůdy (2n = 4x = 28). Velikost genomu jílku vytrvalého je 2,623 Gbp. Jílek mnohokvětý je rovněž velmi významný pícní druh využívaný zejména v dočasných travních porostech na orné půdě a při zakládání nebo přísevech intenzívně obhospodařovaných travních porostů. Poskytuje velmi vysoké výnosy kvalitní píce. Je napadán sněžnou plísňovitostí (šedá, světlerůžová), častěji korunkatou rzivostí trav, námelovitostí nebo virovými chorobami (RGMV). Jílek mnohokvětý je diploidní (2n = 2x = 14), jsou však vyšlechtěny i tetraploidní odrůdy (2n = 4x = 28). Velikost genomu jílku mnohokvětého je 2,567 Gbp. Uvedené druhy často obsahují toxické alkaloidy produkované endofytními houbami rodu *Neotyphodium*. (KOPECKÝ *et al*., 2013) Druhy hybridních kříženců ×*Festulolium* jsou důležité druhy pícnin a trávníků a jako takové byly intenzivně studovány. Omezená dostupnost molekulárních markerů ztěžují genetické studie. Metody detekce SNP se v posledních letech významně rozvíjejí. Pro identifikaci jednotlivých jednonukleotidových polymorfismů lze použít protokoly založené na hybridizaci, kdy je daná varianta polymorfní alely detekována pomocí specifické sondy s navázaným fluorescenčním barvivem, nebo protokoly využívající enzymy, např. restrikční endonukleázy při CAPS, nebo polymerázy při PCR, anebo lze využít metody založené na sekvenování genomu souboru zkoumaných jedinců. Pro druhy s vyšší velikostí genomu, kam se řadí i hybridy kostřavy s jílkem, se v současnosti nejvíce používá metoda celogenomového sekvenování genomu s redukovanou komplexitou (ddRADseq, GBS, DArTseq atd.), kdy jsou knihovny genomických fragmentů připraveny pomocí výběru jen konkrétní části genomu získané na základě štěpení restrikčními endonukleázami a omezením velikosti fragmentů. Právě metoda DArTseq byla použita pro detekci SNP celogenomového genotypu rostlin ×*Festulolium*, které byly dále použity pro celogenomovou asociační analýzu. Metoda DArTseq využívá masivního sekvenování nové generace (NGS). Pro tento účel je vytvořena sekvenační knihovna, která pokrývá pouze vybranou část genomu rostlin. Ta je následně sekvenována v režimu vysokého pokrytí genomu. K redukci komplexity je využíván systém kombinace dvou restrikčních enzymů, z nichž jeden je navíc metylačně sensitivní. V porovnání s jinými metodami redukce komplexity genomu se DArTseq zaměřuje na unikátní oblasti v genomu, které jsou často typické pro genové oblasti s vysokou informativní hodnotou. Výsledky jsou bioinformaticky

zpracovány, přičemž jsou detekovány zejména jednonukleotidové polymorfismy napříč celým genomem. Vysoké pokrytí sekvenace navíc umožňuje správně odhalit i alelické stavy u polyploidních nebo hybridních jedinců. Výsledky celogenomového genotypování jsou následně propojeny s pozorovanými fenotypovými daty při celogenomové asociační studii (GWAS), jejímž výsledkem je identifikace konkrétních SNP markerů asociovaných s danými fenotypovými projevy (BARTOŠ *et al*. 2011). Cílem práce bylo vytvořit knihovnu, ve které by byly vybrané fenotypové projevy spárovány s určitou genetickou sekvencí. A dopomoci tak moderní metodou k rychlejšímu a efektivnějšímu šlechtění.

Materiál a metody

Referenční populace genotypů ×*Festulolium* pochází z Genové banky VURV Praha-Ruzyně a z klonové školky Ing. Hany Jakešové v Hladkých Životicích. Výběr byl proveden tak, aby pokrýval fenotypovou rozmanitost hybridů ×*Festulolium* a zahrnoval tetraploidní i hexaploidní položky. Genotypy pro analýzu DNA byly předpěstovány ve skleníků a poté i s klonovými položkami vysazeny do netkané textilie na pozemcích Výzkumné stanice travinářské Rožnov-Zubří. Fenologická měření v roce 2019 byla prováděna v letních měsících červenci a srpnu a hodnocená podle Klasifikátoru Trávy (ŠEVČÍKOVÁ 2002). Pro hodnocení genotypu rostlin byl vytvořen celogenomový SNP profil položek za použití metody DArTseq analýzy, která využívá sekvenování knihoven DNA s redukovanou komplexitou. Pro vlastní izolaci DNA 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. Výsledky genotypového a fenotypového hodnocení byly použity pro celogenomovou asociační analýzu. GWAS analýza SNP genotypových a fenotypových dat byla provedena statistickým modelem 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.

Obrázek 1 Založení klonové školky duben 2019

Obrázek 2 Vzešlý porost květen 2020

Výsledky a diskuse

OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se v rámci projektu Národního Centra Kompetence Biotechnologického centra pro genotypování rostlin zabývá od roku 2019 sběrem fenotypových dat, které slouží k následnému propojení testovací sady asociovaných SNP markerů s vybranými specifickými agronomicky významnými znaky u odrůd ×*Festulolium*. Ve dvouletém pokusu bylo na lokalitě Zubří fenotypově hodnoceno 52 položek ×*Festulolium* ve

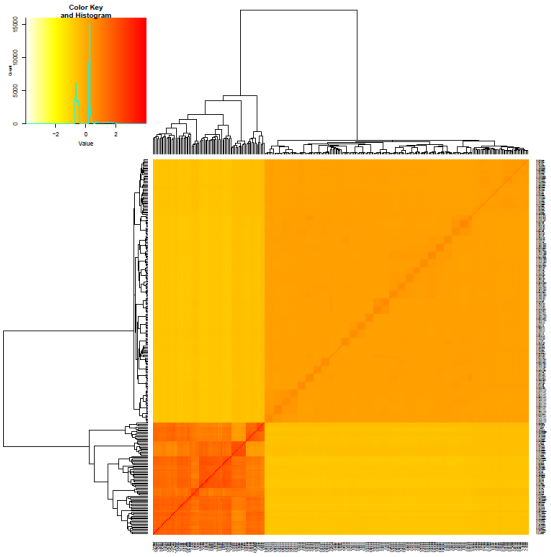
třech opakováních. Sekvenováno bylo 282 vzorků rostlin. Ze 150 670 SNP bylo pro analýzu vybráno 36 815 SNP, u nichž bylo mezi vyvolanými variantami alel méně než 30 % chybějících hodnot. Výsledkem je sada o počtu 88 SNP markerů, které byly vybrány na základě analýzy referenční populace 47 genotypů ×Festulolium (38 unikátních položek + 9 biologických replik – klonů). Pozice SNP markerů v jednotlivých kontizích referenční sekvence jílku a v uvedených SNP přiléhajících okolních sekvencích je jednoznačně určena. Tato informace slouží pro potřeby návrhu metody detekce těchto SNP markerů a může být využita pro všechny známé technologické postupy detekce markerů typu SNP (např. hybridizačně, enzymaticky, sekvenačně i fyzikálně založené metody detekce SNP). Protože genomy kostřavy a jílku nejsou dostupné ve formě chromozomů, ale pouze kontigů, byly SNP pro účely naší analýzy seskupeny na 2 uměle vytvořené pseudochromozomy – pseudochoromozom 1 (který obsahuje SNP mapované na kontigy referenční sekvence jílku – v manhattan plots zbarvený růžově) a pseudochromozom 2 (obsahující SNP nemapované na kontigy – v manhattan plots žlutý). Pro analýzu byla použita metoda BLINK (Bayesian-information and Linkage-disequilibrium Iteratively Nested Keyway) v programu Gapit v 3.

Tabulka 1 Pozorované znaky s přiřazeným počtem markerů

Znak	Počet identifikovaných SNP markerů	Pseudochromozom
Odolnost vůči suchu	2	1,2
Šířka listů vegetativních odnoží	3	1
Odolnost vůči vyzimování	5	1,2
Odolnost vůči mrazu	7	1
Začátek sloupkování	17	1,2
Začátek metání	13	1,2
Tvar trsu ve vegetativním stavu	9	1,2
Odolnost vůči paličkovici nachové	1	2
Odolnost vůči rzi	31	1,2

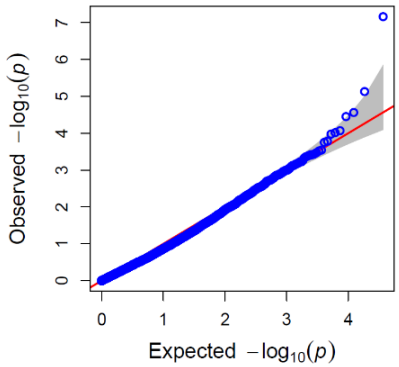
Vzorky jsou rozděleny do dvou hlavních skupin, které jsou příbuzné vzdáleněji. V rámci každé skupiny se nachází subpopulace blízce příbuzných jedinců viz Obr 3 Analýza příbuznosti jedinců.

Obrázek 3 Analýza příbuznosti jedinců

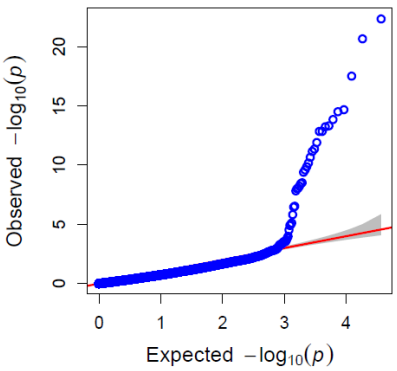


Rez korunkatá (*Puccinia coronata Corda var. coronata*) napadá hlavně listy. Její výskyt má vliv na kvalitu píce. Při častém výskytu může negativně ovlivnit kvalitu osiva (snížení hmotnosti tisíce semen, klíčivosti a energie klíčivosti). Rez travní (*Puccinia graminis subsp. graminicola*) se vyskytuje na stéblech travních druhů. Silný výskyt vede k předčasnému usychání listů i stébel. Při intenzivním výskytu v raném stadiu (např. před metáním) může způsobit nedostatečnou výživu semen a tím i jejich zhoršenou kvalitu (snížení hmotnosti tisíce semen, klíčivosti a energie klíčivosti). Paličkovice nachová (*Claviceps purpurea* Tul.) je nejvýznamnější parazit houbového původu v semenářství trav. Napadá všechny druhy trav. Hodnocení jednotlivých znaků se provádělo na základě Klasifikátoru pro trávy na stupnici 1-3-5-7-9, kde pro odolnost vůči patogenu (rzi, paličkovici nachové) znamená 1 – velmi nízká, 3 – nízká, 5 –střední, 7 – vysoká, a 9 – velmi vysoká odolnost.

Obrázek 4 Kvantil-kvantil graf získaných a očekávaných hodnot výsledků log10 P hodnoty v modelu BLINK pro asociaci SNP k odolnosti

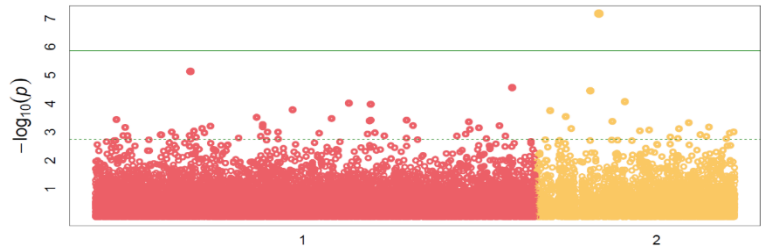


Obrázek 5 Kvantil-kvantil graf získaných a očekávaných hodnot log10 P hodnoty v modelu BLINK pro asociaci

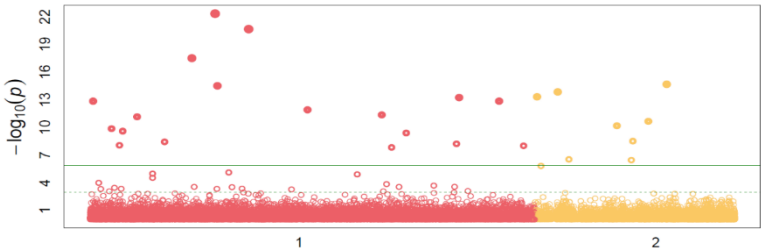


Kvantil-kvantil grafy získaných a očekávaných hodnot asociace (Obrázky 4 a 5) jsou důkazem, že nejlépe asociované SNP jsou výsledkem asociace, a ne pouze výsledkem reziduální náhodné distribuce získaných hodnot. Avšak i zde můžeme pozorovat rozdíl mezi výsledky pro dva pozorované druhy rezistence. Asociace SNP k rezistenci ke rzi (Obrázek 5) dosahuje oproti druhému více průkazných výsledků, což značí výsledek, který dobře odpovídá genotypovému založení projevu znaku.

Obrázek 6 Manhattan graf asociace rezistence vůči paličkovici nachové s využitím BLINK modelu



Obrázek 7 Manhattan graf asociace SNP k rezistenci vůči rzi s využitím BLINK 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. Výsledky asociace k vybraným znakům prokázaly desítky statisticky významných SNP na úrovni korigované P hodnoty menší než 0,05 (Obrázky 4. – 7.). Navíc u znaku rezistence k paličkovici nachové byl jeden SNP (Tabulka 2) a u znaku odolnosti ke rzi 31 SNP (Tabulka 3) označených za asociované na hranici významnosti korigované P hodnoty menší než 0,01. Plná zelená čára značí úroveň FDR upravené P hodnoty asociace 0,01, přerušovaná zelená čára značí úroveň FDR upravené P hodnoty asociace 0,05.

Tabulka 2 Identifikované SNP lokusy vykazující významnou asociaci s rezistencí vůči paličkovici nachové (Claviceps purpurea Tul)

SNP ID	Kontig	Pozice na kontigu	FDR adjusted p-value	Alely (referenční/ alternativní)	Pozice SNP	Přilehlá sekvence
12196308|F|0-7:G>A-7:G>A	NA	NA	0,0025	G/A	7	TGCAGTGGTTGAGATAGGCCAGGAATTCAAGGAGGGGACGGCGGCGCACGACGCGACACTGCGATGAGA

Tabulka 3 Identifikované SNP lokusy vykazující významnou asociaci s rezistencí vůči rzi

SNP ID	Kontig	Pozice na kontigu	FDR adjusted p-value	Alely (referenční/ alternativní)	Pozice SNP	Přilehlá sekvence
41559227|F|0-38:A>G-38:A>G	MEHO01025380.1	764	0	A/G	38	TGCAGGGGCTGGAAGACGAGGTGCAGCACGTCGGGCCGACGTTCAGCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAG
12194738|F|0-11:T>C-11:T>C	MEHO01036804.1	715	0	T/C	11	TGCAGCATCTATGCATGTCTGCCTCATACGTCCTCGGCGAATCTCGCGCTGTTGGTCGTGTTGTCGTCC
8913228|F|0-43:A>G-43:A>G	MEHO01018778.1	2654	0	A/G	43	TGCAGTACATTGCAGTTTTTTCTTGTGAAAAGTAAATGATCAAAATACAACTGCAAAGTCAATAGCCGA
12211399|F|0-13:G>A-13:G>A	NA	NA	0	G/A	13	TGCAGCGTCACAGGTAGATATGCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAGCAGGAATGCCGAGACCGATCTCGT
12057718|F|0-26:G>T-26:G>T	MEHO01026126.1	732	0	G/T	26	TGCAGCCCCATGTCGGTCAAAGGATCGCCCTGCCAACGGCATCACGTTGCCCTCGATGCTCCTGTCTCC
12120126|F|0-33:G>C-33:G>C	NA	NA	0	G/C	33	TGCAGACGCTGACACGGTGGCTTCGCGCGGGTAGCTTCGCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAGCAGGAAT
50456803|F|0-66:G>A-66:G>A	NA	NA	0	G/A	66	TGCAGAGGCGGATGAGCTACGGTGGTGGAGGCCTATGGTCGTCCGAGCAGAAGACGGATAGCTCAGGGC

12184700|F|0-66:A>G-66:A>G	MEHO01281308.1	463	0	A/G	66	TGCAGGCAGGTTGTTTTTGAGGGGCGGCACGGATGAATCGGATTGGTCAGTTGAGTACACGAGAACAGG
8917084|F|0-66:G>A-66:G>A	MEHO01431447.1	169	0	G/A	66	TGCAGGGCAGTCCAAGGCCGTTCTTTCGAAGCAATCGGTGCGCACGCTCCAGCTCGTTTCGTGAGAGGA
8911605|F|0-29:G>T-29:G>T	MEHO01000295.1	605	0	G/T	29	TGCAGTGGGAGCCGCCCGAGTTCGCGCGCGCGCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAGCAGGAATGCCGAGA
12274563|F|0-51:C>A-51:C>A	MEHO01064619.1	1019	0	C/A	51	TGCAGTCAGTGGACGTCAAGAAGTCGTCTTCTTCGCTCAACATGTCTACGTCTTCTCTCAGGAGCATCA
12179614|F|0-61:G>C-61:G>C	MEHO01127297.1	492	0	G/C	61	TGCAGAGAGTGCTGAGGTACTCCTGTTCTTCTTTCGTCAAAACAGCGCCAGTCTGCATCACGGAAGAAT
50471121|F|0-29:G>T-29:G>T	MEHO01006607.1	303	0	G/T	29	TGCAGTAGGTGAGCTGCGGCGGGGATGGAGGCTGGTGTCGTCGCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAGCAG
9074837|F|0-23:A>G-23:A>G	NA	NA	0	A/G	23	TGCAGGTCGTGGCAGTCCGTGCTATGTCACCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAGCAGGAATGCCGAGACC
12173421|F|0-17:C>T-17:C>T	NA	NA	0	C/T	17	TGCAGTTCCTAAATTTCCTTCTTAATCATTCGTCAGTCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAGCAGGAATGC
8916452|F|0-64:G>A-64:G>A	MEHO01002552.1	2849	0	G/A	64	TGCAGCATGTTTCTTGTTCTTGTTTGCTACTCTTGTCATTTTTATGGCATCTCATCAGTCCATAGGAGG
12267515|F|0-32:G>C-32:G>C	MEHO01004269.1	1571	0	G/C	32	TGCAGAACTTCCCCACCTCCCCTCGCGGATTCGTATGGGAGAGTGTTCAGCACCTTCACCCGAGATCGG
8916139|F|0-35:A>T-35:A>T	MEHO01162196.1	512	0	A/T	35	TGCAGAGATTGCACTCCTCCGTCCAACTCCAACGAATGAGAGAAGAGATGCTCGTTGGTCTTTATGGCA
8917250|F|0-42:G>C-42:G>C	NA	NA	0	G/C	42	TGCAGGTGGTTGGCGGGAGGAGGTGGCGCCGTAGAGAGTGTCGGAGCGGGCAGGGATCGGAGCGCGCAC
8920653|F|0-23:C>A-23:C>A	MEHO01012057.1	2755	0	C/A	23	TGCAGATTATGCATCTGCCGCTGCTCGTGGCTGTCACATGAGCGTATCATGTTCATCTGCCGATTGGTC
12183110|F|0-54:G>C-54:G>C	MEHO01274233.1	398	0	G/C	54	TGCAGGAGCTGGCTCGCGTAGCCGGGGTTGGAGCGGCGGAACACGAGCGACGCCGCCGCCATTGCGGCC
50481034|F|0-36:G>C-36:G>C	MEHO01003728.1	1653	0	G/C	36	TGCAGCAGCGACCACCACCACCAGCGCCGGCGCTCGGCTCCACCGCACGTACATCCTCCTCTCCTCCTC
12249568|F|0-20:T>C-20:T>C	MEHO01567583.1	64	0	T/C	20	TGCAGGTTCAGGATACGGCGTGGCTGCTTGTTGCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAGCAGGAATGCCGAG
12217021|F|0-11:C>T-11:C>T	MEHO01140146.1	289	0	C/T	11	TGCAGCGCGTACGCCATGCGGATGAGGTGCCGCCGGGAGTGCTTCTTGGCCATCGTGTGCACGCCGACG
12202182|F|0-28:G>A-28:G>A	NA	NA	0,0004	G/A	28	TGCAGGGACGTTGTCAGGCTCACGGTGCGATGAGCCGAGATCGGAAGAGCGGTTCAGCAGGAATGCCGA
50473405|F|0-61:T>C-61:T>C	NA	NA	0,0005	T/C	61	TGCAGGCGCCTCCCAGCCGCACGCTCCCGATCGGACGGAGGAGCACTCGGTCAGCAGGCCGTGACGAAC
12136812|F|0-23:A>T-23:A>T	NA	NA	0,0021	A/T	23	TGCAGCCTAATCGCTGAACAGATAGCACAACTCAATGGCTTCAGCCTTGTGTGGTTTCAGTGCTGGAAG
12165726|F|0-39:G>C-39:G>C	MEHO01029795.1	1014	0,0101	G/C	39	TGCAGGTATTTGCTACTAGCATGCACACCCTTTGTCTCTGGTTAATTACCAACGGAGAACGTAAAATGT
12198013|F|0-23:C>G-23:C>G	MEHO01009511.1	2664	0,0132	C/G	23	TGCAGGGACCTCTCGAACAACGACCTCTGCGGCACCATCCCGACATCTGGAGCGTTTCAGAACCTTCCT
50480616|F|0-58:C>A-58:C>A	MEHO01101443.1	95	0,0153	C/A	58	TGCAGAAATGCAGGCTACACACGCGGCGAGCATCCGACAGCGATCGGCAGTAGCAGCCCGCCGGCGTGT
12198013|F|0-20:C>T-20:C>T	MEHO01009511.1	2664	0,0353	C/T	20	TGCAGGGACCTCTCGAACAACGACCTCTGCGGCACCATCCCGACATCTGGAGCGTTTCAGAACCTTCCT

Polymorfismy nukleových kyselin se vyznačují přítomností variabilních pozic v DNA, v nichž se vyskytují dvě nebo více variant alel, které jsou v populaci zastoupeny v určité frekvenci. Jednonukleotidový polymorfismus (SNP) označuje variabilní stav pouze v jediném nukleotidu na konkrétním místě v genomu. V kódujících nebo regulačních sekvencích DNA mohou ovlivnit výsledný fenotyp daného jedince, avšak jejich častější výskyt je zaznamenán v nekódujících oblastech DNA, kde však mohou být ve vazbě s geny ovlivňujícími fenotypový projev zkoumaného znaku. S příchodem možností sledování velkého počtu DNA markerů napříč genomy velkého množství jedinců mohou být využity i metody asociačního mapování bez nutnosti tvorby mapovací populace. Celogenomové asociační mapování (GWAS, Genome-Wide Association Study) je založeno na statistickém hledání asociace ve velkém množství markerů s vyšší hustotou napříč celým genomem. Navíc jsou pro výpočet asociace SNP s

fenotypovým znakem uzpůsobeny statistické modely, které dokážou odfiltrovat zavádějící vlivy, jako je struktura populace nebo příbuznost jedinců. Vývoj statistických modelů pro celogenomovou asociaci prošel v poslední době rychlým vývojem, kdy použitý statistický model BLINK je jedním z výpočetně nejefektivnějších modelů, který vykazuje nízkou míru falešně pozitivních výsledků (HUANG *et al*. 2019).
SNP markery označené za asociované jsou vhodné k využití v procesu markery asistované selekce na sledované znaky. SNP markery detekovatelné jedním z mnoha možných přístupů (CAPS, microarray, SBE, aj.) jsou vhodným nástrojem pro sledování prostupu benefitních genotypů napříč generacemi od rodičů k potomkům a následném zafixování ve výchozím materiálu pro přihlášení nové odrůdy. Cílem šlechtitele je mít co nejvíce benefitních alel asociovaných SNP markerů v nové odrůdě. I když šlechtitel nemůže plně nahradit proces sledování fenotypu rostlin u selektovaných znaků markery. Asistovanou selekcí, lze ve šlechtitelských populacích selektovat jedince, kteří disponují vysokým genotypovým potenciálem pro dosažení žádaných úrovní vybraných znaků. Tímto přístupem lze zefektivnit selekci i urychlit vznik nových odrůd.

Závěr

GWAS analýzou byla stanovena sada 88 SNP markerů, které byly vybrány na základě analýzy referenční populace 47 genotypů ×*Festulolium*. Pozice SNP markerů v jednotlivých kontizích referenční sekvence jílku a v uvedených SNP přiléhajících okolních sekvencích je jednoznačně určena. Tato informace slouží pro potřeby návrhu metody detekce těchto SNP markerů a může být využita pro všechny známé technologické postupy detekce markerů typu SNP (např. hybridizačně, enzymaticky, sekvenačně i fyzikálně založené metody detekce SNP). Znalostí markerů pro odolnosti vůči patogenům se v budoucnu šlechtitel vyhne především finanční újmě. Zároveň je metoda využitelná pro výběr výchozích šlechtitelských materiálů vhodných ve šlechtění nových odrůd se zvýšenou odolností vůči patogenům, nepříznivým podmínkám prostředí, obsahem N-látek nebo vhodnou volbou ranějších odrůd.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora projektu č. MZE-RO 1818 a projektu TA ČR č. TN01000062/06.

Literatura

Bartoš, J., Sandve, S.R., Kölliker, R. Kopecký, D., Christelová, P., Stočes, Š., Østrem, L.,
Larsen, A., Kilian, A., Rognli, O-A, Doležel, J. 2011 Genetic mapping of DArT markers in the Festuca–Lolium complex and their use in freezing tolerance association analysis. THEORETICAL AND APPLIED GENETICS 122: 1133-1147.

Cagaš B, Macháč J. Ševčíková M., Šrámek P., Macháč R., 2010 Trávy pěstované na semeno.1. vyd. Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, 276 s..

Cagaš B., 1998. Choroby a škůdci pícních a trávníkových trav, OSEVA PRO s.r.o – Výzkumná stanice travinářská, Zubří, 62 s.

Huang, M., et al. 2019 BLINK: A package for the next level of genome-wide associationstudies with both individuals and markers in the millions. Gigascience giy154. doi:10.1093/gigascience/giy154.

Kopecký, D. et al. 2013 Establishing Chromosome Genomics in Forage and Turf Grasess.

In. Barth and Milbourne (eds.) Breeding Strategies for Suistainable Forage and Turf Grass impovement. Springer.s. 105-113.

Kosmala A., Skibińska M., Zwierzykowski Z., Humphreys M. W., Rapacz M. and Jokś W., 2003: Introgression of genes for abiotic stress resistence from Festuca pratensis and F. arundinacea into Lolium multiflorum germplasm. Vortr. Pflanzenzüchtg 59: s. 225-231.

Ševčíková M., Šrámek P., Faberová I., 2002: Klasifikátor. Trávy (Poaceae). Praha: VÚRV, 34 s.

Tang Y et al. 2016: GAPIT Version 2: An enhanced integrated tool for genomic association and prediction. Plant J. 9.

Yamada T., Forster J. W., Humphreys M. W., Takamizo T. 2005 Genetics and molekular breeding in Lolium/Festuca grass species komplex. Grassland Science 51. s. 89-106.

Kontaktní adresa:

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

Výsledky desikačních pokusů u štírovníku růžkatého: hodnocení účinnosti zkoušených účinných látek a jejich kombinací

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

Kubíková Z.[1], Smejkalová H.[1], Hutyrová H.[1], Šafář J.[2]

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

Abstrakt

V roce 2020 a 2021 byly u štírovníku růžkatého (*Lotus corniculatus* L.) provedeny pokusy zaměřené na nové možnosti desikace semenných porostů. Byla srovnávána účinnost *dikvátu, pyraflufen-ethylu, flumioxazinu, fluroxypyru, karfentrazon-ethylu, kys. pelargonové* a hnojiva DAM a jejich kombinací. Byla hodnocena míra zasychání listové plochy, stonků a plodů, pukání lusků, obrůstání rostlin a účinnost na nejčastější plevele. Ve srovnání s neošetřenou kontrolou docházelo na ošetřených variantách ke zlepšení zaschnutí rostlin štírovníku, ale celkové zasychání štírovníku bylo silně ovlivněno ročníkem a žádná ze zkoumaných látek nedosahovala účinnosti *dikvátu*. U ostatních zkoušených látek byla také nižší účinnost na plevele.
Klíčová slova: desikace, štírovník růžkatý, *Lotus corniculatus*, semenné porosty

Abstract

The desiccation experiments with birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) were carrying out in the years 2020 and 2021. The efficacy of *diquat, pyraflufen-ethyl, flumioxazine, fluroxypyr, carfentrazone-ethyl, pelargonic acid,* DAM fertilizer and their combinations was compared. Efficacy on weeds, crop regrowth, cracking pods, and the drying of leaves, stems, and fruits were evaluated. In comparison with the untreated control, the drying of the birdsfoot trefoil plants improved on the treated variants. The overall drying of the birdsfoot trefoil was strongly influenced by the year and none of the tested substances reached the effectiveness of the *diquat*. Other tested substances also had lower weed efficacy.
Key words: desiccations, birdsfoot trefoil, *Lotus corniculatus*, seed stands

Úvod

Štírovník růžkatý je vytrvalá jetelovina, která se v čistých kulturách pěstuje poměrně málo. Většinou se pěstuje ve směsích s travami. Využívá se do pastevních porostů, protože je odolný pastvě a je schopen se přirozeně vysemeňovat. Jako čisté kultury se pěstují hlavně porosty určené k produkci osiva. Na rozdíl od jetelů nevytváří vrcholové květenství, ale v úžlabí listů se u něj postupně vyvíjí několik květenství (obvykle 2 až 6) od spodnějších nodů směrem nahoru. Nakvétání štírovníku může trvat 3 až 8 týdnů a postupné je také dozrávání. Sklizeň osiva štírovníku je silně komplikována nejen postupným dozráváním, ale také pukavými lusky, které po zaschnutí praskají a vystřelují semínka do okolí. Před sklizní štírovníků na semeno se doporučuje desikace porostu. K desikacím u jetelovin se využívala účinná látka *dikvát*. Její výhodu je univerzálnost, rychlost působení a široké spektrum účinku. Také nezpůsobuje trvalé poškození rostlin a neovlivňuje kvalitu osiva (Comendant a Davies 2018). 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 jiných druhů bobovitých plodin zkoušeny účinné látky *bromoxynil*, *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin*, *pyraflufen-ethyl*, *fluroxypyr*, *glyfosát* a *dicamba* (Moyer *a kol.* 1996, Soltani *a kol.* 2013, McNaughton *a kol.* 2015, Pereira *a kol.* 2015a, Pereira *a kol.* 2015b, Tavares *a kol.* 2016, Kirk *a kol.* 2017, Subedi *a kol.* 2017, Raisse *a kol.* 2020). K desikaci bramborové natě se využívá také *kyselina pelargonová*, názory různých autorů na účinnost se rozcházejí (Zoltarelli *a kol.* 2020, Hutchinson a Stall 2007, Fabbri *a kol.* 2018, Kardasz *a kol.* 2019). Bylo zkoušeno také použití minerálních hnojiv, zejména DAM. Ve srovnání s *dikvátem* je účinek ostatních látek pomalejší a méně univerzální. Navíc informací o možnostech využití těchto látek k desikacím porostů štírovníků je stále poměrně málo.
V této práci byly k desikaci štírovníku růžkatého zkoušeny účinné látky *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin*, *pyraflufen-ethyl*, *fluroxypyr*, *flumioxazin* a *kys. pelargonová* v kombinaci se smáčedlem Dash HC, lepidlem Flexi a hnojivem DAM. Cílem této práce bylo zjistit účinnost vybraných účinných látek na dozrávající rostliny štírovníku růžkatého a také jejich vliv na nejčastěji zastoupené plevele. Také byly zkoumány možnosti využití vysokých dávek hnojiva DAM.

Materiál a metody

Pokusy probíhaly v letech 2020 a 2021 na pokusných plochách na lokalitě poblíž obce Troubsko. Průměrné teploty a srážky naměřené v Troubsku v letech 2020 a 2021 jsou uvedeny v tabulce 1.

Tabulka 1: Průměrné měsíční teploty a úhrny srážek v letech 2020 a 2021

Měsíc	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
Rok 2020												
Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,2	4,6	5,3	9,9	12,6	18,0	19,1	20,7	15,0	10,1	4,5	2,4
Sumy srážek (mm)	8,5	27,1	25,7	20,3	63,9	87,2	68,0	104,5	81,6	130,1	23,4	36,8
Rok 2021												
Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,1	4,6	5,3	9,9	12,6	18,0	19,1	20,7	15,0	-	-	-
Sumy srážek (mm)	36,0	31,0	21,0	16,0	58,0	67,0	100,0	130,0	15,0	-	-	-

Jednalo se o maloparcelkové pokusy s velikostí parcel 12,5 m^2, ve třech opakováních s náhodným uspořádáním. K založení pokusů bylo použito osivo odrůdy Lotar. Přezimování porostu bylo v obou letech dobré a porosty štírovníku byly dobře zapojené. V obou letech se v porostu štírovníku vyskytovaly plevele, zejména heřmánkovec, locika a pcháče (pcháč obecný v roce 2020 a pcháč oset v roce 2021). V roce 2021 bylo zaplevelení vyšší než v roce 2020. Oba roky byly ve srovnání s předchozími ročníky mírně chladnější a srážkově poměrně vydatné, zejména pak v roce 2021 v měsících červenci a srpnu, kdy probíhalo dozrávání a sklizeň.
První pokusnou variantou byla kontrola bez ošetření, další kontrolní varianta byla ošetřena účinnou látkou *dikvát* v kombinaci s účinnou látkou Flexi. Zkoušeny byly účinné látky *pyraflufen-ethyl*, *fluroxypyr*, *karfentrazon-ethyl*, *flumioxazin* a *kys. pelargonová*. Účinná látka *fluroxypyr* byla zkoušena pouze v roce 2020 a byla kombinována s *pyraflufen-ethylem*, smáčedlem Dash HC a s hnojivem DAM. V roce 2021 byla zařazena účinná látka *flumioxazin*. Pro zvýšení účinku byly přípravky kombinovány se smáčedlem Dash HC a s hnojivem DAM. Pro omezení rozpadu plodů bylo k některým variantám přidáváno lepidlo. Také byla zkoušena varianta pouze s vysokou dávkou hnojiva DAM v poměru 1:1 s vodou a v kombinaci se smáčedlem. Dávka aplikační kapaliny byla 400 l/ha, v roce byla u některých variant dávka aplikační kapaliny snížena na polovinu (200 l/ha). Jednalo se o variantu s *pyraflufen-ethylem*

(var. č. 4), variantu s *kyselinou pelargonovou* (var. č. 7.) a variantu s vysokou dávkou hnojiva DAM 1:1, kde bylo použito 100 l DAM + 100 l vody (var. č. 8). Seznam variant v roce 2020 uvádí tabulka 2 a seznam variant v roce 2021 je v tabulce 3.
Pokusné přípravky byly v obou letech aplikovány ve dvou termínech (termín A: 15.7.2020, 21.7.2021, termín B: 22.7.2020, 26.7.2021). Byla hodnocena účinnost na štírovník a na nejvíce zastoupené plevele (heřmánkovec, lociku a pcháče – v roce 2020 pcháč obecný a v roce 2021 pcháč oset), dále bylo hodnoceno pukání lusků a obrůstání. Hodnocení proběhlo vždy ve čtyřech termínech (15.7., 20.7., 23.7., 27.7. v roce 2020 a 22.7., 26.7., 29.7., 1.8. v roce 2021). Poslední termín hodnocení byl vždy těsně před sklizní.

Tabulka 2: Seznam variant v roce 2020

Varianta	Přípravky	Účinné látky	Aplikace	Dávky na hektar
1	Kontrola	*Kontrola*	-	-
2	Reglone + Flexi	*Dikvát + lepidlo*	Termín B	3,5 + 0,5 l
3	Kabuki + Dash + DAM	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	Termín A	0,8 + 1 + 10 l
4	Kabuki + Starane Forte + Dash + DAM	*Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM*	Termín A	0,8 + 0,6 + 1 + 10 l
5	Spotlight + Dash + DAM	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM*	Termín A	1 + 1 + 10 l
6	Beloukha + Dash + DAM	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	Termín A	16 + 1 + 10 l
7	DAM 1:1 + Dash	*DAM 1:1 + Dash*	Termín B	200 + 1 l
8	Kabuki + Dash + DAM	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	Termín A	0,8 + 1 + 100 l

Tabulka 3: Seznam variant v roce 2021

Varianta	Přípravky	Účinné látky	Aplikace	Dávky na hektar
1	Kontrola	*Kontrola*	-	-
2	Reglone + Flexi	*Dikvát + lepidlo*	B	3,5 + 0,1 l
3	Kabuki + Dash + DAM	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	0,8 + 1 + 10 l
4	Kabuki + Dash + DAM (voda 200 l/ha)	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM (voda 200 l/ha)*	A	0,8 + 1 + 10 l
5	Spotlight + Dash + Flexi + DAM	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM*	A	1 + 1 + 0,1 + 10 l
6	Sumimax + Dash + DAM	*Flumioxazin + smáčedlo + DAM*	A	0,142 kg + 1 + 10 l
7	Beloukha + Dash + DAM (voda 200 l/ha)	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM (voda 200 l/ha)*	A	16 + 1 + 10 l
8	DAM 1:1 + Dash (voda 100 l/ha)	*DAM 1:1 + smáčedlo (voda 100 l/ha)*	B	100 + 1 l

Vizuálně byl hodnocen podíl odumřelých/zaschlých/hnědých pletiv v % zvlášť pro listy, stonky a plodenství. U plevelů bylo hodnoceno celkové poškození rostliny v %. Dále bylo hodnoceno pukání lusků (hodnocen podíl puklých lusků v %) a obrůstání porostu (pokryvnost listové plochy nově obrostlých zelených rostlin na parcele v %). Poslední hodnocení vždy proběhlo těsně před sklizní. Výsledky byly vyhodnoceny v programu Statistica 12 metodou analýzy rozptylu a následným testováním Tukeyho testem na hladině α 0,05.

Výsledky

Zasychání/odumírání/hnědnutí listů

Přirozené ukončování vegetace během dozrávání bylo u štírovníku v obou letech velmi pomalé. V roce 2020 bylo v době aplikace zaschlých 0 % listové plochy a v roce 2021 bylo zaschlých 13 až 18 % listů. Jednalo se zejména o listy ve spodních patrech. Ošetřením porostů se zasychání listů urychlilo. V roce 2020 se zasychání listů zlepšilo o 10 až 50 % oproti neošetřené kontrole. V roce 2021 byla zasychání listů po ošetření menší než v roce 2020 a zasychání se oproti neošetřené kontrole zlepšilo o 3 až 45 %. Nejlepší zasychání listů bylo vždy na variantě s *dikvátem*. Druhou nejlepší variantou pak byly varianty s *pyraflufen-ethylem*. V roce 2021 se ale zasychání listů po ošetření pyraflufen-ethylem zlepšilo jen o 10 % a nebyl zde průkazný rozdíl oproti neošetřené kontrole. Zvýšení dávky hnojiva DAM z 10 na 100 l nemělo průkazný vliv na zvýšení účinnosti *pyraflufen-ethylu,* a k ovlivnění účinnosti nedošlo ani snížením dávky aplikační kapaliny ze 400 na 200 l/ha. Nejnižší desikační účinnost měla v obou letech varianta s *kyselinou pelargonovou,* a varianta s vysokou dávkou hnojiva DAM 1:1 s vodou. Nižší účinnost desikantů v roce 2021 mohla být způsobena výrazně vlhčím počasím.

Tabulka 4: Zasychání listové plochy v roce 2020

Varianta/účinná látka		Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
		Datum hodnocení:	*15.7.*		*20.7.*		*23.7.*		*27.7.*	
1	*Kontrola*	-	0	a	0	a	0	a	8	a
2	*Dikvát + lepidlo*	B	0	a	0	a	3	ab	57	c
3	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	0	a	23	c	40	de	43	bc
4	*Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM*	A	0	a	22	c	32	cd	42	bc
5	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	0	a	22	c	35	de	53	c
6	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	A	0	a	10	b	18	bc	18	a
7	*DAM 1:1 + Dash*	B	0	a	0	a	0	a	28	ab
8	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	0	a	27	c	48	e	48	bc

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Tabulka 5: Zasychání listové plochy v roce 2021

Varianta/účinná látka		Termín aplikace	Listy (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
		Datum hodnocení:	*22.7.*		*26.7.*		*29.7.*		*1.8.*	
1	*Kontrola*	-	15	a	17	a	18	a	20	a
2	*Dikvát + lepidlo*	B	15	a	17	a	62	c	65	b
3	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	17	a	27	abc	35	b	30	a
4	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM (voda 200 l/ha)*	A	18	a	29	c	30	ab	30	a
5	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM*	A	17	a	26	abc	25	ab	28	a
6	*Flumioxazin + smáčedlo + DAM*	A	17	a	28	bc	25	ab	27	a
7	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	A	13	a	26	abc	23	ab	25	a
8	*DAM 1:1 + smáčedlo*	B	17	a	18	ab	22	a	23	a

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Zasychání/odumírání/hnědnutí stonků a plodů

Zasychání stonků bylo ještě pomalejší než zasychání listů. V době první aplikace bylo v obou letech zaschlých 0 % stonků. Zlepšení zasychání stonků po ošetření se pohybovalo od 0 do 30 %. Nejlepší variantou byla varianta s *dikvátem* a na druhém místě byly opět varianty s *pyraflufen-ethylem*. Průkazný rozdíl v obou letech byl zjištěn pouze u varianty s *dikvátem*. Výsledky uvádí tabulka 6.

Tabulka 6: Zasychání stonků v roce 2020

Varianta/účinná látka		Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
		Datum hodnocení:	*15.7.*		*20.7.*		*23.7.*		*27.7.*	
1	*Kontrola*	-	0	a	0	a	0	a	0	a
2	*Dikvát + lepidlo*	B	0	a	0	a	0	a	17	b
3	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	0	a	10	b	13	b	15	ab
4	*Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM*	A	0	a	7	b	10	b	13	ab
5	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	0	a	10	b	12	b	15	ab
6	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	A	0	a	0	a	0	a	0	a
7	*DAM 1:1 + Dash*	B	0	a	0	a	0	a	7	ab
8	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	0	a	10	b	15	b	17	b

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Tabulka 7: Zasychání stonků v roce 2021

Varianta/účinná látka		Termín aplikace	Stonky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
		Datum hodnocení:	*22.7.*		*26.7.*		*29.7.*		*1.8.*	
1	*Kontrola*	-	0	a	0	a	0	a	0	a
2	*Dikvát + lepidlo*	B	0	a	0	a	20	c	30	b
3	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	0	a	3	a	8	b	6	a
4	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM (voda 200 l/ha)*	A	0	a	3	a	3	a	5	a
5	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM*	A	0	a	2	a	2	a	2	a
6	*Flumioxazin + smáčedlo + DAM*	A	0	a	3	a	1	a	1	a
7	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	A	0	a	2	a	0	a	2	a
8	*DAM 1:1 + smáčedlo*	B	0	a	0	a	0	a	0	a

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Zasychání plodů bylo ve srovnání se zasycháním listů a stonků poměrně rychlé. V roce 2020 bylo v termínu první aplikace zaschlých 27 až 30 % plodů. Zasychání plodů bylo poměrně pozvolné a v době sklizně bylo na kontrole zaschlých 77 % plodů. Na všech ošetřených variantách pak došlo ke zlepšení zasychání plodů o 6 až 16 %. V roce 2020 bylo nejlepší zaschnutí plodů na variantách s *pyraflufen-ethylem*. V roce 2021 bylo v době první aplikace zaschlých 86 až 88 % lusků a do sklizně došlo k zaschnutí 100 % lusků na všech variantách. V tomto roce ošetření porostu na žádné variantě průkazně neurychlilo zasychání lusků.

Tabulka 8: Zasychání plodů v roce 2020

Varianta/účinná látka		Termín aplikace	Plody (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
	Datum hodnocení:		*15.7.*		*20.7.*		*23.7.*		*27.7.*	
1	*Kontrola*	-	27	a	35	a	47	a	77	a
2	*Dikvát + lepidlo*	B	27	a	32	a	42	a	88	b
3	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	28	a	47	a	68	b	92	b
4	*Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM*	A	30	a	52	a	68	b	92	b
5	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	28	a	48	a	68	b	90	b
6	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	A	28	a	37	a	58	ab	83	ab
7	*DAM 1:1 + Dash*	B	27	a	32	a	47	a	87	ab
8	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	28	a	52	a	77	b	93	b

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Tabulka 9: Zasychání plodů v roce 2021

Varianta/účinná látka		Termín aplikace	Hlávky (% mrtvých/hnědých/suchých pletiv)							
	Datum hodnocení:		*22.7.*		*26.7.*		*29.7.*		*1.8.*	
1	*Kontrola*	-	87	a	97	a	97	a	100	a
2	*Dikvát + lepidlo*	B	87	a	97	a	97	a	100	a
3	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	88	a	99	a	99	a	100	a
4	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM (voda 200 l/ha)*	A	87	a	99	a	99	a	100	a
5	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM*	A	87	a	99	a	100	a	100	a
6	*Flumioxazin + smáčedlo + DAM*	A	86	a	98	a	100	a	100	a
7	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	A	87	a	99	a	100	a	100	a
8	*DAM 1:1 + smáčedlo*	B	87	a	98	a	99	a	100	a

Pozn.: písmenné indexy znázorňují statistické rozdíly na hladině α 0,05

Pukání lusků a obrůstání

Pukání lusků bylo u štírovníku růžkatého velkým problémem. V roce 2020 byly lusky v době první aplikace ještě poměrně hodně zelené a nepukaly. Po pěti dnech od první aplikace se rozpad lusků pohyboval okolo 3 % a těsně před sklizní, kdy bylo horké suché počasí bylo na neošetřené kontrole pukání lusků od 25 %. Největší pukání lusků (okolo 40 %) bylo na variantách s *pyraflufen-ethylem* kde byly lusky nejlépe zaschlé. V roce 2021 bylo i přes větší zaschnutí lusků v termínu první aplikace puklých pouze okolo 3 % lusků, ale po pěti dnech to na neošetřené kontrole bylo 11 %, o další 3 dny později 40 % a před sklizní dosáhlo pukání lusků na kontrole v průměru 60 %. Na ošetřených variantách bylo pukání lusků o něco vyšší než na neošetřené kontrole, ale variabilita v pukání lusků byla poměrně vysoká a v žádném roce nebyly zjištěny průkazné rozdíly mezi variantami.

Obrůstání rostlin štírovníku nebylo příliš intenzivní. V roce 2020 bylo obrůstání zaznamenáno až v posledním termínu hodnocení těsně před sklizní, kdy se pohybovalo od 0 do 13 %. Rostliny vůbec neobrůstaly na kontrolní variantě. Obrůstaly pouze zasychající rostliny a obrůstání začalo cca týden po ošetření. Proto k obrůstání nedocházelo na variantách ošetřených ve druhém termínu ošetření (sklizeň zde proběhla po pěti dnech po ošetření). V roce 2021 rostliny v průběhu pokusu neobrůstaly na žádné variantě, pravděpodobně proto, že celkové zaschnutí rostlin bylo poměrně nízké.

Účinnost na plevele

Byla hodnocena také účinnost na nejvíce zastoupené plevele, tj. na heřmánkovec přímořský, lociku kompasovou, pcháč obecný (v roce 2020) a pcháč oset (v roce 2021). Heřmánkovec v průběhu pokusů dozrával a přirozeně ukončoval vegetaci také na neošetřené kontrole. V roce 2020 bylo zaschnutí heřmánkovce na neošetřené kontrole 67 % a v roce 2021 85 %. K nejlepšímu zaschnutí rostlin heřmánkovce došlo na variantě ošetřené *dikvátem*. Ke zlepšení zasychání heřmánkovce došlo také na variantách s *pyraflufen-ethylem*. Zasychání srovnatelné s kontrolou bylo na variantách s kyselinou pelargonovou a s vysokou dávkou hnojiva DAM 1:1 s vodou, a také na variantě s *flumioxazinem*, která byla zkoušena pouze v roce 2021.

Dalším významným plevelem byla locika, která na neošetřené kontrole nezasychala. K jejímu poškození nedošlo také na variantě s vysokou dávkou hnojiva DAM. Nejlepší zasychání lociky bylo na variantě s *dikvátem* a na variantách s *pyraflufen-ethylem*. U *pyraflufen-ethylu* bylo nejlepší zaschnutí ve třetím termínu hodnocení (7 až 8 den po ošetření). Později začala locika obrůstat. Nepříznivý vliv na účinnost *pyraflufen-ethylu* na zasychání lociky mělo také snížení dávky aplikační kapaliny ze 400 na 200 l/ha. Na pcháče byla u většiny zkoušených variant nulová účinnost a účinkoval na ně pouze *dikvát*, kde bylo zasychání okolo 90 %.

Tabulka 10: Účinnost na plevele v roce 2020

Varianta		Termín aplikace	Účinnost na plevele v % (podíl poškozených pletiv)											
		Druh plevele:	*Heřmánkovec*				*Locika*				*Pcháč obecný*			
		Datum hodnocení:	*15.7.*	*20.7.*	*23.7.*	*27.7.*	*15.7.*	*20.7.*	*23.7.*	*27.7.*	*15.7.*	*20.7.*	*23.7.*	*27.7.*
1	*Kontrola*	-	23	32	45	67	0	0	0	0	0	0	0	0
2	*Dikvát + lepidlo*	B	22	30	37	97	0	0	0	78	0	0	0	90
3	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	23	48	77	83	0	82	85	78	0	0	0	0
4	*Pyraflufen-ethyl + fluroxypyr + smáčedlo + DAM*	A	20	55	82	88	0	80	90	90	0	0	0	0
5	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	22	42	55	77	0	60	73	78	0	5	25	25
6	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	A	23	38	43	60	0	0	0	0	0	0	0	0
7	*DAM 1:1 + Dash*	B	22	32	40	68	0	0	0	0	0	0	0	0
8	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	20	55	87	87	0	87	93	87	0	5	5	10

Tabulka 11: Účinnost na plevele v roce 2021

Varianta		Termín aplikace	Účinnost na plevele v % (podíl poškozených pletiv)											
		Druh plevele:	*Heřmánkovec*				*Locika*				*Pcháč oset*			
		Datum hodnocení:	*22.7.*	*26.7.*	*29.7.*	*1.8.*	*22.7.*	*26.7.*	*29.7.*	*1.8.*	*22.7.*	*26.7.*	*29.7.*	*1.8.*
1	*Kontrola*	-	83	85	85	85	0	0	0	0	0	0	0	0
2	*Dikvát + lepidlo*	B	85	88	100	100	0	0	90	93	0	0	77	95
3	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM*	A	85	90	93	92	0	77	93	85	0	0	0	0
4	*Pyraflufen-ethyl + smáčedlo + DAM (voda 200 l/ha)*	A	87	91	93	95	0	82	80	60	0	0	0	0
5	*Karfentrazon-ethyl + smáčedlo + lepidlo + DAM*	A	85	87	87	88	0	62	45	30	0	0	0	0
6	*Flumioxazin + smáčedlo + DAM*	A	85	88	82	79	0	67	55	37	0	0	0	0
7	*Kyselina pelargonová + smáčedlo + DAM*	A	83	87	82	82	0	42	45	30	0	0	0	0
8	*DAM 1:1 + smáčedlo*	B	85	88	88	88	0	0	10	3	0	0	0	0

Diskuze

Zasychání štírovníku bylo poměrně pomalé podobně jako u některých jiných druhů jetelovin. Pozvolné zasychání rostlin v průběhu dozrávání bylo zaznamenáno také u jetele lučního (Kubíková a kol. 2020a), kde také nejrychleji zasychaly hlávky (plody), ale ostatní části, zejména pak stonky, zůstávaly zelené. I u jetele lučního byla intenzita zasychání rostlin ovlivněna ročníkem a ve vlhčím roce bylo zasychání rostlin výrazně pomalejší. Podobně jako u štírovníku zůstávaly stonky a listy zelené také u vojtěšky seté a tolice dětelové (Kubíková *a kol.* 2021a). U jetele nachového bylo naopak zasychání rostlin v průběhu dozrávání poměrně rychlé (Kubíková et al. 2020b).

U štírovníku docházelo k pukání lusků a výdrolu semen, jeho intenzita závisela na zralosti lusků. V tomto ohledu byl vhodnější časnější termín aplikace desikantů, ve fázi zaschnutí lusků okolo 27 %, než v pozdější fázi dozrávání, kdy byly lusky více proschlé a značně se zvýšil podíl

puklých lusků. Intenzita pukání lusků také závisela na počasí a ve vlhčím ročníku bylo pukání méně intenzivní. K podobným výsledkům dospěli také Kubíková *a kol.* (2020b) u jetele inkarnátu kdy byl odrol hlávek ve vlhčím počasí méně intenzivní.
Obrůstání bylo u štírovníku ve srovnání s jinými jetelovinami jako je jetel luční (Kubíková *a kol.* 2020a) nebo vojtěška (Kubíková *a kol.* 2021a) poměrně nízké a záviselo na míře zaschnutí porostu.
Z účinných látek se u štírovníku nejvíce osvědčil *dikvát* a druhou nejúčinnější variantou byl *pyraflufen-ethyl*. *Pyraflufen-ethyl* a další zkoušené látky účinkovaly pomaleji než *dikvát* a jejich účinnost byla více ovlivněna ročníkem. U *dikvátu* se maximální účinek projevoval po 4 až 7 dnech. U ostatních účinných látek byl nástup účinku cca o týden pomalejší. Podobné výsledky byly získány i u dalších plodin (Kubíková *a kol.* 2020a, Kubíková 2020b, Kubíková *a kol.* 2021a, Kubíková *a kol.* 2021b). Soltani *a kol.* (2013) srovnávali účinky působení *dikvátu*, *karfentrazonu* a *flumioxazinu* na dozrávání jedlých fazolí a nejvyšší desikační účinek měl podobně jako v našich pokusech *dikvát*. V našich pokusech se štírovníkem byla účinná látka *flumioxazin* zkoušena pouze v roce 2021, a podobně jako u všech ostatních látek s výjimkou *dikvátu* byla její účinnost nízká. V obou sledovaných letech byla velmi nízká účinnost u varianty s *kyselinou pelargonovou*, která měla poměrně dobrou účinnost u jetele lučního (Kubíkova *a kol.* 2020). U této účinné látky je také horší účinnost na plevele. Nejvyšší účinnost na plevele byla u *diktátu*, a pak u *pyraflufen-ethylu*, který účinkoval na heřmánkovec a lociku. Podobné výsledky byly získány také u jiných plodin, kde byla sledována účinnost na tyto plevele např. u jetele lučního (Kubíková *a kol.* 2020a) a nachového (2020b).

Závěr

Zasychání rostlin bylo ve srovnání s účinky *dikvátu* v ostatních zkoušených variantách pomalejší, a byl zde větší vliv ročníku než u *dikvátu*. Zejména v roce 2021 byla účinnost zkoušených účinných látek na štírovník poměrně nízká (zlepšení zasychání bylo jen okolo 10 %, což pro usnadnění sklizně nemělo velký význam). Z hlediska účinnosti na plevele se jeví nejperspektivnější účinná látka *pyraflufen-ethyl*, která poměrně dobře účinkovala na heřmánkovec a také na lociku, které byly v porostech nejvýznamněji zastoupenými plevely.

Poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1721 a MZE-RO10/18

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

Fabbri M., Casagrandi F., Paganelli M., Campagna G., Maffioli G. (2018): Desiccation trials on potato with pelargonic acid. Atti, Giornate Fitopatologiche, Chianciano Terme (SI), Italia, 6-9 marzo 2018, Volume primo 2018: 493-498

Hutchinson C., Stall W. (2007): Potato Vine Killing or Desiccation. EDIS, 2007(20). Retrieved from https://journals.flvc.org/edis/article/view/117045

Kardasz P., Miziniak W., Bombrys M., Kowalczyk A. (2019): Desiccant activity of nonanoic acid on potato foliage in Poland. Journal of Plant Protection Research 59 (1): 12-18

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): Výsledky desikačních pokusů u jetele nachového: hodnocení účinnosti zkoušených účinných látek a jejich kombinací. Úroda 12, roč. LXVIII, 2020, vědecká příloha, s. 221-228, ISSN 0139-6013.

Kubíková Z., Smejkalová H., Kolaříková K. (2020a): Výsledky desikačních pokusů u jetele lučního: hodnocení účinnosti zkoušených účinných látek a jejich kombinací. Úroda 12, roč. LXVIII, 2020, vědecká příloha, s. 213-220, ISSN 0139-6013.

Kubíková Z., Smejkalová H., Kolaříková K. (2021a): Ošetření semenných porostů jetelovin a dalších pícnin - tolice (vojtěšky). Agromanuál 2021/8: 32-37

Kubíková Z., Smejkalová H., Kolaříková K. (2021b): Ošetření semenných porostů jetelovin a dalších pícnin – svazenka. Agromanuál 2021/5: 18-22

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. 76: 435-439

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

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

Raisse E. R., Assis M. D. O., Araujo E. F., de Freitas F. C. L., Araujo R. F. (2020). Chemical desiccants for anticipation of harvest and physiological quality of cowpea seeds. Revista Caatinga 33 (4): 878-887, https://doi.org/10.1590/1983-21252020v33n402rc

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

Subedi M., Willenborg Ch. J., Vandenberg A. (2017): Influence of Harvest Aid Herbicides on Seed Germination, Seedling Vigor and Milling Quality Traits of Red Lentil (Lens culinaris L.). Front. Plant Sci., https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00311

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

Zotarelli L., Sargent S., Dittmar P., Makani M. (2020): Potato Vine Killing or Desiccation. EDIS, 2020.

Kontaktní adresa:

Zuzana Kubíková, Ing. Phd.
Zemědělský výzkum spol. s r. o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko
telefon: 547 138 831
e-mail: kubikova@vupt.cz

Vliv složení porostu na disperzi škodlivých organismů a prostorovou asociaci mezi nimi

Effect of crop composition on distribution of harmful organisms and the spatial association between them

Ondráčková E.[1], Seidenglanz M.[2], Arbeláez M. M.[3], Smýkalová I.[4], Klem K.[5], Fajmon L.[6]

[1, 2, 3, 4]Agritec Plant Research s.r.o.
[5, 6]Ústav výzkumu globální změny AV ČR, v. v. i.

Abstrakt
Během let 2020 a 2021 byl ve velko-parcelních pokusech tvořených z části hrachovou monokulturou, z části směskou hrachu a jarního ječmene hodnocen charakter disperze symptomů důležitých chorob hrachu, některých škůdců a výnosových charakteristik v porostu (metoda SADIE). Míra prostorové shody či odlišnosti mezi disperzními vzorci stanovenými pro jednotlivé znaky (choroby, škůdci, výnosové prvky) byla analyzována s pomocí „Association Analysis“. Většina škodlivých organismů je v porostech nerovnoměrně dispergována se silnou tendencí k agregaci do určitých zón porostu. Disperzní vzorce stanovené pro jednotlivé škodlivé organismy mohou být navzájem v prostorové asociaci i disociaci.
Klíčová slova: hrách, luskovino-obilní směska, škůdci, choroby, SADIE analýza

Abstract
During 2020 and 2021 distribution patterns for important fungi diseases, some insect pests and yield characteristics were assessed in large plot trials consisting of field pea mono and field pea/spring barley mixture crops. SADIE was used for analysing raw data. The distribution patterns stated for the individual traits (diseases, insect pests, and yield characteristics) were compared one another with usage of Association Analysis. The distributions for many harmful organisms showed tendency to be aggregated (positively even negatively). There were recorded significant associations even dissociations among the distribution patterns.
Keywords: pea, pea-spring barley mixture, pests, diseases, SADIE analysis

Úvod

Zvýšit podíl luskovin na orné půdě, tedy zvýšit frekvenci jejich zařazování do velmi jednoduchých osevních sledů postavených obvykle na několika obilovinách a řepce je žádoucí. Jednou z překážek, které brání většímu využívání a pěstování např. hrachu (mimo mnoha ekonomických důvodů), je jeho výnosová nestabilita. A hlavní příčinou této nestability je obecně nízká tolerance porostů hrachu k (a)biotickým stresům (Rubiales at al. 2015). Víme nyní poměrně dost o vztahu mezi rostlinou a škodlivým organismem na úrovni jedinců. Pokročíme-li však o úroveň výše, tedy k populačním projevům výše popsaného vztahu (k interakcím porostů s více různými škodlivými organismy), víme toho překvapivě velmi málo. SADIE (Spatial Analysis by Distance Indices) je analýza navržená speciálně pro analýzu počtu jednotlivců na známých místech a byla vyvinuta pro práci s ekologickými daty, která lze považovat za „nerovnoměrná“. Takové distribuce se běžně vyskytují například v populacích hmyzu, kde jsou často patrné jednotlivé shluky jednotlivců (Winder at al. 2019).
Cílem tohoto příspěvku je především ověřit platnost těchto hypotéz:
Disperze houbových chorob hrachu v porostu není rovnoměrná a v některých případech ani náhodná – symptomatické projevy mohou být statisticky významně agregovány v určitých zónách.

Prostorové asociace mezi disperzními vzorci stanovenými pro jednotlivé choroby hrachu a další škodlivé organismy mohou nabývat různých forem: od signifikantní asociace (koncentrace do stejných zón) přes náhodný vztah až po statisticky významnou disociaci (vyhýbání se navzájem).
U významněji se projevujících chorob lze očekávat prostorovou disociaci (negativní prostorovou korelaci) mezi disperzí symptomů těchto chorob a disperzí výnosových charakteristik v porostu.

Materiál a metody

Hodnocení, na jejichž výsledcích je založen tento příspěvek, byla prováděna v letech 2020 a 2021 na lokalitě Rapotín (okres Šumperk) ve velko-parcelních pokusech s hrachem a jeho směskou s ječmenem jarním. V roce 2020 byl pokus tvořen čtyřmi vnitřními parcelami (2× monokultura hrachu a 2× směs hrachu s ječmenem s výsevkem v poměru 50 : 50 o velikosti každé z parcel 40 × 40 m) a jednou parcelou vnější (monokultura hrachu; o velikosti parcely 52 × 40 m). Čtyři vnitřní parcely byly ze dvou stran obklopeny 6 m širokým pásem tvořeným kombinací 3 odrůd hrachu (Cysterski, Abarth a Eso). Tento pás sloužil jako lapací pás pro některé škůdce. Velikost celého pokusu byla 52 × 200 m. V rámci celého pokusu bylo rozmístěno 105 hodnotících míst se známou polohou (souřadnice). Polohy míst jsou dobře patrné z Obrázků 1a–d. V pokusu založeném v roce 2021 se pracovalo jen se čtyřmi vnitřními parcelami o velikosti 30 × 50 m. Blok parcel byl obklopen 6 m širokým lapacím pásem stejného složení jako v roce 2020 a celková plocha pokusu byla 75 × 120 m. Stejně jako v roce 2020 i v roce 2021 byla hodnocení prováděna opakovaně na předem označených místech tvořících dohromady 64 hodnotících míst.
Výskyt chorob i škůdců byl v každém hodnotícím místě hodnocen na 5–10 náhodně vybraných rostlinách. Komplex kořenových a krčkových chorob a virózy byly hodnoceny bodovou stupnicí 1–5, kde 1 = bez napadení, 2 = slabé příznaky napadení s mírným žloutnutím rostlin do 25 %, 3 = střední napadení, žloutnutí rostlin bez negativního vlivu na růst, 4 = silné napadení s výraznou růstovou depresí, 5 = velmi silné napadení spojené s odumíráním rostlin. U chorob vyznačujících se nekrotickými skvrnami – strupovitost hrachu (*Mycosphaerella pinodes*), plíseň hrachu (*Peronospora pisi*) se uvádělo % napadené listové plochy (plíseň) nebo % napadené plochy listů a lusků (strupovitost). Pro některé analýzy se též využil počet napadených (symptomatických) rostlin (frekvence). Hodnocení chorob se provádělo 2krát za rok v růstové fázi BBCH 69 a 75. Škůdci byli hodnoceni vícekrát v rozpětí růstových fází BBCH 51–75. V tomto příspěvku jsou využity výsledky hodnocení zaměřených na kyjatku hrachovou a vajíčka zrnokaza hrachového. Na každém z míst byl také hodnocen výskyt plevelů (v této studii nezahrnuto). Z každého místa byly v době zralosti odebrány z jednotkové plochy (0,5 m^2) nadzemní části všech rostlin a pro hrách zjištěny tyto údaje: počet plodonosných větví/výhon, počet lusků/výhon, počet semen/lusk, suchá nadzemní biomasa. Během roku byl také porost dvakrát skenován pomocí dronu (nebo letadla) a pro každé hodnotící místo (přesněji řečeno pro kruhovou plochu porostu 28 m^2 v okolí hodnotícího místa; poloměr 3 m) vyjádřeny průměrné úrovně pro 64 různých vegetačních indexů (v této studii bude využit pouze index NDVI _925_710).
Pro analýzu primárních dat (např. pro analýzu napadení rostlin kořenovými a krčkovými chorobami na jednotlivých místech v určitém termínu) s cílem zjistit charakter disperze hodnoceného znaku v porostu pokusu, a tedy i pro vyjádření disperzního vzorce pro tento konkrétní znak, byla využita *Spatial Analysis by Distance IndicEs* (SADIE Version 1.22, Perry et al. 1999). Pomocí této metody je možné zjistit, jestli je disperze konkrétního znaku náhodná nebo jestli zde dochází k signifikantní agregaci (pozitivní nebo negativní) do určitých zón. Po zjištění disperzních vzorců pro jednotlivé hodnocené znaky (choroby, škůdci, výnosové prvky)

bylo možné přistoupit k analýze toho, do jaké míry jsou disperzní vzorce jednotlivých znaků prostorově shodné (asociace) či odlišné (disociace). I toto lze kvantifikovat a vyjádřit s vysokou mírou pravděpodobnosti (nejméně 95 %) a vyloučit náhodu. Byla využita metoda *Association Analysis*, postupováno dle Perry a Dixon (2002).

Výsledky

Charakter disperze symptomatických projevů, respektive počtů napadených rostlin, byl pro většinu v roce 2020 hodnocených chorob hrachu nenáhodný se statisticky významnou tendencí k agregaci do určitých zón. V těchto případech se v porostech vyskytovaly jednak místa s nenáhodně výrazně slabším výskytem (projevem), tak zvané gapy, tak naopak i místa s nenáhodně vyšším výskytem (dopadem, projevem) dané choroby (Tabulka 1). To je dobře patrné pro několik hodnocených chorob z Obrázku 1. Disperzní vzorce byly v případě některých chorob (např. krčkové a kořenové choroby vs. *M. pinodes*) výrazně navzájem odlišné, v případě jiných vykázaly určitou prostorovou shodu (např. *M. pinodes* vs. virózy).

I v roce 2021 byly symptomatické projevy (nebo počty napadených rostlin) v porostu v některých případech (choroba a datum hodnocení) dispergovány nenáhodně, tedy s jasnou tendencí k agregaci do určitých zón v porostu (Tabulka 2). A podobně jako v předcházející sezoně i v roce 2021 se disperzní vzorce vyjádřené pro hodnocené choroby v některých případech velmi prostorově rozcházely, v jiných se do jisté míry shodovaly.

Míru shody mezi dvěma disperzními vzorci (první vzorec pro znak 1 vs. druhý vzorec pro znak 2), tedy tím, jak jsou v porostu dispergovány např. symptomatické projevy dvou různých chorob, nebo jedné choroby a výskyt nějakého škůdce, lze jednoznačně kvantifikovat pomocí Asociační analýzy. Vždy jde o porovnání jedné dvojice znaků. V této studii byly podrobeny analýze téměř všechny možné kombinace disperzních vzorců stanovených pro všechny hodnocené choroby, dále pak pro choroby a hodnocené škůdce (kyjatka hrachová hodnocena v několika termínech, třásněnky v několika termínech a disperze vajíček zrnokazů hodnocená v několika termínech). Není zde možné demonstrovat všechny získané výsledky, zaměřujeme se tedy pouze na některé z nich (Tabulka 3). Z výsledků uvedených v této tabulce je zřejmé, že disperzní vzorce stanovené pro některé škodlivé organismy se navzájem statisticky významně pozitivně shodují neboli asociují (např. disperze viróz s disperzí *M. pinodes*; disperze mšic s disperzí viróz; disperze mšic s disperzí *M. pinodes*), jiné mohou být ve statisticky významné prostorové disociaci. V tomto druhém případě lze pak výsledek interpretovat tak, že dané dva organismy se sobě vyhýbají. Přesněji řečeno, jeden se snaží dostat do míst nenapadených tím druhým. To je dobře patrné ze srovnání disperze vajíček zrnokaza hrachového a většiny chorob (virových i houbových). Samice zrnokaza preferují (očekávatelně) místa se zdravými rostlinami pro kladení vajíček (zdravá rostlina poslouží larvě lépe).

Stejným způsobem lze též vyhodnotit a kvantifikovat míru shody nebo naopak neshody mezi disperzí škodlivých organismů a znaků determinujících výnos, popř. jeho kvalitu. Z výsledků seřazených v Tabulce 4 je patrné, že disperzní vzorce pro jednotlivé hodnocené škodlivé organismy nejsou vždy v disociaci s disperzními vzorci znaků ukazujících na výnos semen (počet plodonosných větví, semen v lusku, počet lusků na rostlinu) nebo hmoty (biomasa, NDVI).

Tabulka 1 Výsledky analýzy disperze (SADIE) významných chorob hrachu v porostu celého pokusu (hodnoceno jako jeden porost) v roce 2020.

Datum hodnocení	choroba	I_a*	(P_a)	V_j**	(P_j)	V_i***	(P_i)
18.6.20	kořenové a krčkové ch. (četnost výskytu napadených rostlin – %)	2.38	0.0003	-2.41	0.0002	2.25	0.0018
16.7.20	kořenové a krčkové ch. (četnost výskytu napadených rostlin – %))	2.66	0.0002	-2.65	0.0000	2.30	0.0003
18.6.20	kořenové a krčkové ch. (st. napadení 1–5)	1.53	0.0644	-1.54	0.0612	1.41	0.0922
16.7.20	kořenové a krčkové ch. (st. napadení 1–5)	2.15	0.0028	-2.09	0.0013	2.01	0.0020
18.6.20	*P. pisi* (% napadené list. plochy)	2.26	0.0007	-2.20	0.0013	2.13	0.0023
16.7.20	*P. pisi* (% napadené list. plochy)	1.41	0.0774	-1.42	0.0747	1.17	0.1996
18.6.20	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin)	0.73	0.9268	-0.74	0.9256	0.65	0.9926
16.7.20	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin)	4.35	0.0002	-4.22	0.0000	3.51	0.0000
18.6.20	Virózy (četnost výskytu napadených rostlin – %)	2.64	0.0003	-2.54	0.0002	2.32	0.0007
16.7.20	Virózy (četnost výskytu napadených rostlin – %)	4.16	0.0002	-4.41	0.0000	3.84	0.0000
18.6.20	Virózy (st. napadení 1–5)	2.06	0.0032	-2.08	0.0027	2.03	0.0042
16.7.20	Virózy (st. napadení 1–5)	2.10	0.0034	-2.16	0.0027	2.23	0.0008
16.7.20	Padlí (% napadené list. plochy)	3.89	0.0002	-3.89	0.0000	4.08	0.0000
16.7.20	*S. sclerotiorum* (% napadené plochy rostlin)	0.83	0.6978	-0.29	0.7034	0.96	0.456
18.6.20	podíl napadených rostlin všemi chorobami (%)	1.69	0.0233	-1.52	0.0469	1.62	0.031
16.7.20	podíl napadených rostlin všemi chorobami (%)	1.65	0.0302	-1.86	0.0101	1.64	0.024

**Ia – jestliže je tento index vyšší než 1 pro P < 0.05, je disperze projevů dané choroby v porostu signifikantně agregována (nenáhodná disperze), červeně zvýrazněné hodnoty*

***Vj - v porostu jsou přítomná místa s nenáhodně nižším výskytem (slabším, žádným projevem) dané choroby, tak zvané "gapy" (mezery), když je hodnota tohoto indexu nižší než -1 pro P < 0.05, červeně zvýrazněné hodnoty*

****Vi - v porostu jsou přítomná místa s nenáhodně vyšším výskytem dané choroby či vyšším poškozením touto chorobou, tak zvané "patche" (ohniska), když je hodnota tohoto indexu vyšší než 1 pro P < 0.05, červeně zvýrazněné hodnoty*

Tabulka 2 Výsledky analýzy disperze (SADIE) významných chorob hrachu v porostu celého pokusu (hodnoceno jako jeden porost) v roce 2021

Datum hodnocení	Choroba	I_a	(P_a)	V_j	(P_j)	V_i	(P_i)
01.07.2021	*M. pinodes* (četnost výskytu napadených rostlin – %)	1.13	0.2145	-1.16	0.1921	1.09	0.2559
01.07.2021	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin)	1.11	0.2432	-1.11	0.2368	1.06	0.3058
12.07.2021	*M. pinodes* (četnost výskytu napadených rostlin – %)	1.76	0.0075	-1.36	0.0590	1.65	0.0119
12.07.2021	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin)	1.11	0.2423	-0.97	0.4941	1.19	0.1626
01.07.2021	kořenové a krčkové choroby (četnost výskytu napadených rostlin – %)	1.45	0.0349	-1.50	0.0270	1.30	0.0848
01.07.2021	kořenové a krčkové choroby (st. napadení 1–5)	1.36	0.0490	-1.23	0.1294	1.40	0.0474

12.07.2021	kořenové a krčkové choroby (četnost výskytu napadených rostlin – %)	2.47	0.0002	-2.31	0.0008	2.62	0.0000
12.07.2021	kořenové a krčkové choroby (st. napadení 1–5)	2.05	0.0008	-1.93	0.0015	2.08	0.0012
01.07.2021	virózy (četnost výskytu napadených rostlin – %)	1.26	0.1108	-1.08	0.2901	1.40	0.0509
01.07.2021	virózy (st. napadení 1–5)	1.37	0.0618	-1.30	0.0923	0.64	0.0665
12.07.2021	virózy (četnost výskytu napadených rostlin – %)	1.47	0.0339	-1.29	0.0907	1.48	0.0303
12.07.2021	virózy (st. napadení 1–5)	1.63	0.0127	-1.45	0.0359	1.65	0.0112

Poznámka: vysvětlující komentář k údajům se shoduje s komentářem pod Tabulkou 1

Tabulka 3 Výběr z výsledků asociačních analýz pro konkrétní dvojice disperzních vzorců vyjádřených pro různé škodlivé organismy hodnocené v porostech v průběhu obou sezón (2020 a 2021)

Porovnávané disperzní vzorce pro znaky		[1,2]Index asociace ***X***	P^3	** statisticky významný projev*
rok 2020				
Virózy (st. napadení 1–5) 16.7.	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin) 16.7.	0.55	0.0001	*Asociace
Virózy (četnost výskytu napadených rostlin – %) 16.7.	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin) 16.7.	0.64	0.0001	*Asociace
Kyjatka hrachová (18.5.)	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin) 16.7.	-0.14	0.9039	Disociace
Kyjatka hrachová (2.6.)	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin) 16.7.	0.12	0.1340	Asociace
Kyjatka hrachová (10.6.)	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin)16.7.	0.15	0.0596	Asociace
Kyjatka hrachová (suma pro všechny termíny hodnocení)	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin) 16.7.	0.20	0.0248	*Asociace
Virózy (četnost výskytu napadených rostlin – %) 18.6.	Kyjatka hrachová (18.5.)	-0.26	0.9966	*Disociace
	Kyjatka hrachová (2.6.)	0.37	0.0001	*Asociace
	Kyjatka hrachová (suma pro všechny termíny hodnocení)	0.21	0.0156	*Asociace
Virózy (st. napadení 1–5) 16.7.	Kyjatka hrachová (25.5.)	0.22	0.0169	*Asociace
	Kyjatka hrachová (suma pro všechny termíny hodnocení)	0.02	0.4315	Asociace
rok 2021				
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (25.6.)	Virózy (st. napadení 1–5) 1.7.	-0.27	0.9845	*Disociace
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (1.7.)		-0.30	0.9861	*Disociace
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (25.6.)		-0.35	0.9964	*Disociace
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (1.7.)		-0.27	0.9861	*Disociace
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (25.6.)	*M. pinodes* (četnost výskytu napadených rostlin – %) 1.7.	0.36	0.0037	*Asociace
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (1.7.)	*M. pinodes* (% napadené plochy rostlin) 12.7.	0.50	0.0002	*Asociace

Disperze vajíček zrnokaza hrachového (12.7.)	*M. pinodes* (četnost výskytu napadených rostlin – %) 12.7.	0.26	0.0245	*Asociace
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (18.6.)	Kořenové a krčkové choroby (četnost výskytu napadených rostlin – %) 1.7.	-0.28	0.9824	*Disociace
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (15.6.)	Kořenové a krčkové choroby (četnost výskytu napadených rostlin – %) 12.7.	-0.31	0.9939	*Disociace
Disperze vajíček zrnokaza hrachového (12.7.)	Kořenové a krčkové choroby (četnost výskytu napadených rostlin – %) 12.7.	-0.34	0.9953	*Disociace

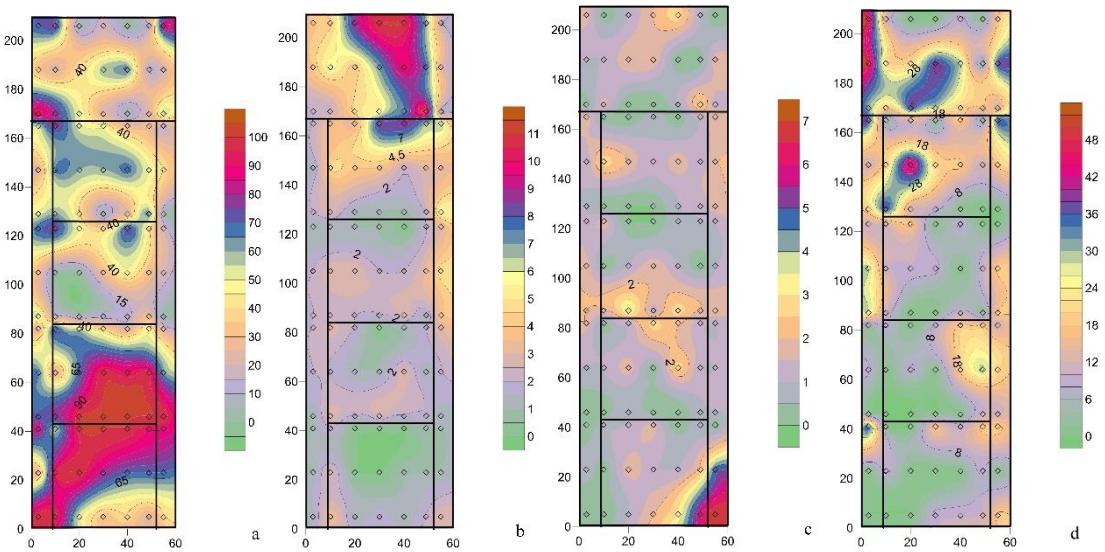
[1]*kladná hodnota X ukazuje na celkovou (pro celou plochu pokusu vyjádřenou) asociaci mezi dvěma disperzními vzorci = je to projev pozitivní prostorové korelace*
[2]*záporná hodnota X ukazuje na celkovou (pro celou plochu pokusu vyjádřenou) disociaci mezi dvěma disperzními vzorci = je to projev negativní prostorové korelace*
[3]*V případě asociační analýzy, ve které se porovnává shoda dvou odlišných disperzních vzorců (jde o formu two-tail testu), je možné s 95% pravděpodobností tvrdit, že jde o signifikantní asociaci v případě, že P < 0.025 a o signifikantní disociaci v případě, že P > 0.975*

Tabulka 4 Výběr z výsledků asociačních analýz pro konkrétní dvojice disperzních vzorců. V tomto případě jde o vyjádření prostorové shody/odlišnosti mezi disperzí některých škodlivých organismů a charakteristik ukazujících na výnos (2020 a 2021)

Porovnávané disperzní vzorce pro znaky:		[1,2]Index asociace ***X***	P[3]	* *symbol použit, když jde o stat. významný projev*
rok 2020				
Kořenové a krčkové ch. (st. napadení 1–5) 16.7.	Počet plodonosných větví/výhon	-0.32	0.9841	*Disociace
	Počet semen/lusk	-0.39	0.9998	*Disociace
P. pisi (% napadené plochy rostlin) 16.7.	Počet plodonosných větví/výhon	0.10	0.2114	Asociace
	Počet semen/lusk	0.01	0.4674	Asociace
M. pinodes (% napadené plochy rostlin) 16.7.	Počet plodonosných větví/výhon	0.25	0.0049	*Asociace
	Počet semen/lusk	0.48	0.0001	*Asociace
Padlí (% napadené plochy rostlin) 16.7.	Počet plodonosných větví/výhon	0.23	0.0346	Asociace
	Počet semen/lusk	0.48	0.0001	*Asociace
S. sclerotiorum (% napadené plochy rostlin) 16.7.	Počet plodonosných větví/výhon	-0.18	0.9156	Disociace
	Počet semen / lusk	-0.29	0.9958	*Disociace
Virové choroby (četnost výskytu napadených rostlin – %) 16.7.	Počet plodonosných větví/výhon	0.26	0.0105	*Asociace
	Počet semen/lusk	0.52	0.0001	*Asociace
Normalized Difference Vegetation Index NDVI_925_710	Počet plodonosných větví/výhon	0.38	0.0065	*Asociace
	Kyjatka hrachová (suma pro všechny termíny hodnocení)	0.08	0.2277	Asociace
	Virózy (četnost výskytu napadených rostlin – %) 18.6.	0.11	0.1970	Asociace
	Virózy četnost výskytu napadených rostlin – %) 16.7.	0.39	0.0001	*Asociace
	M. pinodes (% napadené plochy rostlin) 16.7.	0.49	0.0001	*Asociace
	P. pisi ((% napadené plochy rostlin) 16.7.	0.11	0.2145	Asociace
		-0.39	0.9967	*Disociace
	Kořenové a krčkové ch. (st. napadení 1–5) 16.7.	-0.59	0.9999	*Disociace

	Kořenové a krčkové ch. st. napadení 1–5) 16.7.2	-0.61	0.9997	*Disociace
	Padlí (% napadené plochy rostlin) 16.7.	0.42	0.0017	*Asociace
	Disperze vajíček zrnokaza hrachového (14.7.)	0.07	0.3291	Asociace
Počet lusků/výhon	Virózy (st. napadení 1–5) 12.7.	-0.12	0.8176	Disociace
	M. pinodes (četnost výskytu napadených rostlin – %) 1.7.	-0.10	0.7557	Disociace
	M. pinodes (četnost výskytu napadených rostlin – %) 12.7.	-0.05	0.6610	Disociace
	Kořenové a krčkové ch. (četnost výskytu napadených rostlin – %) 1.7.	-0.31	0.9850	*Disociace
Biomasa hrachu (vysušená, nadzemní)	Virózy (st. napadení 1–5) 12.7.	-0.22	0.9550	Disociace
	M. pinodes (četnost výskytu napadených rostlin – %) 1.7.	-0.004	0.5216	Disociace
	M. pinodes (četnost výskytu napadených rostlin – %) 12.7.	0.34	0.0064	*Asociace
	Kořenové a krčkové ch. (četnost výskytu napadených rostlin – %) 1.7.	-0.09	0.7455	Disociace

Poznámka: vysvětlující komentář k údajům se shoduje s komentářem pod Tabulkou 3



Obrázek 1 Disperze symptomatických projevů chorob hrachu v porostu pokusu hodnoceném 16. 7. 2020. **1a**: disperze četnosti výskytu rostlin (%) se symptomy kořenových a krčkových chorob; **1b**: disperze závažnosti poškození rostlin (%) strupovitostí hrachu (*Mycosphaerella pinodes*); 1**c** disperze závažnosti poškození rostlin (%) plísní hrachu (*Peronospora pisi*); **1d**: disperze četnosti výskytu rostlin (%) se symptomy napadení virózami (PEMV + PSbMV).

Diskuze

Výhodou Asociační analýzy (Perry a Dixon 2002) je, že disperzní vzorce porovnávané dvojice znaků nemusí pocházet z hodnocení provedeného v daném porostu ve stejnou dobu – lze tak např. porovnávat disperzní vzorec pro kyjatku hrachovou z poloviny června s disperzním vzorcem pro virózy (kyjatka je vektor virů) z poloviny července. Tímto způsobem se do analýz kromě prostorového aspektu dostává též aspekt času (virózy se symptomaticky v porostu

projeví s určitým zpožděním po výskytu mšic). Škodlivých organismů je v porostu často mnoho druhů, někteří se dostavují fenologicky dříve, jiní později, a mají spolu různé vztahy: někdy si niku dělí – jeden ulehčuje rozvoj druhému, někdy si konkurují – jsou antagonisté. SADIE a Asociační analýza nám umožňují do těchto vztahů odehrávajících se v polní biocenóze (společenstvu, tj. v porostu) více pronikat a udělat si lepší představu o vlivu jednotlivých škodlivých organismů na výnosové charakteristiky. Využívání těchto přístupů bude mít čím dál větší význam pro vytváření přesnějších postupů k ochraně porostů směřujících jednak ke snížení spotřeby pesticidů a umělých hnojiv, na druhé straně ale k zachování možnosti porosty před škodlivými organismy účinně chránit (Reay-Jones et al. 2019).

Závěr

Disperze houbových chorob hrachu v porostu není v mnoha případech rovnoměrná ani náhodná. Častější je nerovnoměrná disperze s jasnou tendencí k agregaci jak pozitivní, tak i negativní do určitých zón. To je mimo jiné ovlivněno i složením porostu.

Prostorové asociace mezi disperzními vzorci stanovenými pro jednotlivé choroby hrachu a další škodlivé organismy nabývají různých forem, od signifikantní asociace (koncentrace do stejných zón) přes náhodný vztah až po statisticky významnou disociaci (vyhýbání se navzájem)

K disociaci (tedy negativní prostorové korelaci) mezi disperzním vzorcem choroby a disperzí výnosových charakteristik v porostu ukazující na významný negativní výnosový dopad choroby vždy v porostu nedochází. Ne všechny choroby (nebo i jiné škodlivé organismy) mají v dané sezoně vliv na výnos.

Dedikace

Příspěvek je založen na výsledcích získaných při řešení projektu MZE-RO1018.

Literatura

Perry J. N., Dixon P. M., 2002. A new method to measure spatial association for ecological count data. Ecoscience, 9, 133–141.

Perry J. N., Winder L., Holland J. M., Alston, R.D., 1999. Red-blue plots for detecting clusters in count data. Ecol. Lett., 2, 106–113.

Reay-Jones F. P. F., Greene J. K., Bauer P. J., 2019. Spatial distributions of thrips (Thysanoptera: Thripidae) in cotton. Journal of Insect Science, 19(6), 1–12.

Rubiales D., Fondevilla S., Chen W., Gentzbittel L., Higgins T. J. V., Castillejo M. A., Singh K. B., Rispail N., 2015. Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistence. Crit. Rev. Plant. Sci., 34, 195–236.

Winder L., Alexander C., Griffiths G., Holland J., Woolley Ch., Perry J, 2019. Twenty years and counting with SADIE: Spatial Analysis by Distance Indices software and review of its adoption and use. Rethinking Ecology 4, 1–16

Kontaktní adresa:
Mgr. Eliška Ondráčková
Zemědělská 2520/16
787 01 Šumperk
ondrackova@agritec.cz, 583382133

Nalákat a zadržet: způsob, jak kontrolovat disperzi zrnokaza hrachového v porostu

To attract and arrest: the way how to control pea weevil distribution in crop

Seidenglanz M., Muñoz-Arbeláez M., Ondráčková E., Smýkalová I., Šafář J.

Agritec Plant Research s.r.o.

Abstrakt

Během let 2020 a 2021 byla ve velkoparcelních pokusech (10 400 a 9000 m^2) založených na lokalitě Rapotín (okr. Šumperk) hodnocena možnost manipulovat ovipoziční chování zrnokaza hrachového (*Bruchus pisorum* L.) v polních podmínkách. Pokusy byly z části tvořeny parcelami hrachové monokultury, z části parcelami směsky hrachu a jarního ječmene (*main crop*) obsetých 6 m širokým pásem ze směsi odrůd hrachu obsahující výrazně ranější odrůdu Cysterski (*trap crop*). Byl vyhodnocen charakter disperze vajíček zrnokaza hrachového v porostu obou pokusů. Pro analýzu dat byla využita metoda SADIE. Vajíčka byla v porostu dispergována nerovnoměrně se silnou tendencí k agregaci do určitých zón porostu. Samice zrnokaza hrachového preferovaly ke kladení pás obsahující dříve nakvétající odrůdu.
Klíčová slova: *Bruchus pisorum* L., *Pisum sativum* L., trap cropping, SADIE

Abstract

In large plot trials (10 400 a 9000 m^2) founded at locality Rapotín (Šumperk) in 2020 and 2021 the possibility to manipulate ovipositing activity of pea weevil (*Bruchus pisorum* L.) under field conditions was assessed. The trials consisted of inner plots (field pea monocrop or field pea / barley intercrop) which served as a main crop and of a 6-m wide strip containing an early flowering variety Cysterski (this served as a trap crop) which surrounded the inner plots. The distribution patterns for *B. pisorum* eggs in the trials were analysed with usage of SADIE method. The distribution was not uniform, the tendency to aggregation was recorded in some dates. *B. pisorum* females preferred the trap crop strips for laying eggs.
Keywords: *Bruchus pisorum* L., *Pisum sativum* L., trap cropping, SADIE

Úvod

I když původ zrnokaza hrachového (*Bruchus pisorum* L.) je zřejmě někde v oblasti dnešního Iránu, tedy v místech, kde pravděpodobně došlo k domestikaci původních planých forem hrachu (*Pisum* spp.), je nyní rozšířen po celém světě. Stejně jako jeho hostitelská plodina, na kterou je těsně vývojově vázán (Clement, 1992). Jedná se o striktního monofága, který se může rozmnožovat jen na druhu *Pisum sativum* L. Zrnokaz hrachový (*Bruchus pisorum*) je z globálního hlediska považován za nejnebezpečnějšího škůdce hrachu, což souvisí s jeho rozšířením po celém světě (Aznar-Fernández a Rubiales, 2019). Zejména v teplých oblastech pěstování hrachu (jih Evropy, blízký východ, sever Afriky, Austrálie, některé oblasti USA a latinské Ameriky) je škůdcem kritickým (Baker, 2016). I v ČR zrnokaz hrachový působí pěstitelům hrachu nyní dost potíží. A lze předpokládat, že jeho význam jako škůdce nadále poroste (Seidenglanz et al., 2021). Mírnější průběhy zim, horká léta a v celku bezúspěšné pokusy předcházet a snižovat napadení porostů pyretroidními insekticidy způsobují, že mortalita imag během zimování je nižší, období kladení delší a dopad insekticidů na vývoj nové

generace (vliv na početnost populace následné generace) je poměrně nízký. Populace, jejich početnost, na místech, kde se hrách pěstuje na semeno, rostou (Seidenglanz, et al. 2021).
Produkce s napadenými semeny (larvami i dospělci) je nepřijatelná pro lidskou výživu (nulová tolerance). Současně již i velmi nízké úrovně napadení semen (akceptuje se jen 1 % napadených semen) bývají příčinou pro zamítnutí produkce jako osiva. To má pro pěstitele hrachu závažné ekonomické důsledky – ceny za osivo a krmný hrách jsou velmi rozdílné.
V současnosti nejsou známé žádné rezistentní odrůdy hrachu proti tomuto škůdci. Tedy odrůdy, které by buď samice tohoto škůdce nelákaly ke kladení vajíček (rezistence typu antixenosis), anebo odrůdy v jejichž pletivech by larvy hynuly hned na počátku vývoje (rezistence typu antibiosis), přičemž výsledek by byl stejný – nepoškozená semena.
Ochrana porostů před tímto škůdcem založená na insekticidních postřicích často selhává. Důvodů je několik. Dospělci se v porostu velmi špatně monitorují, je těžké určit, jestli je porost již ohrožen (už přiletěli?), či ještě ne. V důsledku toho se jen obtížně hledá vhodný termín pro postřik. Předčasný a stejně tak i pozdní postřik je v podstatě bez efektu. Dalším problémem je stále se prodlužující doba kladení (důsledek oteplování a přítomnosti početně silnějších populací). Dostupné insekticidy navíc nejsou příliš účinné.
Když nejsou k mání rezistentní odrůdy a insekticidy selhávají, musí se hledat alternativní přístup. Bylo publikováno, že některé odrůdy hrachu jsou pro samice zrnokazů atraktivnější než jiné a že to pravděpodobně souvisí s jejich raností (Matlosz a Kaniuczak, 2001; Kaplin et al., 2019). To souvisí s vývojovou vazbou zrnokaza na hrách. Samice musí nejprve přijmout hrachový pyl, aby mohla klást (Clement, 1992). Genotypy, které nabídnou pyl dříve (= dříve nasadí poupata a květy), přilákají také dřív zrnokazy z okolí – stáhnou je na sebe. Pokud mají tedy zrnokazi možnost vybírat (možnost volby je důležitý aspekt).

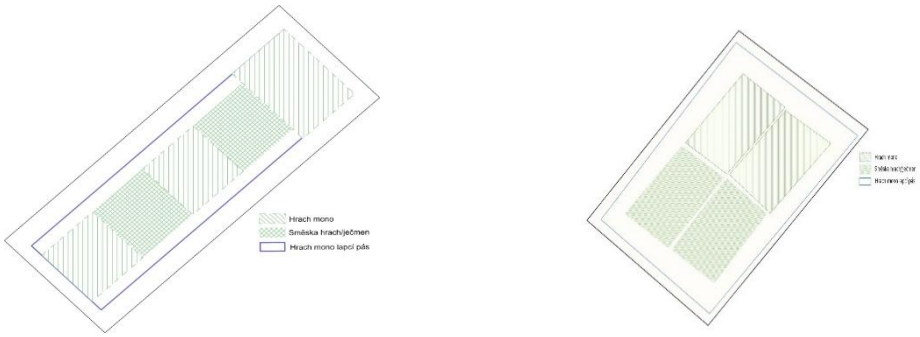
Cílem tohoto příspěvku je potvrdit nebo vyloučit tyto hypotézy:

1) Šest metrů široký pás hrachu obsahující výrazně ranější odrůdu hrachu (lapací pás = *trap crop*) bude významně atraktivnější pro kladoucí samice zrnokaza hrachového než plocha hrachu (hrách s normálním nástupem kvetení, *main crop*), kterou tento pás lemuje nebo obklopuje. Zde jde o úroveň atraktivity (*level of attractiveness*) lapacího pásu.
2) Lapací pás (*trap crop*) obsahující výrazně ranější odrůdu hrachu (lapací pás = *trap crop*) zadrží na lokalitě přítomnou populaci kladoucích samic na dostatečně dlouhou dobu a zabrání jejich předčasné emigraci (= před ukončením období kladení) do vnitřní části porostu (*main crop*). Zde jde o úroveň zadržení (*level of arrestment*) lapacího pásu.

Materiál a metody

Tento příspěvek je založen na výsledcích dvou velkoplošných pokusů hodnocených v letech 2020 a 2021. Design obou pokusů se lišil (cíleně – probíhá stále vývoj lapací metody), což však metodicky nebrání dosáhnout cíle studie. Plány obou pokusů ilustruje Obrázek 1a,b. Lapací pás (*trap crop*) měl stejné složení v obou letech: směs tří odrůd hrachu: výrazně ranější odr. Cysterski (60% výsevek) + normálně kvetoucí Eso (20% výsevek) a Abarth (20% výsevek). Parcely v pokusech představující hlavní plodinu (*main crop*) byly dvou typů (stejné v obou letech): 1) hrách mono = odrůda Eso; 2) směs hrachu s ječmenem = odrůda hrachu Eso (50% výsevek) + odrůda ječmene jarního Azit (50% výsevek). V obou letech byly lapacím pásem lemovány (2020) nebo obklopeny (2021) čtyři parcely s tímto složením, vždy 2 monokultury + 2 směsky (*main crop*). V roce 2020 byla v pokusu ještě navíc pátá parcela reprezentující běžnou hrachovou monokulturu (odrůda Eso) neobklopenou lapacím pásem (něco jako kontrola). Součástí pokusu v roce 2021 byly ještě dva vzdálenější (asi 100 m od bloku vyobrazeném na

Obrázku 1b) 6 m široké pásy tvořené ozimým hrachem (odrůda Balltrap, seto v říjnu 2020). I tyto pásy byly využity jako *trap crop* (ozimý hrách nakvétá ještě výrazně dříve než nejranější jarní odrůdy) pro pokus v roce 2021. To je dobře patrné z Obrázků 8a-e.
Velikost celého pokusu z roku 2020 byla 52 x 200 m. Čtyři vnitřní parcely měly rozměry 40 x 40 m, pátá vnější parcela 52 x 40 m. Šířka lapacího pásu lemujícího z obou stran 4 vnitřní parcely byla 6 m. V rámci celého pokusu bylo rozmístěno 105 hodnotících míst (15 řad po 7 místech) se známou polohou (souřadnice). Polohy míst jsou dobře patrné jako kosočtverečky na Obrázku 2a-c. Velikost celého pokusu založeného v roce 2021 byla 75 x 120 m. Rozměry vnitřních parcel byly 30 x 50 m. Stejně jako v roce 2020 i v roce 2021 byla hodnocení prováděna opakovaně na předem označených místech – v roce 2021 tvořících dohromady pravoúhlou mřížku: 8 x 8 = 64 míst. Asi o 100 m dále založené pásy s ozimým hrachem byly dva (navzájem od sebe 60 m vzdálené). Každý byl 6 m široký a 150 m dlouhý. V rámci těchto dvou pásů bylo 12 hodnotících míst. Polohy hodnotících míst v celém pokusu jsou dobře patrné z Obrázků 3a-e.
V obou letech právě na těchto místech probíhalo opakovaně hodnocení zaměřená na zjištění počtu vajíček nakladených na rostliny v okolí těchto míst rostoucích. Každé místo bylo předem označeno kovovým kolíkem a zjištěny souřadnice. Vajíčka se počítala vždy na 5 – 10 rostlinách na každém hodnotícím místě. V roce 2020 se hodnotilo: 19.6. (počátek kvetení, lusky nenasazeny u jarního hrachu v *main crop*), 30.6. (plné kvetení, lusky nasazeny u jarního hrachu na spodních patrech v *main crop*) a 14.7. (jarní hrách v *main crop*: dokvétání, lusky téměř kompletně nasazeny, na spodních nodech již téměř plná velikost). V roce 2021 v termínech 15.6. (počátek kvetení, lusky nenasazeny u jarního hrachu v *main crop*), 18.6. (počátek kvetení, lusky nenasazeny u jarního hrachu v *main crop*), 25.6. (plné kvetení, lusky nasazeny u jarního hrachu na spodních patrech v *main crop*), 1.7. (dokvétání, lusky nasazeny téměř na všech patrech v *main crop*) a 12.7. (jarní hrách v *main crop*: dokvétání, lusky téměř kompletně nasazeny, na spodních nodech již téměř plná velikost).
Pro analýzu primárních dat (rozložení výskytů vajíček v pokusech pro jednotlivé termíny hodnocení) s cílem zjistit charakter disperze vajíček zrnokaza hrachového v porostu (zjistit disperzní vzorec tohoto znaku) byla využita metoda *Spatial Analysis by Distance IndicEs* (SADIE Version 1.22, Perry et al. 1999). Pomocí této metody je možné zjistit, jestli je disperze konkrétního znaku náhodná nebo jestli zde dochází k signifikantní agregaci (pozitivní nebo negativní) do určitých zón.



Obrázek 1a,b Vlevo je plán pokusu založeného v roce 2020, vpravo plán pokusu pro rok 2021. Oba pokusy byly založeny na lokalitě Rapotín (okres Šumperk). Vzdálenost mezi polohami obou pokusů (jejich nejbližších okrajů) byla asi 50 m.

Výsledky

Rozložení výskytů vajíček zrnokaza hrachového v pokusu z roku 2020 a časo-prostorový vývoj procesu kladení je patrný z Obrázku 2a,b,c. To samé pro rok 2021 ilustruje Obrázek 3a-e. Vajíčka jsou samicemi kladena především do zón s lapacím pásem, zóny lemované nebo obklopené lapacími pásy, tedy hlavní plodina (*main crop*), je napadená méně. Kladení se ale postupně rozšiřuje s *trap crop* do *main crop*. Lapací pás není schopen zadržet kladoucí samice na celou dobu kladení. Minimálně část populace samic migruje z těchto pásů do hlavního porostu a vajíčka se začínají postupně objevovat i zde. Přesto i na konci období kladení (bez jakéhokoliv insekticidního zásahu) je hlavní část porostu, *main crop*, napadena méně (dobře patrné třeba z Obrázku 3d,e). Složení porostu (mono vs. směska) zde nehraji roli.

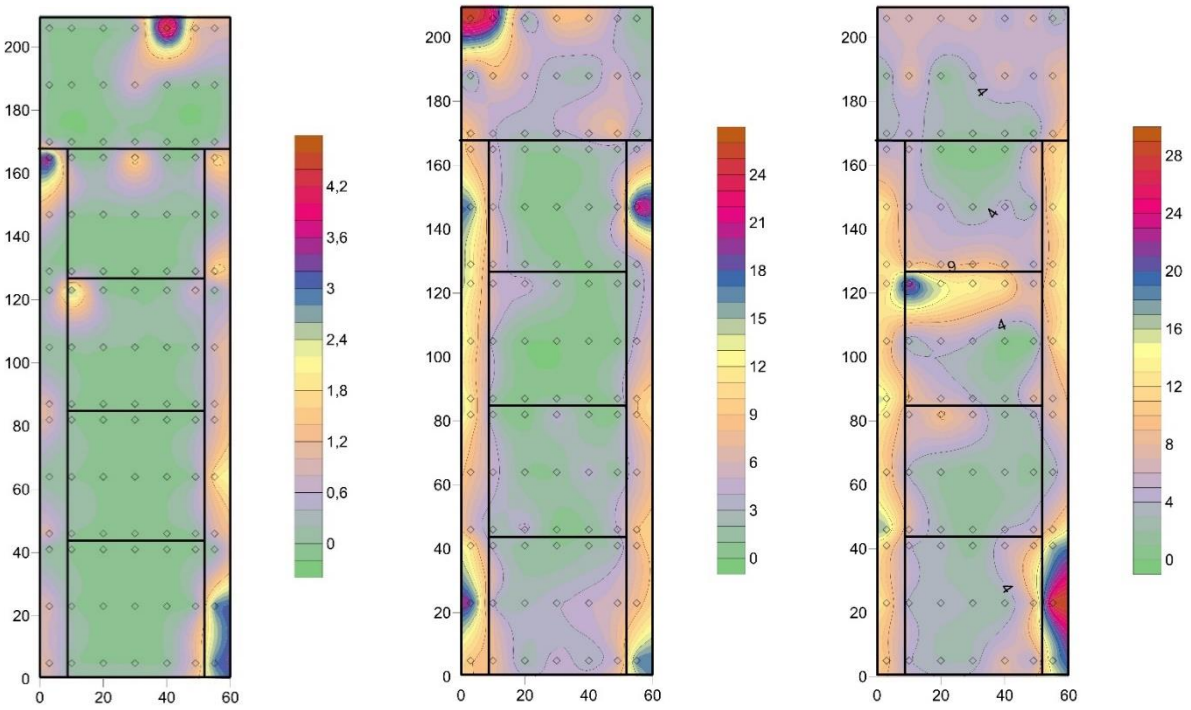
Z výsledků SADIE analýzy je zřejmé, že zdaleka ne vždy (myšleny jednotlivé termíny hodnocení) bylo možné považovat disperzi vajíček zrnokaza v porostu za signifikantně agregovanou – to je nerovnoměrnou, nenáhodně koncentrovanou pozitivně i negativně do určitých zón – viz výsledky v Tabulce 1 a vysvětlující popisky pod touto tabulkou. Srovná-li se rok 2020 s rokem 2021 (bez zahrnutí pásů ozimého hrachu), je patrné, že tendence k agregaci byla výrazně vyšší v roce 2021. Signifikantní projev byl zaznamenán pro termíny 25.6.21, 1.7.21 a 12.7.21. To je zřejmě vliv obsetí a ne pouze lemování vnitřních parcel (*main crop*) 6 m širokým lapacím pásem (*trap crop*), (dobře patrné z Obrázku 3d a 3e). Nerovnoměrnost disperze narostla (nárůst hodnot indexů Ia, Vi a Vj), jestliže se do hodnocení v tomto druhém roce zahrnuly i pásy ozimého hrachu vzdálené od hlavního bloku pokusu přibližně 100 m (ty byly tedy hlavním lapačem zrnokazů).

Tabulka 1 Výsledky analýzy disperze (SADIE) vajíček zrnokaza hrachového stanovené pro jednotlivé termíny hodnocení v porostech obou pokusů. V případě pokusu z roku 2021 do hodnocení buď zahrnuta nebo nezahrnuta část osetá ozimým hrachem.

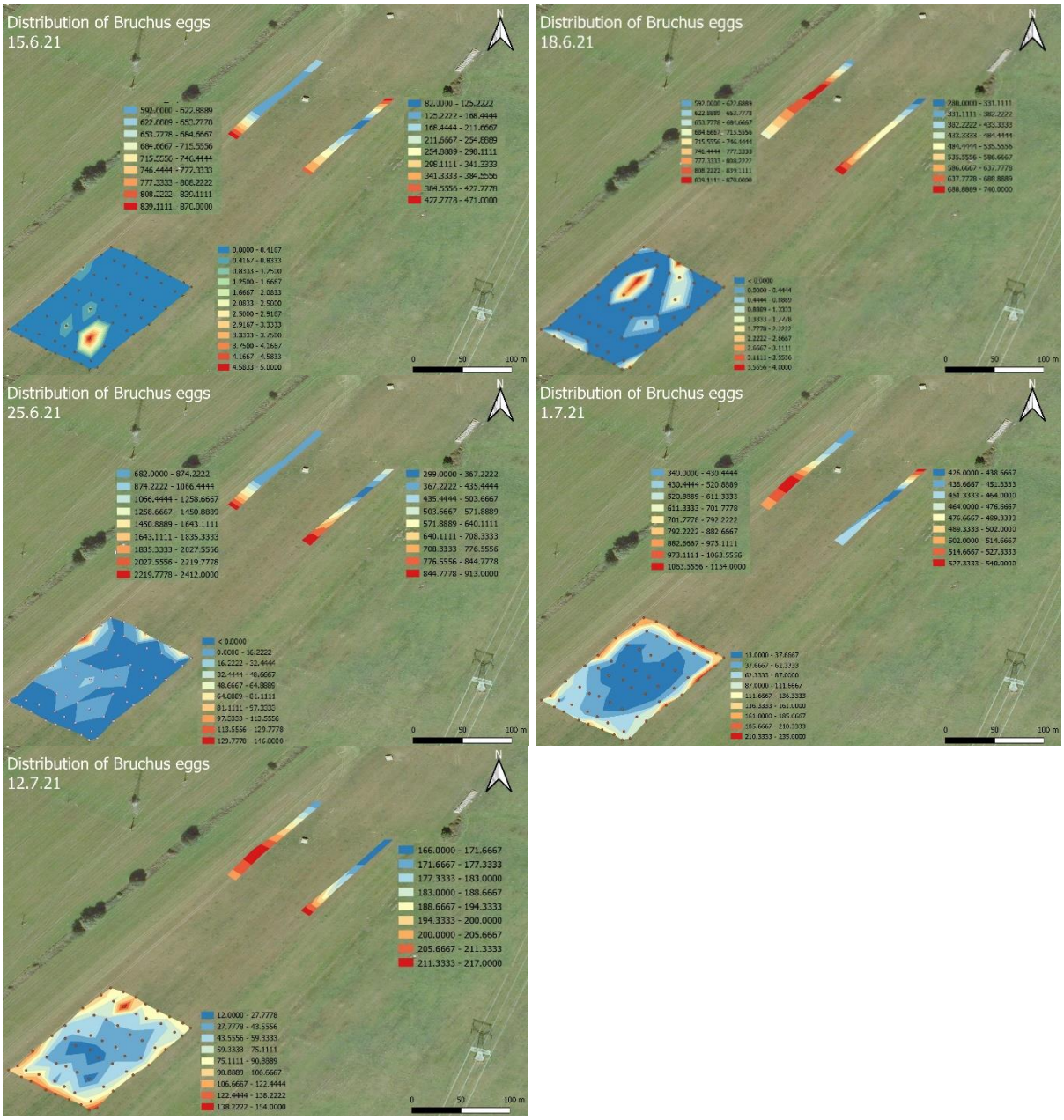
datum hodnocení	hodnocená plocha	celkový index agregace I_a (p)	v_j (p)	v_i (p)
19.06.2020	celý pokus 2020	0.97 (0.4458)	.-0.96 (0.4602)	0.97 (0.4532)
30.06.2020		1.28 (0.1342)	.-1.14 (0.2194)	1.19 (0.1780)
14.07.2020		1.23 (0.1560)	.-1.17 (0.2123)	1.15 (0.2190)
Všechny termíny dohromady (2020)		1.03 (0.3539)	.-0.90 (0.5636)	0.96 (0.4433)
15.06.2021	pouze hlavní blok pokusu 2021 (bez pásů ozimého hrachu)	0.92 (0.6321)	.-0.93 (0.6032)	0.92 (0.5653)
18.06.2021		0.80 (0.8762)	.-0.78 (0.9008)	0.79 (0.8579)
25.06.2021		1.55 (0.0178)	.-1.58 (0.0149)	1.56 (0.0248)
01.07.2021		1.38 (0.0493)	.-1.02 (0.3692)	1.46 (0.0357)
12.07.2021		1.60 (0.0168)	.-1.20 (0.1579)	1.72 (0.0069)
25.06.2021	celý pokus 2021 (včetně pásů s ozimým hrachem)	4.32 (0.0002)	.-5.90 (0.0000)	2.20 (0.0097)
01.07.2021		4.56 (0.0002)	.-6.69 (0.0000)	1.71 (0.0394)
12.07.2021		3.88 (0.0002)	.-4.71 (0.0000)	1.43 (0.0843)

Ia – jestliže je tento index vyšší než 1 pro P < 0.05, je disperze projevů dané choroby v porostu signifikantně agregována (nenáhodná disperze), červené písmo

Vj - v porostu jsou přítomná místa s nenáhodně nižším výskytem (slabším, žádným projevem) dané choroby, tak zvané "gapy" (díry), když je hodnota tohoto indexu nižší než - 1 pro $P < 0.05$, červené písmo
Vi - v porostu jsou přítomná místa s nenáhodně vyšším výskytem dané choroby či vyšším poškozením touto chorobou, tak zvané "patche" (ohniska), když je hodnota tohoto indexu vyšší než 1 pro $P < 0.05$, červené písmo



Obrázek 2a,b,c Postupná změna disperze vajíček (tj. rozložení početnosti v prostoru) zrnokaza hrachového ve velkoplošném pokusu hodnoceném v roce 2020. Obrázek vlevo (2a) ilustruje situaci na počátku období kladení (19. 6. 2020), obrázek uprostřed (2b) stav na konci intenzivní fáze kladení (30. 6. 2020) a obrázek vpravo (2c) situaci na samotném závěru období kladení (14. 7. 2020). Čísla u barevné stupnice znamenají počet vajíček nakladených na rostlinu. Hodnocení byla prováděna opakovaně na místech označených čtverečky. Čísla po obvodu plánu pokusu jsou údaje o šířce a délce pokusu v metrech.



Obrázek 3a–e Postupná změna disperze vajíček (tj. rozložení početnosti v prostoru) zrnokaza hrachového ve velkoplošném pokusu hodnoceném v roce 2021 (lokalita Rapotín, okres Šumperk). Na každém z obrázků je znázorněna disperze vajíček zrnokaza hrachového k určitému datu hodnocení ve dvou rozdílných porostech vzdálených od sebe asi 100 m: 3a = 15.6.21, 3b = 18.6.21, 3c = 25.6.21, 3d = 1.7.21 a 3e = 12.7.21. Horní dva pásy (každý 6 x 135 m) představují ozimý hrách (odrůda Balltrap), obdélník níže je vlastní blok parcel a jarního lapacího pásu popsaný na Obrázku 1a. Čísla u barevné stupnice znamenají počet vajíček nakladených na pět rostlin (pouze v 8e jde o počet vajíček / 10 lusků u jarního hrachu respektive počet vajíček / 5 lusků u ozimého hrachu). Poznámka: porost výrazně více napadeného ozimého hrachu byla použita jiná stupnice než pro porost jarního hrachu – stejná barva u ozimého hrachu a jarního hrachu neznamená stejný počet vajíček. Hodnocení byla prováděna opakovaně na místech označených červenými body. Čísla po obvodu plánu pokusu jsou údaje o šířce a délce pokusu v metrech.

Diskuze

Pokusy zaměřené na hodnocení toho, jak se hmyz v porostu pohybuje (jak se pohybuje celá populace zde přítomná), jestli v tom existuje nějaká zákonitost, pravidelnost (jestli se nějaký disperzní vzorec opakuje), vyžadují velké plochy. A především úplně jiný způsob hodnocení, sběru dat a analýzy nasbíraných dat, než jak je tomu v běžném na maloparcelních pokusech založeném zemědělském výzkumu (Perry et al., 1999; Perry a Dixon, 2002; Reay-Jones et al., 2019).

Z výsledků zde publikovaných je zřejmé, že se dospělce zrnokaza hrachového (přesněji řečeno kladoucí samice) daří přilákat do dříve nakvétajícího porostu. Nedaří se je ale zde zadržet na dostatečně dlouhou dobu – to znamená na celé období kladení. Naše představa byla, že populace přítomná na jednom místě nebude klást déle než 14–18 dní. Ve skutečnosti to bylo kolem čtyřech týdnů (zřejmě vliv oteplování a růstu početnosti populací). To je zřejmě hlavní problém selhání zde zkoušeného systému *trap cropping*.

Problém tedy nevězí v nízké úrovni atraktivity (*level of attractivity*) lapacího pásu, ale v jeho nedostatečné účinnosti samice zadržet na potřebnou dobu (*level of arrestment*). Toto je ve skutečnosti hlavní problém bránící vyšší míře uplatnění systému *trap cropping* (obecně ve všech plodinách), (Holden et al., 2012). Ve vědecké literatuře je popsáno asi 150 různých typů systémů *trap cropping*, v praxi se jich uplatnilo jen asi 10 (Shelton a Badenes-Perez, 2006).

Závěr

1) Šest metrů široký pás hrachu obsahující výrazně ranější odrůdu hrachu (lapací pás = *trap crop*) byl výrazně atraktivnější pro kladoucí samice zrnokaza hrachového než plocha hrachu (hrách s normálním nástupem kvetení, *main crop*), kterou tento pás lemuje nebo obklopuje.
2) Lapací pás (*trap crop*) obsahující výrazně ranější odrůdu hrachu (lapací pás = *trap crop*) nedokázal na dostatečně dlouhou dobu zadržet na lokalitě přítomnou populaci kladoucích samic a zabránit jejich předčasné emigraci (= před ukončením období kladení) do vnitřní části porostu (*main crop*).

Poděkování

Příspěvek je založen na výsledcích získaných při řešení projektu MZE-RO1018.

Literatura

Aznar-Fernández T., Rubiales D., 2019. Flower and pod source influence on pea weevil (*Bruchus pisorum*) oviposition capacity and preference. Frontiers in Plant Science, 10, 1-7

Baker G., 2016. Pea Weevil. Fact Sheet. South Australian Research &Development Institute PIRSA.

Clement S.L., 1992. On the function of pea flower feeding by *Bruchus pisorum.* Entomol Exp Appl, 63, 115 -121.

Holden M.H., Ellner S.P., Lee D-H., Nyrop J.P., Sanderson J.P. 2012. Designing an effective trap cropping strategy: the effects of attraction, retention and plant spatial distribution. J Appl Ecol, 49, 715–722.

Kaplin V.G., Katyuk A.I., Vasin V.G., Belusova O.A., Vasin A.V., 2019. Development and harmfulness of pea weevil, *Bruchus pisorum* (L.) in the forest-steppe of the Middle Volga Region. Entomological Review, 99, 580-597.

Matlosz I., Kaniuczak Z., 2001. Sensitivity of different varieties of peas to seed damage by pea weevil (*Bruchus pisorum* L.) in Podkarpacie. Progress in Plant Protection, 41, 417-419 (in Polish)

Perry J. N., Dixon P. M., 2002. A new method to measure spatial association for ecological count data. Ecoscience, 9, 133–141.

Perry J. N., Winder L., Holland J. M., Alston, R.D., 1999. Red-blue plots for detecting clusters in count data. Ecol. Lett., 2, 106–113.

Reay-Jones F. P. F., Greene J. K., Bauer P. J., 2019. Spatial distributions of thrips (Thysanoptera: Thripidae) in cotton. Journal of Insect Science, 19(6), 1–12.

Seidenglanz M., Munoz M., Heděnec P., P. Šafář J., Bajerová R., 2021. Uspořádáním hrachového porostu lze ovlivnit disperzi zrnokaza v prostoru. Úroda, 69(10), 53–57.

Shelton A.M., Badenes-Perez F.R., 2006. Concepts and applications of trap cropping in pest management. Annu Rev Entomol, 51, 285-308.

Kontaktní adresa:

Marek Seidenglanz
Agritec Plant Research s.r.o.
Zemědělská 2520/16, 78701, Šumperk
583382130, seidenglanz@agritec.cz

Tolerance trav pěstovaných na semeno vůči vybraným herbicidům

Grass seed crop tolerance to selected herbicides

Macháč R., Cabáková M., Petřeková P.

OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.

Abstrakt

Zaplevelení porostů trav na semeno je jedním z hlavních faktorů, které ovlivňují uznání semenářského porostu nebo certifikaci osiva. Možnosti chemické ochrany vůči plevelům se v travním semenářství neustále snižují. V polních maloparcelních pokusech, uskutečněných v letech 2017-2020 na pozemcích Výzkumné stanice travinářské v Zubří, byla hodnocena tolerance sedmi druhů trav vůči vybraným herbicidům. U všech sedmi druhů trav vykazoval nejlepší výsledky herbicid Fragma Delta. Přípravek Pixxaro v samostatné aplikaci, nebo v kombinaci s herbicidem Mustang Forte ukázal nadějné výsledky v prvém roce zkoušení, nicméně v dalších létech se již projevoval fytotoxicky. Rovněž další zkoušené herbicidy se projevily jak zjevnou fytotoxicitou, tak snížením výnosu semen a nelze je pro použití v semenářských porostech trav doporučit.

Klíčová slova: trávy, herbicidy, plevele,

Abstract

Infestation of grass seed crops with weeds is one of the main factors that affected certification of crops or seed. Possibilities for chemical control of weeds in grass seed crops have decline trend. In small-plot field trials, conducted in Grassland Research station at Zubří in 2017-2020, the tolerance of seven grass species to selected herbicides was assessed. The Fragma delta (diflufenican + florasulam) shown best results at all the grass species. The Pixxaro (fluroxypyr + halauxifen-methyl) in alone application, or in combination with herbicide Mustang Forte (aminopyralid + florasulam + 2,4-D) shown good results in first trial year, but in another two trial years caused injury of grass seed crops and decreasing of seed yield. Also another tested herbicides caused apparent phytotoxicity with negative effect on seed yield and aren´t appropriate for use in grass seed crops.

Key words: Grasses, Herbicides, Weed

Úvod

Výskyt plevelů v porostech trav na semeno je velmi závažným faktorem, který ovlivňuje výnos uznaného osiva, ekonomiku produkce a někdy i dobu využívání semenářského porostu. Nadměrné zaplevelení může být příčinou neuznání semenářského porostu, čím se zcela znehodnotí veškerá produkce, která nemá prakticky žádné alternativní uplatnění. Zaplevelení se však podílí i na snížení výnosu semen trav, např. Rolston & Hare (1986) uvádějí, že každé 1 % plevelného pokryvu snižuje výnos semen srhy laločnaté v průměru o 0,9 %. Významnější zaplevelení některými plevely může vést k rozhodnutí o předčasném zaorání porostu. Vyhláškou je limitován především výskyt šťovíku kadeřavého (*Rumex crispus* L.) a tupolistého (*R. obtusifolius* L.), které by se však při správně zvolené ochraně neměly v semenářských porostech trav vůbec vyskytovat (Macháč & Macháč, 2010). Problémem mohou být i hluchavky (*Lamium* sp.), zejména v porostech jílků založených letním výsevem, kdy mohou významně přispět k vyležení trav a navíc zvyšují riziko napadení sněžnou plísňovitostí (Cagaš *et al.,* 2010). Stále větší problém dle monitoringu představují trávovité plevele, především pýr plazivý (*Elytrigia repens* L.), ale také oves hluchý (*Avena fatua* L.), lipnice roční (*Poa annua*

L.), lipnice obecná (*Poa trivialis* L.), a v poslední době se šířící mrvka myší ocásek (*Vulpia myuros* (L.) K.C. Gmel.). V souvislosti se změnou klimatu se v travách na semeno rozšiřují i sveřepy (*Bromus* ssp.) a C_4 plevele jako je ježatka kuří noha (*Echinochloa crus-galli* (L.) P.B.) a béry (*Setaria* sp.). Tyto plevele nejen konkurují pěstovaným travám, ale jsou z osiva trav velmi obtížně čistitelné a často jsou důvodem pro zamítnutí partie osiva (Cagaš *et al.*, 2006).

Materiál a Metody

Polní maloparcelní pokusy byly provedeny v letech 2017-2020 na pozemcích Výzkumné stanice travinářské v Zubří. Charakteristiky stanoviště: nadm. výška: 356 m, průměrná teplota: 7,5 °C, srážkový normál: 864 mm, půdní typ: luvizem oglejená, půdní druh: písčitohliná. Všechny pokusné plochy byly vysety v roce 2017. Na podzim bylo každoročně u všech pokusů provedeno přihnojení NPK v dávce ekvivalentní 60 kg dusíku na ha. Koncem října byly pokusy osečeny. Na jaře bylo provedeno přihnojení ledkem amonným s dolomitem v dávce 68 kg dusíku na ha. V období před počátkem sloupkování byly pokusy přihnojeny ledkem amonným s vápencem v dávce 27 kg dusíku na ha. Celková jarní dávka dusíku činila 95 kg na ha.

V rámci hodnocení selektivity, ev. fytotoxicity herbicidů byly testované přípravky aplikovány v základní (doporučené) dávce a ve dvojnásobné dávce (simulace překrytí postřikových ramen). Každá varianta byla hodnocena ve 3 opakováních v základní dávce (N) a ve 3 opakováních v dvojnásobné dávce (2N). Hodnocená a sklizňová plochy parcely činila 10 m^2. Aplikace herbicidů proběhla pomocí bezezbytkového přesného parcelního postřikovače Zems 09/00. Použité herbicidy a jejich dávky jsou uvedeny u jednotlivých druhů v tabulce 1. Dávka vody činila 200 $l.ha^{-1}$. Aplikace herbicidů proběhla na jaře ve fázi odnožování trav (BBCH 25-29). V rámci hodnocení byla sledována fytotoxicita po ošetření, výnos semen, počet fertilních stébel, klíčivost a HTS. V termínech 2, 4 a 6 týdnů po aplikaci byly hodnoceny příznaky fytotoxicity. Před sklizní byly odebrány vzorky plodných stébel pro laboratorní rozbory. Výmlat trav byl proveden přímou sklizní maloparcelní sklízecí mlátičkou Wintersteiger Elite. Vymlácené osivo bylo šetrně dosušeno v komorové sušárně a následně vyčištěno na soustavě laboratorních čističek Westrup-Kamas. Z vyčištěného osiva byl stanoven výnos semen a odebrány vzorky pro stanovení kvalitativních parametrů. Výsledky byly statisticky analyzovány prostřednictvím programu Statistica 10 (Cochranův test, ANOVA, post hoc test dle Tukeye).

Tabulka 1: Použité herbicidy a dávky v jednotlivých travních druzích

Herbicid	účinná látka	dávka na ha (N)	Testováno v travním druhu:						
			jílek mnohokvětý	jílek vytrvalý	kostřava luční	kostřava červená	loloidní typ Festulolia	festucoidní typ Festulolia	bojínek luční
Mustang (kontrola)	2,4-D + florasulam	0,6 l	A	A	A	A	A	A	A
Fragma Delta	diflufenican + florasulam	0,1 l	A	A	A	A	A	A	A
Pixxaro	fluroxypyr + halauxifen-methyl	0,5 l	A	A	A	A	A	A	A
Pixxaro + Mustang Forte	fluroxypyr + halauxifen-methyl aminopyralid + 2,4-D + florasulam	0,25 l + 0,75 l	A	A	A	A	A	A	A

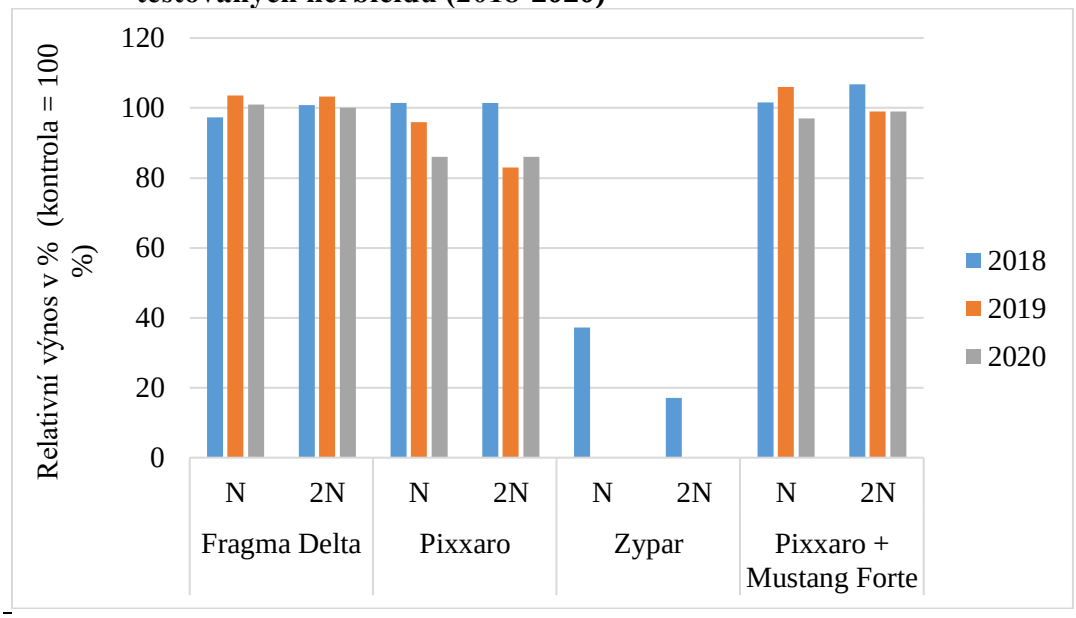
Zypar	florasulam + halauxifen-methyl	1 l	A	A	A	A	A	A	A
Bandur	aclonifen	2 l	N	A	A	N	N	N	N
Husar Active	iodosulfuron + 2,4-D	1 l	N	N	N	A	A	A	A

Výsledky a diskuze

Jílek mnohokvětý italský (*Lolium multiflorum* Lam. subsp. *italicum*) cv. Lolita

Velmi dobrou selektivitu vůči jílku mnohokvětému vykazovaly přípravky Fragma Delta a kombinace Pixxaro + Mustang Forte. Jílek mnohokvětý ošetřený těmito přípravky dosáhl výnosu obilek na úrovni kontroly ošetřené standardním přípravkem. Přípravek Zypar již v prvém roce silně snížil výnos semen a v dalších létech již nebyl ověřován. U přípravku Zypar byly rovněž pozorovány největší zjevné příznaky fytotoxicity – retardace růstu, chlorózy. Přípravek Pixxaro (0,5 l/ha) v prvém roce poskytnul dobré výsledky, nicméně v dalších dvou létech již snižoval výnos semen jílku mnohokvětého. U žádné z testovaných variant nebyl zaznamenán negativní vliv na HTS, energii klíčení a klíčivost. V grafu 1 je znázorněn vliv použitých herbicidů na výnos semen jílku mnohokvětého italského (standardní kontrola = 100 %). Z testovaných přípravků lze v jílku mnohokvětém italském použít pouze Fragmu Delta v dávce 0,1 l.ha^{-1}, případně kombinaci Pixxaro + Mustang Forte v dávce 0,25 + 0,75 l.ha^{-1} (dosud neregistrováno).

Graf 1: Relativní výnos semen (v %) jílku mnohokvětého italského po aplikaci testovaných herbicidů (2018-2020)

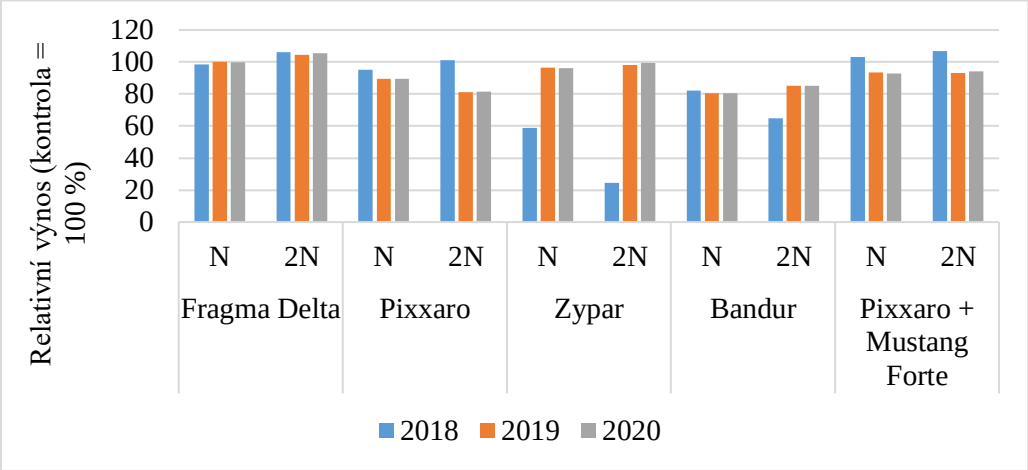


Jílek vytrvalý (*Lolium perenne* L.) cv. Kentaur

U jílku vytrvalého vykazoval stabilně výnos na úrovni kontroly pouze přípravek Fragma Delta, který nevykazoval žádné projevy fytotoxicity. Ostatní testované herbicidy v různé míře způsobovaly fytotoxicitu a docházelo u nich ke snížení výnosu semen, minimálně v jednom pokusném roce. Přípravek Pixxaro v samostatné aplikaci poskytl výnos na úrovni kontroly v prvém roce zkoušení, v dalších dvou létech však výnos snižoval, zejména ve dvojnásobné dávce. Naopak herbicid Zypar snížil výnos v prvém roce zkoušení a v dalších létech byl výnos mírně pod úrovní kontroly. Tento přípravek zejména v prvém roce způsoboval retardaci růstu (až 18 %) a místy i nekrózy. Kombinace Pixxaro + Mustang Forte snižovala výnos o 5-7 % ve

všech pokusných létech. K průkaznému snížení výnosu došlo ve všech letech u přípravku Bandur, který také vykazoval největší příznaky fytotoxicity – silné chlorózy, retardace růstu (až 25 %). Z testovaných přípravků lze v jílku vytrvalém použít pouze Fragmu Delta v dávce 0,1 l.ha^{-1}.

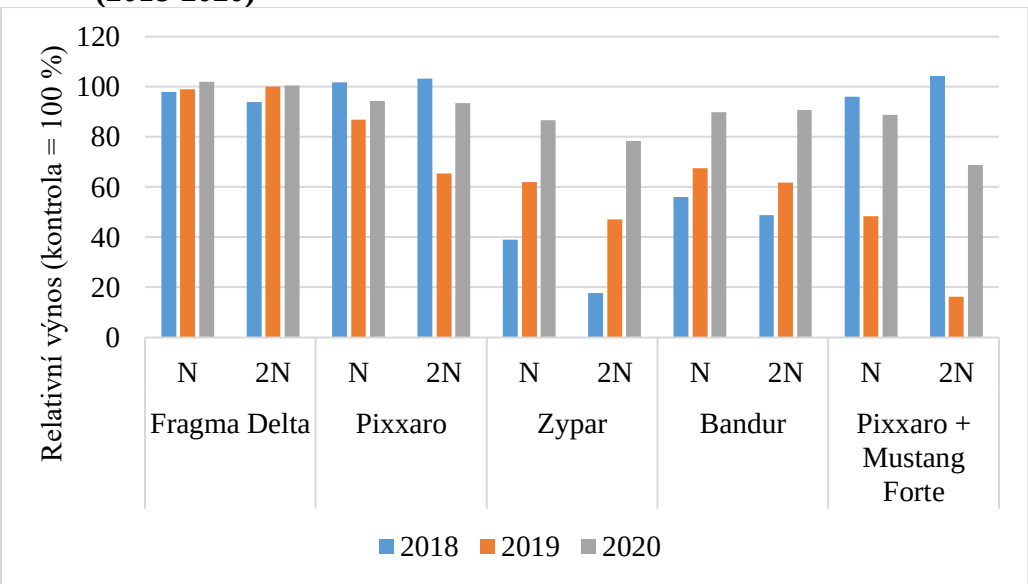
Graf 2: Relativní výnos semen (v %) jílku vytrvalého po aplikaci testovaných herbicidů (2018-2020)



Kostřava luční (*Festuca pratensis* Huds.) cv. Rožnovská

U kostřavy luční se fytotoxicky projevily všechny testované přípravky s výjimkou Fragmy Delta. Výrazné příznaky fytotoxicity byly pozorovány zejména po aplikaci přípravku Zypar (retardace růstu až 25 %, nekrózy) a Bandur (chlorózy až 35 %, retardace růstu až 15 %). Slabá retardace růstu (do 8 %) byla pozorována po aplikaci kombinace Pixxaro a Mustang Forte, zejména v dvojnásobné dávce. Přípravek Pixxaro i kombinace Pixxaro + Mustang Forte vykazovala výnosy na úrovni kontroly pouze v prvém pokusném roce, v dalších dvou létech obě varianty významně snížily výnos semen.

Graf 3: Relativní výnos semen (v %) kostřavy luční po aplikaci testovaných herbicidů (2018-2020)

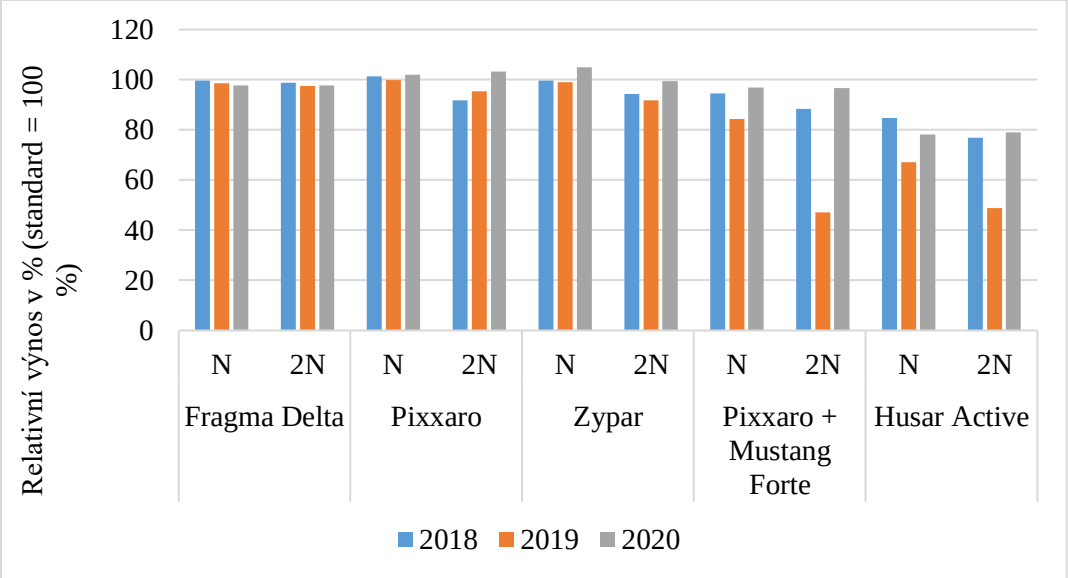


Ve všech pokusných létech bylo zaznamenáno statisticky významné snížení výnosu po aplikaci Zyparu a Banduru. Shrnutí výsledků za tři pokusné cykly je uvedeno v grafu 3. Z testovaných herbicidů lze doporučit pouze Fragmu Delta v dávce 0,1 l.ha^{-1}.

Kostřava červená (*Festuca rubra* L.) cv. Zulu

Slabé příznaky fytotoxicity (3-5 %) byly pozorovány v prvých dvou termínech hodnocení po aplikaci přípravků Pixxaro a Zypar (retardace růstu). Silnější příznaky byly pozorovány po aplikaci kombinace Pixxaro + Mustang Forte (retardace růstu až 14 %) a nejsilnější příznaky (až 25 %) byly zaznamenány po aplikaci Husaru Active (chlorózy, retardace růstu), zvláště v dvojnásobné dávce. Postupně však příznaky fytotoxicity odeznívaly. V kostřavě červené se opět bez problému projevila Fragma Delta. Poměrně dobré výsledky byly dosaženy i u variant ošetřených Pixxarem a i Zyparem. U těchto dvou přípravků došlo k mírnému snížení výnosu semen u dvojnásobných dávek. Kombinace Pixxaro a Mustang forte snížila významně výnos zejména v 2. roce (2018). K statistický významnému snížení výnosu semen došlo ve všech letech po aplikaci Husaru Active. V kostřavě červené tak lze použít přípravky Fragma Delta a po případné registraci i Zypar a Pixxaro.

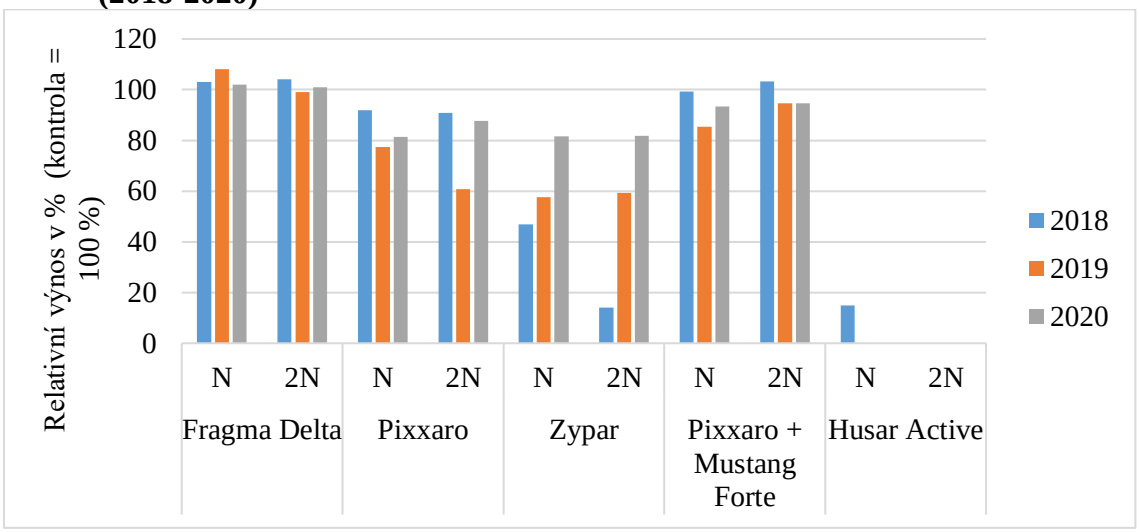
Graf 4: Relativní výnos semen (v %) kostřavy červené po aplikaci testovaných herbicidů (2018-2020)



Festulolium loloidního typu (typ *Festulolium loliaceum*) cv. Lofa

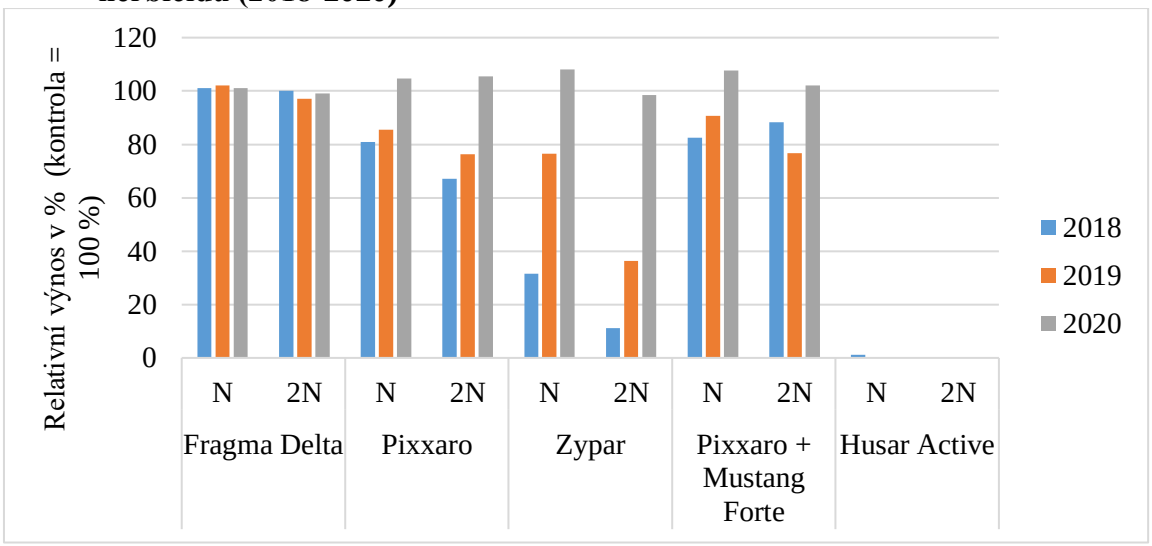
V obou typech Festulolia vykazoval nejvyšší fytotoxicitu přípravek Husar Active, který výrazně retardoval růst (v dvojnásobné dávce až 80 %) a způsoboval i nekrózy. Z tohoto důvodu byl Husar ve Festuloliích zkoušen jen jeden rok. Retardace růstu s chlorózami a nekrózami byla pozorována po aplikaci Zyparu (N 15 %, 2 N až 22 %). Menší retardace růstu byla pozorována i po aplikaci kombinace Pixxaro + Mustang Forte, zejména v dvojnásobné dávce (6-7 %). Výnosy semen na úrovni kontroly byly zaznamenány u obou typu Festulolia u Fragmy Delta. Přípravky Pixxaro a Zypar statisticky významně snížily výnos semen ve všech letech u cv. Lofa a v prvých dvou létech u cv. Fojtan (viz grafy 5 a 6).

Graf 5: Relativní výnos semen (v %) Festulolia cv. Lofa po aplikaci testovaných herbicidů (2018-2020)



Kombinace Pixxaro s Mustangem Forte průkazně snížila výnos semen v prvých dvou létech u festucoidního typu Festulolia cv. Fojtan, zatímco ve třetím roce byly výnosy této varianty neprůkazně vyšší než u kontroly. V loloidním typu Festulolia tato kombinace naopak neprůkazně snížila výnos semen v druhém a třetím roce, zatímco v prvém roce byl výnos na úrovni kontroly. K razantnímu snížení výnosu došlo u obou typu Festulolia po aplikaci Husaru Active, kde v základní dávce došlo ke snížení o 85 % (cv. Lofa), resp. 99 % (cv. Fojtan) a v dvojnásobné dávce Festulolia vůbec nemetala. U festucoidního typu cv. Fojtan došlo po aplikaci Husaru Active rovněž k průkaznému snížení klíčivosti (data u autorů).

Graf 6: Relativní výnos semen (v %) Festulolia cv. Fojtan po aplikaci testovaných herbicidů (2018-2020)

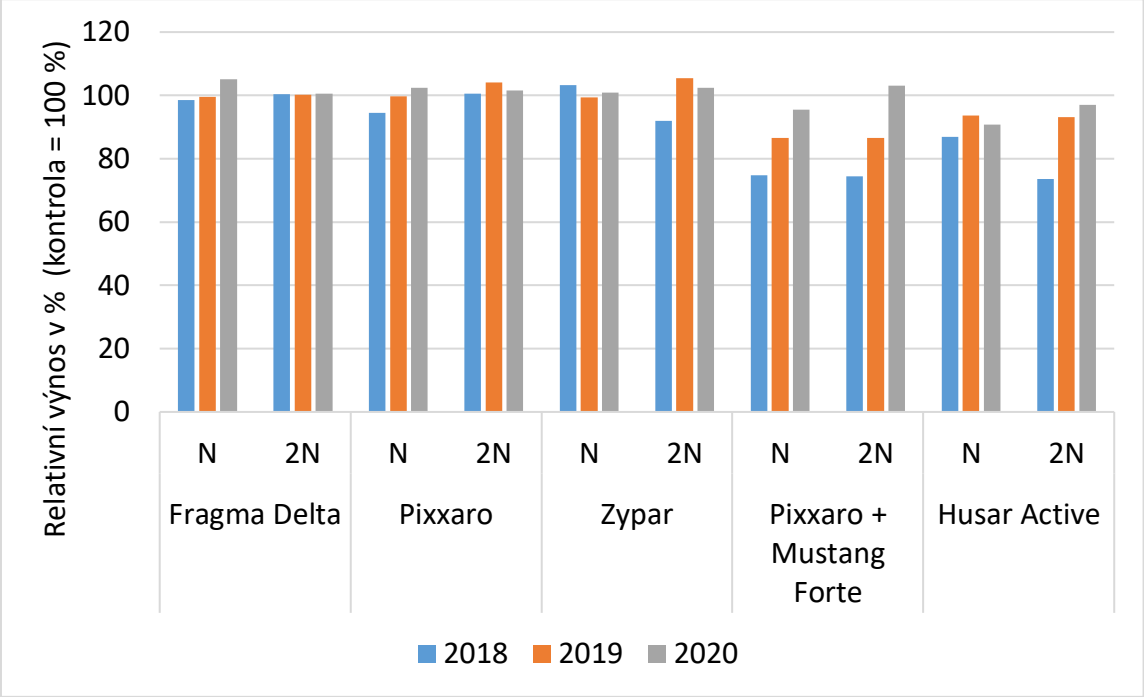


Do semenářských porostů Festulolií lze tak využít pouze přípravek Fragma Delta v dávce 0,1 l.ha^{-1}. Naopak přípravek Husar Active, případně jiné formulace přípravků s ú.l. iodosulfuron lze v následných plodinách (pšenice, žito, tritikale) použít k hubení výdrolu Festulolií.

Bojínek luční (*Phleum pratense* L.) cv. Sobol

I u bojínku lučního vykazoval nejvyšší fytotoxicitu přípravek Husar Active, který způsoboval retardaci růstu (až 20 %), doprovázenou nekrózami. Oproti Festuloliím však příznaky retardace s rostoucí dobou po aplikaci zmírňovaly. Menší retardace růstu (3-6 %) byla pozorována po aplikaci Zyparu a kombinace Pixxaro + Mustang Forte. Obecně byla příznaky fytotoxicity největší v prvém termínu hodnocení a postupně ustupovaly. V případě Fragmy Delta, Pixxara a Zyparu byly výnosy ve všech letech na úrovni kontroly. Pouze u Zyparu došlo v prvém roce k mírnému snížení výnosu v dvojnásobné dávce. Kombinace Pixxaro a Mustang Forte statisticky významně snížila výnos semen v prvém roce a druhém roce. Husar Active snížil výnos semen ve všech létech, v prvém roce statisticky významně, v dalších letech neprůkazně.

Graf 7: Relativní výnos semen (v %) bojínku lučního po aplikaci testovaných herbicidů (2018-2020)



Z výsledků lze pro použití v bojínku lučním doporučit Fragmu Delta v dávce 0,1 l/ha a po případné registraci i Pixxaro v dávce 0,5 l/ha a Zypar v dávce 1 l/ha.

Tříleté pokusy s vybranými herbicidy nepřinesly mnoho nadějných výsledků. Pouze přípravek Fragma Delta může být použit ve všech travních druzích. Překvapivě nebyly u většiny travních druhů dobré výsledky u herbicidů s deklarovaným účinkem jen na dvouděložné plevele – Pixxaro, Zypar a kombinace Pixxaro + Mustang Forte. Fytotoxicita se projevila zejména v létech, kdy po aplikaci byly dny s výskytem přízemních mrazíků, zatímco přes den byly teploty nad 15 °C. Na riziko poškození ošetřovaných porostů v dobách nočních mrazů upozorňuje i dokumentace přípravků (ÚKZÚZ, 2021). V oblastech pěstování trav na semeno však často riziko výskytu přízemních mrazíků trvá po celou dobu vhodnou k aplikaci herbicidů, tj. v období odnožování trav. V zahraničí bylo také zaznamenáno snížení vitality osiva jílku mnohokvětého po aplikaci aminopyralidu (Bobadilla *et al.*, 2020), nicméně k tomu došlo při použití dávky několikanásobně převyšující dávku aminopyralidu v Mustangu Forte registrovaného v ČR.

Závěr

Tříleté pokusy s vybranými herbicidy potvrdily možnost použití Fragmy Delta ve všech druzích trav, ve kterých byla odzkoušena. Po nadějných výsledcích v prvém pokusném roku byly u většiny druhů zaznamenány příznaky fytotoxicity a snížení výnosu po aplikaci Pixxara, resp. Pixxara a Mustangu Forte. Přípravek Zypar poskytl uspokojivé výsledky pouze v kostřavě červené a bojínku lučním. Vysoká fytotoxicita byla zaznamenána po aplikaci Husaru Active u Festulolií, tento přípravek tak lze využít k likvidaci výdrolu Festulolií v následných obilninách. Husar Active byl ale fytotoxický i v kostřavě červené a bojínku. Přípravek Bandur byl zkoušen pouze v kostřavě luční a jílku vytrvalém, a v obou se projevil fytotoxicky.

Dedikace

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

Použitá literatura

Bobadilla, L., Hulting, A., Curtis, D., & Mallory-Smith, C. (2020). Application of synthetic auxin herbicides to suppress seed viability of Italian ryegrass (*Lolium perenne* ssp. *multiflorum*) in tall fescue seed production. *Weed Technology*, 34(4), 489-497. doi:10.1017/wet.2019.135

Cagaš B. Macháč, J., Macháč R., Ševčíková M., Šrámek P., 2010: *Trávy pěstované na semeno*. 1. vydání, Olomouc, Vydavatelství Ing. Petr Baštan. 276 s.

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

Macháč J., Macháč R., 2010 Ochrana proti plevelům, regulátory růstu. In. Cagaš, B. *et. al*. *Trávy pěstované na semeno*. 1. vydání Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, 2010. s. 237-246.

Rolston M. P., Hare M.D., 1986: Competitive effects of weeds on seed yield of first year grass seed crops. *Journal of Applied Seed Production* 4. s. 34-36.

ÚKZÚZ, 2021: Registr přípravků na ochranu rostlin. dostupné z: http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/Vyhledavani.aspx?type=0&vyhledat=A&stamp=1378888388577 [8.10.2021]

Kontaktní adresa:

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

Změny teploty vzduchu za posledních 30 let na území České republiky

Changes in air temperature over the last 30 years in the Czech Republic

Rožnovský, J.[1,2], Střeštík, J.[1]

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

Abstrakt
Změny klimatických prvků jsou hodnoceny vždy k určitému období. Rokem 2020, bylo naplněno čtvrté normálové období, tedy období 1991 až 2020. Dosud bylo nejčastěji používáno třetí normálové období, tedy roky 1961 až 1990. K analýze vztahu uvedených normálových období jsme použili údaje o teplotě vzduchu ze stanic Českého hydrometeorologického ústavu na území ČR z technické řady za období 1961 až 2020. Zjistili jsme, že teplota vzduchu je statisticky prokazatelně ve čtvrtém normálovém období vyšší v jednotlivých ročních obdobích, tedy i roční. Nejvyšší nárůst teploty vzduchu je v letním období.
Klíčová slova: normálové období, změna klimatu, teplota vzduchu, dlouhodobé změny

Abstract
Changes in climatic elements are always assessed for a certain period. In 2020, the fourth normal period was fulfilled the period 1991 to 2020. Until now, the third normal period was used most often the years 1961 to 1990. To analyze the relationship between these normal periods, we used data on air temperature from stations of the Czech Hydrometeorological Institute in the Czech Republic from the technical series for the period 1961 to 2020.
We found that the air temperature is statistically demonstrably higher in the fourth normal period in individual seasons, also annually. The highest increase in air temperature is in the summer.
Keywords: climate change, air temperature**,** long-term change

Úvod

Změnou klimatu se vědci zabývají již několik desetiletí. V posledních několika letech jsou projevy změny klimatu naší společností daleko více vnímány, než tomu bylo dříve. Pojem změna klimatu slyšíme stále častěji, je to určitě dáno tím, že se velké části naší společnosti dotkly výskyty sucha. Je obecně známo, že nejen pro lidi a přírodu, ale i pro hospodářství jsou škodlivé výskyty extrémních hodnot meteorologických prvků. K nim patří jak extrémně vysoké, tak nízké teploty vzduchu. Problematika vývoje podnebí na Zemi je předmětem studia mnoha klimatologů a dalších odborníků. Jejich výsledky jsou však určitými skupinami jiných odborníků zpochybňovány. Jak vyplývá z různých studií, tyto změny jsou příčinou zvyšující se četnosti výskytů extrémních stavů počasí. Probíhající změna klimatu je nejčastěji dokládána zvyšováním teploty vzduchu, hovoříme o tzv. globálním oteplování (Rožnovský, 2019). Možné dopady změn našeho podnebí jsou studovány v širokých souvislostech již od devadesátých let minulého století, jak dokládají mnohé rozsáhlé studie (Brázdil a Rožnovský et al., 1995).
Proměnlivost našeho podnebí je dána geografickou polohou a reliéfem našeho území. Jsme součástí mírného klimatického pásu, ovšem v oblasti přechodného klimatu středoevropského (Kolektiv autorů 1958). Významnou roli sehrávají cirkulační a geografické poměry. V Atlasu podnebí Československa (1958) a Podnebí ČSSR - Tabulky (1960) jsou uvedeny výstupy zpracování za období 1901 až 1950. Mapy klimatických prvků v Atlasu podnebí Česka

(Tolasz et al., 2007) byly vypracovány z meteorologických údajů za období 1961 až 2000. Vidíme, že desetiletí 1951 až 1960 zpracováno není.
Od 80. let 20. století je pozorován významný nárůst teplot vzduchu a to ve všech sezónách s výjimkou podzimu (Střeštík et al., 2014). Převážný počet roků v posledním desetiletí měl extrémně vysoké teploty vzduchu. Jde o roky 2012, 2015, 2017, 2018, ale také 2019. Nejvyšší maximum teploty vzduchu na území ČR bylo naměřeno 20. 8. 2012 v Dobřichovicích, a to 40,4 °C. Nejnižší minimum teploty vzduchu, -42,2 °C se vyskytlo v Litvínovicích u Českých Budějovic 11. února 1929.
V podstatě základem klimatologického hodnocení je klimatologický normál, jehož hlavním využitím je eliminovat krátkodobé výkyvy klimatu. Jednosměrné změny působení klimatických faktorů vedou ke změnám klimatu. Pro studium klimatu různých míst je třeba, aby se klimatologické normály vztahovaly ke stejnému období. Podle doporučení Světové meteorologické organizace (WMO) jsou standardní klimatologické normály počítány z třicetiletí 1901–1930, 1931–1960, 1961–1990, atd.

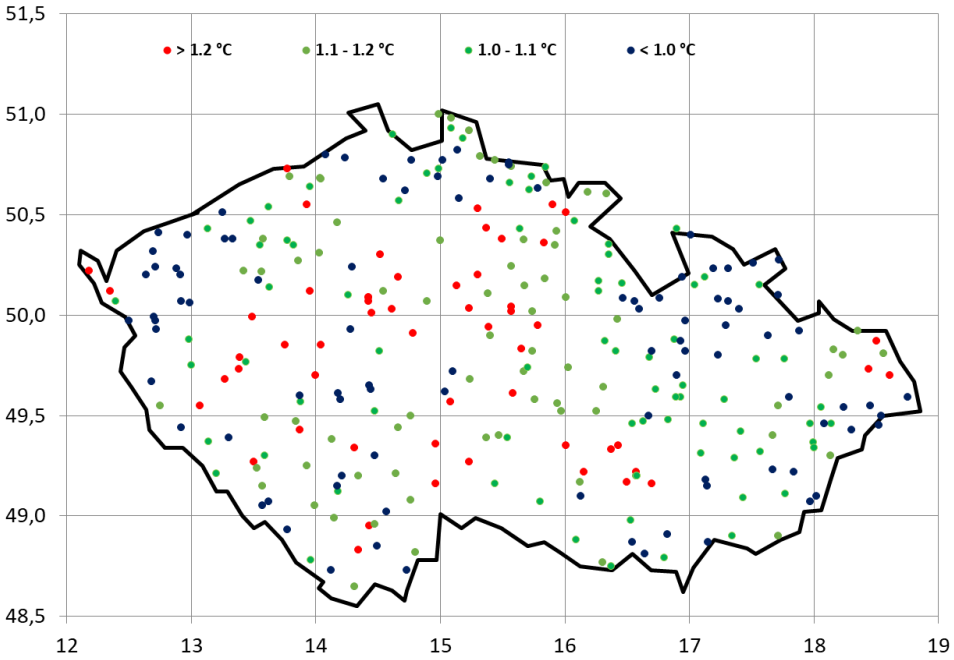
Materiál a metody

Výchozím materiálem byly hodnoty teploty vzduchu z klimatologických stanic Českého hydrometeorologického ústavu zpracované do tzv. technické řady zahrnující 268 stanic na území ČR. Pro tuto studii jsme statisticky zpracovali tuto řadu .za období 1961 až 2020 pro třetí normálové období 1961 až 1990 a čtvrté normálové období 1991 až 2020 pro průměry roční a roční období.

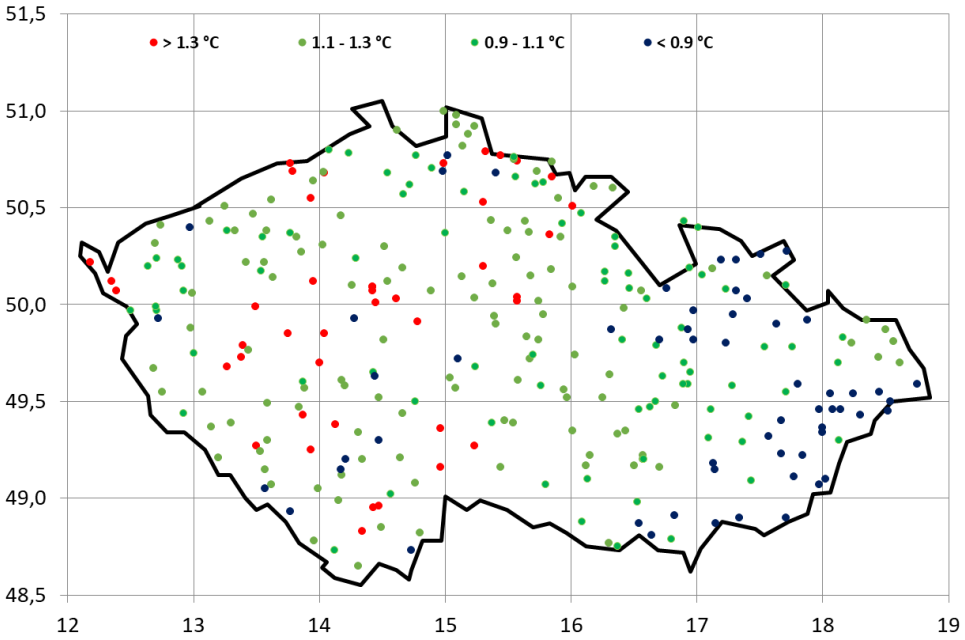
Výsledky

Dlouhodobá průměrná roční teplota vzduchu je nejčastěji používanou charakteristikou teplotních poměrů na našem území. Vzhledem k výskytu mimořádně teplých roku hlavně v posledním desetiletí, tedy v letech 2011 až 2020, byla věnována 4. normálovému období zvýšena pozornost.
Za období 1961 až 2020 se pohybovala od pod mínus 2 °C (vrcholové polohy) až k 10 °C na jižní Moravě. Ovšem je nutné uvést, že teplejší, než jižní Morava je centrální část Prahy, kde vlivem tepelného ostrova přesahuje roční průměr hodnotu 10 °C. Z analýzy průměrných ročních a měsíčních teplot vzduchu za období 1961 až 2020 vyplývá, že teploty vzduchu na našem území mají statisticky prokazatelný trend růstu.
V rámci hodnocení průměrné roční teploty vzduchu (°C) za normálové období 1991 až 2020 a normálové období 1961 až 1990 na území ČR byla zpracována mapa změny teploty vzduchu (Obr. 1). Tato jednoznačně dokumentuje zvýšení průměrných teplot vzduchu na našem území ve 4. normálovém období. Rozložení zvýšení však není na našem území rovnoměrné, což je v našem členitém terénu logické. Proto nárůst teploty do 1 °C nacházíme převážně ve vyšší nadmořské výšce, ovšem občas překvapivě i v oblastech z klimatologického hodnocení teplých. Nejvyšší zvýšení průměrné roční teploty vzduchu, a to o více jak 1,2 °C je četnější na území Čech a překvapivě ho nenacházíme na jižní Moravě, naopak v nejteplejší části Čech, tedy ve středních Čechách ano. Nejčetnější nárůst je v rozsahu 1,0 až 1,2 °C.
Z hlediska teplotních poměrů pro pěstování rostlin není průměrná roční teplota vzduchu nejvhodnějším ukazatelem, i když je takto často využívána. Z hlediska významu počátku vegetačního období jsou důležité teplotní poměry jara, kdy jsou průměrné teploty významně ovlivněny vpády studeného, až arktického vzduchu, který je příčinou vzniků jarních mrazů, často se škodlivými dopady.
Pokud srovnáme vzestup teploty vzduchu v jarním období, můžeme v podstatě konstatovat, že se výrazně od ročního neliší (Obr. 2) Opět platí, že rozložení vzestupu teploty vzduchu je

nerovnoměrné, ale můžeme uvést, že převážné množství stanic s nejvyšším nárůstem je na území Čech. Na Moravě se nárůsty nad 1,3 °C nevyskytují. Až na výjimky je celé území Moravy v rozpětí 1,1 až 1,3 °C. Východ Moravy, zvláště Beskydy v rozpětí 0,9 až 1,1 °C.



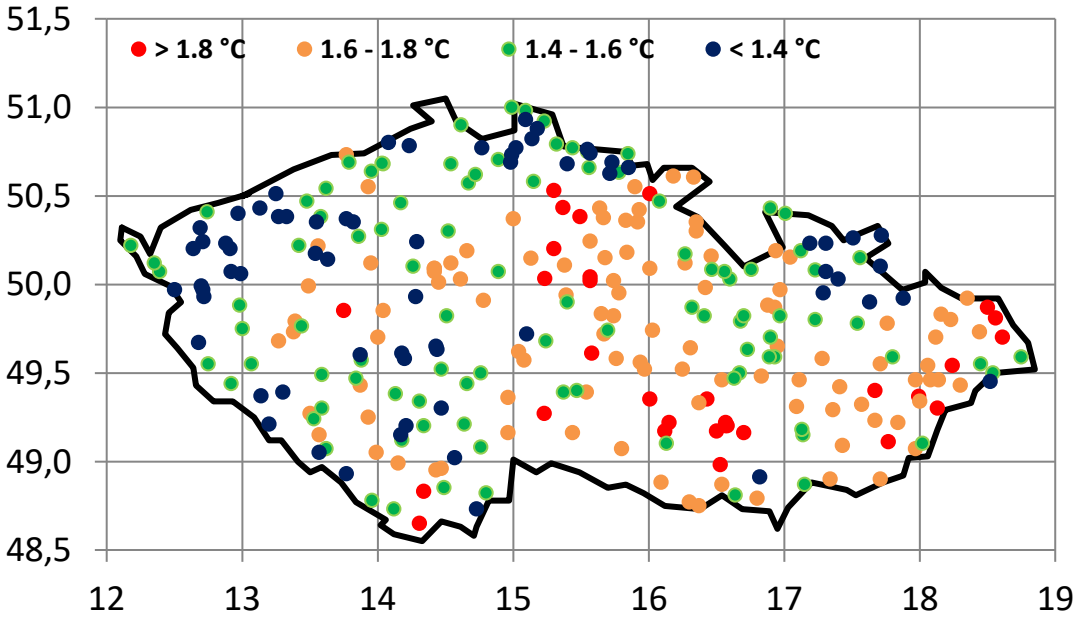
Obr. 1 Rozdíl průměrné roční teploty vzduchu (°C) za normálové období 1991 až 2020 a normálové období 1961 až 1990 na území ČR



Obr. 2 Rozdíl průměrné jarní teploty vzduchu (°C) za normálové období 1991 až 2020 a normálové období 1961 až 1990 na území ČR

Na letním vzestupu teploty vzduchu se podílí na růst extrémních teplot vzduchu. Dochází ke zvýšení počtu tropických dnů, tedy denních maximálních teplot 30 °C a výše. Jejich počet v posledních letech překračuje dvojnásobek výskytů oproti průměrům za období 1961 až 2000.

Zde je nutné zdůraznit, že je velký rozdíl mezi extrémy teploty vzduchu ve volné krajině a ve městech.



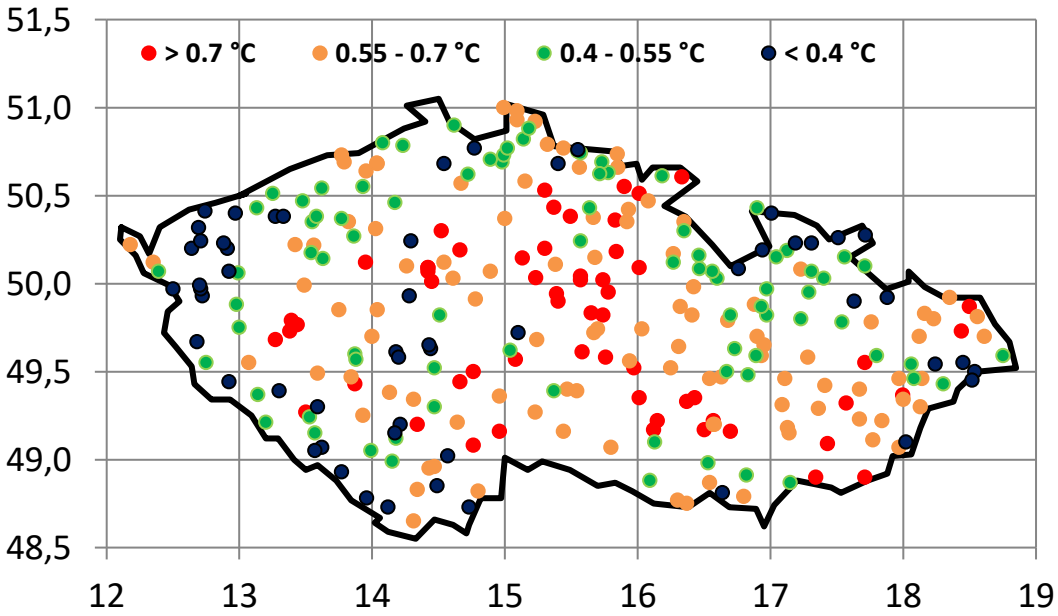
Obr. 3 Průběh průměrné teploty vzduchu (°C) v létě za období 1961 až 2020 a průměrná teplota normálových období v Čechách a na Moravě

Z hlediska nárůstu teploty vzduchu nacházíme nejvyšší hodnoty v letním období (Obr. 3). Převážně na horách je nejnižší zvýšení oproti 3. normálovému období, a to do 1, 4 °C. Ovšem tyto hodnoty vykazují i některé stanice např. ve středních Čechách. Naopak nejvyšší nárůst, a to nad 1,8 °C, se vyskytuje ve východních Čechách, v jižní části střední Moravy a severovýchodě Slezska. Převážně je nárůst mezi 1,6 až 1,8 °C, a to převážně na Moravě, v Čechách více ve východní části. Zvýšení teploty vzduchu v letním období, které je v našich podmínkách nejteplejší částí roku, je příčinou zvýšeného výskytu sucha, které se ve vysoké četnosti projevilo v posledním desetiletí.

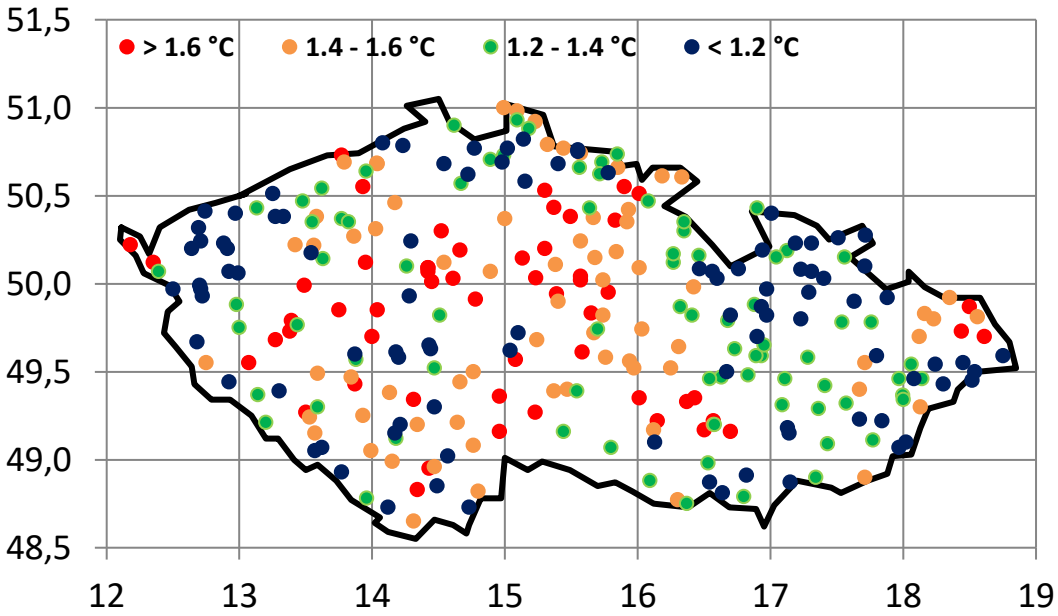
Podzim představuje nejnižší zvýšení teploty vzduchu (Obr. 4), a to většino v nejvyšších polohách do 0,4 °C, po nejvyšší hodnoty přes 0,7 °C, rozptýleně na celém území, převážně ve východních Čechách. Z tohoto pohledu lze podzim označit za nejstabilnější teplotní období roku.

Z hlediska pěstování přezimujících zemědělských plodin, ale také podmínek choroby a škůdce jsou významné teploty vzduchu během zimy. Na několika stanicích středních Čecha a jihu Moravy v průměru zimní teploty za období 1991 až 2020 neklesají pod nulu. Jak vidíme na Obr. 5, je zvýšení teploty podstatě vyšší než na podzim. Opět je vidět rozdíl mezi hodnotami v Čechách a na Moravě, kde je daleko méně stanic s nejvyšším nárůstem, a to o více jak 1,6 °C. Nejnižší hodnoty zvýšení zimní teploty nacházíme nejvíce v horských oblastech.

Je nutné zdůraznit, že přes nárůst průměrných teplot vzduchu jsou stále hrozbou výskyty nejen extrémně vysoké teploty vzduchu, ale také extrémně nízkých teplot v průběhu zimy. Tyto pak při malé či žádné sněhové pokrývce působí holomrazy. Vpády velmi studeného až arktického vzduchu jsou příčinou škod působených mrazy jak v zimním, tak v jarním období.



Obr. 4 Průběh průměrné teploty vzduchu (°C) na podzim za období 1961 až 2020 a průměrná teplota normálových období v Čechách a na Moravě



Obr. 5. Průběh průměrné teploty vzduchu (°C) v zimě za období 1961 až 2020 a průměrná teplota normálových období v Čechách a na Moravě

Závěr

Z uvedené analýzy teploty vzduchu na našem území v roce a jeho obdobích je prokazatelné, že se teplota vzduchu zvyšuje. Pokud jde o roční průměry, jde o zvýšení v zemědělských oblastech nad 1 °C. Nejvyšší hodnoty nárůstu nacházíme v letním období, kdy zvláště na Moravě jsou stanice s průměrem vyšší takřka o 2 °C. Toto nejteplejší období má i nejvyšší zvýšení. Nejnižší hodnoty vykazuje podzim. Zima je naopak z hlediska zvýšení blízká letnímu období, což má velký vliv na podmínky přezimování.

Je nutné zdůraznit, že zvýšení teploty vzduchu má vliv i na hodnoty dalších meteorologických prvků, včetně projevů sucha, kdy zvyšující se teplota vzduchu vyvolává zvýšenou evapotranspiraci. Dopady vyšších teplot se však i v dalších odborných oblastech, např. lze uvést, že neplatí hodnoty klimatických regionů v bonitaci půd apod. S prokazatelným růstem teploty vzduchu musíme počítat i do budoucna.

Poděkování

Článek je součástí výstupů z řešení projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum, QK1920280 „Inovace bonitačního systému zemědělských půd (BPEJ) pro potřeby státní správy“.

Literatura

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

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

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

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

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

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

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

Kontaktní adresa:
RNDr. Ing. Jaroslav Rožnovský, CSc.
Ústav šlechtění a množení zahradnických rostlin,
Zahradnická fakulta Mendelovy univerzity v Brně
Valtická 337, 691 44 Lednice
mobil: 724 185 617
roznov@mendelu.cz

Effects of intercropping field pea (*pisum sativum*) and spring barley (*hordeum vulgare*) on weed suppression and yield parameters on field pea

María Muñoz-Arbeález, Marek Seidenglanz, Petr Heděnec

Agritec Plant Research Ltd., Department of Plant Protection, Šumperk, Czech Republic

Abstract

Reducing the use of artificial inputs through diversification of the agricultural systems is becoming a key issue in modern agriculture. The complementarity between legumes and cereal plants is the main factor on the selection of these crops. Multiple ecosystem services are provided with the mixtures of those plants. In this study, the effect of intercropping field pea (*Pisum sativum*) and spring barley (*Hordeum vulgare*) on weed suppression and yield was assessed in 2021. The intercrop system supressed the weeds 87% when compared with the monocrop. Weed density and weed biomass was lower in the intercrop system. The total yield did not present a significant difference between the monocrop and the intercrop system, indicating that the intercrop of field pea and spring barley is a promising agricultural practice that can be used to reduce weeds without influencing total yield.

Keywords: field pea, intercropping , weed suppression , yield

Introduction

Diversification of cropping systems has become an important issue in modern agriculture. Therefore it is important to emphasize the link between diversification and the reduction of the risk of total crop failure due to pest infestations (Radcliffe et al., 2009). A common practice to increase biodiversity is the cultivation of two or more crops together in the same field for a period, in a practice commonly known as intercropping (Glaze-Corcoran et al., 2020).

The current methods to control weeds is the use of chemical herbicides or mechanical management, being the last one highly costly, time consuming and demanding of human labour. Intercropping , together with the correct use of herbicides can serve as a complementary practice in the control of weeds, enhancing their efficacy and reduce the chemical input (Rajput & Kushwaha, 2020). Several studies are consistent with the fact that weed biomass is lower in the intercrop systems than in the sole crops (Gu et al., 2021). However, the use of monocropping systems and intensive farming is still the most common practice in Europe(Jensen et al., 2020), hence the importance of demonstrate the benefits and enhance the use of cropping system diversification. The objective of this research was to determine the suppressive effect of the intercropping system field pea and barley on weeds compared to the monocrop system of field pea.

Materials and methods

Field experiments

The experiment was located in the north-eastern part of the Czech Republic, Olomouc region, (coordinates: 50.021000N, 17.048442E). The large plot was sown on 26 April 2021. The experiment was carried out using a factorial design where it was tested the effect of the type of crop (monocrop and intercrop) and herbicide type (pre- emergent, post emergent). Figure 1 shows the arrangement of the crops on the subplots. Each subplot (30 x 50 m) was sprayed half with pre-emergent herbicide (pendimethalin 3.8 l/ha), three days after sowing (DAS) and the other half with post-emergent herbicide (Bentazone 2 l/ha) , 31 DAS. To avoid errors in the analyses, the central part of the plot was taken apart as the “combined effect of the herbicides”.

Because the experiment was focused only on dicotyledons weeds, a graminicide was applied in all the subplots, except for the mixtures at 43 DAS. Additionally, surrounding the plots, a strip of field pea that consisted of a mix of three varieties: Cysterski, Eso and Abarth, was sown as monoculture as a part of the integrated pest management practice of the whole plot system named "trap crop". The inside plots were sown with field pea, variety Eso and spring barley, variety Azit. Sowing rate for the monocrop was 256 kg/ha, for the mixture, 128 kg/ha field pea (60%) and 86 kg/ha of barley (40%), for the strip of field pea, Cysterski, Eso and Abarth were sown at 116,120 and 46 kg/ha respectively.

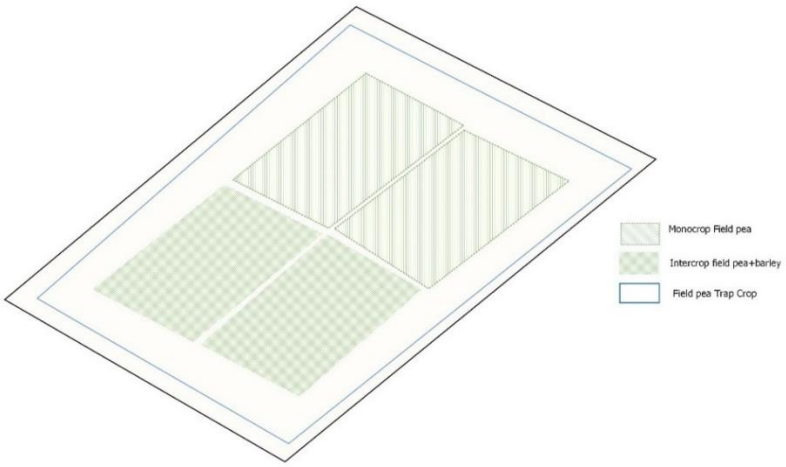


Figure 1. Experimental design for Crops

Data collection

Inside the large plot, an assessment grid of 64 points was geographically marked. The collection of the data was made on every point of the grid during the whole experiment. The number of weed individuals was counted in each assessment point inside a 0.25 m^2 quadrat at 50 and 85 days after sowing (DAS). Crop and weed biomass were measured at crop maturity (86 DAS). For this purpose, all individuals inside a quadrat of 0.5 m^2 were collected at every assessment point. The weeds were dried at 108 °C for three hours and the crop plants were dried naturally for two weeks.

At crop maturity, yield parameters were measured in each assessment place (branches with pods and number of pods per plant). Harvest was made with Wintersteiger Quantum tractor on the monocrop and intercrop (11.8. 2021).

Species diversity of weed community was assessed by calculating the indices of Shannon (H'), related to species richness and influenced by the species abundance distribution, and the Simpson's index (D) that is less sensitive to species richness (Magurran, 1988).

To test for the treatment main effects and interactions, factorial ANOVA was used, and poshoc Tukey's HSD was applied when the effect was significative. Correlation among corresponding variables were analyzed by Pearson's correlation coefficient or, when assumptions were not met, Spearman Rank order correlation. The *Statistica TIBCO Software version 13.5* was used to perform the analyses.

Weed reduction was calculated with the *Equation 1* to determine the ability of the intercrop to supress weeds compared to the monocrop (Carton et al., 2020).

$$WR = 100 \times ((\text{weed DM in the pea sole crop} - \text{weed DM in the intercrop})/(\text{weed DM in the pea sole crop}))$$

Equation 1. WR: weed reduction, DM: Dry biomass

Results

Weed Species diversity

For this experiment, the species diversity of weed communities were not affected significatively between the different types of crops (**Table 1**). Total richness was 10 and it included: *Fallopia convolvulus, Capsella bursa-pastoris, Poligonum aviculare, Chenopodium album, Viola arvensis, Equisetum arvense, Cirsium arvense, Tripleurospermum inodorum, Thlaspi arvense* and *Euphorbia helioscopia.*

Table 1: Species richness, Shannon Evenness Index and Simpson Index corresponding to the field trials

	Intercrop	Field Pea Mono	Trap Crop Field Pea
Species Richness	8 a	8 a	10 a
Shannon-Weiner Index	1.59 a	1.64 a	2.04 a
Simpson Index	0.74 a	0.74 a	0.85 a

Same letters indicate no significant differences among treatments for the same variable ($p < 0.05$)

Weed density and weed reduction

There was a significant effect of the main effects: type of herbicide used, type of crop, and the interaction of both variables, on the weed density 50 DAS (**Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**). T he effects of the type of herbicide differed on the monocrop treatment (MONO),the post-emergent herbicide showed higher efficacy ($p<0.05$) than the pre-emergent, whereas in the trap crop (TP) and the intercrop system, the type of herbicide did not show difference on the weed density.When analysing the weed density according to the type of crop, it was lower ($p<0.05$) in the intercrop system in both times regardless the type of herbicide used (Figure 2).

On the other hand, there was an increment ($p<0.05$) of weeds/m2 in the intercrop of field pea and barley between the first and second date of assessment.

Later, at 85 DAS the interaction of the effects was not significant. Weed density was influenced for the type of crop and herbicide as separate factors (**Chyba! Nenalezen zdroj odkazů.**). I ntercrop presented lower weed density ($p<0.05$) than the monocrop treatments. The weed density was better suppressed by the post-emergent herbicide in general for the whole plot regarding the type of crop ($p<0.05$) as Figure 2 shows.

Table 2: Effects and interactions of the treatments

	Time	Effect	DF	F	P-value
Weed density	50 Days after sowing	Type of herbicide application	**2**	**9.444**	**<0.001**
		Type of Crop	**2**	**32.373**	**<0.001**
		Type of herbicide application*Type of Crop	**4**	**4.495**	**0.003**
	85 Days after sowing	Type of herbicide application	**2**	**18.392**	**<0.001**
		Type of Crop	**2**	**10.814**	**<0.001**
		Type of herbicide application*Type of Crop	4	1.678	0.168

Comment:Type of crop and type of herbicide application, on the weed density/m2, DF: degrees of freedom; F: F-statistics. Effects in bold characters were significant at $p<0.05$

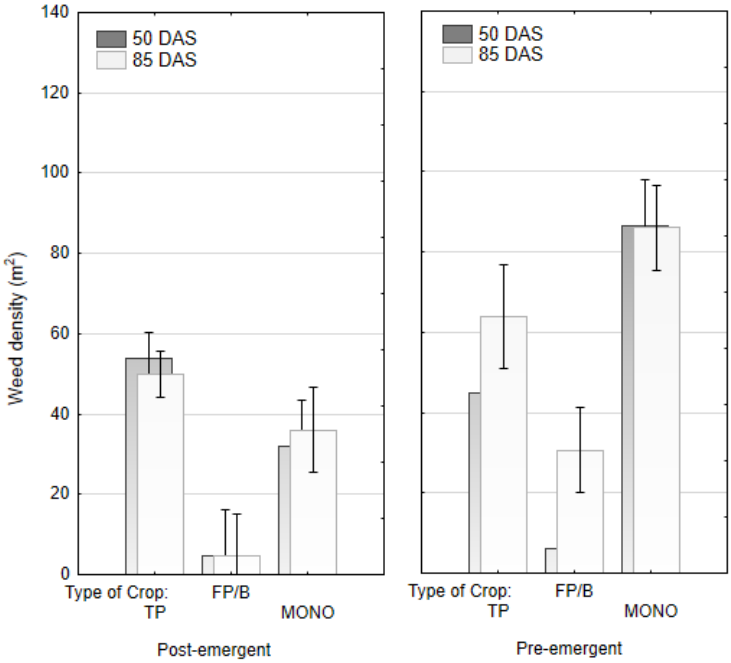


Figure 2: Weed density/m2 at 50 and 85 Days after sowing. TP:Trap Crop Field Pea, FB/B:Intercrop field pea-barley, MONO:Field pea monocrop. Mean; Whisker: Mean±SE

The ability of the intercrop to suppress weeds compared to the pea mono crop, resulted on a high weed reduction (WR) of 87% (*Equation 1*). Therefore, less weeds are present on the intercrop system.

Crop biomass

Significatively higher crop biomass was recorded in the intercrop of field pea and barley compared to the monocrop treatments, contrary to the weeds biomass (Figure 3); the intercrop of barley and field pea had a suppressive effect on weeds. Pea monoculture on the opposite did not decrease the weed growth. The type of crop and herbicide influenced the crop and weed biomass as a separated factor. The crop and weed biomass were inversely correlated, on the intercrop system ($r= -0.521$, $p<0.05$) as seen in Figure 4. Weed biomass was higher in the monocrop treatments and there was no effect ($p<0.05$) on the type of herbicide used on the weed biomass.

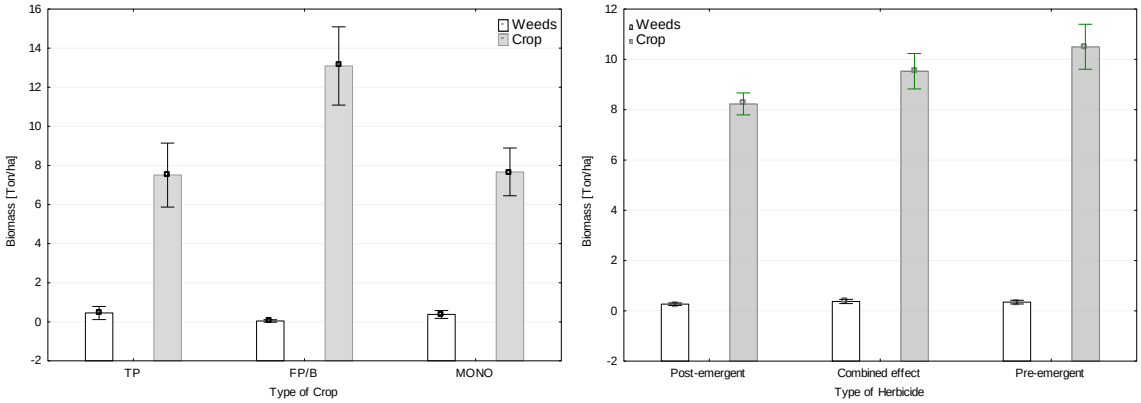


Figure 3: Total crop biomass in Ton/ha

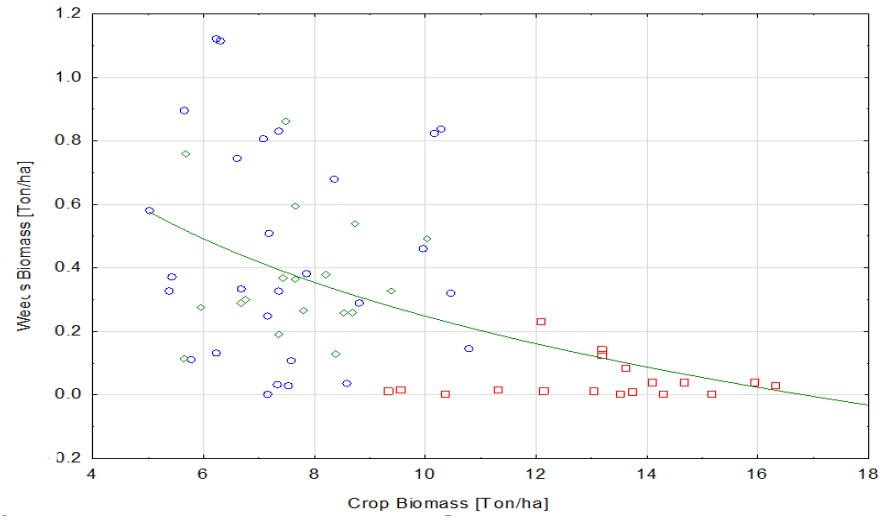


Figure 4: Relationship between weed and crop biomass. Fitted model y= 1.3451-1.0967*log10(x) Symbols: monocrop (diamonds), intercrop (squares), trap crop (circles)

Yield factors

The effect of the type of crop on the yield factors: Number of branches with pods, number of pods per plant, and the yield of field pea, presented a lower value for the intercrop treatment Nevertheless, there was no significant difference in the total yield [Ton/ha] between the monocrop of field pea (MONO) and intercrop (FB/B) (Table 3a, b)

Table 3a: Yield factors

Type of Crop	Branches with pods	Pods per plant
MONO	3.04(±1.04)	5.41(±1.82)
FP/B	2.39(±0.87) *	4.089(±1.67) *
TP	2.96(±1.25)	5.21(±2.42)

*n=64. Mean(±SD) MONO Field pea monocrop, FB/B intercrop field pea/barley, TP monocrop field pea trap. *p<0.05*

Table 3b

Type of Crop	Total yield	Yield Field pea
MONO	2.37(±0.43)	2.37(±0.43)
FP/B	2.23(±0.32)	0.86(±0.28)*

*n=12. Mean(±SD). MONO Field pea monocrop, FB/B intercrop field pea/barley. *p<0.05*

Discussion

The results of this study showed that the inclusion of barley in the field pea crop has a great ability to reduce weed biomass, concurring with previous research using cereals and legumes (Poggio, 2005; Carton et al., 2020; Bedoussac et al., 2014). The use of cereals and legumes as an intercrop system is considered as complementary, for the acquisition of soil resources and facilitation processes on plant-soil-microorganism interactions, thus the weed suppression can also be explained for the competition present in the intercrop, where the components are not competing for the same ecological resources in time and space (Hauggaard-Nielsen et al., 2001; Duchene et al., 2017).In the case when the competition of the legume crop is low, the addition of a cereal facilitates more the weed suppression (Carton et al., 2020).

The use of herbicides can serve as a support on the reduction of weeds, and it must be used according to the present situation on the field, for the present study, the interaction between the type of herbicide used and the type of crop was only significative at earlier stages of the crop, implying that the effect of the herbicide in weed density can change with the type of crop even if its held fixed (Schabenberger & Pierce, 2002). This results concur with studies made by Colbach & Cordeau, (2018) where herbicide use intensity was not correlated with weed biomass or yield loss, therefore, the efficacy of this input would depend on other management practices and factors as the total weed density on the field, weed species, climatic conditions and it would not be correct to recommend a general herbicide treatment against weeds in the cropping system.

Regarding to the yield factors the intercropping system presented lower values on the number of branches with pods ,number of pods per plant and therefore lower yield for field pea; however, for the total yield (including the barley in the intercrop), there was no significant difference between the monocrop and intercrop plots, increasing the benefits of the use of this

system. In multiple studies, analyses had shown that legumes-cereal systems increase significantly yield stability compared with the legume as a monocrop (Raseduzzaman & Jensen, 2017).
Further studies are required to understand better the mechanisms that take place in these effects and analyse variability under different soil and climatic conditions.

Conclusion

According to the present study, the intercropping system of Field Pea and Barley, have the capacity to suppress the weed density and biomass significatively compared to the monocrop of Field Pea. The type of herbicide can influence the weed density. For the present study, the post emergent herbicide was more effective on reducing the total number of weed when the crop was close to maturity and showed more effectivity on the intercrop and monocrop on earlier stages (50 DAS)
The intercrop system did not cause a significant decrease in total yield in comparison to monocrop system, with promising results on the use of this agricultural practice for field pea and spring barley.

Acknowledgements

This work was supported by the National Agency of Agricultural Research, that is a department of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (grant number QK21010332).

References

Bedoussac, L., Journet, E.-P., Hauggaard-Nielsen, H., Naudin, C., Corre-Hellou, G., Jensen, E., Prieur, L., & Justes, E. (2014). Ecological principles underlying the increase of productivity achieved by cereal-grain legume intercrops in organic farming. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. https://doi.org/10.1007/s13593-014-0277-7

Carton, N., Naudin, C., Piva, G., & Corre-Hellou, G. (2020). Intercropping Winter Lupin and Triticale Increases Weed Suppression and Total Yield. *Agriculture*, *10*(8), 316. https://doi.org/10.3390/agriculture10080316

Colbach, N., & Cordeau, S. (2018). Reduced herbicide use does not increase crop yield loss if it is compensated by alternative preventive and curative measures. *European Journal of Agronomy*, *94*, 67–78. Scopus. https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.12.008

Duchene, O., Vian, J.-F., & Celette, F. (2017). Intercropping with legume for agroecological cropping systems: Complementarity and facilitation processes and the importance of soil microorganisms. A review. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. https://doi.org/10.1016/j.agee.2017.02.019

Glaze-Corcoran, S., Hashemi, M., Sadeghpour, A., Jahanzad, E., Keshavarz Afshar, R., Liu, X., & Herbert, S. J. (2020). Chapter Five—Understanding intercropping to improve agricultural resiliency and environmental sustainability. In D. L. Sparks (Ed.), *Advances in Agronomy* (Vol. 162, pp. 199–256). Academic Press. https://doi.org/10.1016/bs.agron.2020.02.004

Gu, C., Bastiaans, L., Anten, N. P. R., Makowski, D., & Werf, W. van der. (2021). Annual intercropping suppresses weeds: A meta-analysis. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *322*, 107658. https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107658

Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P., & Jensen, E. S. (2001). Temporal and spatial distribution of roots and competition for nitrogen in pea-barley intercrops – a field study employing 32P technique. *Plant and Soil*, *236*(1), 63–74. https://doi.org/10.1023/A:1011909414400

Jensen, E., Chongtham, I., Dhamala, N. R., Rodriguez, C., Carton, N., & Carlsson, G. (2020). Diversifying European agricultural systems by intercropping. *International Journal of Agriculture and Natural Resources*, *47*, 174–186. https://doi.org/10.7764/ijanr.v47i3.2241

Magurran, A. E. (1988). Diversity indices and species abundance models. In A. E. Magurran (Ed.), *Ecological Diversity and Its Measurement* (pp. 7–45). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-015-7358-0_2

Poggio, S. L. (2005). Structure of weed communities occurring in monoculture and intercropping of field pea and barley. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, *109*(1), 48–58. https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.02.019

Radcliffe, E. B., Hutchison, W. D., & Cancelado, R. E. (2009). *Integrated Pest Management: Concepts, Tactics, Strategies and Case Studies*. Cambridge University Press.

Rajput, R. L., & Kushwaha, B. B. (2020). Yield Analysis of Chickpea (Cicer arietinum) with Mustard (Brassaca juncea) Intercropping System as Influenced by Weed Management Practices. *LEGUME RESEARCH - AN INTERNATIONAL JOURNAL*, *Of*. https://doi.org/10.18805/LR-3842

Raseduzzaman, Md., & Jensen, E. S. (2017). Does intercropping enhance yield stability in arable crop production? A meta-analysis. *European Journal of Agronomy*, *91*, 25–33. https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.09.009

Schabenberger, O., & Pierce, F. J. (2002). *Contemporary statistical models for the plant and soil sciences*. CRC Press.

Contact address:

Maria Munoz-Arbelaez
Email:munoz@agritec.cz
Phone number: +420 77507693
Address: Agritec Plant Research Ltd.
Plant Protection Department, Sumperk
Zemedelska 2520/16, 78701, Czech Republic

Produkce biomasy podsevových meziplodin pěstovaných v kukuřici

Biomass production of with inter-seeding cover crops in maize

Smutný V.[1], Rábek M.[1], Elzner P.[2]

[1] *Mendelova univerzita v Brně, Ústav agrosystémů a bioklimatologie*

[2] *Mendelova univerzita v Brně, Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství*

Abstrakt

Cílem výzkumu bylo ověření možnosti pěstování kukuřice s různými podsevovými plodinami. Dvouleté výsledky ukázaly odlišnou dynamiku růstu a produkce biomasy u různých druhů plodin podsetých do kukuřice. U jílku mnohokvětého (*Lolium multiflorum*), svazenky vratičolisté (*Phacelia tanacetiolia*) a žita setého (*Secale cereale*) byl zjištěn rychlý nárůst a vysoká produkce biomasy. Pěstování kukuřice s vhodnými podsevovými plodinami může být perspektivní technologie s potenciálem zvýšení organické hmoty v půdě, snížení použití herbicidů a redukce eroze.

Klíčová slova: podsevové plodiny, dynamika růstu, produkce biomasy

Abstract

The aim of the research was to verify the use of various cover crop species inter-seeding between rows in maize. Two-year results showed different growth dynamics and biomass production of cover crops. Species as annual ryegrass (*Lolium multiflorum*), phacelia (*Phacelia tanacetiolia*), rye (*Secale cereale*) had a rapid growth and high production of biomass. Maize cropping system with suitable inter-seeding cover crops may be a promising technology which could improve soil organic matter in soil, decrease herbicide application and has a potential for erosion reduction.

Keywords: cover crops, growth dynamic, biomass production

Úvod

Kukuřice je významnou plodinou v České republice. Kukuřice pěstovaná na siláž je stěžejním objemným krmivem využívaným v živočišné výrobě a zároveň hlavním zdrojem biomasy pro bioplynové stanice. Také kukuřice na zrno je dnes významnou tržní komoditou, a to nejen v kukuřičné výrobní oblasti. Kukuřice je však velmi náchylná k erozi vzhledem k tomu, že je vysévána do širších řádků a zároveň má pomalý počáteční růst. Většina stávajících půdoochranných technologií je založena na dostatečném množství rostlinných zbytků z předplodiny (sláma) či meziplodiny, které pokrývají povrch půdy. Půdoochranné technologie s využitím meziplodin byly v našich podmínkách úspěšně rozpracovány v posledních letech (např. pásové zpracování půdy) s dostatečným protierozním efektem a uspokojivým výnosovým potenciálem. Nevýhodou je však častá potřeba totálního herbicidu glyfosátu, používaného k umrtvení „živého mulče“. Využití podsevových plodin je odlišný přístup, který je založený na výsevu různých druhů plodin mezi řádky kukuřice až po jejím vzejití. Význam a přínos podsevů v kukuřici je široký. Jedná se o zdroj organické hmoty s předpokladem zlepšení strukturního stavu půdy (McDaniel et al., 2014). Dále redukují erozi půdy (Panagos et al., 2015), eliminují neproduktivní výpar z povrchu půdy (Nichols, 2015), omezují vyplavování živin do podzemních vod a některé druhy poutají vzdušný dusík (Dabney et al., 2010).

Materiál a metody

Cílem výzkumu bylo ověření možnosti pěstování kukuřice s různými podsevovými plodinami, které byly vysety do prostoru mezi řádky. Bylo vyhodnoceno 7 variant podsevů. Přehled variant (druhů včetně odrůd a výsevků) je uveden v tab. č. 1.

Tab. č. 1: Druhy podsevů (použité odrůdy a výsevek)

Číslo varianty	Druh podsevu	Odrůda	výsevek* (kg.ha^{-1})
1	jílek mnohokvětý	Porubka	12,6
2	jílek vytrvalý	Double	12,6
3	jetel inkarnát	Kardinál	10,5
4	jetel plazivý	Klondike	3,8
5	vikev panonská	Dětenická panonská	33,6
6	žito ozimé	SU Santini	63,0
7	svazenka vratičolistá	Boratus	5,0

**výsevek na hektar, kdy je podsev vysetý na ploše 0,42 ha*

Maloparcelní polní pokus byl založen na pozemcích Polní pokusné stanice Mendelovy univerzity v Žabčicích (jižní Morava, cca 30 km od Brna; GPS 49°01'28.7"N, 16°37'07.8"E). Pokusné plochy se nacházejí v kukuřičné výrobní oblasti, v nadmořské výšce 180 m n. m. s průměrným ročním úhrnem srážek 491 mm a s průměrnou roční teplotou 10,3 °C. Na stanovišti je hlinitojílovitá půda fluvizemního typu. Kukuřice byla pěstována po obilninách (v roce 2020 po pšenici ozimé, v roce 2021 po ječmeni jarním). Na podzim byla provedena orba, na jaře předseťová příprava půdy se zapravením močoviny v dávce 120 kg.ha^{-1}. V pokusu byl vysetý hybrid Walterinio KWS (FAO 280). Setí proběhlo 16. 4. 2020 a 15. 4. 2021secím strojem KINZE 3500. Výsevek byl 80 tis. semen.ha^{-1}. Ve fázi třetího až čtvrtého listu kukuřice (13. 5. 2020 a 21. 5. 2021) byly vysety jednotlivé varianty podsevových plodin multifunkčním 4-řádkovým experimentálním strojem společnosti P&L.

Jedním přejezdem po pozemku byly provedeny čtyři agrotechnické zásahy:

1) plečkování o šířce 32 cm v prostoru mezi řádky,
2) výsev podsevových plodin,
3) přihnojení dusíkem (DAM 390 v dávce 40 kg N.ha^{-1}),
4) pásová aplikace herbicidu nad řádky kukuřice (Laudis 1,5 l + Aspect PRO 1,5 l. ha^{-1}).

Výsledně 58 % plochy bylo ošetřeno herbicidem a 42 % bylo plečkováno a vzápětí oseto podsevovými plodinami. Cílem pokusu bylo vyhodnotit dynamiku nárůstu biomasy podsevových plodin ve třech termínech. V roce 2020 byly odběry provedeny 16. 6., 17. 7. a 22. 9., v roce 2021 pak 1. 7., 27. 7. 6. 9. U jednotlivých variant byly z plochy 0,16 m^2 (0,32 x 0,5 m) ve čtyřech opakováních, odebírány rostliny podsevových plodin (nadzemní i podzemní hmota), které byly následně vysušeny. Získané dvouleté výsledky produkce biomasy

podsevových plodin byly zpracovány ve statistickém programu Statistica 12.0 (StatSoft software Inc., Tulsa, Oklahoma, USA) pomocí analýzy rozptylu – ANOVA s následným testováním rozdílů středních hodnot pomocí Fisherova testu.

Výsledky a diskuze

Analýzou variance byl prokázán průkazný vliv jednotlivých faktorů (rok, termín odběru, druh podsevu), ale i většiny interakcí mezi výše uvedenými faktory na produkci suché hmoty (tab. č. 1).

Tab. 1: Tabulka analýzy variance (ANOVA)

Zdroje variability	Stupně volnosti	Průměrný čtverec	F hodnota
rok	1	8,4164	155,330**
termín odběru	2	3,5276	65,105**
druh podsevu	6	5,2340	96,596**
rok*termín odběru	2	0,0980	1,808
rok*varianta	6	0,7395	13,647**
termín odběru*varianta	12	2,1723	40,092**
rok*termín odběru*varianta	12	0,3771	6,959**
Chyba	126	0,0542	

*Symboly ** značí statisticky vysoce průkazný vliv faktorů na produkci biomasy (hladina významnosti 0,05)*

Průkazně vyšší výnos byl zjištěn v roce 2021 (1,02 t.ha^{-1}) ve srovnání s rokem 2020 (0,58 t.ha^{-1}). Vysvětlení tohoto rozdílu lze hledat v odlišných povětrnostních podmínkách v období vegetace jednotlivých ročníků. Z tab. č. 2 je patrné, že v obou letech byl květen chladnější než normál, ale v roce 2021 byly v tomto měsíci srážky nadnormální, kdežto podnormální v roce 2020. Příznivé vláhové poměry v roce 2021 měly pozitivní vliv na dobré vzejití, poté v červnu kladně působily vyšší teploty na další růst podsevových plodin. Také Constantin et al. (2015), Tribouillois et al. (2018) a Wilson et al. (2013) zdůrazňují, že déšť po výsevu podsevů bývá často zcela zásadní pro úspěšné založení porostů.

Tab. č. 2: Průběh povětrnostních podmínek ve vegetační období (Žabčice, 2020 a 2021)

Průměrná teplota vzduchu (°C)								
Měsíc	2020				2021			
	Skutečnost (°C)	Normál (°C)	Rozdíl (°C)	Hodnocení dle WMO	Skutečnost (°C)	Normál (°C)	Rozdíl (°C)	Hodnocení dle WMO
Květen	13,0	14,6	-1,6	*podnormální*	12,7	15,6	-2,9	*silně podnormální*
Červen	18,3	17,7	0,6	*normální*	20,9	19,2	1,7	*nadnormální*
Červenec	19,9	19,3	0,6	*normální*	21,2	20,9	0,3	*normální*
Srpen	21,3	18,6	2,7	*mimořádně nadnormální*	18,0	20,6	-2,6	*silně podnormální*
Září	13,9	14,7	-0,8	*normální*	15,6	14,7	0,9	*normální*

Úhrn srážek (mm)								
Měsíc	2020				2021			
	Skutečnost (mm)	Normál (mm)	% oproti normálu	Hodnocení dle WMO	Skutečnost (mm)	Normál (mm)	% oproti normálu	Hodnocení dle WMO
Květen	76,4	62,8	122	*normální*	84,8	52,2	162	*nadnormální*
Červen	128,6	68,6	188	*mimořádně nadnormální*	59,8	61,7	97	*normální*
Červenec	44,0	57,1	77	*normální*	45,6	68,9	66	*normální*
Srpen	97,6	54,3	180	*nadnormální*	175,8	61,1	288	*mimořádně nadnormální*
Září	87,2	35,5	246	*silně nadnormální*	22,0	35,5	62	*normální*

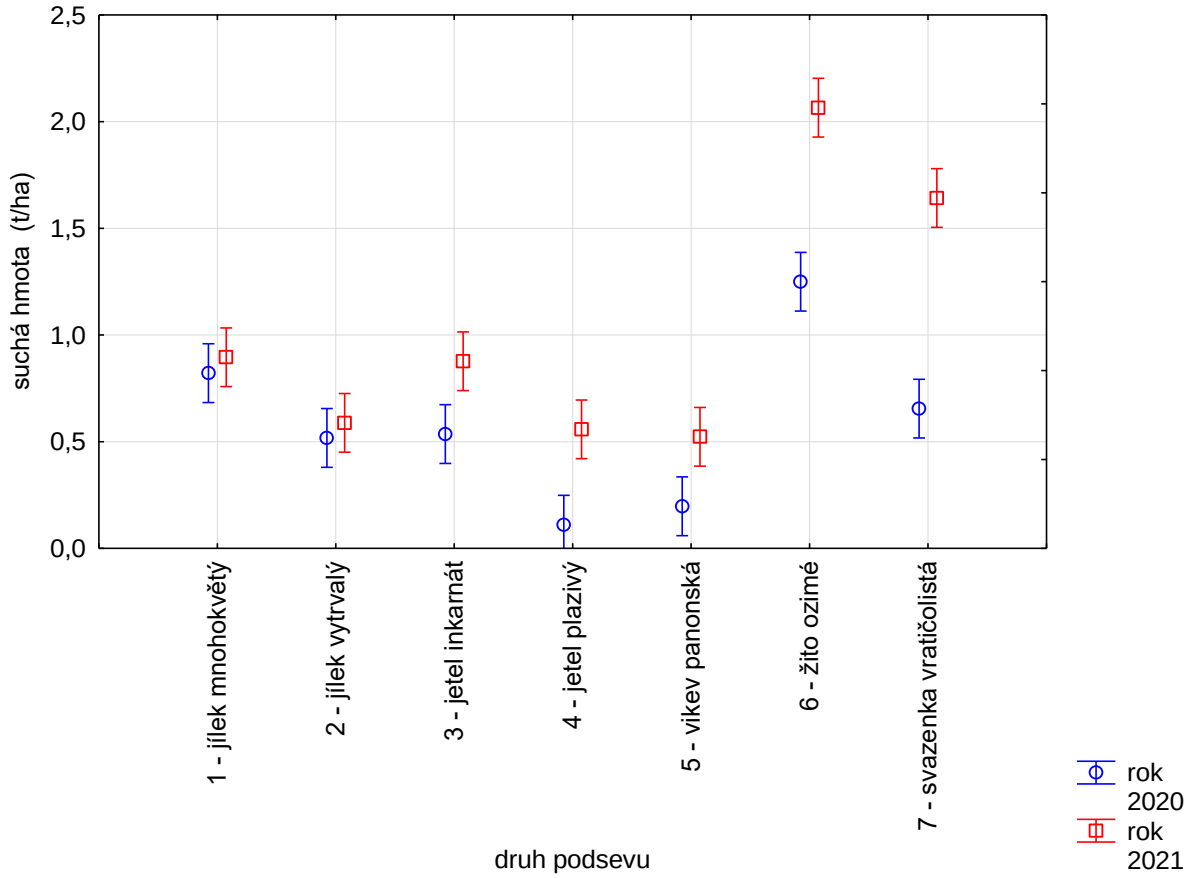
Nejvyšší produkce nadzemní biomasy v sušině byla zjištěna ve 2. termínu odběru (v průměru 1,05 t.ha^{-1}), naopak nejnižší ve 3. termínu (0,55 t.ha^{-1}). Takto reagovaly především druhy s rychlou dynamikou nárůstu biomasy, což byly především jednoleté druhy (žito ozimé a svazenka vratičolistá, jetel inkarnát). U nich došlo nejdříve k zastavení růstu a již ve 3. termínu byla biomasa z části či úplně suchá. U pomaleji rostoucích druhů (jetel plazivý a jílek vytrvalý) byla nejvyšší produkce biomasy až ve 3. termínu (tab. č. 3). Celkově nejvyšší výnos suché hmoty byl u žita setého (1,66 t.ha^{-1}), svazenky vratičolisté (1,15 t.ha^{-1}) a jílku mnohokvětého (0,86 t.ha^{-1}). Z jetelovin dosáhl nejvyšší produkci jetel inkarnát (0,71 t.ha^{-1}). K obdobným závěrům došli také Brooker et al. (2020), kteří uvádějí, že za 30 dnů po výsevu jílek mnohokvětý dosáhl vyšší produkce biomasy nežli jetel inkarnát a ředkev olejná.

Tab. č. 3: Vliv jednotlivých faktorů (rok, termín odběru, druh) na produkci biomasy (t.ha^{-1})

rok	suchá hmota (t.ha^{-1})		druh podsevu	suchá hmota (t.ha^{-1})
2020	0,58 a		5 – vikev panonská	0,36 a
2021	1,03 b		4 – jetel plazivý	0,37 a
			2 – jílek vytrvalý	0,55 b
termín odběru	suchá hmota (t.ha^{-1})		3 – jetel inkarnát	0,71 c
3. termín odběru	0,55 a		1 – jílek mnohokvětý	0,86 d
1. termín odběru	0,82 b		7 – svazenka vratičolistá	1,15 e
2. termín odběru	1,05 c		6 – žito ozimé	1,66 f

Rozdílná písmena (a, b ...) značí statisticky průkazný rozdíl při hladině významnosti 0,05

Z obr. č. 1 jsou patrné rozdíly v produkci biomasy u jednotlivých druhů podsevů v roce 2020 a 2021. Průkazně vyšší výnos biomasy byl u všech druhů s výjimkou trav (jílku mnohokvětého a vytrvalého). Van Sambeek et al. (2007) uvádějí, že délka vegetační doby, kdy mohou podsevové plodiny růst, je dána termínem kvetení kukuřice, kdy dochází k omezení světelných podmínek v porostu kukuřice až o 80 %.



Obr. č. 1: Průměrný výnos suché hmoty podsevů (t.ha^{-1}; v roce 2020 a 2021)

Závěr

Z dvouletých výsledků vyplynulo, že mezi jednotlivými druhy podsevů jsou rozdíly v dynamice růstu a celkové produkci biomasy. Mezi rychle rostoucí druhy patří jílek mnohokvětý, žito seté a svazenka vratičolistá. Termín založení porostů podsevů ve fázi 3. – 4. listu se ukázal jako vyhovující, při pozdějším vzejití porostu se zkracuje vegetační doba podsevů, poněvadž limitujícím faktorem jsou dostatečné světlené podmínky v porostu kukuřice. Druhy s vyšší produkcí biomasy se mohou uplatnit i ve vícepruhových směsích.

Dedikace

Příspěvek vznikl za finanční podpory projektem NAZV č. QK1910334 „Inovace šetrných systémů pěstování kukuřice s využitím podsevových plodin k omezení degradace půdy a zlepšení hospodaření s vodou v podmínkách měnícího se klimatu“.

Použitá literatura

Brooker A., P, Renner K., A, Sprague C., L. 2020. Interseeding cover crops in corn. Agronomy Journal. 112: 139–147. https://doi.org/10.1002/agj2.20046.

Constantin J., Durr C., Tribouillois H., Justes E. 2015. Catch crop emergence success depends on weather and soil seedbed conditions in interaction with sowing date: A simulation study using the SIMPLE emergence model. Field Crops Research, 176, 22–33.

Dabney S. M., Delgado J. A., Meisinger J. J., Schomberg H. H., Liebig M. A., Kaspar T., Reeves W. 2010. Using cover crops and cropping systems for nitrogen management. In J.

A. Delgado & R. F. Follett (Eds.), Advances in nitrogen management for water quality (pp. 230–281). Ankeny, IA: Soil Water Conservation Society.

McDaniel M. D., Tiemann L. K., Grandy A. S. 2014. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. Ecological Applications, 24, 560–570.

Nichols R. 2015. A hedge against drought: Why healthy soil is 'water in the bank'. Washington, DC: USDA-Natural Resources Conservation Service. Retrieved from https://www.usda.gov/media/blog/ 2015/05/12/hedge-against-drought-why-healthy-soil-water-bank

Panagos P., Borrelli P., Meusburger K., Alewell C., Lugato E., Montanarella L. 2015. Estimating the soil erosion cover management factor at the European scale. Land Use Policy, 28, 38–50.

Tribouillois H., Constantin J., Justes E. 2018. Analysis and modeling of cover crop emergence: Accuracy of a static model and the dynamics of STICS soil-crop model. European Journal Agronomy, 93, 73–81. https://doi.org/10.1016/j.eja.2017.12.004

Van Sambeek J. W., Navarrete-Tindall N. E., Garrett H. E., Lin C.-H., McGraw R. L., Wallace D. C. 2007. Ranking the shade tolerance of forty-five candidate groundcover for agroforestry plantings. The Temperate Agroforester, 15(4), 1–10.

Wilson M. L., Baker J. M., Allan D. L. 2013. Factors affecting successful establishment of aerially seeded winter rye. Agronomy Journal, 105, 1868–877.

Kontaktní adresa:
doc. Ing. Vladimír Smutný, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav agrosystémů a bioklimatologie
Zemědělská 1665/1
613 00 Brno
smutny@mendelu.cz, +420 545 133 116

Vliv přídavku biouhlu a bentonitu na kvalitativní parametry digestátu

Effect of biochar and bentonite amendment on the qualitative properties of digestate

Holátko J. [1], Hammerschmiedt T.[1,2], Látal O.[1], Kintl A.[1,3], Veselý A.[4], *Brtnický M.[1,2]

[1]Agronomická fakulta, Mendelova Univerzita v Brně
[2]Lesnická a dřevařská fakulta, Mendelova Univerzita v Brně
[3]Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko
[4]Agrovýzkum Rapotín s.r.o.

Abstrakt
Digestát je odpad z anaerobní produkce bioplynu, který se používá jako organické hnojivo. Pro stabilizaci živin v digestátu lze využít sorbenty s příznivým účinkem na půdní vlastnosti. V nádobovém experimentu byl digestát upraven inkubací s biouhlem a/nebo bentonitem. Obsah celkového (Kjeldahlova), anorganického a amoniakálního dusíku, fosforu a vápníku byl signifikantně nejvyšší v sušině kontrolní varianty s neošetřeným digestátem. Nejvyšší obsah nitrátového dusíku a nejvyšší nitrifikační potenciál byl zjištěn u varianty s přídavkem bentonitu. Tato varianta obsahovala největší koncentraci síry, hořčíku a draslíku v suché biomase. Prospěšné působení pomocných půdních látek při úpravě digestátu bylo částečně prokázáno, bentonit (a méně výrazně biouhel) přispěly k sekvestraci a transformaci některých živin v digestátu.
Klíčová slova: organické hnojivo, půdní pomocné látky, sorbenty, dusík, živiny

Abstract
Digestate is the waste from anaerobic biogas production that is used as organic fertiliser. Sorbents with a beneficial effect on soil properties can be used to stabilise the nutrients in the digestate. In the vessel experiment, the digestate was treated by incubation with biochar and/or bentonite. The contents of total (Kjeldahl), inorganic and ammonia nitrogen, phosphorus and calcium were significantly highest in the dry matter of the control variant with untreated digestate. The highest nitrate nitrogen content and the highest nitrification potential were found in the variant with bentonite addition. This variant contained the highest concentration of sulphur, magnesium and potassium. The beneficial effect of soil amendments in digestate treatment was partially demonstrated, bentonite (and to a lesser extent biochar) contributed to the sequestration and transformation of some nutrients in the digestate.
Keywords: organic fertilizer, soil amendments, sorbents, nitrogen, nutrients

Úvod

Anorganická hnojiva, která se často používají ke zvýšení úrodnosti půdy a výnosu plodin, nejsou trvalým řešením pro zachování zdraví a kvality půdy. Aplikace minerálních hnojiv na půdy s negativní bilancí organických sloučenin urychluje mineralizaci půdní organické hmoty (SOM) a narušuje přirozené metabolické procesy půdních organismů, což vede ke snížení obsahu SOM (Hernandez-Soto et al. 2019). Organická hnojiva mohou eliminovat potenciální negativní účinky minerálních hnojiv svými vlastnostmi, které jsou blízké vlastnostem přírodní SOM. Jejich kombinace s půdními pomocnými látkami se zvýšenou sorpční a iontově výměnnou kapacitou mohou být užitečnými nástroji k udržení nebo zvýšení SOM, zachování a zlepšení úrodnosti půdy a výnosu plodin (Pospisilova et al. 2020). Digestát je příkladem zbytkového materiálu, odpadu z anaerobní produkce bioplynu, který se používá jako organické

hnojivo bohaté na sloučeniny dusíku (N, anorganický dusík je většinou ve formě amoniaku), fosforu (P, jeho rostlinám dostupný podíl se zvyšuje při anaerobním štěpení) síry (S), vápníku (Ca), draslíku (K), hořčíku (Mg) a na mikroelementy (Masse et al. 2011). Využití digestátu v zemědělství má pozitivní vliv na růst a produkci plodin (Liedl et al. 2004), na snížení objemové hmotnosti, zvýšení hydraulické vodivosti, schopnosti zadržovat vodu (Garg et al. 2005) a stabilitu agregátů. Digestát může napomoci zvýšit obsah organické hmoty (humusu) a živin v půdě (Erhart et al. 2014). Využitelnost živin z digestátu může být snížena v důsledku volatilizace, zejména těkavých forem dusíku (Vu et al. 2015), a také rozpustnosti rostlinám přístupného fosforu (Melgaço et al. 2021). Pro stabilizaci živin v digestátu lze využít sorbenty s příznivým účinkem na půdní vlastnosti, jako jsou např. bentonit a biouhel. Bentonit je fylosilikátový jíl obsahující hlavně montmorillonit, který je vynikajícím půdním kondicionérem a podporuje růst rostlin (Bouabid et al. 1991). Vedle živin imobilizuje těžké kovy a znečišťující látky z půdy (Myasnikov et al. 2016): zbytky herbicidů a antibiotik (Davies and Jabeen 2002; Genç and Dogan 2013). Funguje i jako nosič prospěšných mikroorganismů při biologickém ošetření půdy (Gutarowska et al. 2014), má značný potenciál využití v zemědělství. Lze ho použít pro stabilizaci živin obsažených v anaerobním digestátu (Estevez et al. 2014).
Biouhel, materiál vyráběný při vysokoteplotním (300–1000 ° C) spalování biomasy (dřevo, hnůj, rostlinný odpad, organický komunální odpad, čistírenské kaly) za nepřístupu nebo s omezeným přístupem kyslíku, tzn. pyrolýzou (Saifullah et al. 2018). Je bohatý na stabilní uhlík, má vysokou chemickou a biologickou stabilitu, porozitu, velkou povrchovou plochu, adsorpční a kationtovou výměnou kapacitu (Li et al. 2017). Díky těmto vlastnostem má i biouhel potenciál retence živin adsorpcí iontů (Liang et al. 2006; Hale et al. 2013), může kumulovat zdroje dusíku a dalších živin. Představuje kolonizační niku pro mikroorganismy a má na ně pozitivní vliv (Sashidhar et al. 2020). Také biouhel byl využit ke zvýšení stabilizace živin v digestátu (Chen et al. 2021).
Cílem této práce bylo proto zefektivnění využití živin z digestátu (zejména těkavých forem dusíku, a také fosforu, který je v půdě rychle vyplavován) jejich vazbou na půdní pomocné látky s vysokou sorpční kapacitou. Digestát byl upraven v nádobovém experimentu inkubací s biouhlem a/nebo bentonitem, byl hodnocen vliv těchto aditiv na chemické složení digestátu: obsah živin a různých forem dusíku.

Materiál a metody

Testovány byly pokusné varianty digestátu s definovaným přídavkem biouhlu a bentonitu po dobu 8 týdnů v nádobách o objemu 50 litrů – varianty pokusu viz Tabulka 1. Digestát (vyrobený anaerobní fermentací gastroodpadu) byl získán z bioplynové stanice ECR Rapotín, která pracuje v kontinuálním mezofilním režimu (okolo 40 °C). Biouhel (Sonnenerde GmbH, Rakousko) byl vyroben pyrolýzou (cca 600 ° C) ze zemědělského odpadu sestávajícího z celulózových vláken a obilných plev, stejný byl použit v předchozích experimentech autorů (Brtnicky et al. 2021). Bentonit (Ekobent B) pochází od českého výrobce KERAMOST, s.c. – vlastnosti viz (Datta et al. 2020).

Tabulka 1: Testované varianty digestátu

varianta	zkratka	digestát [dm^3]	biouhel [kg]	bentonit [kg]	sušina [%]
kontrolní digestát	D	20	-	-	5,61 ± 0,26
digestát + biouhel	D+BU	20	0,8	-	7,85 ± 0,25
digestát + bentonit	D+BE	20	-	0,8	6,40 ± 0,67
digestát+biouhel+ bentonit	D+BU+BE	20	0,8	0,8	8,11 ± 0,62

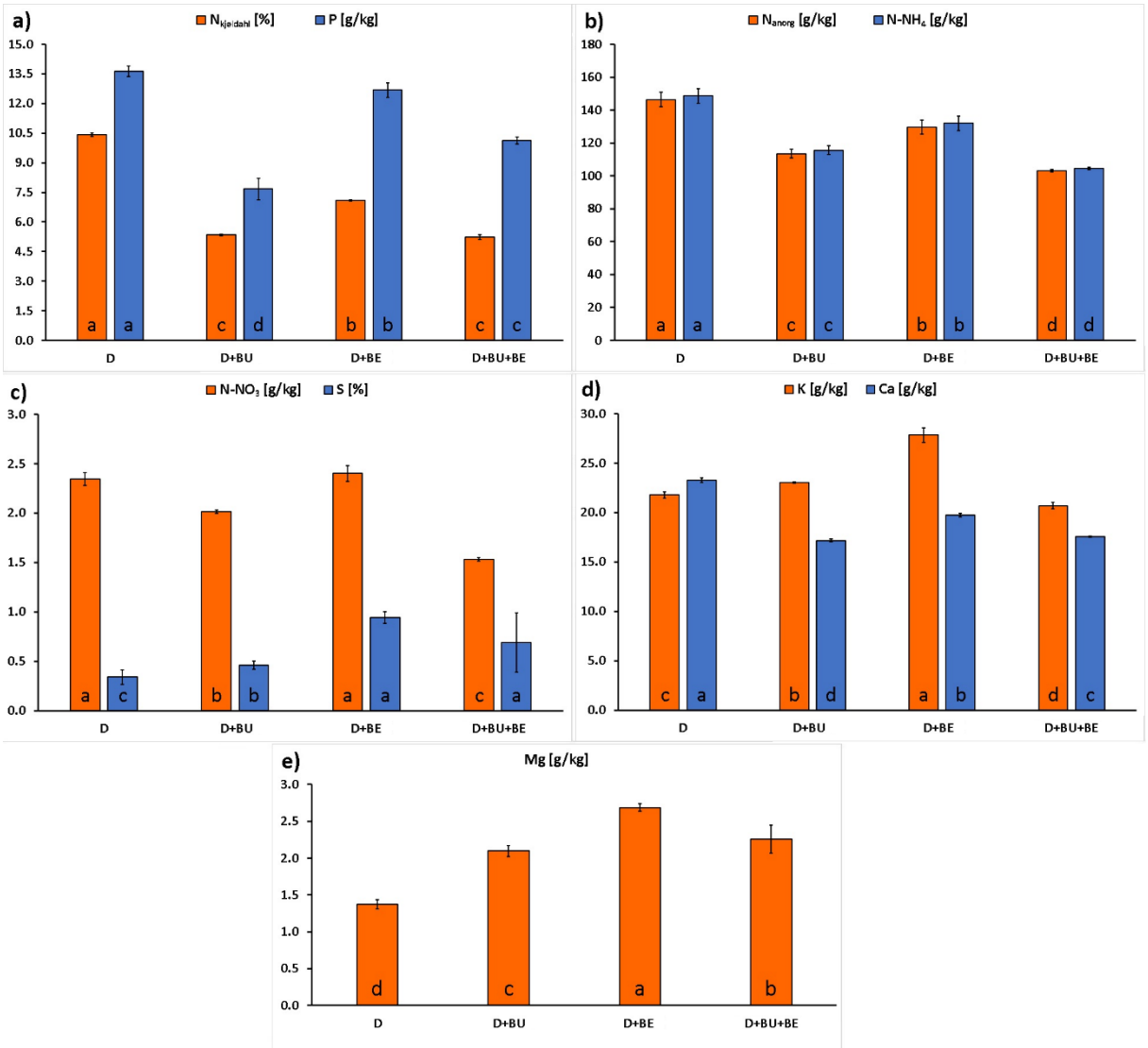
Každá varianta byla založena ve 3 opakováních, nádoby byly na začátku pokusu vzduchotěsně uzavřeny. Po 8 týdnech byl pokus ukončen a z každé varianty byly odebrány vzorky, ve kterých byl analyzováno obsah živin (anorganický, amoniakální, dusitanový a celkový Kjeldahlův dusík, P, K, Mg, Ca, S) pomocí metod dle norem: ISO 11261:1995, ISO 15178:2000, ISO 14869-3:2017.

Porovnání souborů dat výsledků analýz bylo provedeno jednosměrnou analýzou rozptylu (ANOVA) s post-hoc Tukey HSD testem a hodnota $p \leq 0,05$ byla považována za statisticky významný rozdíl. Korelační analýza byla provedena na hladině spolehlivosti $p \leq 0,05$, hodnoty korelačního koeficientu r byly posouzeny jako mírná ($0,5 \leq r \leq 0,7$), střední ($0,7 \leq r \leq 0,9$) a vysoká ($r \geq 0,9$) korelace (Hinkle et al. 2003). Všechna data byla analyzována s použitím softwarového balíčku Statistica ver. 13.4.0.14.

Výsledky a diskuze

Celkový obsah Kjeldahlova dusíku ($N_{kjeldahl}$) v sušině digestátu byl signifikantně nejvyšší v kontrolní variantě D, varianta pouze s bentonitem D+BE měla signifikantně vyšší hodnoty v porovnání s variantami s biouhlem D+BU a D+BU+BE – Graf 1a). Důvodem nižšího obsahu celkového dusíku mohla být jednak vyšší sušina všech digestátů s přídavky sorbentů (biouhel, bentonit) v porovnání s neošetřeným kontrolním digestátem, jednak vliv těchto sorbentů se zásaditou reakcí (pH biouhlu 9,8, pH bentonitu 9,0) na pH digestátu na začátku experimentu, kdy mohlo dojít k oxidaci redukovaného amoniaku (NH_4^+), který představuje významně zastoupenou složku v digestátu obsaženého dusíku (Battista et al. 2021), a následné volatilizaci ve formě NH_3. Vliv pH na volatilizaci amoniaku z tekutých organický hnojiv je znám (Möller 2015). Vliv obsahu sušiny na celkový obsah dusíku dokládá vysoká signifikantní negativní korelace mezi $N_{kjeldahl}$ a sušinou ($r = - 0,94$), podíl obsahu amoniakálního dusíku na celkovém dusíku je patrný ze střední korelace mezi $N_{kjeldahl}$ a $N\text{-}NH_4$ ($r = 0,7$). Vyšší obsah celkového dusíku v digestátu s bentonitem (D+BE) v porovnání s digestáty s biouhlem (D+BU a D+BU+BE) mohl být způsoben jak vyšší sorpční kapacitou bentonitu (imobilizace dusíku, zabránění nitrifikace či volatilizaci), tak vlivem biouhlem podmíněné inhibice oxidace amoniakálního dusíku represí aktivity příslušných enzymů. Inhibiční účinky biouhlu na enzymovou aktivitu byly již popsány (Foster et al. 2016; Holatko et al. 2020). Zeolit (podobný bentonitu) má také potenciál pro snížení volatilizace amoniaku (Lefcourt and Meisinger 2001). Anorganický dusík (N_{anorg}) a amoniakální dusík ($N\text{-}NH_4$) vykazovaly vysokou míru signifikantní pozitivní korelace ($r = 0.88$) a téměř srovnatelné hodnoty, které byla stejně jako u celkového dusíku signifikantně nejvyšší u kontrolního digestátu D – Graf 1b). Také obsah těchto forem dusíku byl signifikantně vyšší u digestátu s bentonitem (v porovnání s variantami digestátu s biouhlem – D+BU a D+BU+BE), ale celkově byly rozdíly v obsahu těchto forem dusíku poměrně menší než u dusíku celkového (Kjeldahlova).

Graf 1: Vlastnosti variant digestátu s přídavky biouhlu a bentonitu
Chybové úsečky = směrodatná odchylka, písmena značí statistické rozdíly mezi variantami na hladině významnosti $p \leq 0,05$



Přepočtem na čerstvou hmotu digestátu vyjdou výsledné koncentrace anorganického dusíku (v g/kg): 8,21±0,01 (D), 8,91±0,01 (D+BU), 8,29±0,03 (D+BE) a 8,35±0,00 (D+BU+BE). Z těchto výsledků je patrné, že přidaný biouhel či bentonit může spolu s negativním efektem volatilizace rozpuštěného amoniaku následně stabilizovat či mírně zvýšit obsah anorganických forem dusíku. Podobný prospěšný efekt přídavku biouhlu byl již popsán (Holatko et al. 2021). Vliv na stabilizaci anorganického dusíku mohla mít také interakce s vápníkem (který přispívá k precipitaci fosforu), kterým s N_{anorg} vysoce pozitivně koreloval ($r = 0.92$).
Nitrátový dusík ($N\text{-}NO_3$) byl v porovnání s kontrolou (D) signifikantně nižší pouze ve variantách s biouhlem (D+BU, D+BU+BE), přídavek bentonitu vedl k neprůkazně vyššímu obsahu nitrátů v suché biomase varianty D+BE – Graf 1c). Podíl mezi nitrátovým a celkovým dusíkem ($N\text{-}NO_3$ / $N_{kjeldahl}$) dále ukázal poměrně výrazně vyšší nitrifikační výtěžek ve variantách D+BU (0,38) a D+BE (0,34), jakož i vyšší poměr u varianty D+BU+BE (0,29), v porovnání s kontrolou D (0,22). Tyto výsledky naznačují, že přídavky biouhlu a bentonitu neměly sice na celkový obsah dusíku v pokusných variantách digestátu výrazný vliv, avšak

výrazně zlepšili proces mineralizace dusíku – nitrifikace. Kombinovaný účinek digestátu a biouhlu na zvýšení obsahu mineralizovaných nitrátů byl dosud prokázán v půdě (Kizito et al. 2019).

Vedle dusíku byl hodnocen vliv obou přídavků (biouhlu i bentonitu) i na obsah dalších živin. Signifikantně nejvyšší obsah fosforu (P) v sušině byl zjištěn v kontrolním digestátu D, ale obsah v digestátu s bentonitem byl rovněž signifikantně vyšší v porovnání s digestáty s biouhlem (D+BU, D+BU+BE) – Graf 1a). I zde soudíme, že výsledek byl ovlivněn obohacením digestátu sorbenty s vysokým obsahem sušiny, avšak nízkým obsahem fosforu. Bylo prokázáno, že na obsah a dostupnost fosforu má pozitivní vliv jak bentonit (Estevez et al. 2014), tak biouhel (Kizito et al. 2019). V experimentu pozorovaný vliv sušiny na obsah fosforu dokládá významná vzájemná negativní korelace (r = - 0,88), naopak koincidenci nitrifikace a sekvestrace fosforu dokládá pozitivní korelace P a $N\text{-}NO_3$ (r = 0,8), na možný efekt ko-precipitace vápníku a fosforu (Melgaço et al. 2021) ukazuje korelace (r = 0,88) také. Z tohoto důvodu jsou poměry obsahu vápníku (Ca) velmi podobné obsahu fosforu: signifikantně nejvyšší obsah vápníku vykazoval kontrolní digestát D, signifikantně nejnižší vápník byl v digestátu D+BU, i přesto že použitý biouhel obsahoval téměř 3,5 % vápníku v sušině – Graf 1d). Tento výsledek lze vysvětlit opět předpokládanou, bentonitem podmíněnou, ko-precipitací vápníku a fosforu. Obsah vápníku také vysoce pozitivně koreloval s obsahy $N_{kjeldahl}$, N_{anorg}, $N\text{-}NO_3$ (hodnota r činila 0,99, 0,92 a 0,92).

Obsah síry (S) v sušině pokusných variant (v kontrastu s předchozími hodnocenými živinami) přímo závisel na množství přidaných sorbentů: signifikantně nejvyšší byl u variant s přídavky bentonitu (D+BE, D+BU+BE) a také hodnota u varianty D+BU byla statisticky průkazně vyšší v porovnání s kontrolou – Graf 1c). Příčinou mohl být vyšší obsah síry (pravděpodobně v podobě síranů) v bentonitu a biouhlu, a také schopnost adsorbovat síru v různé formě (hydrogensulfid, sulfidy, sírany), ať přímo (Stepova et al. 2009; Shang et al. 2016) nebo v podobě solí např. Mg, K (Enslin et al. 2010). S obsahem síry pravděpodobně souvisel i obsah hořčíku (Mg, r = 0,84): také jeho hodnoty byly signifikantně nejvyšší u varianty D+BE, varianty D+BU a D+BU+BE byly rovněž signifikantně bohatší na Mg v porovnání s kontrolou – Graf 1e). Usuzujeme, že obsah hořčíku byl opět ovlivněn primárně obohacením digestátu přídavky biouhlu (obsahoval 1,9 % Mg v sušině) a bentonitu, možná v podobě síranu hořečnatého. Stejně tak byl domnělým faktorem určujícím obsah draslíku (K) přídavek biouhlu a bentonitu, byť vzájemná pozitivní korelace mezi Mg a K byla pouze mírná (r = 0,64). Obsah K u variant D+BE (nejvyšší hodnota) i D+BU byl signifikantně vyšší v porovnání s kontrolou - Graf 1d). Bentonit (0,6 % K v sušině) a zejména biouhel (4,2 % K v sušině) jsou dobrými zdroji draslíku a sorbenty solí, čímž lze objasnit zjištěné obohacení upravených digestátů draslíkem.

Závěr

Digestát změnil složení a obsah živin po 8-týdenní inkubaci s biouhlem a/nebo bentonitem v porovnání s kontrolou. Obsah celkového (Kjeldahlova), anorganického a amoniakálního dusíku v sušině byl přesto signifikantně nejvyšší v kontrolní variantě s neošetřeným digestátem. Také obsah fosforu a vápníku byl u této varianty nejvyšší, předpokládán byl vliv společné precipitace obou živin. Nejvyšší obsah nitrátového dusíku a nejvyšší nitrifikační potenciál byl zjištěn u varianty s přídavkem bentonitu. Tato varianta obsahovala též největší koncentraci síry, hořčíku a draslíku v suché biomase. Bentonit (a méně výrazně biouhel) přispěly k sekvestraci a transformaci živin v digestátu. Prospěšné působení pomocných půdních látek při úpravě digestátu využitelného jako organické hnojivo budou ověřeny aplikací do půdy.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projekty Technologické agentury České republiky č. 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“ a č. TH03030319 „Podpora funkční diverzity půdních organismů aplikací klasických a modifikovaných stabilních organických hmot při zachování produkčních vlastností půd “.

Literatura

Battista, F., C. Masala, A. Zamboni, Z. Varanini and D. Bolzonella (2021). "Valorisation of Agricultural Digestate for the Ammonium Sulfate Recovery and Soil Improvers Production." *Waste and Biomass Valorization*.

Bouabid, R., M. Badraoui and P. R. Bloom (1991). "Potassium Fixation and Charge Characteristics of Soil Clays." **55**(5): 1493-1498.

Brtnický, M., T. Hammerschmiedt, J. Elbl, A. Kintl, L. Skulcova, M. Radziemska, O. Latal, T. Baltazar, E. Kobzova and J. Holatko (2021). "The Potential of Biochar Made from Agricultural Residues to Increase Soil Fertility and Microbial Activity: Impacts on Soils with Varying Sand Content." **11**(6): 1174.

Datta, R., J. Holatko, O. Latal, T. Hammerschmiedt, J. Elbl, V. Pecina, A. Kintl, L. Balakova, M. Radziemska, T. Baltazar, P. Skarpa, S. Danish, M. Zafar-ul-Hye, T. Vyhnanek and M. Brtnicky (2020). "Bentonite-Based Organic Amendment Enriches Microbial Activity in Agricultural Soils." *Land* **9**(8).

Davies, J. E. D. and N. Jabeen (2002). "The adsorption of herbicides and pesticides on clay minerals and soils. Part 1. Isoproturon. ." *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* **43**: 329–336.

Enslin, F., L. van der Mey and F. Waanders (2010). "Acid leaching of heavy metals from bentonite clay, used in the cleaning of acid mine drainage %J Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy." **110**: 187-191.

Erhart, E., T. Siegl, M. Bonell, H. Unterfrauner, R. Peticzka, C. Ableidinger, D. Haas and W. Hartl (2014). Fertilization with liquid digestate in organic farming - effects on humus balance, soil potassium contents and soil physical properties**:** 4419.

Estevez, M. M., R. Linjordet, S. J. Horn and J. Morken (2014). "Improving nutrient fixation and dry matter content of an ammonium-rich anaerobic digestion effluent by struvite formation and clay adsorption." *Water Science and Technology* **70**(2): 337-344.

Foster, E. J., N. Hansen, M. Wallenstein and M. F. Cotrufo (2016). "Biochar and manure amendments impact soil nutrients and microbial enzymatic activities in a semi-arid irrigated maize cropping system." *Agriculture Ecosystems & Environment* **233**: 404-414.

Garg, R. N., H. Pathak, D. K. Das and R. K. Tomar (2005). "Use of flyash and biogas slurry for improving wheat yield and physical properties of soil." *Environmental Monitoring and Assessment* **107**(1-3): 1-9.

Genç, N. and E. C. Dogan (2013). "Adsorption kinetics of the antibiotic ciprofloxacin on bentonite, activated carbon, zeolite, and pumice." *Desalination and Water Treatment* **53**(3): 785-793.

Gutarowska, B., K. Matusiak, S. Borowski, A. Rajkowska and B. Brycki (2014). "Removal of odorous compounds from poultry manure by microorganisms on perlite – bentonite carrier." *Journal of Environmental Management* **141**: 70-76.

Hale, S. E., V. Alling, V. Martinsen, J. Mulder, G. D. Breedveld and G. Cornelissen (2013). "The sorption and desorption of phosphate-P, ammonium-N and nitrate-N in cacao shell and corn cob biochars." *Chemosphere* **91**(11): 1612-1619.

Hernandez-Soto, M. C., M. Hernandez-Latorre, B. Oliver-Tomas, E. Ponce and M. Renz (2019). "Transformation of Organic Household Leftovers into a Peat Substitute." *Jove-Journal of Visualized Experiments*(149): 8.

Hinkle, D. E., W. Wiersma and S. G. Jurs (2003). Applied statistics for the behavioral sciences. Boston, Mass., Houghton Mifflin.

Holatko, J., T. Hammerschmiedt, R. Datta, T. Baltazar, A. Kintl, O. Latal, V. Pecina, P. Sarec, P. Novak, L. Balakova, S. Danish, M. Zafar-ul-Hye, S. Fahad and M. Brtnicky (2020). "Humic Acid Mitigates the Negative Effects of High Rates of Biochar Application on Microbial Activity." *Sustainability* **12**.

Holatko, J., T. Hammerschmiedt, A. Kintl, S. Danish, P. Skarpa, O. Latal, T. Baltazar, S. Fahad, H. Akça, S. Taban, E. Kobzova, R. Datta, O. Malicek, G. S. Hussain and M. Brtnicky (2021). "Effect of carbon-enriched digestate on the microbial soil activity." *PLoS One* **16**(7): e0252262.

Chen, J., X. Jiang, X. Tang, Y. Sun and L. Zhou (2021). "Use of biochar/persulfate for accelerating the stabilization process and improving nitrogen stability of animal waste digestate." *Science of the Total Environment* **757**.

ISO 11261 (1995). Soil quality — Determination of total nitrogen — Modified Kjeldahl method. Geneva, Switzerland, International Organization for Standardization.

ISO 14869-3 (2017). Soil quality — Dissolution for the determination of total element content — Part 3: Dissolution with hydrofluoric, hydrochloric and nitric acids using pressurised microwave technique.

ISO 15178 (2000). Soil quality - Determination of total sulfur by dry combustion. Geneva, Switzerland, International Organization for Standardization.

Kizito, S., H. Luo, J. Lu, H. Bah, R. Dong and S. Wu (2019). "Role of Nutrient-Enriched Biochar as a Soil Amendment during Maize Growth: Exploring Practical Alternatives to Recycle Agricultural Residuals and to Reduce Chemical Fertilizer Demand." *Sustainability* **11**(11).

Lefcourt, A. and J. J. J. o. D. S. Meisinger (2001). "Effect of adding alum or zeolite to dairy slurry on ammonia volatilization and chemical composition." **84**(8): 1814-1821.

Li, H., X. Dong, E. B. da Silva, L. M. de Oliveira, Y. Chen and L. Q. Ma (2017). "Mechanisms of metal sorption by biochars: Biochar characteristics and modifications." *Chemosphere* **178**: 466-478.

Liang, B., J. Lehmann, D. Solomon, J. Kinyangi, J. Grossman, B. O'Neill, J. O. Skjemstad, J. Thies, F. J. Luizão, J. Petersen and E. G. Neves (2006). "Black Carbon Increases Cation Exchange Capacity in Soils." *Soil Science Society of America Journal* **70**(5): 1719-1730.

Liedl, B. E., J. Bombardiere, M. L. Williams, A. Stowers, C. Postalwait and J. M. Chatfield (2004). "Solid Effluent from Thermophilic Anaerobic Digestion of Poultry Litter as a Potential Fertilizer." *Hortscience* **39**(4): 877-877.

Masse, D. I., G. Talbot and Y. Gilbert (2011). "On farm biogas production: A method to reduce GHG emissions and develop more sustainable livestock operations." *Animal Feed Science and Technology* **166-67**: 436-445.

Melgaço, L., A. Robles-Aguilar, E. Meers and C. Mota (2021). "Phosphorus recovery from liquid digestate by chemical precipitation using low-cost ion sources." **96**(10): 2891-2900.

Möller, K. (2015). "Effects of anaerobic digestion on soil carbon and nitrogen turnover, N emissions, and soil biological activity. A review." *Agronomy for Sustainable Development* **35**(3): 1021-1041.

Myasnikov, S. K., A. Y. Tikhonov, A. P. Chipryakova and N. N. Kulov (2016). "Removal of heavy metal ions from water by an combined sorption–crystallization process using activated clays." *Theoretical Foundations of Chemical Engineering* **50**(4): 366-382.

Pospisilova, L., E. Horakova, M. Fisera, M. Jerzykiewicz and L. Mensik (2020). "Effect of selected organic materials on soil humic acids chemical properties." *Environmental Research* **187**: 5.

Saifullah, S. Dahlawi, A. Naeem, Z. Rengel and R. Naidu (2018). "Biochar application for the remediation of salt-affected soils: Challenges and opportunities." *Sci Total Environ* **625**: 320-335.

Sashidhar, P., M. Kochar, B. Singh, M. Gupta, D. Cahill, A. Adholeya and M. Dubey (2020). "Biochar for delivery of agri-inputs: Current status and future perspectives." *Science of The Total Environment* **703**: 134892.

Shang, G., Q. Li, L. Liu, P. Chen and X. Huang (2016). "Adsorption of hydrogen sulfide by biochars derived from pyrolysis of different agricultural/forestry wastes." *Journal of the Air & Waste Management Association* **66**(1): 8-16.

Stepova, K., D. Maquarrie and I. Krip (2009). "Modified Bentonites as Adsorbents of Hydrogen Sulfide Gases." *Applied Clay Science* **42**: 625-628.

Vu, Q. D., A. de Neergaard, T. D. Tran, H. T. T. Hoang, V. T. K. Vu and L. S. Jensen (2015). "Greenhouse gas emissions from passive composting of manure and digestate with crop residues and biochar on small-scale livestock farms in Vietnam." *Environmental Technology* **36**(23): 2924-2935.

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Brtnický
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1
613 00 Brno
Česká republika
e-mail: martin.brtnicky@mendelu.cz

Výsledky pěstování brambor v podmínkách technologie aeroponie v letech 2019 – 2021

Results of potato cultivation in conditions of aeroponics technology in the years 2019–2021

Čížek M., Komárková Z.

Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod

Abstrakt

Aeroponie je nová technologie, která využívá systém pěstování hydroponie, kde jsou kořeny rostlin zavěšeny v tmavé uzavřené komoře a postříkány živným roztokem ve formě jemné mlhy (Christie and Nichols, 2004). Chang et al. (2012) uvedli, že aeroponie může být vhodný systém pro produkci bramborových minihlízek. Zkušenosti s produkcí minihlízek bramboru pocházejí z Jižní Korey (Kang et al., 1996; Kim et al., 1997, 1999), Španělska (Ritter et al., 2001; Farran and Mingo-Castel, 2006), Keni (Mbiyu et al., 2012), Brazílie (Mateus-Rodriquez et al., 2012) apod. V tomto příspěvku jsou představeny zkušenosti s využitím technologie aeroponie pro produkci sadbových minihlízek bramboru v letech 2019 až 2021 ve VÚB Havlíčkův Brod. Pro srovnání byla využita substrátová technologie v polykarbonátu (PK). V hodnoceném období nebyl nalezen statisticky průkazný vliv živného roztoku ani odrůdy bramboru na počet hlíz. Naopak byl statisticky prokázán vliv technologie aeroponie oproti substrátové technologii. Podobný závěr byl statisticky prokázán u výšky rostlin ve všech sledovaných letech. U délky kořenů a stolonů nebyl v technologii aeroponie nalezen statisticky průkazný vliv živného roztoku a odrůdy bramboru.

Klíčová slova: aeroponie, minihlízky, kořeny, stolony, polykarbonát

Abstract

Aeroponics is a new technology that uses a hydroponics cultivation system, where plant roots are suspended in a dark closed chamber and sprayed with a nutrient solution in the form of a fine mist (Christie and Nichols, 2004). Chang et al. (2012) stated that aeroponics may be a suitable system for the production of potato mini-tubers. Experience with the production of potato mini-tubers comes from South Korea (Kang et al., 1996; Kim et al., 1997, 1999), Spain (Ritter et al., 2001; Farran and Mingo-Castel, 2006), Kenya (Mbiyu et al.., 2012), Brazil (Mateus-Rodriquez et al., 2012), etc. This paper presents the experience with the use of aeroponics technology for the production of potato mini-tubers in the years 2019 to 2021 in PRI Havlickuv Brod. For comparison, the substrate technology in polycarbonate (PK) was used. No statistically significant effect of nutrient solution or potato variety on the number of tubers was found in the evaluated period. On the contrary, the influence of aeroponics technology over substrate technology was statistically demonstrated. A similar conclusion was statistically demonstrated for plant height in all monitored years. For the length of roots and stolons, no statistically significant effect of nutrient solution and potato variety was found in aeroponics technology.

Keywords: aeroponics, minitubers, roots, stolons, polycarbonate

Úvod

Technologie aeroponie nabízí řadu výhod oproti ostatním metodám (Mbiyu et al., 2012, Buckseth et al., 2016), používá málo vody, což je 1/10 až 1/30 vody použité v polní produkci stejného množství brambor, není nutná žádná sterilizace pěstebního média, čímž se minimalizují náklady. V aeroponických systémech se nevyskytují žádné choroby přenášené

půdou, plevele a háďátka. Další výhodou je, že aeroponické systémy umožňují prodloužené vegetační období, plodiny lze pěstovat celý rok a tím dosáhnout vyšších výnosů. Mezi nevýhody patří plná závislost na elektrické energii, kdy jakékoliv výpadky mohou způsobit nevratné škody (Otazú, 2010) a citlivost na změny teploty a vlhkosti; ideální teplota by měla být 18 až 22 ° C během dne a 14 až 18 ° C v noci. Důležité je chlazení živného roztoku na optimální teplotu kolem 18 °C. Bylo zjištěno, že chlazení kořenové zóny je klíčovým faktorem pro zlepšení zdraví a rychlosti množení minihlízek (Pathania et al., 2016). Délka pěstebního cyklu v aeroponii u brambor je odrůdově specifická, minimálně 4 měsíce. Je přibližně o 1–2 měsíce delší, než při pěstování v polních podmínkách (Andrade-Piedra et al., 2019). Minihlízky jsou postupně sklízeny po dosažení požadované velikostní kategorie (1–3 g) až do doby přestárnutí porostů (104–160 dní po výsadbě). V našem případě byla z důvodu níže popsaných problémů v roce 2019 sezóna kratší než 4 měsíce (104 dní).

Materiál a metody

V letech 2019 až 2021 byly ve Výzkumném ústavu bramborářském využity tkáňové kultury tří odrůd brambor. Jednalo se o odrůdy Adéla (raná, dále R), Ornella (polopozdní, dále PP) a Zuza (poloraná, dále PR). Ve dvou aeroponických jednotkách označených jako AJ1 a AJ2, byly výchozí materiály pěstovány ve sponu 0,25 x 0,25 m, tzn. hustota porostu 25 rostlin/m^2 bez ohledu na výchozí materiál. Ve všech letech byly k bramborám aplikovány komerční roztoky živin určené přímo pro aeroponii (AJ1), pro porovnání pak byl připraven živný roztok, jehož složení bylo upraveno dle Otazú, V., (2010) (AJ2). Živné roztoky byly chlazeny na optimální teplotu kolem 18 °C. Během pěstebního cyklu brambor v aeroponii proběhlo několik sklizní minihlízek (6–10). Pro porovnání byly výchozí materiály pěstovány substrátovou technologií v polykarbonátovém izolátu (PK). V PK byla používána každodenní zálivka, pod stropem byla umístěna čidla, která měří teplotu a vlhkost uvnitř polykarbonátového skleníku. V PK byl dodržován podobný spon (hustota porostů) jako v aeroponických jednotkách. Výsadba a sklizeň brambor byla prováděna ručně. V aeroponických jednotkách byl sledován vliv odrůdy a ročníku na počet hlízek (ks), délku kořenů a stolonů (ve stupních bodové stupnice) a výšku rostlin. Délka kořenů, stolonů a výška rostlin byla hodnocena dle vlastní stupnice, která je uvedena v závěru článku. V polykarbonátu byly hodnoceny počet hlíz (ks) (hlízy větší než 30 mm) a výška rostlin.
Pro vyhodnocení výsledků byla použita vícefaktorová ANOVA v programu STATISTICA 14.0.0. Pro mnohonásobné porovnání byl použit Scheffého test.

Výsledky a diskuse

Výška rostlin

Výška rostlin byla měřena v pravidelných týdenních intervalech až do přestárnutí porostu, a to jak v aeroponických jednotkách, tak i v polykarbonátu. Při hodnocení byla použita osmibodová stupnice. (viz. stupnice na konci článku) Průměrné hodnoty byly poté přepočítány na metry.
Rok 2019: Průměrná výška rostlin v aeroponických jednotkách se pohybovala v rozmezí od 5,0 bodů stupnice (1,00 m) u odrůdy Zuza v AJ1 po 6,3 bodů stupnice (1,26 m) u odrůdy Adéla v AJ1, průměrná výška rostlin v PK od 3,7 bodů stupnice (0,74 m) u odrůdy Adéla do 4,0 bodů stupnice (0,80 m) u odrůd Ornella a Zuza.

Rok 2020: Průměrná výška rostlin se pohybovala v rozpětí od 6,5 bodů stupnice (1,30 m) u odrůd Adéla v obou AJ1 až po 7,0 bodů stupnice (1,40 m) u odrůdy Ornella v AJ2. Průměrná výška rostlin v PK se pohybovala od 4,4 bodů stupnice (0,88 m) u odrůdy Adéla a po 4,8 bodů stupnice) (0,96m) u odrůd Zuza a Ornella.
Rok 2021: Průměrná výška rostlin se pohybovala v rozpětí od 7,6 bodů stupnice (1,52 m) u odrůdy Adéla a Ornella v AJ 1, po 8 bodů stupnice (1,80 m) u odrůdy Adéla v AJ 1 a u odrůdy Ornella v AJ2. V PK se výška rostlin pohybovala od 4.7 bodů stupnice (0,94 m) u odrůdy Adéla po 4,9 bodů stupnice (0,98 m) u odrůdy Ornella a Zuza.
Ve všech třech letech nebyl statisticky významný rozdíl ve výšce rostlin mezi aeroponickými jednotkami, avšak oproti výšce rostlin v PK byly rostliny vyšší u obou AJ, a to ve všech třech letech. Tento rozdíl byl statisticky průkazný (Obr. 1). V AJ1 bylo použito ve všech třech letech stejné komerční hnojivo přímo určené pro aeroponické a hydroponické pěstování. Postupné zvyšování rostlin mohlo být způsobeno efektivnějším monitorováním rostlin (včasný záchyt škůdců a rychlejší odstraňování technických problémů) a postupné získávání zkušeností s aeroponickým pěstováním. V AJ2 byl použit roztok námi namíchaný dle Otazú, 2010. Vzhledem k tomu, že tento roztok byl namíchán pro potřeby pěstování v jiných podmínkách, během let jsme si ho postupně upravovali dle potřeb rostlin pěstovaných v aeroponii ve VÚB.

Délka kořenů a stolonů:
Délka kořenů a stolonů byla měřena v týdenních intervalech u obou dvou AJ ve všech třech letech. Při hodnocení byla použita šestibodová stupnice, průměrné hodnoty byly poté přepočítávány na metry.
Rok 2019:
Průměrná délka kořenů v roce 2019 se pohybovala v rozmezí od 1,01 m u odrůdy Zuza (AJ1) po 1,20 m u odrůdy Adéla (AJ2). Průměrná délka stolonů se pohybovala od 0,38 m u odrůdy Ornella v AJ 2 do 1,01 m u odrůdy Zuza v AJ1.
Rok 2020:
Průměrná délka kořenů se pohybovala v rozmezí od 1,08 m u odrůdy Zuza v AJ1 po 1,20 m u odrůdy Ornella v AJ2. Průměrná délka stolonů se pohybovala v rozmezí od 0,78 m u odrůdy Zuza do 1,12 m stupnice.
Rok 2021:
Průměrná délka kořenů se pohybovala v rozmezí 0,95 m u odrůdy Adéla a Ornela v AJ 1 po 1,00 m u odrůdy Zuza v AJ1 a odrůdy Ornella v AJ 2.Průměrná délka stolonů se pohybovala v rozmezí od 0,39 m u odrůdy Ornella v AJ 1 po 0, 90 m u odrůdy Zuza v AJ 2.
Výsledná délka kořenů a stolonů nevykazovala významné statistické rozdíly v žádném z porovnávaných případů.

Počet minihlíz:
Rok 2019: U všech odrůd bylo sklizeno více hlíz v AJ1 odrůdy Adéla byl 5,3 ks, Ornella – 4,2 ks, Zuza – 7,2 ks) oproti AJ2 (průměrný počet hlíz na rostlinu: Adéla – 2,4 ks, Ornella 2,5 ks, Zuza – 3,9 ks). Přestože počet hlíz byl vyšší v AJ 1, statisticky průkazný rozdíl byl pouze u odrůd Adéla (5,3 hlízek na rostlinu u AJ1 a 2,4 hlízek na rostlinu u AJ2) a Zuza (7,2 hlízek na rostlinu u AJ1 a 3,8 hlízek na rostlinu u AJ2). V porovnání s kontrolou v polykarbonátu, se více hlíz na rostlinu vytvořilo pouze u Adély a Zuzy v AJ1. V polykarbonátu se nejvíc hlíz vytvořilo u odrůdy Ornella (průměrný počet hlíz 10,6 ks/rostlina), u odrůdy Zuza byl průměrný počet hlíz na rostlinu 5,8 ks. Nejméně hlíz se vytvořilo u odrůdy Adéla (průměrný počet hlíz na rostlinu byl 3,9 ks) (Obr. 2).

Počet hlíz v roce 2019 byl ovlivněn zejména masivním náletem mšic na rostliny, které se i přes včasnou aplikaci postřiku nepodařilo zlikvidovat. Z toho důvodu došlo k předčasnému ukončení sezóny, kdy bylo sice nasazeno velké množství hlíz, které však nestihly dozrát. Nižší počet hlíz v AJ 2 byl způsoben kombinací opožděného vývoje rostlin (zřejmě vlivem živného roztoku) oproti AJ 1 a náletem mšic.

Rok 2020: V obou aeroponických jednotkách bylo sklizeno průkazně více hlíz oproti polykarbonátu (Obr. 3). V polykarbonátu se průměrný počet hlíz na rostlinu pohyboval v rozmezí 4,2 ks na rostlinu u Ornelly po 8,5 ks na rostlinu u odrůdy Zuza. V aeroponických jednotkách se průměrný počet hlíz na rostlinu pohyboval v rozpětí 14,6 ks na rostlinu u odrůdy Adéla v AJ1 po 19,5 ks/rostlinu u odrůdy Ornella v AJ1. U odrůdy Zuza a Adéla se vytvořilo více hlíz v AJ 2 (odrůda Adéla: AJ 1 14,6 ks/rostlina, AJ2: 19,2 ks/rostlina; odrůda Zuza: AJ1 17,6 ks/rostlina, AJ2 18,5 ks/rostlina). Tento rozdíl nebyl však statisticky průkazný. Naopak statisticky průkazný byl rozdíl u odrůdy Ornella mezi AJ. Zde se však více hlíz tvořilo u AJ 1 (19,5 ks/rostlina) oproti AJ 2 (14,4 ks/rostlina). Vyšší počet hlíz v aeroponických jednotkách oproti polykarbonátu mohl být způsoben efektivnějším bojem proti mšicím a celkově zlepšením řešení technických problémů.

Rok 2021: Co se týče počtu hlíz mezi aeroponickými jednotkami, nebyl zde žádný výrazný rozdíl. V AJ1 se vytvořilo více hlíz u odrůd Adéla (průměrný počet hlíz na rostlinu: 34,0 ks u AJ1 oproti 33,7 ks u AJ2) a Zuza (průměrný počet hlíz na rostlinu: 41,0 ks u AJ 1 oproti 36,3 ks u AJ 2). V AJ2 se více hlíz vytvořilo u odrůdy Ornella (průměrný počet hlíz na rostlinu: 30,7 ks u AJ2 oproti 25,6 ks u AJ1. V rámci AJ1 bylo výrazně více hlíz u odrůdy Zuza oproti odrůdě Ornella. Tento rozdíl byl statisticky významný.

Ve srovnání s PK (průměrný počet hlíz na rostlinu: Adéla – 12,6 ks, Ornella – 10,0 ks, Zuza – 10,5ks) se výrazně více hlíz vytvořilo v obou AJ (Obr. 4). Tento rozdíl byl statisticky průkazný, a to i u odrůdy Ornella, která vytvořila v AJ 1 méně hlíz než ostatní odrůdy.

Když porovnáme jednotlivé AJ v rámci let 2019 až 2021, docházelo meziročně ke zvyšování počtu hlíz (Obr. 5). U AJ1 byl tento rozdíl mezi lety 2019 až 2021 statisticky průkazný u všech námi testovaných odrůd. Rozdíl počtu hlíz mezi lety 2019–2021 byl statisticky průkazný u odrůdy Zuza a Adéla ve prospěch roku 2021. Mezi roky 2019 a 2020 byl statisticky významný rozdíl v počtu hlíz ve prospěch roku 2020 pouze u odrůdy Ornella.

U AJ 2 byl rozdíl mezi jednotlivými lety v rámci odrůd statisticky průkazný u všech odrůd, a to od roku 2019 do roku 2021 (Obr. 6).

Nutno podotknout, že i v PK docházelo k postupnému zvyšování počtu hlíz, až na odrůdu Ornella, která v roce 2019 vytvořila velké množství hlíz, které překonalo i sklizeň v roce 2021. U odrůd Adéla a Zuza došlo k postupnému zvyšování sklizně od roku 2019 až 2021. U odrůdy Adéla byl tento rozdíl statisticky průkazný jak mezi lety 2019 a 2021, tak mezi lety 2020 a 2021. U odrůdy Zuza to bylo jak mezi lety 2019 a 2020, tak i mezi lety 2019 a 2021 a mezi lety 2020 a 2021 (Obr. 7).

Závěry

Technologie aeroponie je doporučována jako nejefektivnější, nejužitečnější, nejvýznamnější, nejhospodárnější a nejpohodlnější systém pěstování rostlin než substrátové a jiné technologie pěstování bez půdy (Lakhiar et al., 2018). Vzhledem k tomu, že v letech 2019 až 2021 nebyl zjištěn statisticky průkazný vliv složení živného roztoku na počet minihlízek a na délku kořenů a stolonů bramboru v aeroponii, lze konstatovat, že pro pěstování brambor v technologii aeroponie vyhovují oba roztoky, a to jak komerční, tak námi namíchaný. Zároveň bylo prokázáno, že v technologii aeroponie se tvoří daleko více hlíz, než v klasické substrátové technologii (PK). Vliv odrůdy bramboru na počet hlíz v aeroponii i substrátové technologii nebyl statisticky průkazný v souhrnu hodnocených let. Od roku 2019 do roku 2021 docházelo k postupnému zvyšování rostlin a počtu hlíz v obou AJ. Rozdíly byly statisticky průkazné, zejména mezi lety 2019 a 2021. Na zvyšování počtu hlíz měl vliv efektivní boj se mšicemi a monitoring technického stavu AJ a postupné nabývání zkušeností s technologií aeroponie. Co se týče počtu hlíz, výsledky z roku 2021 se přibližují závěrům zahraničních autorů (Otazú, 2010, Lakhiar et al., 2018).

Poděkování

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

Literatura

Andrade-Piedra, J., Barona, D., Benítez, J., Chuquillanqui, C., García, M., Kromann, P., Mateus-Rodríguez, J., Montesdeoca, F., Otazú, V., Potosí, B. Manual for seed potato production using aeroponics (Ten years of experience in Colombia, Ecuador and Peru). International Potato Center, Lima, Peru, 2019, ISBN: 978-92-9060-504-1.

Buckseth, T., A. K. Sharma, K. K. Pandey, B. P. Singh, and R. Muthuraj. 2016. Methods of pre-basic seed potato production with special reference to Aeroponics-a review. Scientia Horticulture 204: 79–87.

Christie, C. B., M. A. Nichols. 2004. Aeroponics - a production system and research tool. South Pacific Soilless Culture Conference- SPSCC. Acta Hortic. 648, 185-190.

Chang, D. C., C. S. Park, S. Y. Kim, and Y. B. Lee. 2012. Growth and Tuberization of hydroponically grown potatoes. Potato Research 55: 69–81.

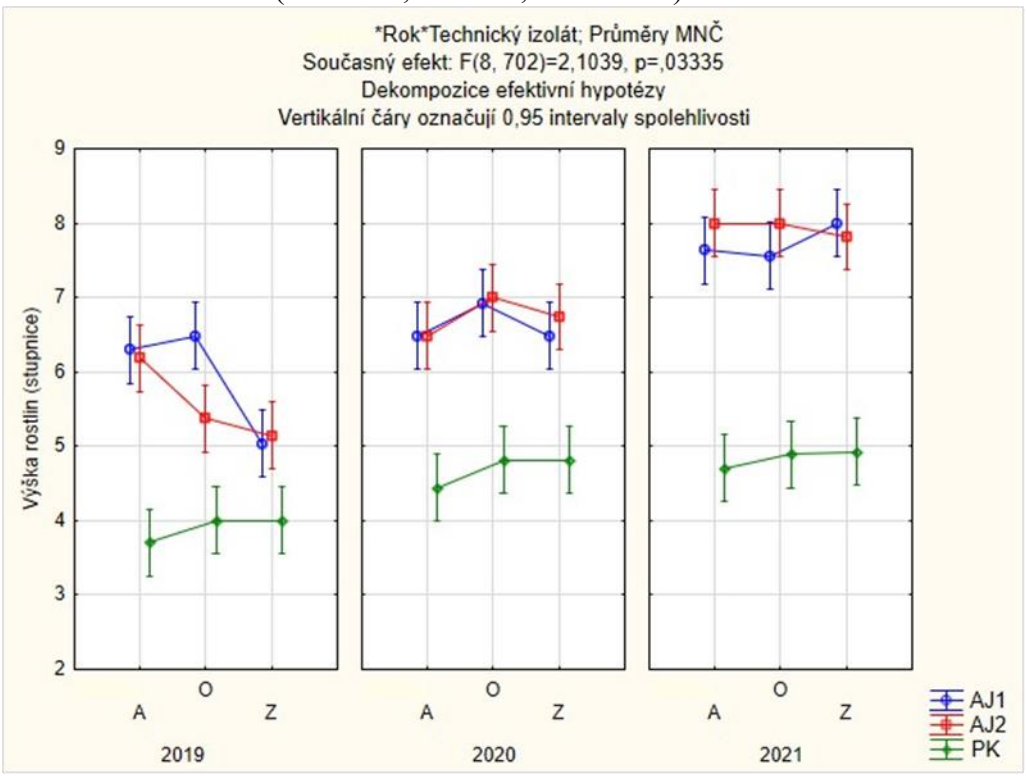
Lakhiar, I.A., Jianmin Gao, Tabinda Naz Syed, Farman Ali Chandio, Noman Ali Buttar. 2018. Modern plant cultivation technologies in agriculture under controlled environment: a review on aeroponics. Journal of Plant Interactions, VOL. 13, NO. 1, 338–352.

Mbiyu, M.W., Muthoni, J., Kabira, J., Elmar, G., Muchira, C., Pwaipwai, P., Ngaruiya, J., Otieno, S., Onditi, J., 2012: Use of aeroponics technique for potato (Solanum tuberosum) minitubers production in Kenya. J. Hortic. For. 2012, 4, 172–177.

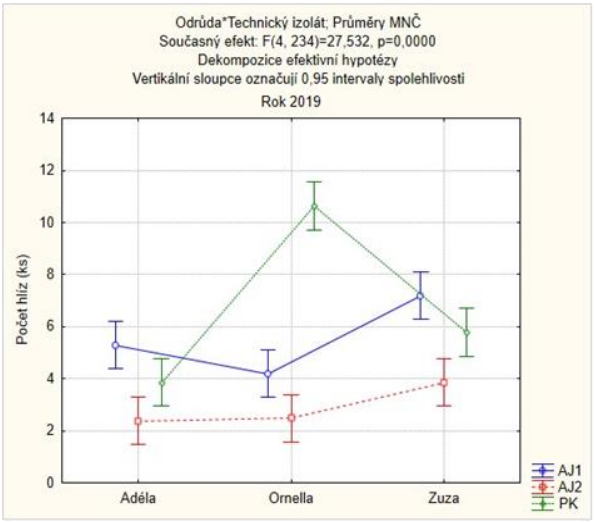
Otazú, V., 2010: Manual on quality seed potato production using aeroponics. International Potato Center (CIP), Lima, Peru. 44 p.

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

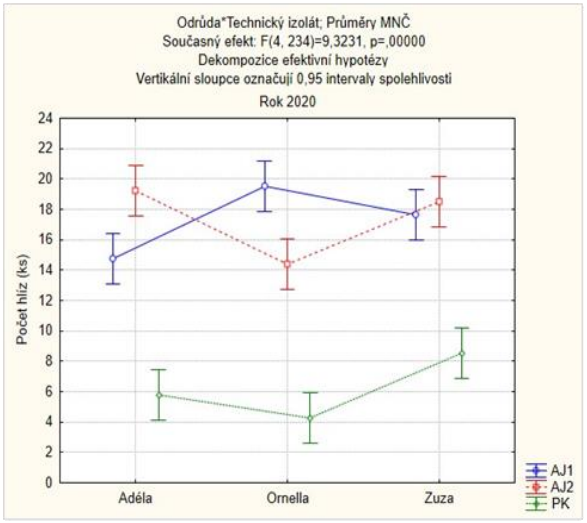
Obr. 1: Porovnání výšky rostlin mezi jednotlivými technickými izoláty v letech 2019 – 2021 (A=Adéla, Z=Zuza, O=Ornella)



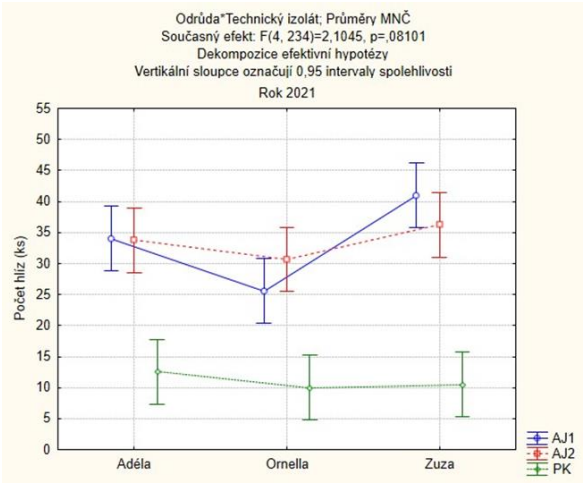
Obr. 2: Počet hlíz v roce 2019



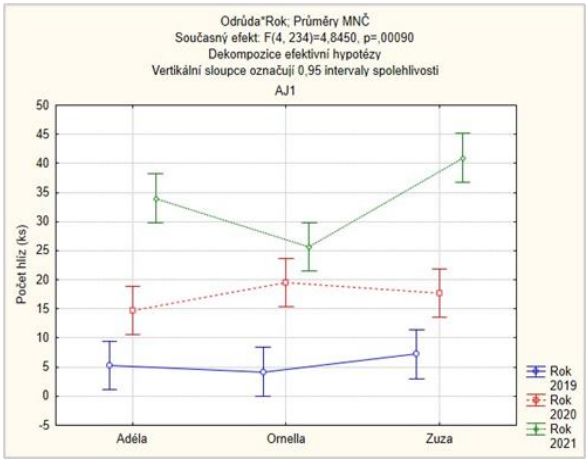
Obr. 3: Počet hlíz v roce 2020



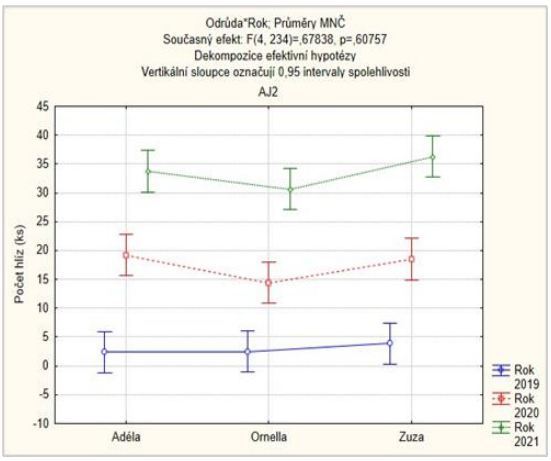
Obr. 4: Počet hlíz v roce 2021



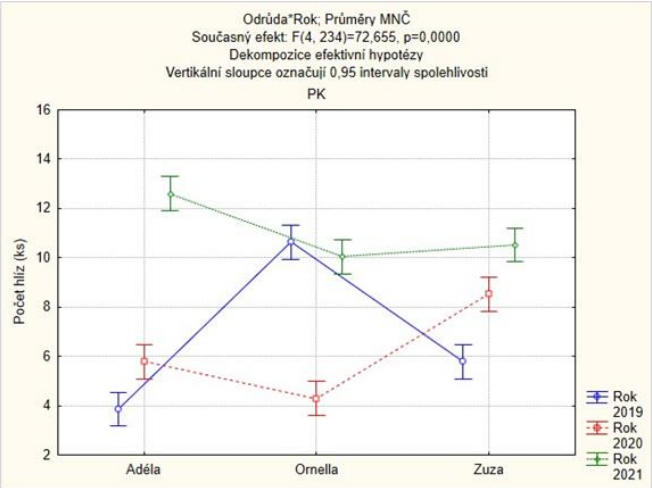
Obr. 5: Vývoj počtu hlíz v AJ1 mezi lety 2019 – 2021



Obr. 6: Vývoj počtu hlíz v AJ2 mezi lety 2019 - 2021



Obr. 7: Vývoj počtu hlíz v PK mezi lety 2019 - 2021



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

Stupnice pro hodnocení rostlin v aeroponii (výška rostlin, 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: 1,01– 1,40
7: 1,41– 1,80
8: více než 1,80

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

Fermentované zeleninové směsi jako alternativní zpracování i nestandardní zeleniny

Fermented vegetable mixtures as an alternative utilization of irregular vegetable

Kováříková E., Rysová J.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.

Abstrakt

Celosvětovým trendem je zabránit plýtvání a účelně zhodnotit produkci. Jednou z cest je snadné zpracování produkované zeleniny přímo producentem, případně navazující firmou. Pro zpracování fermentací se hodí zelenina nestandardního tvaru i mírně přerostlá. Technologie fermentace je podobná jako u fermentovaného zelí, ale lze využít sezónní kombinace zeleniny i bylinek. V našich experimentech jsme prokázali, že zeleninové směsi si zachovávají vysoký obsah aktivních mléčných bakterií i po půl roce šetrného skladování. Obsah polyfenolických látek závisí na druhu použité zeleniny, ale i po půl roce je ve fermentované zelenině stejný, nebo dokonce vyšší. Obsah vitamínu C silně závisí na zvolené zelenině, ale bohužel přípravné operace před fermentací jeho obsah značně limitují. V neposlední řadě jsme prokázali stabilitu některých palčivých příchutí po fermentaci a skladování.

Klíčová slova: mléčné bakterie, šetrná konzervace, skladování

Abstract

The worldwide trend is to prevent waste and to efficiently evaluate production. One of the ways is easy processing of the vegetable directly by the producer or a follow-up company. Non-standard shaped and slightly overgrown vegetables are suitable for fermentation processing. The fermentation technology is similar to that of cabbage fermentation, but seasonal combinations of vegetables and herbs can be used. In our experiments, we have shown that vegetable mixtures retain a high content of active lactic acid bacteria even after half a year of gentle storage. The content of polyphenolic substances depends on the type of vegetables used, but even after half a year it is the same or even higher in fermented vegetables. The content of vitamin C strongly depends on the chosen vegetables, but unfortunately the preparatory operations before fermentation considerably limit its content. Last but not least, we have demonstrated the stability of some spicy flavors after fermentation and storage.

Keywords: lactic acid bacteria, gentle conservation, storage

Úvod

Fermentovaná zelenina má velké množství zdravotních benefitů při pravidelné i nárazové konzumaci. Klasické kysané zelí může při konzumaci v syrovém stavu některým spotřebitelům způsobovat nepříjemné zažívací problémy, jako je například nadýmání. Jelikož vařená varianta ztrácí zdravotní benefity, je řešením využití jiných druhů zeleniny pro přípravu fermentovaných směsí, které svým použitím odpovídají využití jako salát – příloha, zachovávají cenné zdravotní benefity a není nutná jejich další konzervace. Fermentace směsi krájené zeleniny s sebou přináší další výhody technologického charakteru. Dalším faktorem je možnost zpracovat i choulostivé druhy zeleniny na vrcholu jejich zralosti a v době kdy jsou snadno dostupné. Pro komerční využití je výhodou možnost přípravy individuální chuti a odlišení výrobku od ostatních podobných výrobků na trhu.

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). Fermentovaná zelenina, na rozdíl od lékové formy, může příznivě působit na více úrovních. Obsahuje jak nezanedbatelný počet živých bakteriálních buněk, tak celou řadu již naštěpených a degradovaných zbytků mikroorganismů, v neposlední řadě jejich metabolické produkty a zároveň prebiotickou vlákninu.
Fermentace tedy nabízí cestu ke zhodnocení zeleniny a 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).
Abychom využili období ideální zralosti a dostupnosti tradičních i méně tradičních surovin, navrhli jsme tři varianty směsných fermentovaných salátů a pojmenovali jsme je podle obvyklé sezónní dostupnosti, a to letní, podzimní a zimní směs. Pro rozšíření chuťových variant a otestování vlivu přidaných ingrediencí na průběh kysání jsme zvolili ochucení směsí označených jako ostrá varianta pomocí pálivých kultivarů paprik, chilli papriček a extraktu z chilli papriček (tabasco). Jako nejvhodnější startér se doporučuje kultura „autochtonní“ tedy izolovaná z materiálu stejného typu jako výsledný produkt (Di Cagno et al., 2013). V našich podmínkách se tímto způsobem uplatnila šťáva z kysaného zelí.
Testovali jsme možnost výrazného ochucení a zejména přídavek ostře chutnajících složek na průběh kysání a hloubku prokysání finální směsi. Hloubka prokysání – kyselost- má výrazný vliv na bezpečnost produktu vzhledem k rozvoji škodlivých bakterií i případných patogenů.

Materiál a metody

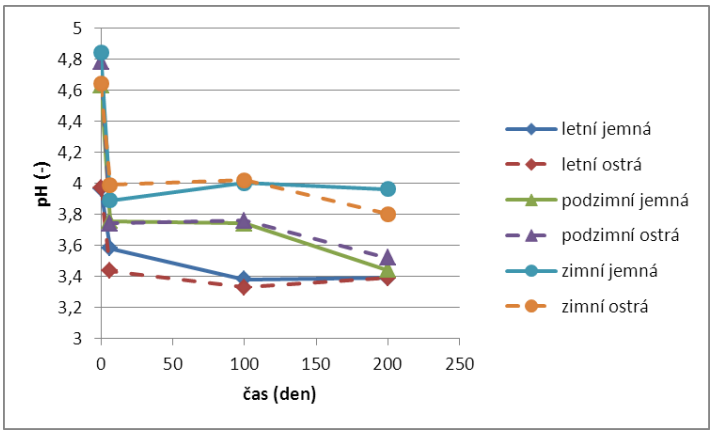
Zelenina byla použita v biokvalitě. Koření, čerstvé bylinky a sůl jsme zakoupili v maloobchodní síti. Šťáva z Otického zelí, která byla použita k zakvašení jednotlivých směsí, byla získána taktéž v maloobchodní síti.
Letní směs byla připravena z rajčat (1 kg), paprik (1 kg), cuket (1 kg), cibule (0,5 kg) a česneku (0,1 kg). Pro ochucení jsme použili směs sekaných listů čerstvých bylinek (tymián, oregano, rozmarýn). Pálivost směsi označené „ostrá“ byla zajištěna použitím pálivé varianty paprik. Pro podzimní směs jsme využili bílé zelí (2 kg), mrkev (1 kg), tuřín (1 kg), cibuli (0,5 kg) a česnek (0,03 kg) a pro doplnění kmín. Pro okořenění ostré varianty jsme zvolili sekanou chilli papričku. Zimní směs byla postavena kombinaci bílé zelí (3 kg), červená řepa (1kg), cibule (1 kg), křen (0,25 kg) a česnek (0,03 kg). Pro přípravu pálivé verze jsme využili komerčně dostupný extrakt z chilli papriček – kořenící směs tabasco (McILHENNY company, USA).
Veškerá použitá zelenina byla dodána v bio-kvalitě. Obecným postupem bylo nejprve očištění zeleniny (okrojení stopek a jadřinců, loupání kořenů), krouhání, solení, zaočkování vybraným startérem. Zvolili jsme, na základě předchozích výsledků, šťávu z Otického zelí – dostupnou v maloobchodní síti. Krouhání jsme provedli pomocí stolního krouhače Robot-coupe R301. Solení proběhlo v nádobě promícháním rukama a následné očkování suspenzí bakterií taktéž.

Dalším krokem bylo pěchování do fermentačních nádob a uzavření pomocí víček s otvorem pro odchod plynů překrytým silikonovým kloboučkem. Fermentace proběhla v místnosti s průměrnou teplotou 21°C. Po skončení hlavního kvašení (pokles pH a ukončení rozvoje plynu) byly nádoby uzavřeny a umístěny v klimatizované místnosti s teplotou 8°C, kde byly umístěny po celou dobu skladovacího pokusu. Odběr vzorků byl realizován odběrem celé nádoby. Vzorky pro analýzy byly po homogenizaci uchovávány při teplotě -18°C.
Kyselost fermentované směsi byla měřena pomocí bateriového pH metru Testo 206. Měření probíhalo ve šťávě uvolněné během fermentace.
Množství živých mikroorganismů bylo stanoveno kultivačně. Skupiny jednotlivých mikroorganismů byly definovány pomocí selektivní půdy. Pro celkový počet mikroorganismů jsme použili Nutrient agar (Himedia), pro mléčné bakterie MRS agar (Oxoid) a pro koliformní bakterie Violet red bile lactose agar (Oxoid).
Pro zhodnocení výsledku fermentace jsme využili zkušenosti panelu hodnotitelů z řad zaměstnanců VÚPP. Ke sběru údajů jsme použili dotazníkovou formu s pětibodovou škálou hodnocení. Pro hodnocení příjemnosti vzhledu, vůně, chuti a celkový dojem byla nastavena stupnice ve škále výborná (1) až nevyhovující (5). Pro hodnocení intenzity slané chuti, kyselé chuti, pálivé chuti a pachuti byla stupnice nastaven ve škále od neznatelná (1) po velmi intenzivní (5). Výsledky byly průměrovány a hodnoceny pomocí grafů. Pro specifické poznatky byly shrnuty poznámky od jednotlivých hodnotitelů formou zápisu.
Stanovení obsahu polyfenolů proběhlo spektrofotometrickou metodou s Folinovým činidlem s měřením absorbance při 765 nm Obsah organických kyselin byl stanoven pomocí metody HPLC s UV detekcí při 210 nm. Vitamín C byl stanoven metodou HPLC na reverzní fázi s UV detekcí po extrakci 3% kyselinou metafosforečnou a filtrací. Výsledky chemických analýz jsou průměrem dvou paralelních stanovení.

Výsledky

Sledování pH je jednoduchým a efektivním krokem pro sledování procesu kysání a udržitelnosti výsledného produktu. Po prvotním poklesu na pH 4 a méně, došlo ke stabilizaci a nízké pH se udrželo po celou dobu skladování. Finální pH směsi je závislé na druhu použité zeleniny. Ve směsi letní plodové zeleniny došlo k poklesu pH na hodnoty přibližně 3,4; ovšem v zimní směsi se pH udrželo na hodnotě 4,0. Důvodem je zřejmě rozdílné složení a uvolňování dostupných sacharidů obsažených v zelenině. Příprava směsi v pikantní (pálivé) variantě neměla na celkový pokles pH výrazný vliv. Srovnání směsí v obou variantách ilustruje Graf 1.

Graf 1: Změna pH v průběhu skladování fermentovaných zeleninových směsí



Během fermentace vzrůstá počet živých bakterií ze skupiny mléčných bakterií, což je jedním z cílů procesu vedoucího ke stabilnímu a obohacenému zeleninovému pokrmu. Počet živých mikroorganismů na konci skladovací doby v jednotlivých variantách shrnuje tabulka 2.

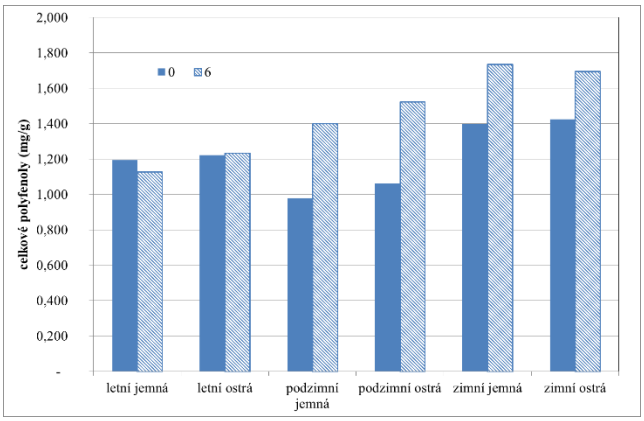
Tab. 2: Počet živých mikroorganismů na konci 6 měsíců skladování

Druh směsi	Celkový počet mikroorganismů (KTJ/g)	Mléčné bakterie (KTJ/g)	Koliformní bakterie (KTJ/g)
letní jemná	3.10^2	5.10^6	0
letní ostrá	4.10^2	$5{,}6.10^6$	0
podzimní jemná	4.10^2	1.10^7	0
podzimní ostrá	2.10^2	$5{,}4.10^6$	0
zimní jemná	$2{,}5.10^2$	4.10^4	0
zimní ostrá	4.10^2	3.10^4	0

Interpretace výsledků senzorického hodnocení byla komplikována zejména nízkým počtem hodnotitelů (maximálně 8). Navíc je oblíbenost fermentované zeleniny velmi individuální a pro zhodnocení celkového dojmu hraje podstatnou roli osobní preference asesora. Obecně byly letní směsi hodnoceny po šesti měsících skladování jako příliš kyselé. Z poznámek hodnotitelů též vyplynulo negativní hodnocení textury, ačkoliv nebyla zahrnuta do dotazníku. Výsledkem je doporučení skladovat směs maximálně 3 měsíce, pokud je postavena na plodové zelenině, jako jsou rajčata, papriky a cuketa. Pro směsi, jejichž základem je zelí (podzimní a zimní), lze na základě ochutnávky doporučit konzumaci bez obtíží po dobu šesti měsíců od fermentace.
Testovali jsme tři možné přístupy, jak dodat do základní směsi ostrou chuť. V případě letní směsi jsme využili sezónní nabídky pálivých zeleninových paprik a použili je přímo k tvorbě směsi. Průběh kysání nebyl ovlivněn a ostrá chuť přetrvala po fermentaci i po skladování 3 měsíce (letní směs). V případě podzimní směsi jsme pro ostrou variantu nakrájeli čerstvé chilli papričky a vmíchali je do připravené směsi. Fermentace nebyla ovlivněna, ale ostrá chuť se téměř neprojevila. Zvolené množství bylo zřejmě příliš malé, a protože byly papričky pouze nasekány, nedošlo k dostatečnému uvolnění kapsaicinu. Pálivá chuť se neprojevila ani po skladování. Do zimní směsi jsme využili přirozeně ostrých surovin (křen), ale protože jeho ostrost časem rychle klesá, otestovali jsme též přídavek chilli papriček ve formě tekutého extraktu – tabasco. Forma extraktu se nám jevila jako vhodnější pro přímé rozptýlení. Při senzorické analýze před a těsně po fermentaci byla hodnocena jako mírně pálivá i směs bez přídavku chilli a směs s přídavkem už jednoznačně jako pálivá. Bohužel extrakt způsobil prodloužení lag-fáze (doba před počátkem fermentace). Směs s přídavkem tabasca začala kvasit o týden později než identická směs bez přídavku. Tento efekt nejsme schopni uspokojivě vysvětlit, protože na výrobku nebyly deklarovány žádné konzervační látky, pouze sůl a kvasný ocet. Přídavek octa se výrazněji neprojevil na výchozím pH směsi, oproti jemné verzi bez přídavku činil rozdíl 0,54 a celkové pH směsi bylo nad požadovanou hodnotou prokysání. Příspěvek soli též nezvedl celkový obsah mimo běžné limity (přibližně 0,5% již dodané soli).
Jednotlivé směsi se liší složením i typem zpracované zeleniny, což má na obsah polyfenolů zásadní vliv. Fermentace měla na směs postavenou na měkké letní zelenině z hlediska obsahu polyfenolů minimální vliv, hladina zůstala stejná, nebo se lišila jen o 6%. U směsí obsahujících výrazný podíl zelí a kořenové zeleniny se fermentace projevila podstatným vzrůstem obsahu polyfenolů. U podzimní směsi došlo v průběhu skladování k nárůstu obsahu polyfenolů o 43% u obou variant (jemná i ostrá). U zimní směsi tento parametr po šesti měsících skladování

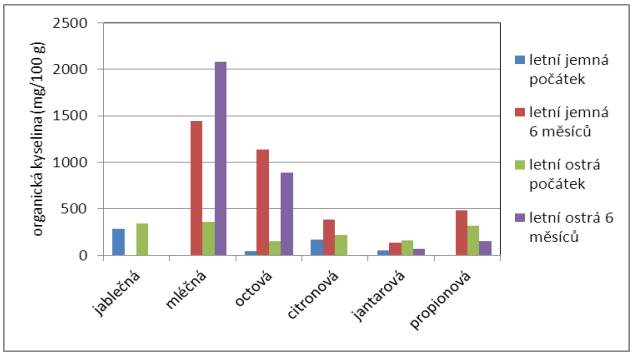
vzrostl o přibližně 20% oproti zaočkované, ale nevykvašené směsi zeleniny. Změnu obsahu polyfenolů ilustruje graf 2.

Graf 2: Obsah celkových polyfenolů na počátku a konci skladovací doby (6 měsíců) pro jednotlivé směsi

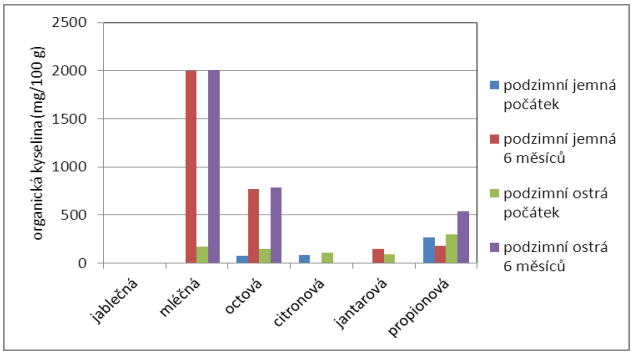


Rozbor potvrdil přítomnost organických kyselin v jednotlivých směsích před fermentací. V letní směsi se objevují kyseliny jablečná, mléčná, octová, jantarová i propionová, ale pouze v množství menším než 500 mg/100g směsi. Po fermentaci vzrostl obsah hlavně kyseliny mléčné, která je dominantním produktem fermentace, tak i kyseliny octové na téměř šestinásobek. Ostatní sledované kyseliny buď vymizely, nebo se jejich obsah významněji nezměnil, jak dokládá graf 3.

Graf 3: Obsah organických kyselin před fermentací a na konci pokusné skladovací doby v letní směsi

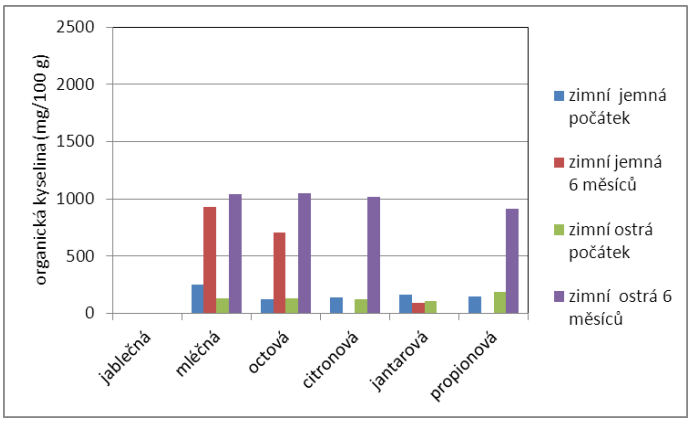


Graf 4: Obsah organických kyselin před fermentací a na konci pokusné skladovací doby v podzimní směsi



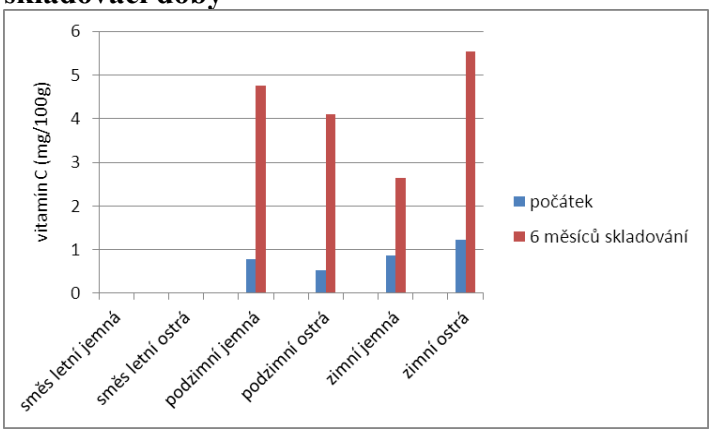
Obsah organických kyselin v podzimní směsi před fermentací byl nízký. Byla detekována přítomnost kyseliny octové, citronové a propionové, ale menší než 500 mg v 100 g vzorku. Ve vzorku skladovaném 6 měsíců je obsah kyseliny mléčné a octové násobně vyšší než na počátku (11x pro mléčnou a 5x pro octovou kyselinu), což potvrzuje, že proces mléčné fermentace proběhl úspěšně a je ve svém výsledku dostatečně stabilní. V zimní směsi jsme pozorovali obdobný efekt. Výsledky ukazují grafy 4 a 5.

Graf 5: Obsah organických kyselin před fermentací a na konci pokusné skladovací doby v zimní směsi



Obsah vitamínu C ve vzorcích shrnuje graf 6. V případě letní směsi v obou variantách byl obsah stanoven pod hranicí možnosti detekce zvolenou metodou (limit je 0,5 mg/100g).

Graf 6: Obsah vitamínu C v zeleninových směsích před fermentací a na konci pokusné skladovací doby



Diskuze

Mikrobiologický rozbor potvrdil, že na konci doby skladování byly ve směsi mléčné bakterie přítomny v řádech 10^6 v jednom gramu. Tím pádem při velikosti běžné porce 50 gramů dostane konzument dávku $5*10^7$. Jedná se o bakterie silně adaptované na nízké pH a anaerobní prostředí, tudíž s velkou pravděpodobností schopné průchodu trávicím traktem až do cílového prostoru tlustého střeva. O jeden řád nižší počet mikroorganismů jsme stanovili v zimní směsi - 10^4. To ovšem neznamená, že by tato směs byla méně hodnotná. Z předchozích zkušeností víme, že červená řepa podporuje pomalejší rozvoj mikroflóry a pozorovali jsme aktivitu přítomných mikroorganismů i v průběhu dalšího skladování přesahující 6 měsíců. Stanovený

celkový počet mikroorganismů je nižší než počet mléčných bakterií, protože obecné medium (Nutrient agar) neposkytuje dostatečné podmínky pro rozvoj bakterií rodu *Lactobacillus*. Tento výsledek je velmi potěšitelný, protože ukazuje, jak významně dokáže prostředí fermentované zeleniny chránit produkt před rozvojem okolní mikroflóry. Určitý počet mikroorganismů jiných, než rodu *Lactobacillus,* je běžný a dokonce žádoucí, protože zvětšuje rodovou pestrost kultury a tím šanci, že se zde uplatní ceněné bakterie s probiotickou aktivitou. Jako velmi pozitivní vnímáme nepřítomnost bakterií ze skupiny koliformních mikroorganismů. V našich podmínkách to ovšem pouze indikuje pečlivou práci s dodržením všech hygienických zásad a vysokou kvalitu vstupní zeleniny.

Hodnocení zkušeností s uplatněním pálivé chuti umožňuje rozšířit využití fermentované zeleniny z pozice přílohy (salátu) na chuťovku a značná část populace variantu s pálivou chutí jednoznačně preferuje. Tradiční kimchi, které je pro mnoho lidí ikonou fermentované zeleninové směsi, se ostrou chutí vyznačuje. Velmi zajímavým efektem je vliv pálivé chuti na vnímání slané chuti fermentované zeleniny. Ve většině případů byla intenzita slané chuti hodnocena identicky, ale v několika případech došlo k hodnocení pálivé varianty jako slanější než varianta jemná (v celkovém výsledku bez statistické významnosti). Tento efekt je využívaný ve výživových doporučeních majících za cíl snížení příjmu soli v potravě a doporučující nahradit sůl kořením.

Obsah organických kyselin je součástí chuťové bohatosti ovoce i zeleniny. Zároveň se jedná o značně proměnlivou vlastnost, protože závisí jednak na druhu použité zeleniny, ale i na stupni zralosti, případně době skladování. Většina organických kyselin se úspěšně zapojuje do metabolismu a krátké mastné kyseliny (SCFAs – short-chain fatty acids) jsou dokonce studovány jako důležitá složka ovlivňující lidské zdraví. Zdraví a SCFAs jsou obvykle spojovány spíše s produkcí uvnitř tlustého střeva a konzumací vlákniny, případně přímo prebiotik. Fermentovaná zelenina je v tomto směru velmi zajímavá, protože obsahuje všechny zmiňované složky – vlastní kyseliny (obvykle octová a propionová), vlákninu i mikroorganismy. Zajímavý je nárůst obsahu kyseliny citronové v ostré variantě zimní směsi, který zatím nedokážeme uspokojivě interpretovat. Významným výsledkem je nárůst obsahu kyseliny propionové v ostré směsi, jak v podzimní, tak v zimní směsi na přibližně dvojnásobek. Kyselina propionová se jednak řadí do skupiny prospěšných mastných kyselin s krátkým řetězcem (SCFAs) a jednak se podílí na výsledném aromatu. Jedná se produkt bakterií mléčného kvašení a přirozeně se vyskytuje například v sýrech typu ementál.

I když to vypadá, že se obsah během skladování zvýšil, stále je vitamínu C příliš málo, aby se fermentovaná zelenina dala považovat za jeho relevantní zdroj ve výživě. Námi naměřené hodnoty se pohybují v řádu jednotek mg na 100g zeleniny. Deklarované množství vitamínu C v čerstvé zelenině se pohybuje v řádu desítek miligramů (rajče, zelí, cuketa) až v hodnotách přes 100 mg na 100g zeleniny u papriky. Některá použitá zelenina má přirozeně nízký obsah vitamínu C. Je to mrkev, červená řepa a cibule, které obsahují pouze jednotky miligramů na 100 gramů zeleniny.

Závěr

Produkce zeleniny je v našich zemích do značné míry limitována klimatickými podmínkami a je výrazně sezónní. Pro uplatnění produkce na trhu existují další limitující faktory od skladování, dopravy až po limitující podmínky některých distributorů. Přímé zpracování zeleniny v místě produkce pomocí fermentace mléčnými bakteriemi je nástroj, jak zhodnotit i produkci nestandardního vzhledu. Fermentace dokáže produkt efektivně a šetrně konzervovat s ohledem na biologicky aktivní látky. V neposlední řadě je fermentovaný produkt bohatý na živé kultury z rodu mléčných bakterií. Vzhledem k narůstajícímu zájmu o zdravou výživu,

může být ceněnou alternativou mléčných výrobků z hlediska konzumace potenciálně probiotických bakterií. Tento poznatek je v souladu s doporučeními mezinárodní organizace pro probiotika a prebiotika, která označila fermentované potraviny za vhodný zdroj hodnotných bakterií (Marco et al., 2021)

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu výzkumné infrastruktury METROFOOD-CZ, grant MŠMT: LM2018100 a Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO0318.

Literatura

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 microflora: history, current status, and perspectives for industrial kimchi production. Appl Microbiol Biotechnol 98, 2385-2393.

Marco M. L., Sanders M. E. 2, Gänzle M., Arrieta M. C., Cotter P. D., De Vuyst L., Hill C., Holzapfel W., Lebeer S., Merenstein D., Reid G., Wolfe B. E., Hutkins R., 2021. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on fermented foods. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, https://doi.org/10.1038/s41575-020-00390-5

Zielińska D., Kołożyn-Krajewska D., 2018. Food-Origin Lactic Acid Bacteria May Exhibit Probiotic Properties: Review. Biomed. Res. Int. Vol. 2018, Article ID 5063185.

Kontaktní adresa:

Ing. Eliška Kováříková, Ph.D.
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i.
Radiová 1285/7
102 00 Praha 10 – Hostivař
email: eliska.kovarikova@vupp.cz

Vliv ročníku na obsah tuku v semenech odrůd olejného lnu

Influence of the year on fat content in seeds of oil flax varieties

Bjelková M.

Agritec Plant Research s.r.o., Zemědělská 2520/16, Šumperk

Abstrakt

Příspěvek charakterizuje výsledky obsahu tuku v semenech olejného lnu. Olejný len (*Linum usitatissimum* L.) je v současnosti olejnatá plodina, která představuje nejen alternativu pro systémy pěstování (osevní sledy), ale také excelentní potravinový doplněk. Semena obsahují kvalitní olej, který spotřebitelé, stále více oceňují. Příspěvek hodnotí obsah oleje u odrůd olejného lnu v různých pěstitelských letech.
Klíčová slova: olejný len, výnos

Abstract

The paper characterizes the results of fat content in oil flax seeds. Oil flax (Linum usitatissimum L.) is now a traditional oil crop, which is not only an alternative to cultivation systems (sowing sequences), but also an excellent food supplement. The seeds contain quality oil, which is increasingly appreciated by consumers. The paper evaluates the oil content of oil flax varieties in different growing years.
Keywords: linseed, yield

Úvod

Olejný len (*Linum usitatissimum* L.) je v současnosti tradiční olejnatá plodina, která představuje alternativu pro systémy pěstování a je stále více oceňován spotřebiteli a průmyslem od potravinářství až po chemický. Olejný len má vysokou adaptační schopnost na nepříznivé podmínky prostředí, které umožňují expanzi obdělávané půdy za různých agroekologických podmínek. Abychom dosáhli vysokého výnosu a kvality lněného oleje, je nutné to pochopit faktory vlivu. Literární zdroje uvádí, že chladné podnebí má obvykle za následek vysoký obsah oleje a nízký obsah bílkovin v semenech [Čeh et all; 2020)]. Kvalita a množství semen jsou ovlivněny odrůdou, vegetačním obdobím, geografickou polohou a agronomickými vstupy. Povětrnostní podmínky (teplota a režim srážek) mohou mít také důležitý vliv na výnos a kvalitu produkovaných semen. Výlisky ze lněných semen mají vysokou energetickou hodnotu:13,73 MJ a 287 g stravitelných bílkovin; navíc složením bohaté na mikroživiny a vitamíny. Tuky, které zůstávají ve výliscích po destilaci oleje, vykazují všechny prospěšné vlastnosti lněného oleje. Semena různých odrůd olejného lnu se liší svými nutričními a antinutričními vlastnostmi.

Materiál a metody

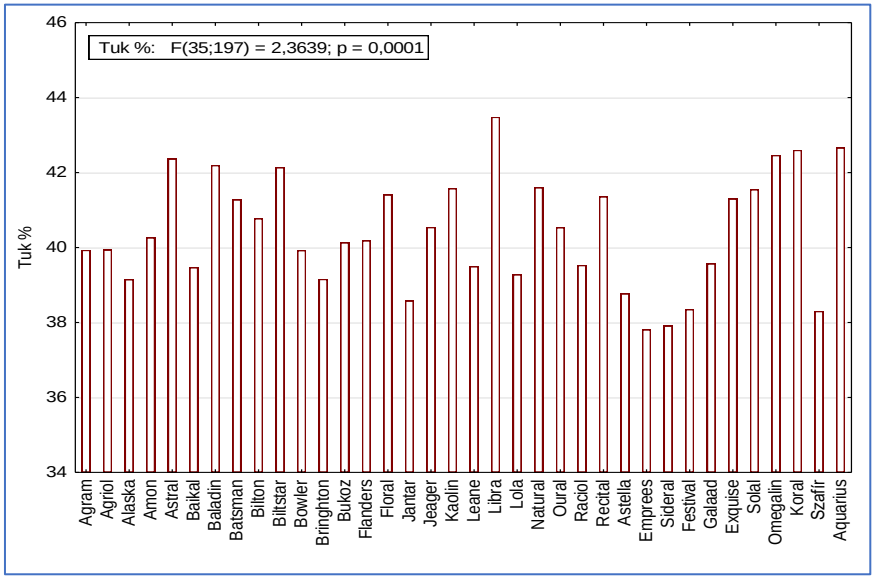
V letech 2015 – 2020 byly založeny experimenty s odrůdami olejného lnu, které jsou zařazeny v Katalogu odrůd druhů zemědělských plodin EU. Pěstitelská technologie byla vedena dle platné metodické příručky pro pěstování olejného lnu (zdroj Agritec). Před sklizní byl proveden odběr vzorků rostlin a tyto byly podrobeny laboratorním analýzám, kde byly hodnoceny kvalitativní technologické parametry semen po vyčištění. U semen byla 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

Z pětiletých výsledků je zřejmá statisticky významná variabilita v obsahu tuku v semeni u jednotlivých odrůd olejného lnu, jak ukazuje graf 1 a tabulka 1. Nejnižších výsledků bylo dosaženo u francouzských odrůd Emprees a Sideral, dále u odrůd Szafír, Jantar a Alaska. Naopak nejvyšší obsah tuku byl zjištěn u odrůdy Libra, jehož produkce byla jednoznačně nejvyšší v každém pěstitelském roce. Vysoké obsahy tuku byly také zjištěny u odrůd Aquarius, Omegalin a Koral. V sortimentu byly zařazeny odrůdy zařazené do všech tří skupin dle obsahu kyseliny alfa linolenové a dle tohoto členění byl nejvyšší obsah tuku jednoznačně zjištěn u odrůd s klasickým (vysokým) obsahem, kdy variabilita mezi vysokolinolenovou skupinou a ostatními vykazovala statistickou průkaznost. Jak ukazuje tabulka 2, průměrná výše produkce semen nekorespondovala s obsahem tuku a nejvyšší průměrný výnos semen za období 2015 – 2020 byl zjištěn u odrůdy Agram (2,955 t.ha^{-1}), ale její obsah tuku byl mírně vyšší. Podobné výsledky byly analyzovány i u odrůdy Batsman a Raciol. Tyto výsledky ukazují, že obsah tuku v semeni je u jednotlivých odrůd dám geneticky. Jeho výše je ovlivnitelná ročníkem pěstování, ale vždy se bude pohybovat v rámci svých schopností produkce oleje. Toto tvrzení podporují i jiní autoři (Čeh et all; 2020), jejichž výzkum prokázal, že průměrný výnos oleje a jeho obsah v sušině osiva se velmi lišil v závislosti na zdroji materiálu (odrůdy, linie a populace). Při hodnocení obsahu tuku v semenech v jednotlivých letech byla zjištěna statisticky významná variabilita, kdy nejvyšší obsah tuku byl zjištěn v roce 2019 (44,89 %) a nejnižší v roce 2018 (39,25 %), jak ukazuje graf 3 a tabulka 3. Bez zajímavostí nejsou také korelační vztahy mezi některými obsahovými parametry semen olejného lnu. V tabulce 4 tyto vzájemné vazby ukazují například na vliv vlhkosti semen při sklizni a obsahem tuku (r=-0,31), jehož hodnota vykazuje nižší zápornou průkaznou korelaci. Průkazné, ale nižší záporné korelace byly zjištěny mezi obsahem tuku a mastnými kyselinami mimo kyseliny alfa linolenové, kdy byla zjištěna opět průkazná nižší korelace, ale pozitivní (tabulka 4).

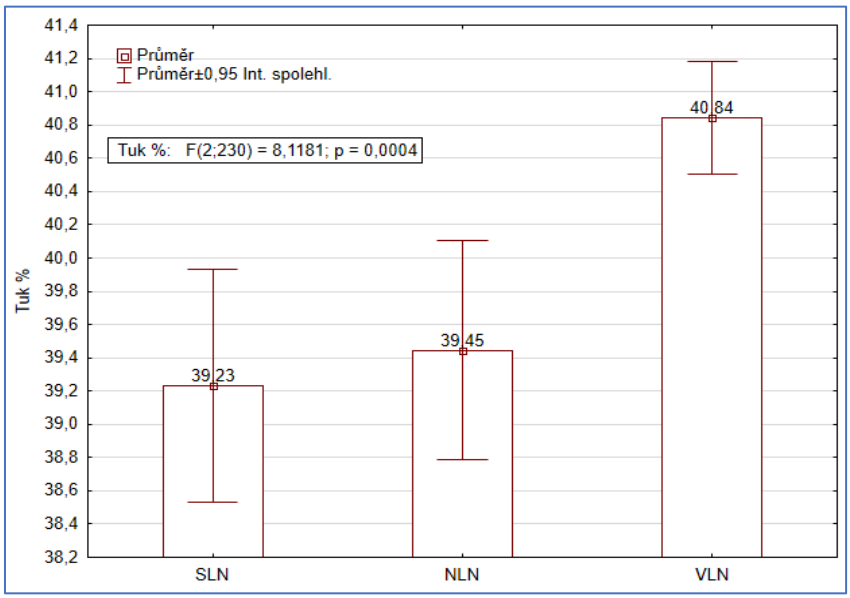
Graf 1: Obsah tuku (oleje) v semenech u odrůd olejného lnu



Tabulka 1: Jednofaktorová statistická analýza (ANOVA) obsahu tuku u odrůd olejného lnu

Efekt	Stupně volnosti	Tuk % SČ	Tuk % PČ	Tuk % F	Tuk % p
Abs. člen	1	152370,7	152370,7	34661,84	0,000000
Identifikátor vzorku	35	363,7	10,4	2,36	0,000110
Chyba	197	866,0	4,4		
Celkem	232	1229,7			

Graf 2: Obsah tuku (oleje) v semenech u skupin olejného lnu dle obsahu kyseliny alfa linolenové



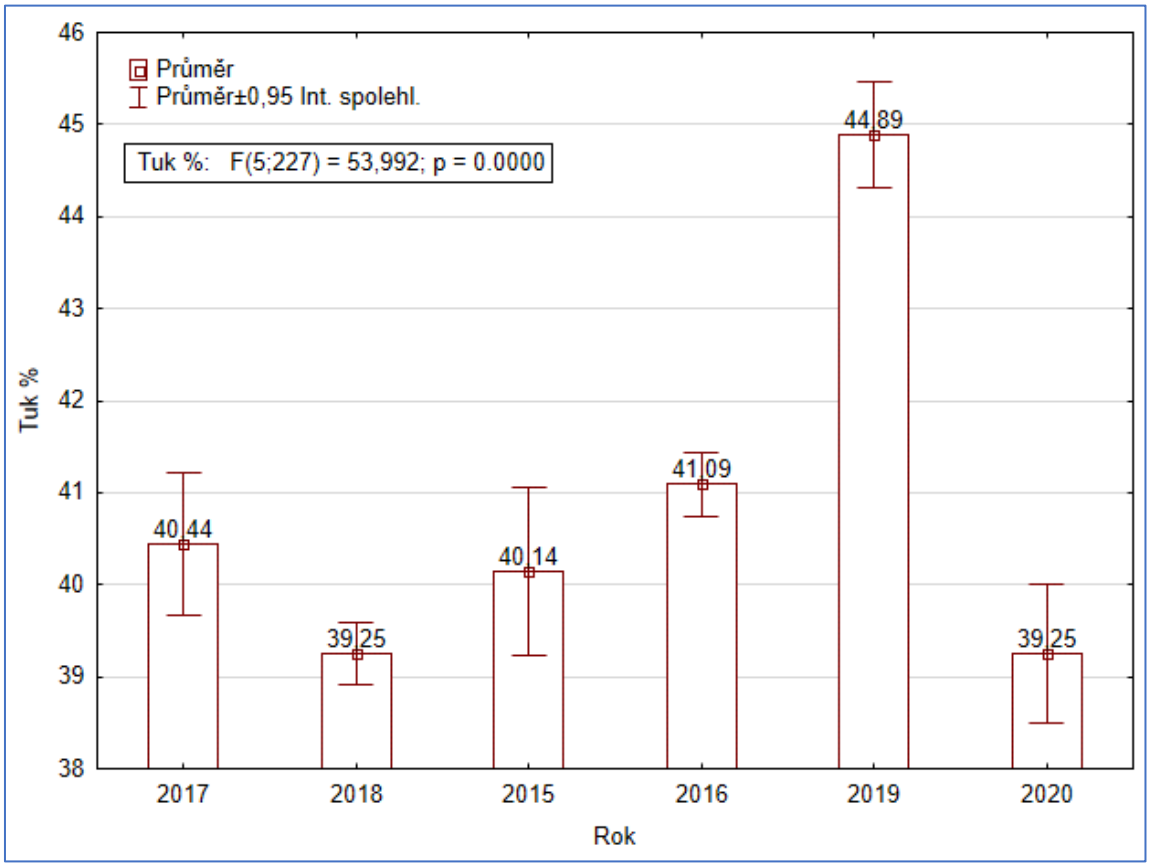
Pozn.:
SLN – odrůdy se středním obsahem kyseliny alfa linolenové
NLN – odrůdy s nízkým obsahem kyseliny alfa linolenové
VLN – odrůdy s vysokým obsahem kyseliny alfa linolenové

Tabulka 2: Průměrný obsah tuku a výnos semen u odrůd olejných lnů (2015 – 2020)

Odrůda	Obsah tuku/oleje (%) Studentův t-test=0,05 PČ = 4,3959, sv = 197,00	Výnos semen (t.ha^{-1})
Emprees	37,81^{abcdef}	0,749
Sideral	37,91^{abcdef}	0,712
Szafír	38,30^{abcdefg}	0,752
Festival	38,35^{abcdefg}	0,234
Jantar	38,58^{a}	2,107
Astella	38,77^{abcdefg}	1,422
Alaska	39,15^{ab}	2,314
Bringhton	39,16^{ab}	2,647
Lola	39,28^{abd}	2,445

Baikal	39,47^{abcd}	2,356
Leane	39,49^{abcd}	2,303
Raciol	39,53^{abcd}	2,761
Galaad	39,57^{abcdefgh}	1,329
Bowler	39,93^{abcde}	2,326
Agram	39,93^{abcdef}	2,955
Agriol	39,94^{abcde}	2,583
Bukoz	40,134^{abcde}	2,669
Flanders	40,19^{abcde}	2,518
Amon	40,27^{abcdef}	2,464
Oural	40,54^{bcdefg}	2,542
Jeager	40,54^{bcdefg}	2,485
Bilton	40,77^{bcdefg}	2,333
Batsman	41,28^{cefg}	2,841
Exquise	41,30^{abcdefgh}	0,743
Recital	41,36^{cefg}	2,494
Floral	41,41^{cdefgh}	2,483
Solal	41,55^{abcdefgh}	1,255
Kaolin	41,58^{efg}	2,429
Natural	41,60^{efgh}	2,303
Biltstar	42,14f^{gh}	2,653
Baladin	42,19^{fgh}	2,441
Astral	42,37^{gh}	1,962
Omegalin	42,467^{abcdefgh}	1,394
Koral	42,607^{abcdefgh}	2,111
Aquarius	42,667^{abcdefgh}	1,302
Libra	43,487^{h}	2,529

Graf 3: Obsah tuku s semenech olejného lnu v jednotlivých pěstitelských letech



Tabulka 3: Jednofaktorová statistická analýza (ANOVA) obsahu tuku u olejného lnu v pěstitelských letech 2015 - 2020

Efekt	Stupně volnosti	Tuk % SČ	Tuk % PČ	Tuk % F	Tuk % p
Abs. člen	1	288930,6	288930,6	116766,0	0,00
Rok	5	668,0	133,6	54,0	0,00
Chyba	227	561,7	2,5		
Celkem	232	1229,7			

Tabulka 4: Korelační vztahy mezi obsahy vybraných parametrů olejného lnu

Proměnná	Korelace (Olejný len, odrůdy, roky pěstování 2015 - 2020) Označ. korelace jsou významné na hlad. p < ,05000 N=176					
	Tuk %	Kyselina palmitová %	Kyselina stearová %	Kyselina olejová %	Kyselina linolová %	Kyselina alfa linolenová %
Vlhkost %	-0,31	0,02	-0,30	0,07	0,11	-0,11
Tuk %		-0,17	-0,28	-0,34	-0,30	0,37
Palmitová %			-0,23	-0,20	0,51	-0,51
Stearová %				0,51	-0,38	0,29
Olejová %					-0,26	0,11
Linolová %						-0,99

Závěr

Odrůdy olejného lnu pěstované 5let (2015 a 2020) v našich podmínkách a sledované v polních pokusech s cílem poskytnout pohled na obsah tuku, respektive oleje s ohledem na odrůdu ukazují na výrazný vliv odrůdy a roku produkce. Z výsledků naší studie lze usoudit, že faktor prostředí může pozitivně nebo negativně ovlivnit nejen výnosy semen, ale také obsah tuku. Nicméně obsah tuku je výrazně geneticky ovlivněn samotnou odrůdou.

Dedikace

Příspěvek vznikl v rámci řešení výzkumného projektu MZe RO1019 a MZe NAZV QJ1910302.

Použitá literatura

Čeh, B.; Štraus, S.; Hladnik, A.; Kušar, A. Impact of Linseed Variety, Location and Production Year on Seed Yield, Oil Content and Its Composition. Agronomy 2020, 10, 1770. https://doi.org/10.3390/agronomy10111770.

Klein, J.; Zikeli, S.; Claupein, W.; Gruber, S. Linseed (Linum Usitatissimum) as an Oil Crop in Organic Farming: Abiotic Impacts on Seed Ingredients and Yield. Org. Agric. 2016, 7, 1–19.

Worku, N.; Heslop-Harrison, J.S.; Adugna, W. Diversity in 198 Ethiopian Linseed (Linum Usitatissimum) Accessions Based on Morphological Characterization and Seed Oil Characteristics. Genet. Res. Crop Evol. 2015, 62, 1037–1053.

Anastasiua, A.E.; Chira, N.A.; Banub, I.; Ionescuc, N.; Stana, R.; Roscaaa, S.I. Oil Productivity of Seven Romanian Linseed Varieties as Affected by Weather Conditions. Ind. Crops Prod. 2016, 86, 219–230.

Kontaktní adresa:

Ing. Marie Bjelková, Ph.D.,
Agritec Plant Research s.r.o.,
Zemědělská 2520/16, Šumperk;
bjelkova@agritec.cz

Vyhodnocení odolnosti generativních orgánů odrůd a perspektivních genotypů meruňky k mrazům v průběhu jejich jarní ontogeneze

Evaluation of the resistance of generative organs of varieties and promising genotypes of apricots to frost during their spring ontogenesis

Bilavčík A., Faltus M., Zámečník J.

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

Abstrakt

U rostlin vystavených podnulové teplotě dochází k ledové krystalizaci. Pomocí infračervené termografie byl vizualizován průběh ledové krystalizace a detekováno poškození generativních orgánů meruňky ve fenofázi počátku rašení, červeného kalichu a květu s posouzením odolnosti vybraných odrůd a perspektivních genotypů. Na oddělených květech meruňky byly otestovány ochranné protimrazové postřiky na bázi kryoprotektivních složek. Postřiky na bázi glycerolu a kyseliny borité vykazovaly zvýšení odolnosti květů meruňky vůči mrazu. Získané výsledky umožní efektivnější rozhodování v procesu ochrany generativních orgánů meruňky k pozdním jarním mrazíkům.

Klíčová slova: meruňka, infračervená termografie, ledová krystalizace, mrazové poškození, generativní pupeny

Abstract

Ice crystallisation occurs in plants exposed to sub-zero temperature. Using infrared thermography, the course of ice crystallization was visualized and damage to the generative organs of apricot in the phenophase of swollen bud, red calyx and bloom was detected with an assessment of the resistance of selected varieties and promising genotypes. Protective antifreeze sprays based on cryoprotective components were tested on separate apricot blossoms. Sprays based on glycerol and boric acid showed an increase in frost resistance of apricot blossoms. The obtained results will enable better decision-making in the process of protection of generative apricot organs to late spring frosts.

Key words: apricot, infrared thermography, ice crystallisation, frost damage, generative buds

Úvod

Ovocné dřeviny patří k tradiční plodině pěstované v naší zemi. Dříve se pěstovaly především pro kulinářské využití jejich plodů. V posledních staletích však byla zjištěna nezastupitelná role ovoce, jakožto zdroje nepostradatelných látek pro zdravý vývoj člověka. V současnosti začíná nabývat na významu téma poškozování ovocných dřevin mrazy (Ludvík 2017), především v souvislosti se probíhajícími změnami klimatu, jako celkovým oteplováním, většími výkyvy teplot a dřívějšímu nástupu vegetace (Litschmann a kol., 2017). Toto téma je důležité především při pěstování teplomilných druhů ovocných dřevin, jako je meruňka. Významné je nejen ve stávajících oblastech pěstování, ale také v souvislosti s měnícím se klimatem v nových, dříve pro meruňku nepoužitelných, či okrajových oblastech a lokalitách. Působením nízkých teplot dochází v rostlinných pletivech a orgánech k ledové krystalizaci. Ve vegetačním stavu může být vystavení podnulovým teplotám pro rostlinná pletiva a orgány letální. Příčinu mrazového poškození, ledovou krystalizaci v dané struktuře bylo dříve možné pozorovat přímo, např. pomocí magnetické rezonance (Ishikawa a kol., 1997), či nepřímo, pomocí nízkoteplotní elektronové mikroskopie (Ashworth 1990), či termických metod jako je diferenční termická analýza, či diferenční skenovací kalorimetrie. V poslední době se v souvislosti s rychlým rozvojem výpočetní techniky a elektroniky objevuje při sledování mrazového poškození u rostlin perspektivní infračervená termografie (Wisniewski a kol., 1997, Livingston a kol.,

2018). Infračervená termografie je vědní obor zabývající se bezkontaktním sledováním teploty na povrchu těles. Tato technika umožňuje vizualizaci teplotních změn u těles v teplotách od -40 °C. Pomocí vhodného softwarového vybavení jsou získané termogramy vyhodnocovány v časové ose. V případě, že dojde ke změně teploty vystaveného materiálu, je možné sledovat jeho teplotní odezvu v reálném čase. Díky tomu je možné vizualizovat a analyzovat krystalizaci ledu a jeho tání protože v těchto případech dochází k vytvoření teplotního rozdílu mezi sledovaným objektem a okolním prostředím, který termokamera vizualizuje a vhodný SW zachytí. Termokamery jsou, především v oblasti detekce rozdílů teplot, velmi citlivé a jejich detekční rozlišení se pohybuje v řádech setin stupňů Celsia.
Zatímco bazální zimní mrazuvzdornost květních pupenů meruňky dosahuje v závislosti na průběhu zimy k hodnotám v rozsahu -19,5 až -25 °C (Szalay a kol., 2012), tak jejich v průběh jarní ontogeneze jejich odolnost klesá a v období plného květu se pohybuje v rozmezí několika stupňů pod nulou (Proebsting a Mills, 1978). Pro ochranu generativních orgánů meruňky v průběhu kvetení lze využít různých způsobů pasivní a aktivní ochrany. Práce je zaměřena na protimrazové postřiky, které by působily několik dní, případně hodin po jejich aplikaci. Tento způsob by byl pro použití v ovocnářské praxi efektivním postupem, protože současné metody využití ohřevu např. pomocí zapálených svící jsou nákladné finančně, časově i personálně, kontinuální postřik vodou pro udržení teploty na bodu mrazu díky uvolňování latentního tepla při jejím mrznutí vyžaduje vysoké vstupní investiční náklady a především značné zásoby ne vždy dostupné vody. Obdobně využití tvorby mlhy s cílem vytvoření teplotního štítu proti vyzáření tepla z půdy lze efektivně využít jen ve specifických případech, za bezvětří a v případě, že je země v sadu dostatečně zahřátá z předchozích dnů. V literatuře se objevují práce s aplikacemi různých chemických látek pro zvýšení mrazuvzdornosti (Zilkah kol. 1996, Fuller a kol. 2003). Proto bylo navrženy k otestování ochranné protimrazové postřiky na základě kryoprotektivního působení jejích složek a dle literárních studií (Wolfel a Noga, 1998; Raisanen a kol., 2006; Fuller a kol., 2003). Znalost mrazuvzdornosti konkrétních stádií generativních orgánů meruněk, i v závislosti na genotypu, je nezbytná, aby se předešlo rizikům v určitých pěstitelských oblastech, kde mohou nastat mrazové jevy. Cílem této práce bylo, pomocí perspektivních metod detekce a vizualizace ledové krystalizace v rostlinných orgánech vyhodnotit vybrané odrůdy a perspektivní genotypy meruňky na odolnost k mrazu v průběhu jarní ontogeneze a otestovat postřiky na kryoprotektivní bázi pro oddálení mrazového poškození květů meruňky.

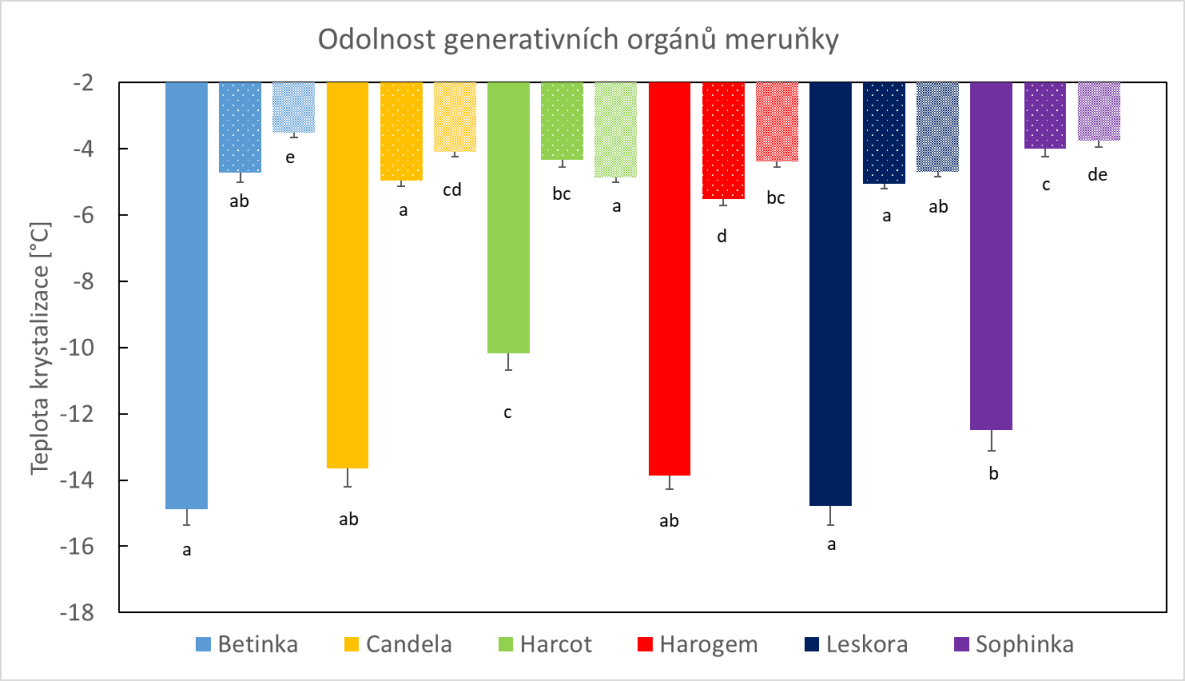
Materiál a metody

Rostlinný materiál byl odebíraný v průběhu předjarního a jarního období ze sadů VŠÚO Holovousy a Petra Buřila, Horní Beřkovice. Byly použity generativní orgány z jednoletých dormantních výhonů meruňky (*Prunus armeniaca* L. var. *armeniaca*) následujících odrůd: ‘Betinka‘, ‘Candela‘, ‘Harcot‘, ‘Harogem‘, ‘Leskora‘ a ‘Sophinka‘. Výběr byl proveden tak, aby byla zastoupena hlavní produkční odrůda v ČR (‘Leskora‘), odolné Kanadské odrůdy (‘Harcot‘, ‘Harogem‘) a perspektivní šlechtění z ČR (‘Betinka‘, ‘Candela‘ a ‘Sophinka‘). Z předchozích zkušeností a experimentů, byly pro pokusy vybrány fenofáze vývoje generativního pupene s ohledem na zachycení celého rozsahu vývoje; od fenofáze počátku rašení pupene, červeného kalichu s lehce viditelnou špičkou korunních lístků po fenofázi plného květu. Pro měření krystalizační aktivity (teploty krystalizace) byly použity průměrně 20 cm dlouhé jednoleté výhony s generativními orgány v celkovém počtu průměrně 20 jedinců. Pro protimrazové ochranné postřiky navrženy a použity následující vodné roztoky: GT (50 g l^{-1} glycerol, 2,5 g l^{-1} α-tokoferol), GTB (50 g l^{-1} glycerol, 2,5 g l^{-1} α-tokoferol, 5 g l^{-1} kyselina boritá), GTB (50 g l^{-1} glycerol, 2,5 g l^{-1} α-tokoferol, 5 g l^{-1} kyselina boritá), GTBCMC (50 g l^{-}

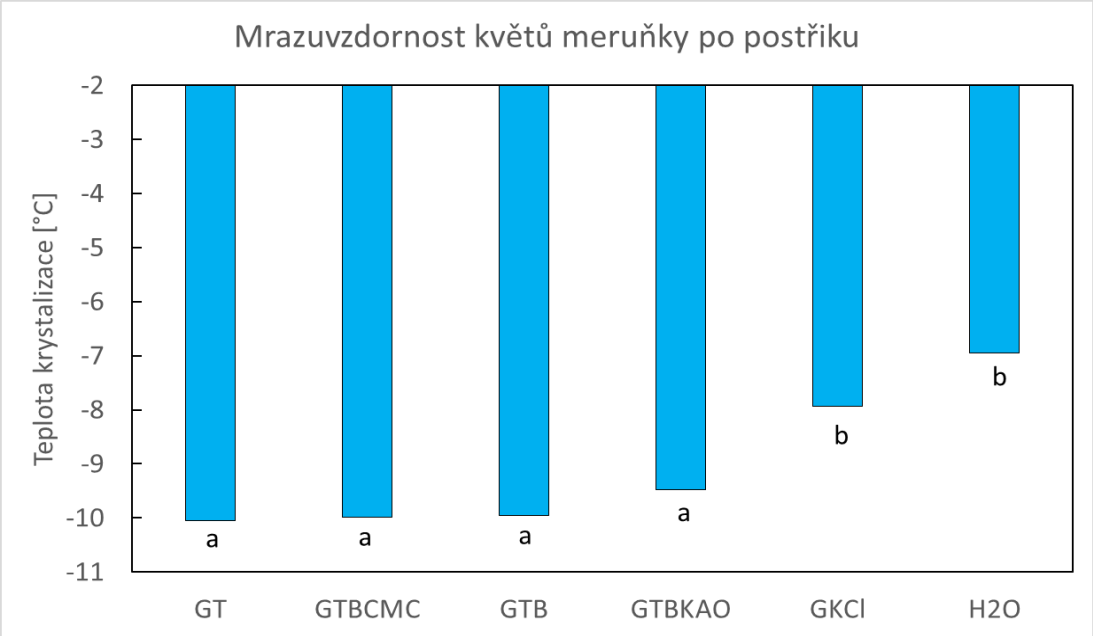
^{1} glycerol, 2,5 g l^{-1} α-tokoferol, 5 g l^{-1} kyselina boritá, 5 g l^{-1} karboxymethlycelulóza), GTBKAO (50 g l^{-1} glycerol, 2,5 g l^{-1} α-tokoferol, 5 g l^{-1} kyselina boritá, 60 g l^{-1} kaolin), GKCl (50 g l^{-1} glycerol, 10 g l^{-1} KCl) a kontrolní vzorek H_2O (vodovodní voda). U všech roztoků kromě kontroly bylo přidáno smáčedlo Velocity (1 ml l^{-1}). Po přibližně 24 hodinovém ponechání působení postřiku byly tři sady květů po 10 kusech odlomeny z výhonu a byla změřena jejich krystalizační aktivita. Krystalizační aktivita byla u vzorků měřena tak, že byl rostlinný materiál umístěn na filtrační papír, který byl položen na měděnou podložku umístěnou v pultovém mrazicím boxu s počítačem řízeným regulátorem s poklesem teploty 0,5 °C min^{-1}. Přesná teplota na měděné podložce byla kontrolně zaznamenávána 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 30 fps. Záznam termokamery a následné vyhodnocení bylo provedeno pomocí SW Workswell CorePlayer Beta. Naměřená data, teploty krystalizace, byla pomocí SW vizuálně odečtena a zpracována pomocí statistického software Statistica 7.0 (StatSoft).

Výsledky

V průběhu chlazení byla u prýtů s generativními pupeny ve fenofázi počátku rašení zaznamenána nejvyšší krystalizační atkivita u odrůdy ‘Harcot‘, -10,2 °C. Poté následovaly odrůdy ‘Sophinka‘ (-12,5 °C), ‘Candela‘ (-13,6 °C), ‘Hragrand‘ (-13,9 °C), ‘Leskora‘ (-14,8 °C) a nejnižší krystalizační aktivitu měla odrůda ‘Betinka‘ s hodnotami ledové krystalizace -14,9 °C. V průběhu chlazení byla u větviček s generativními pupeny ve fenofázi červeného kalichu zaznamenána nejvyšší krystalizace u odrůdy ‘Sophinka‘, -4,0 °C. Poté následovaly odrůdy ‘Harcot‘ (-4,3 °C), ‘Betinka‘ (-4,7 °C), ‘Candela‘ (-5,0 °C), Leskora (-5,1 °C) a nejnižší krystalizační aktivitu měla odrůda ‘Harogem‘ s hodnotami ledové krystalizace -5,5 °C. V průběhu chlazení byla u větviček s generativními pupeny ve fenofázi květu zaznamenána nejvyšší krystalizace u odrůdy ‘Betinka‘, -3,5 °C. Poté následovaly odrůdy ‘Sophinka‘ (-3,8 °C), ‘Candela‘ (-4,1 °C), ‘Harogem‘ (-4,4 °C), Leskora (-4,7 °C) a nejnižší krystalizační aktivitu měla odrůda ‘Harcot‘ s hodnotami ledové krystalizace -4,9 °C. Souhrnný graf s hodnotami krystalizace generativních orgánů sledovaných odrůd meruňky v různých fenofázích je na obrázku č. 1. Průměrná ledová krystalizační aktivita u oddělených kontrolních květů meruňky postříkaných H_2O byla -7,0 °C. U ochranných protimrazových postřiků byla dosažena následující průměrná ledová krystalizační aktivita: -7,9 °C u GKCl, -9,5 °C u GTBKAO, -10,0 °C u GTB, -10,0 °C u GTBCMC a -10,1 °C u GT. Statisticky signifikantně zhodnocené výsledky ledové krystalizace u květů po aplikaci jednotlivých ochranných postřiků jsou na obr 2.



Obr. 1. Odolnost generativních orgánů odrůd meruňky ‘Betinka‘, ‘Candela‘, ‘Harcot‘, ‘Harogem‘, ‘Leskora‘ a ‘Sophinka‘ proti mrazu. Generativní orgány jsou po trojicích zleva; fenofáze počátku rašení pupene, červeného kalichu s lehce viditelnou špičkou korunních lístků a plného květu. Stejné indexy pod sloupci vyznačují varianty signifikantně se nelišící na hladině spolehlivosti α = 0,05 (Anova, LSD test).



Obr. 2. Mrazuvzdornost, teplota krystalizace, květů meruňky po protimrazovém postřiku: GT (glycerol, α-tokoferol), GTB (glycerol, αtokoferol, kys. boritá), GTB (glycerol, α-tokoferol, kys. boritá), GTBCMC (glycerol, αtokoferol, kys. boritá, karboxymethlycelulóza), GTBKAO (glycerol, α-tokoferol, kys. boritá, kaolin), GKCl (glycerol, KCl), a kontrolní vzorek H_2O. Stejné indexy pod sloupci vyznačují varianty, signifikantně se nelišící na hladině spolehlivosti α = 0,05 (Anova, LSD test).

Diskuze

Pro posouzení mrazové odolnosti u generativních orgánů meruňky, je nezbytné v daném sledované fenofázi přesné zaznamenání teplot ledové krystalizace, které korespondují s poškozením dané struktury (Meng a kol., 2007). Z toho důvodu byla vybrána termografická metoda, která umožňuje při analýze mrznutí generativního orgánu posoudit celý kvetoucí prýt a vybrat vhodnou část výhonu pro zhodnocení poškození. V průběhu termografického měření bylo možné u skupiny generativních orgánů meruňky při chlazení detekovat krystalizaci odpovídající konkrétnímu pupenu či květu, čili bylo možné odlišit mrznutí každého orgánu zvlášť. U generativních pupenů ve fenofázi počátku rašení byla průměrná krystalizační teplota u testovaných odrůd -13,3 ± 1,62 °C. Generativní orgány testovaných odrůd ve fenofázi červeného kalichu měly průměrnou krystalizační teplotu -4,8 ± 0,50 °C a orgány ve fenofázi květu -4,2 ± 0,49 °C. Obdobně Meng a kol. (2007) změřili kritické teploty krystalizace u květů několika odrůd meruňky v rozsahu -3,5 až -4,2 °C. Proebsting a Mills (1978) vykazovali obdobné rozsahy kritických teplot poškozujících generativní orgány meruňky ve fenofázi počátku rašení, -14,1 °C, zatímco ve fenofázi červeného kalichu změřili kritické teploty v rozsahu -6,2 až -13,8 °C. Tento rozdíl oproti našim výsledkům mohl být způsoben tím, že oproti začátku rašení a koncovému stádiu květu nelze u tohoto stádia stanovit fenofázi tak přesně. V porovnání odrůd byla ve fenofázi počátku rašení nejodolnější odrůda ‘Betinka‘, která se v průběhu vývoje květu dostala naopak až k nejvyšším hodnotám krystalizace, spolu s odrůdou ‘Sophinka‘. Odrůdy kanadského původu s deklarovanou vyšší odolností vůči nízkým teplotám, ‘Harcot‘ a ‘Hargrand‘, vykazovaly, až na stádium fenofáze počátku rašení u odrůdy ‘Harcot‘, celkově vyšší odolnost, respektive nižší krystalizační teploty. Jedna z nejrozšířenějších odrůd v pěstebním sortimentu ČR, ‘Leskora‘, vykazovala ve všech fenofázích nižší krystalizaci a tedy celkově pařila k mrazově nejodolnějším odrůdám. Zatímco průměrná ledová krystalizační aktivita oddělených květů meruňky se u kontroly (-7,0 °C) a varianty GKCl (-7,9 °C) statisticky významně nelišila, tak u ostatních postřiků již došlo ke statisticky významnému snížení ledové krystalizace a tedy ke zvýšení mrazuvzdornosti. Srovnáním efektivnějších typů postřiků je možné dojít k závěru, že pro zvýšení odolnosti nestačí pouze jediná komponenta roztoku, např. glycerol, ale že pro zvýšení efektu protimrazového působení je nutné použít kombinaci několika látek. U všech efektivnějších postřiků je nutné zmínit, kromě přítomnosti glycerolu coby vitrifikačního kryoprotektantu, i obsah kyseliny borité, u které se uvádí pozitivní vliv na zvýšením odolnosti buněčné stěny, resp. plazmatické membrány (Raisanen a kol., 2006).

Závěr

Působením nízkých teplot v jarním období dochází často u rostlin v pozdějších fenofázích generativních orgánů k jejich letální ledové krystalizaci. S pomocí infračervené termografie byl vizualizován průběh ledové krystalizace a detekováno poškození generativních orgánů meruňky ve fenofázi počátku rašení, červeného kalichu a květu s posouzením odolnosti vybraných genotypů. Na oddělených květech meruňky byly otestovány ochranné protimrazové postřiky na bázi kryoprotektivních složek. Postřiky na bázi glycerolu a kyseliny borité vykazovaly zvýšení odolnosti květů meruňky proti mrazu. Uvedené výsledky budou na pracovišti VÚRV, v.v.i. v součinnosti se spolupracujícími institucemi využity v dalším studiu protimrazové ochrany meruněk s cílem ověřit dané postřiky ve venkovních podmínkách a poskytnout tuto technologii zemědělské praxi.

Poděkování

Děkuji kolegům Ing. Janu Náměstkovi, Ph.D. a Ing. Luboru Zelenému z VŠÚO Holovousy a Petrovi Buřilovi, Horní Beřkovice za poskytnutí rostlinného materiálu.
Tato práce vznikla za podpory MZe, projektu NAZV QK1920124, QK21010200 a Institucionálního projektu VÚRV, v.v.i. RO0418.

Literatura

Ashworth EN., 1990 The formation and distribution of ice within forsythia flower buds. Plant physiology, 92(3):718-725.

Fuller MP, Hamed F, Wisniewski M, Glenn DM, 2003 Protection of plants from frost using hydrophobic particle film and acrylic polymer. Annals of applied biology, 143(1), 93-98.

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):1515-1524.

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

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):791-806.

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

Meng QR., Liang YQ., Wang WF., Du SH., Li YH., Yang JM., 2007 Study on supercooling point and freezing point in floral organs of apricot. Agricultural Sciences in China, 6(11):1330-1335.

ProebstingELJr., Mills HH., 1978 Low temperature resistance of developing flower buds of six deciduous fruit species. Journal of the American Society for Horticultural Science, 103:192–198.

Räisänen M., Repo T., Rikala R., Lehto T., 2006 Does ice crystal formation in buds explain growth disturbances in boron-deficient Norway spruce? Trees, 20(4):441-448.

Szalay L., Németh SZ., Timon B., Végvári GY., 2012 Frost hardiness of peach and apricot flower buds. Acta horticulturae, 291-296.

Wisniewski M., Lindow SE., Ashworth E., 1997 Observations of ice nucleation and propagation in plants using infrared video thermography. Plant Physiol 113:327–334.

Wolfel, D., & Noga, G. (1998). effect of alpha-tocopherol and glycerol on preventing blossom freezing injury. Acta horticulturae. 466, 95-102.

Zilkah S., Wiesmann Z., Klein I., David I., 1996 Foliar applied urea improves freezing protection to avocado and peach. Scientia Horticulturae, 66(1-2):85-92.

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

Kryoprezervace *in vitro* kultury maliníku pomocí vitrifikačního postupu

Cryopreservation of *in vitro* raspberry cultures by vitrification approach

Bilavčík A., Hammond Hammond S., Faltus M., Zámečník J.

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

Abstrakt

U vybraných genotypů maliníku byl odzkoušen kryoprezervační protokol založený na vitrifikačním postupu bez obsahu DMSO. Vitrifikační roztok byl použit PVS3. Přežití a regenerace byly optimální v rozsahu působení PVS3 roztoku 90 – 120 minut. V tomto časovém rozsahu byla regenerace u obou genotypů nad 50 %. Uvedený postup bude využíván pro uchování genotypů maliníku v národní kryobance v Praze Ruzyni.

Klíčová slova: kryokonzervace, *Rubus idaeus* L., *in vitro*, PVS3

Abstract

A cryopreservation protocol based on a vitrification procedure without DMSO was tested for selected raspberry genotypes. PVS3 was used as the vitrification solution. Survival and regeneration were optimal in the range of PVS3 solution 90 - 120 minutes. Regeneration in both genotypes was above 50 % in this time range. The evaluated procedure will be used for preservation of raspberry genotypes in the national cryobank in Prague Ruzyně.

Key words: cryoconservation, *Rubus idaeus* L., *in vitro*, PVS3

Úvod

Maliník (*Rubus idaeus* L.) je cenná bobulovitá rostlina, která se pěstuje jak v ČR, tak v ostatních zemích mírného pásma. Protože je maliník trvalá kultura, je třeba kultivary a elitní šlechtitelské linie udržovat buď jako kolekce rostlin na poli nebo v kulturách *in vitro*. Oba způsoby udržování kolekce nejsou optimální především kvůli mnoha virovým a jiným chorobám přenášeným do kolekcí rostlin z planých malin na poli (Tapio a kol., 1997) a pracovním a dalším nákladům nebo somaklonálním variacím spojeným s udržováním kultur *in vitro*. Z těchto důvodů je v současné době považována kryoprezervace jako perspektivní metoda dlouhodobého uchování genotypu beze změn u skladovaného materiálu. Sakai a Nishiyama (1978) jako první úspěšně kryokonzervovali dormantní pupeny maliníku metodou pomalého mrznutí z -5 °C do -45 °C před samotným ponořením do kapalného dusíku. Reed a Lagerstedt (1987) použili pro kryoprezevaci vzrostných vrcholů *in vitro* kultury maliníku kryoprotektivní roztok složeným z polyethylenglykolu, glukózy a dimethylsulfoxidu (DMSO). Po pomalém předmražení do -40 °C s následujícím ponořením do kapalného dusíku vykazovali regeneraci pod 10 %. Reed (1988) zjistila, že chladové otužování *in vitro* kultur maliníku zvýšilo jejich přežití na 67 %. V současné době se vzhledem k usnadnění a urychlení postupů kryokonzervace začíná využívat vitrifikačních metod, kdy se za pomocí sklotvorných látek dosáhne v kryoprezervovaných pletivech vitrifikace neboli skla (Volk a Walters 2006). U mnoha rostlin se k uchování jejich genetických zdrojů používá především vitrifikační postup založený na roztoku PVS2 (Sakai a kol., 1990) Ačkoliv jsou u tohoto postupu u maliníku dosahovány vysoké hodnoty regenerace, okolo 75 % (Wang a kol., 2005), tak vzhledem k relativně vysoké toxicitě tohoto roztoku (Kim a kol., 2009) a především s ohledem na potenciální mutagenní účinky jedné ze složek PVS2 roztoku, a to DMSO (Valencia-Quintana a kol., 2012), se v poslední době objevují snahy DMSO z vitrifikačních roztoků vynechat a

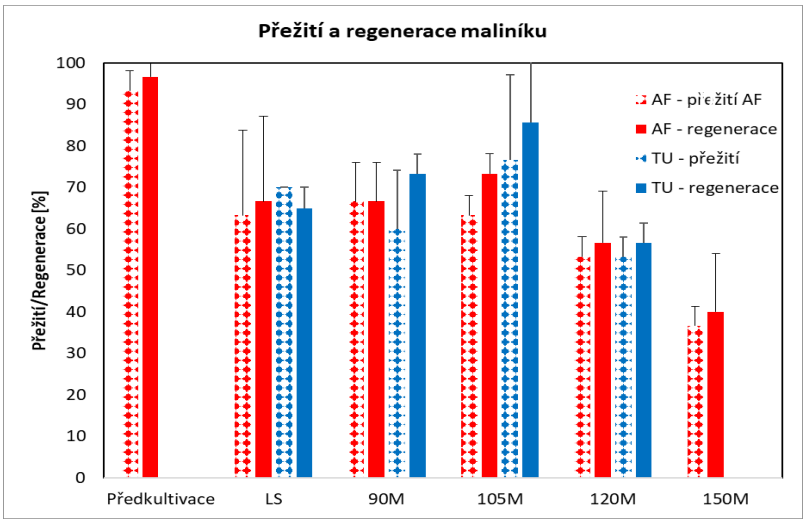
použít jiné složení roztoků. Jedním z dalších používaných kryoprotektivních roztoků je např. PVS3 (Nishizawa a kol., 1993), který DMSO neobsahuje. Cílem této práce je vyzkoušet kryoprezervační postup na bázi PVS3 u *in vitro* kultury maliníku.

Materiál a metody

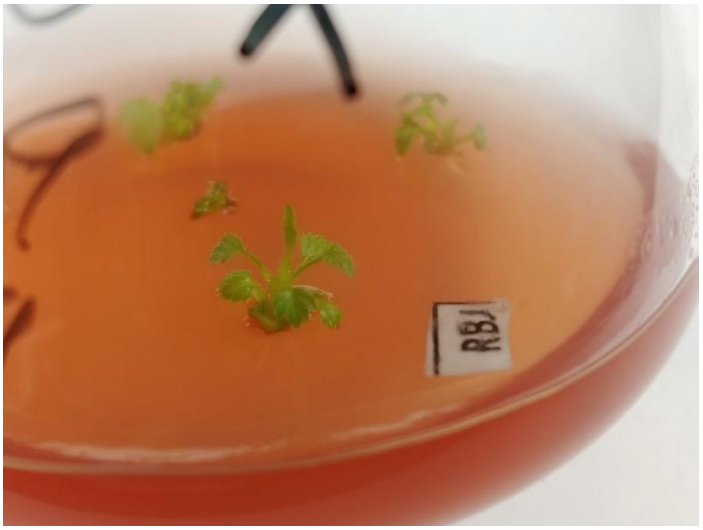
V pokusech byly použity *in vitro* kultury maliníku (*Rubus idaeus* L.) od firmy Jan Holub, s.r.o., odrůda ´Tulameen´ a klon pod označením AK. Pro multiplikační médium bylo použito MS medium modifikované podle Dziedzic a Jagla (2013), 30 g l^{-1} sacharózy, 1 mg l^{-1} BAP, 0,1 mg l^{-1} IBA a 7 g l^{-1} agaru. Kultury maliníku byly multiplikovány v intervalu 4-6 týdnů ve standardních kultivačních podmínkách v kultivačním boxu (24 °C, 16/8 fotoperioda). Poté byly z kultury maliníku odebrány tří nodální segmenty a nasazeny na čerstvé kultivační médium. Po 14 dnech byly z těchto segmentů extirpovány vzrostné vrcholy o velikosti přibližně 1 x 2 mm a umístěny na Petriho misky s 0,25 M vodným roztokem sacharózy. Další den byl původní roztok nahrazen roztokem 0,5 M sacharózou a následující den 0,75 M roztokem sacharózy. Po dalších 24 hodinách byly vzrostné vrcholy přemístěny do kádinky s LS roztokem (2 M glycerol a 0,4 M sacharóza ve vodě). Po 20 minutách byl LS roztok nahrazen roztokem PVS3 (50 g glycerolu a 50 g sacharózy ve 100 ml vody). Následně byly vzrostné vrcholy po třech sadách po 10 ks odebírány z PVS3 roztoku, umístěny na hliníkový plíšek o rozměrech přibližně 20 x 6 mm a ponořeny do kapalného dusíku. Po minimálně 1 hodině byly plíšky se vzrostnými vrcholy z kapalného dusíku vyndány a okamžitě ponořeny do odtávacího 1,2 M roztoku sacharózy ve vodě o 40 °C. Poté byly nasazeny na multiplikační médium a umístěny do standardních kultivačních podmínek. Kontrolní varianty, předkultivace a LS kontrola, byly ošetřeny stejným postupem odtávacího 1,2 M roztoku sacharózy. Hodnocení přežití probíhalo po 14 dnech, stanovil se podíl zelených vzrostných vrcholků. Regenerace se hodnotila průměrně po 28 dnech, stanovil se podíl prorůstajících rostlinek. Výsledky regenerace byly zhodnoceny statisticky pomocí SW Statistica (Anova, LSD).

Výsledky

U odrůdy ´Tulameen´ bylo dosaženo přežití a regenerace po aplikaci LS roztoku 70,0 % a 65,0 %. V dalších krocích kryoprotokolu; 90 min, 105 min a 120 min ošetření roztokem PVS3 s následným ponořením do kapalného dusíku bylo přežití 60,0 %, 76,7 % a 53,3 % a regenerace byla 73,3 %, 85,7 % a 56,7 %. U genotypu AF bylo dosaženo přežití a regenerace po předkultivaci 93,3 % a 96,7 % a po aplikaci LS roztoku 63,3 % a 66,7 %. V dalších krocích kryoprotokolu; 90 min, 105 min, 120 min a 150 min ošetření roztokem PVS3 s následným ponořením do kapalného dusíku bylo přežití 66,7 %, 63,3 %, 53,3 % a 36,7 % a regenerace byla 66,7 %, 73,3 %, 56,7% a 40,0 %. Výsledky přežití a regenerace obou genotypů jsou uvedeny na obr. 1. Na obr. 2. je ukázka regenerujícího maliníku, odrůdy ´Tulameen´ po kryoprezervačním postupu PVS3.



Obr. 1: Přežití a regenerace maliníku odrůdy ´Tulameen´a klonu AF po kryoprezervačním postupu PVS3



Obr. 2. Regenerace maliníku *in vitro* odrůdy ´Tulameen´ po kryoprezervačním postupu PVS3. Délka úsečky je 1 cm

Diskuze

Použitý časový rozsah ošetření vitrifikačním roztokem PVS3 byl zvolen po předchozích pilotních experimentech. Z obr. 1. je evidentní, že s dobou působení PVS3 roztoku dochází k poklesu životnosti a regenerace vzrostných vrcholů maliníku. U genotypu AF byla otestována hodnota působení PVS3 roztoku 150 min, kdy již došlo k statisticky významnému poklesu hodnot regenerace a přežití. K podobnému poklesu regenerace dochází např. i u roztoku PVS2 (Wang a kol., 2005). Výsledky kryoprezervace dvou genotypů maliníku, odrůdy ´Tulameen´ a genotypu AF pomocí uvedeného vitrifikačního postupu s využitím PVS3 kryoprotektivního roztoku naznačují, že je možné tento postup použít v dalších postupech uchování genofondu maliníku.

Závěr

U vybraných genotypů maliníku byl odzkoušen kryoprezervační postup založený na vitrifikačním postupu bez obsahu DMSO. Jako vitrifikační roztok byl použit PVS3. Přežití a regenerace jsou optimální v rozsahu působení PVS3 roztoku 90 – 120 minut. V tomto časovém rozsahu byla regenerace u obou genotypů nad 50 %. Uvedený kryoprotokol bude na pracovišti VÚRV, v.v.i. v Praze Ruzyni využit pro uchování vybraných genotypů maliníku v rámci řešení mezinárodního projektu.

Poděkování

Děkuji kolegovi Mgr. Janu Holubovi z firmy Jan Holub s.r.o. za poskytnutí rostlinného materiálu a doporučení k multiplikaci *in vitro*.
Tato práce vznikla za podpory TAČR projektu KAPPA TO01000295 a MZe institucionálního projektu VÚRV, v.v.i. RO0418.

Literatura

Dziedzic E., Jagla J., 2013 Micropropagation of *Rubus* and *Ribes* spp. Methods Mol Biol 11013: 149-160.

Kim HH., Lee YG., Shin DJ., Ko HC., Gwag JG., Cho EG., Engelmann F., 2009 Development of alternative plant vitrification solutions in droplet-vitrification procedures. CryoLetters, 30(5):320-334.

Nishizawa S., Sakai A., Amano Y., Matsuzawa T., 1993 Cryopreservation of asparagus (*Asparagus officinalis* L.) embryogenic suspension cells and subsequent plant regeneration by vitrification. Plant Science, 91(1):67-73.

Reed BM., 1988 Cold acclimation as a method to improve survival of cryopreserved *Rubus* meristems. Cryoletters 9:166– 171.

Reed BM., Lagerstedt HB., 1987 Freeze preservation of apical meristems of *Rubus* in liquid nitrogen. Hortic Sci 22:302–303.

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

Sakai A., Nishiyama Y., 1978 Cryopreservation of winter vegetative buds of hardy fruit trees in liquid nitrogen. Hortic Sci 13:225– 227.

Tapio E., Bremer K., Valkonen JPT., 1997 Viruses and their significance in agricultural and horticultural crops in Finland. Agric Food Sci Finl 6:323–336.

Valencia-Quintana R., Gómez-Arroyo S., Waliszewski SM., Sánchez-Alarcón J., Gómez-Olivares JL., Flores-Márquez AR., Villalobos-Pietrini R., 2012 Evaluation of the genotoxic potential of dimethyl sulfoxide (DMSO) in meristematic cells of the root of *Vicia faba*. Toxicology and Environmental Health Sciences, 4(3):154-160.

Volk GM, Walters C., 2006 Plant vitrification solution 2 lowers water content and alters freezing behavior in shoot tips during cryoprotection. Cryobiology 52(1):48-61.

Wang Q., Laamanen J., Uosukainen M., Valkonen JP., 2005 Cryopreservation of *in vitro*-grown shoot tips of raspberry (*Rubus idaeus* L.) by encapsulation–vitrification and encapsulation–dehydration. Plant Cell Reports, 24(5), 280-288.

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

Otužení explantátů bramboru vůči působení kryogenních teplot

Potato explants acclimation against the effect of cryogenic temperature

Faltus M.[1], Domkářová J.[2], Horáčková V.[2], Bilavčík A.[1], Zámečník J.[1]

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i.
[2]Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

Abstrakt

Explantátové kultury 10 genotypů bramboru (7 odrůd, 3 kříženci) byly otestovány z hlediska jejich odolnosti vůči dehydrataci a odolnosti vůči působení kryogenních teplot. Jednonodální segmenty explantátů byly otuženy působením 2 M roztoku sacharózy. Odolnost vůči dehydrataci byla testována po 110 minutách dehydratace nad silikagelem, odolnost vůči kryoprezervaci byla hodnocena po 60 minutách působení kapalného dusíku. Nízký obsah vody po dehydrataci explantátů souvisel s poklesem jejich regenerační schopnosti u genotypů 'Lukava' a 'Sarka'. Nízká tolerance explantátů vůči dehydrataci souvisela rovněž s jejich nižší odolností vůči působení kryogenních teplot. Kříženci bramboru nevykazovaly nižší úroveň tolerance vůči působení kryogenních teplot ve srovnání s testovanými odrůdami.
Klíčová slova: aklimatizace, dehydratace, kryoprezervace, *Solanum tuberosum*

Abstract

Explants of 10 potato genotypes (7 varieties, 3 hybrids) were tested for their tolerance to dehydration and to cryogenic temperatures. The nodal segments of the explants were acclimated by treatment with 2 M sucrose solution. Resistance to dehydration was tested after 110 minutes of dehydration over silica gel; resistance to cryopreservation was evaluated after 60 minutes of exposure to liquid nitrogen. The low water content after dehydration of the explants was associated with a decrease in their regenerative capacity in the 'Lukava' and 'Sarka' genotypes. The low tolerance of explants to dehydration was also related to their lower resistance to cryogenic temperatures. Potato hybrids did not show a lower level of tolerance to cryogenic temperatures compared to the tested varieties.
Key words: cryopreservation, dehydration tolerance, *Solanum tuberosum*

Úvod

Uchování genetických zdrojů rostlin je v přirozených podmínkách vystaveno působení vlivu biotických a abiotických stresorů, která představují riziko ztráty cenných položek. Proto jsou vyvíjeny metody, které omezují vliv škodlivých činitelů a zabraňují tak náhodným ztrátám genetických zdrojů. Takovou metodou je například uchování rostlin v podmínkách explantátových kultur, v tzn. podmínkách *in vitro* (ve skle). V těchto podmínkách je zcela vyloučeno působení abiotických stresorů a působení biotických stresorů je omezeno jen na náhodné kontaminace,ke kterým může dojít v ojedinělých případech, a to pouze v případě nedodržení standardních aseptických postupů. Při rutinním provozu *in vitro* banky rostlin nelze považovat případná rizika vnějších činitelů za významná a omezující bezpečnost provozu těchto zařízení. Za hlavní nevýhodu *in vitro* bank lze považovat potřebu přesazování rostlin v pravidelných intervalech na čerstvá media. Z tohoto úhlu pohledu existuje varianta řešení dlouhodobého uchování genetických zdrojů rostlin pomocí metody kryoprezervace. Tato metoda vychází nejčastěji z kultur *in vitro*, čímž zahrnuje výhody této metody, a navíc eliminuje nutnost pravidelného přesazování rostlin na čerstvé medium. Neměnnost a stabilita

uchovávaného materiálu je dána navozením tzv. skelného stavu, který v sobě zahrnuje stálost pevného skupenství hmoty a zároveň uchování původní struktury a funkcí živé hmoty. K navození skelného stavu dochází při velmi nízkých teplotách, a proto kryoprezervace probíhá obvykle při teplotách blízkých bodu varu kapalného dusíku (-196 °C).
Tvorba skleného stavu není u živých organismů běžná, a proto je třeba navození extrémních podmínek souvisejících s poklesem obsahu vody, jejíž krystalizace je hlavní hrozbou a překážkou úspěšné kryoprezervace. Příprava rostlin pro kryoprezervaci spočívá v poklesu obsahu vody z 80 a více % na přibližně 30 %. Takový pokles vody není možný bez otužení rostlin, které spočívá v otužení rostlin buď nízkou teplotou nebo osmotickým působením, podle adaptability rostliny. Pokud jsou rostliny příliš citlivé na působení nízké teploty nebo dehydratace, lze toto otužení do značné míry nahradit působením kryoprotektivních roztoků. Vhodnost použitého kryoprotokolu závisí na schopnosti vybraných genotypů vůči dehydrataci (Day *et al*. 2008).
V České republice je kolekce genetických zdrojů bramboru uchovávána ve Výzkumném ústavu Bramborářském v Havlíčkově Brodě, s.r.o. formou *in vitro* kolekce v podmínkách pomalého růstu. Vybrané genotypy českého původu jsou postupně uchovávány formou kryoprezervace ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v. v. i. v Praze Ruzyni, kde slouží jako bezpečnostní duplikace pro případ ztráty položky z *in vitro* kolekce. V současné době je ověřována možnost využití metody kryoprezervace i pro uchování vybraného materiálu v rámci šlechtitelského procesu bramboru probíhajícího ve VÚBHB, popř. i ve spolupráci s VESA Velhartice.
Cílem této práce bylo otestovat reakci různých genotypů bramboru na podmínky otužování a působení kryogenních teplot.

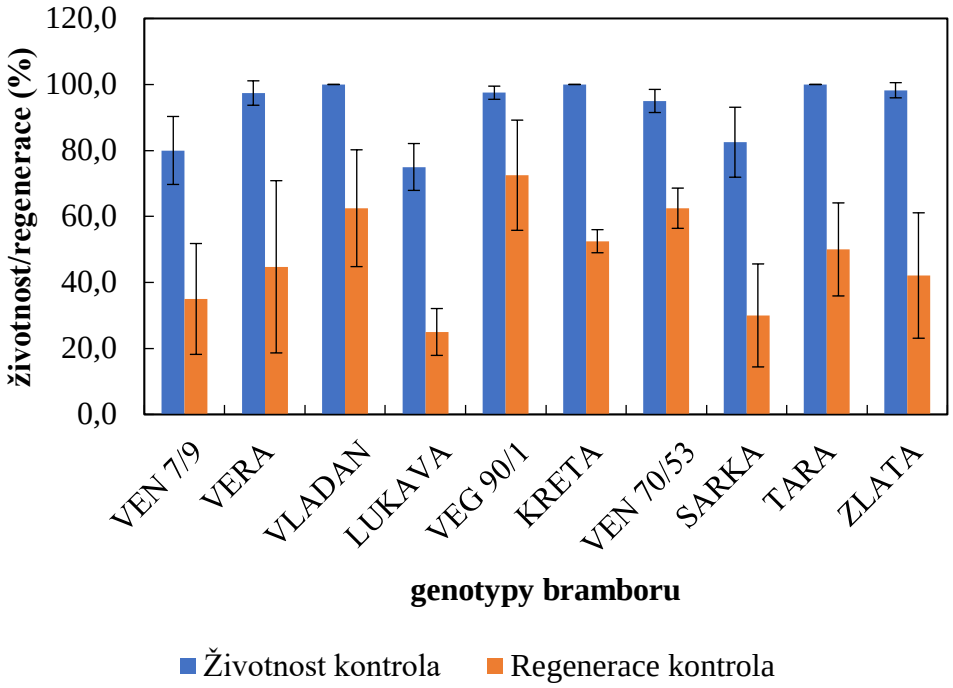
Materiál a Metody

Ve VÚBHB bylo vybráno 7 odrůd z kolekce *in vitro* banky (‘Kreta‘, ‘Lukava’, ‘Sarka‘, ‘Vera‘, ‘Vladan‘ ‘Tara‘, ‘Zlata‘) a tři kříženci původem z VESA Velhartice (VEG 90/1, VEN 7/9, VEN 70/53) . Explantáty byly převezeny do VÚRV, v.v.i. pro testy otužování a odolnosti vůči působení kryogenních teplot. Kultivace a otužování *in vitro* rostlin bramboru probíhaly na modifikovaném kultivačním mediu podle Grospietsche *et al.* (1999) bez kaseinu a myoinositolu a se sníženým obsahem dusíku, 30 g l^{-1} sacharózy a 7 g l^{-1} agaru. Pětidenní nodální segmenty byly zality roztokem 2 M sacharózy a po dalších 5 až 6 dnech kultivace byly vyizolovány vzrostné vrcholy o velikosti přibližně 2 mm a umístěny do Petriho misky na filtrační papír nasycený 0,7 M roztokem sacharózy s fytohormony (0,5 mg l^{-1} kyseliny indolyl octové, 0,5 mg l^{-1} kinetinu, 0,2 mg l^{-1} kyseliny giberelové) po dobu 20 hodin při 22 °C. Otužování explantátů vůči dehydrataci probíhalo působením 2 M roztoku sacharózy, který byl přidán do nádobek s explantáty v poměru 1:2 vzhledem ke kultivačnímu mediu. Otužování explantátů probíhalo za stejných podmínek kultivace po dobu 5 dní. Následně byly izolovány vzrostné vrcholy bramboru, které byly umístěny na sterilní filtrační papír nasycený roztokem 0,7 M sacharózy ve sterilní Petriho misce po dobu 20 hodin. Izolované vzrostné vrcholy byly umístěny na hliníkové plíšky do uzavřené skleněné nádobky se silikagelem při teplotě 22-23 °C po dobu 110 minut. Po dehydrataci byla část explantátů vysazena na regenerační medium a druhá kryoprezervována rychlým ponořením hliníkových plíšků se vzrostnými vrcholy přímo do kapalného dusíku. Odtání vzorků po 1 hodině v kapalném dusíku proběhlo rychlým ponořením hliníkových plíšků s explantáty do vody o teplotě 40 °C po dobu 1 min. a jejich vysazením na regeneračním medium, které mělo shodné složení jako medium multiplikační a bylo obohaceno o směs fytohormonů (0,02 mg l^{-1} kyseliny giberelové, 0,1 mg l^{-1} kyseliny indolyl máselné, 0,01 mg l^{-1} 6-benzylaminopurinu). Růst explantátů byl hodnocen po 2 týdnech a regenerace po 8 týdnech kultivace.

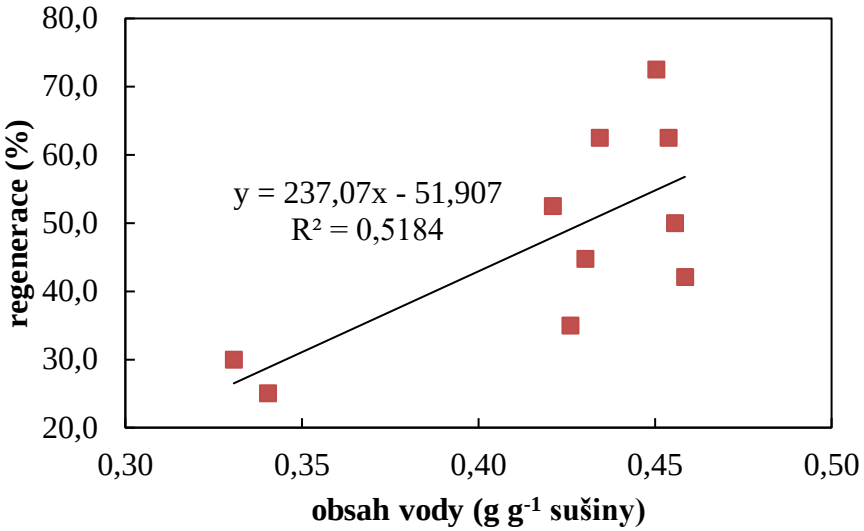
Výsledky a diskuze

Životnost otužených explantátů po jejich dehydrataci nad silikagelem se pohybovala v poměrně úzkém rozmezí od 75 % u genotypu ‘Lukava‘ do 100 % u genotypů ‘Vladan‘, ‘Kreta‘ a ‘Tara‘ (Graf 1). Jejich regenerační schopnost poklesla na hodnoty od 25 % u genotypu ‘Lukava‘ do 72,5 % o genotypu VEG 10/53 (Graf 2). Genotypy bramboru ‘Lukava‘ a ‘Sarka‘, které měly nejnižší životnost po dehydrataci, vykazovaly též nejnižší regenerační schopnost. Příčinou nižší životnosti a regenerační schopnosti uvedených genotypů bramboru je z velké části obsah vody ve vzrostných vrcholech, dosažená po 110 minutách dehydratace, která u nich dosáhla hodnot 0,33 a 0,34 g g^{-1} sušiny, zatímco tyto hodnoty u ostatních genotypů byly vyšší než 0,42 (Graf 2). Z výsledků vyplývá, že optimální obsah vody po dehydrataci se pohyboval v rozmezí 0,42 a 0,46 g g^{-1}. K podobné hodnotě dospěli i Sherlock *et al.* (2005), kteří uvádí, že optimální obsah vody v kryoprezervovaném materiálu je 0,4 g g^{-1}. To potvrzuje naše závěry, že obsah vody 0,33 - 0,34 g g^{-1} významně snižoval regenerační schopnost explantátů již do jejich dehydrataci z důvodu jejich poškození, přičemž obsah vody měl vliv na pokles regenerační schopnosti explantátů z 52 %.

Graf 1: Životnost a regenerace explantátů bramboru po dehydrataci nad silikagelem

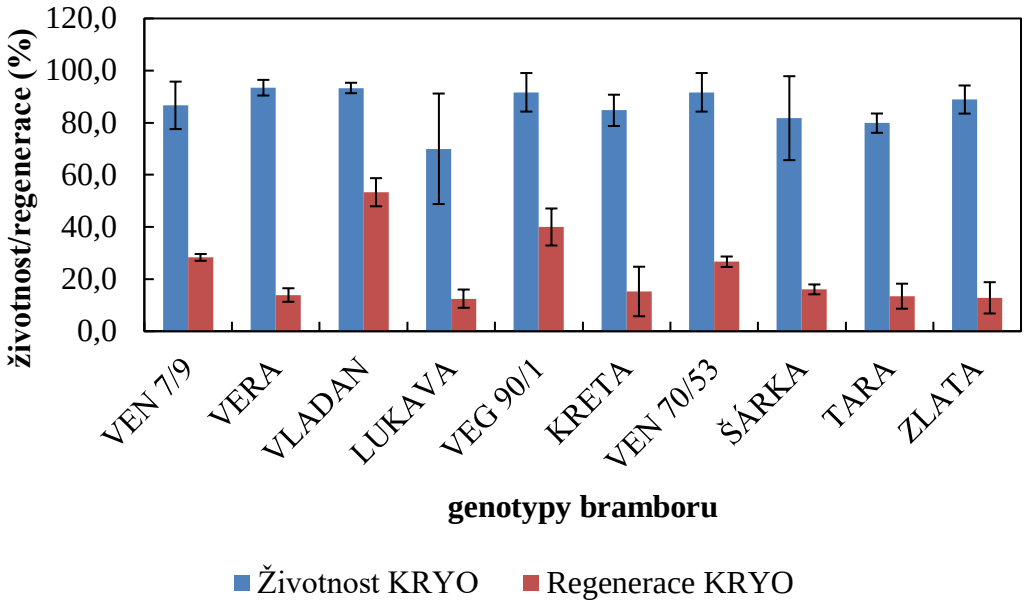


Graf 2: Vliv obsahu vody vzrostných vrcholů bramboru po dehydrataci na jejich regeneraci

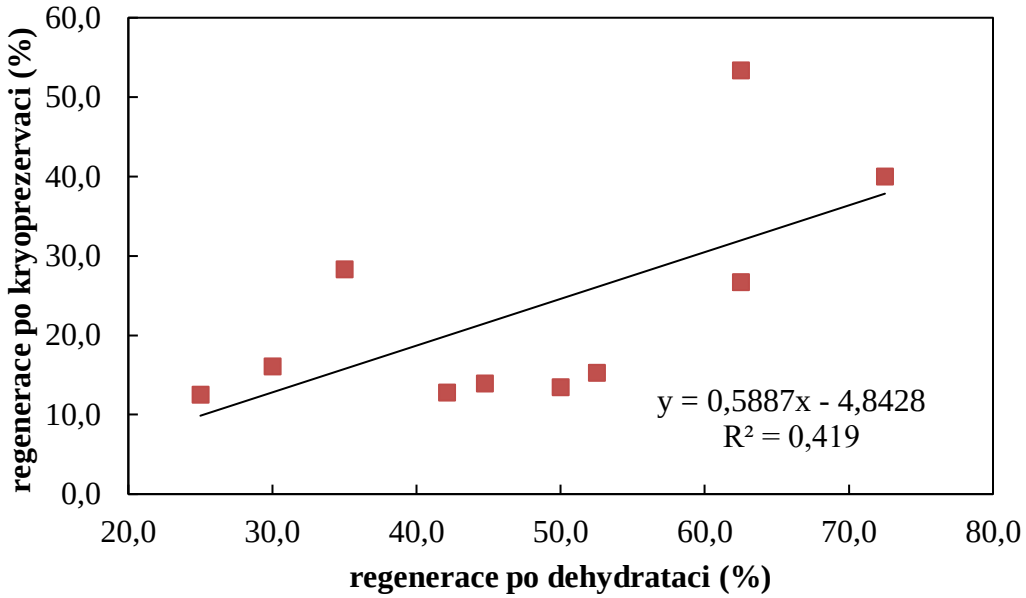


Po působení kapalného dusíku došlo k poklesu životnosti i regenerační schopnosti explantátů u všech testovaných genotypů (Graf 3). Životnost se pohybovala v rozmezí od 70 % u genotypu ‘Lukava‘ do 93 % u genotypů ‘Vera‘ a ‘Vladan‘. V případě regenerační schopnosti došlo k významnějšímu poklesu u všech testovaných genotypů a pohybovala se od 13 % u genotypů ‘Tara‘ a ‘Zlata‘ do 53 % u genotypu ‘Vladan‘. Explantáty, které byly poškozeny již při dehydrataci, vykazovaly nízkou životnost a regeneraci i po kryoprezervaci (Graf 3). Na druhou stranu pouze čtyři genotypy (VEN 7/9, ‘Vladan‘, VEG 90/1, VEN 70/53) vykazovaly uspokojivou regenerační schopnost po kryoprezeraci nad 20 %. Ve všech případech byl obsah vody po dehydrataci u těchto genotypů vyšší než 0,42 g g^{-1}. Při porovnání regenerační schopnosti těchto genotypů po dehydrataci a po kryoprezervaci je patrné, že vysoká úroveň regenerační schopnosti po dehydrataci pozitivně ovlivňovala i jejich schopnost regenerace po kryoprezervaci (Graf 4). Vysoká regenerační schopnost explantátů po dehydrataci ve výši nad 60 % byla předpokladem pro dosažení i vysoké regenerační schopnosti po kryoprezervaci (Graf 4).

Graf 3: Životnost a regenerace explantátů bramboru po kryoprezervaci



Graf 4: Vliv obsahu vody vzrostných vrcholů bramboru po dehydrataci na jejich regeneraci



Závěr

Odolnost explantátů bramboru vůči dehydrataci významně ovlivňovala jejich schopnost překonat působení kryogenních teplot. Vysoká životnost a regenerační schopnost byly předpokladem dosažení vysoké životnosti a regenerační schopnosti po kryoprezervaci. Nízká odolnost explantátů vůči dehydrataci souvisela s vyšším poklesem obsahu vody po dehydrataci, která vedla i k poklesu odolnosti vůči působení kryogenních teplot. Nebyla prokázána nižší tolerance vůči působení kryogenních teplot u testovaných kříženců ve srovnání s testovanými odrůdami.

Dedikace

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

Použitá literatura

Day, J.G.; Harding, K.C.; Nadarajan, J.; Benson, E.E. Cryopreservation. In Molecular biomethods handbook; Springer: 2008; pp. 917-947.

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

Sherlock, G.; Block, W.; Benson, E.E. Thermal analysis of the plant encapsulation-dehydration cryopreservation protocol using silica gel as the desiccant. CryoLetters 2005, 26, 45-54.

Kontaktní adresa:

Ing. Miloš Faltus, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i.
Drnovská 507
16106 Praha 6
faltus@vurv.cz.

Porovnání výkonnosti českých a srbských odrůd jetele lučního

Comparison of yields of Czech and Serbian varieties of meadow clover

Frei I.[1], Hutyrová H.[1], Pelikán J.[2]

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

Abstrakt
V polním pokuse byly v letech 2020 a 2021 zkoušeny tři české a pět srbských odrůd jetele lučního. Pokus byl založen metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních. Jako kontrolní odrůda posloužila česká odrůda Start. V každém pokusném roce byly sklizeny tři seče zelené hmoty a proveden přepočet na seno. Výsledky byly statisticky vyhodnoceny metodou analýzy rozptylu a statistická významnost rozdílů středních hodnot byla zhodnocena Tukey HSD testem na hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$.

Klíčová slova: jetel luční, výnosy, zelená hmota, seno

Abstract
In a field experiment between 2020 and 2021 were tested three Czech and five Serbian varieties of red clover. The experiment was established by random blocks in three replicates. The Czech variety Start served as a control variety. In each experimental year they were harvested three mows of a green mass and they were converted to hay. The results were statistically evaluated by the method of analysis of variance. The statistical significance of the differences in the mean values was evaluated by the Tukey HSD test at the significance level $\alpha = 0.05$.

Keywords: meadow clover, yields, green mass, hay

Úvod

Cíle ve šlechtění jetele lučního vycházejí z významu této pícniny, neboť je důležitou a nejpěstovanější víceletou jetelovinou s vysokou výživovou hodnotou pro dobytek, rozšířenou hlavně v bramborářské výrobní oblasti a ve vyšších polohách s dostatkem dešťových srážek a s mírnějšími teplotami (Klimeš, Graman, Kobes, 2001). Produkce biomasy rostlin kolísá v závislosti na rostlinném druhu, termínu výsevu, povětrnostních podmínkách a délce vegetace (Brant a kol., 2008). V České republice se pěstuje na 60 tisících hektarech orné půdy.

Materiál a metody

Polní pokus s odrůdami jetele lučního byl založen v roce 2019. Byly vysety tři české odrůdy (Start, Ganymed, Stream) a pět srbských odrůd (Zoja, Mlava, Sana, Petnice, Una). Pro srovnání jejich výkonnosti byla vybrána jako kontrola česká odrůda Start. Pokus byl založen metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních při velikosti parcel $10m^2$ na lokalitě Troubsko. Výsevek byl stanoven dle HTS, čistoty a klíčivosti. V roce založení byla provedena 1 odplevelovací seč. Sklizeň zelené hmoty v prvním užitkovém roce proběhla ve třech termínech (27. května, 2. června a 12 srpna). Ve druhém užitkovém roce byl sběr zelené hmoty vykonán rovněž ve třech termínech (3. června, 7. července a 18. srpna). V našem sdělení jsme se zaměřili na hodnocení výnosových výsledků za dva užitkové roky a množství vlákniny a dusíkatých látek ze vzorků odebraných z první seče v prvním užitkovém roce.

Výsledky

V prvém užitkovém roce (2020) se výnosy zelené hmoty pohybovaly od 38,81 do 43,75 t.ha^{-1}. Nejvyšší výnos byl dosažen u srbské odrůdy Sana (viz Tab. 1), která překonala kontrolní odrůdu Start o 1,64%. V tomto roce nebyl mezi zkoušenými odrůdami zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Ve druhém užitkovém roce (2021) se výnosy zelené hmoty pohybovaly od 38,88 do 49,63 t.ha^{-1}. Nejvyšší výnos byl opět dosažen u srbské odrůdy Sana, (viz Tab. 1), která statisticky průkazně překonala srbské odrůdy Petnica a Una. Mezi zbývajícími zkoušenými odrůdami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl.

Tab. 1: Výnosy zelené hmoty odrůd jetele lučního (v t.ha^{-1}) s uvedením pořadí a % kontrolní odrůdy (%K)

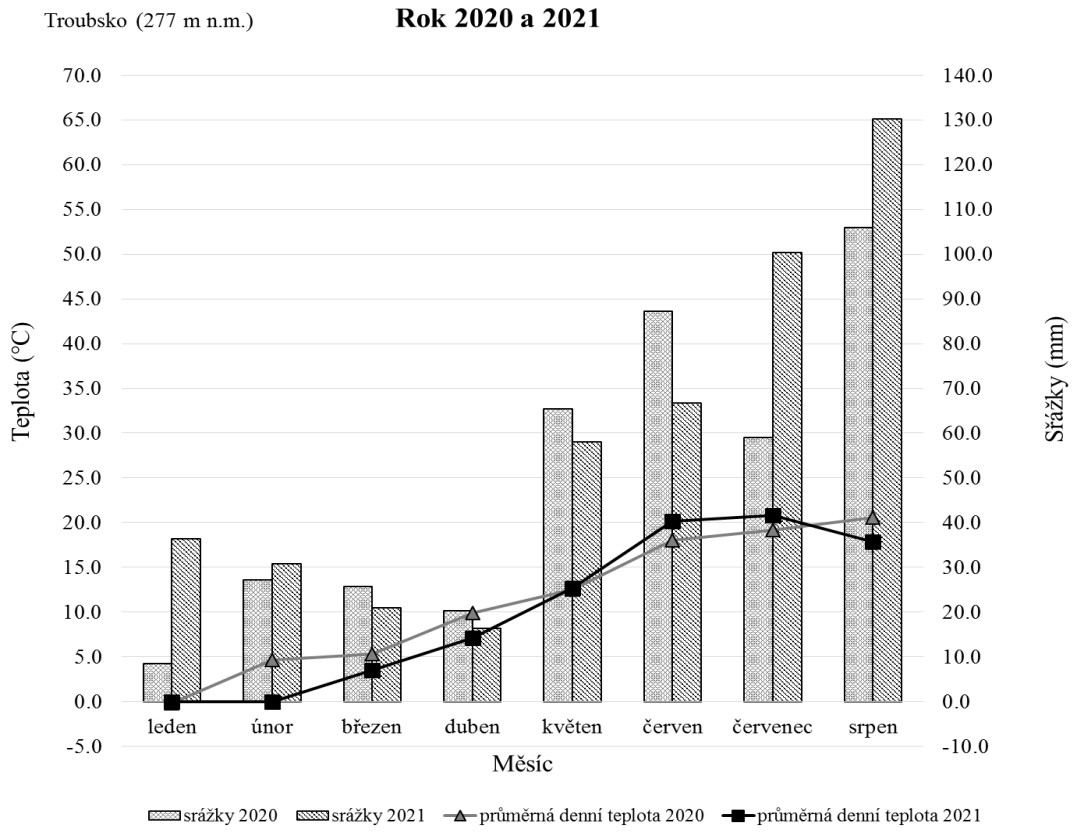
Odrůda	Stát	zelená hmota					
		2020			2021		
		t.ha^{-1}	%K	poř.	t.ha^{-1}	%K	poř.
Start	CZE	43,05^{a}	100,00	2	42,10^{ab}	100,00	5
Ganymed	CZE	41,94^{a}	97,43	5	41,63^{ab}	98,89	6
Stream	CZE	43,02^{a}	99,94	3	47,00^{ab}	111,64	2
Zoja	SRB	42,85^{a}	99,54	4	42,23^{ab}	100,32	4
Mlava	SRB	41,48^{a}	96,36	6	43,10^{ab}	102,38	3
Sana	SRB	**43,75^{a}**	101,64	1	**49,63^{a}**	117,89	1
Petnica	SRB	40,43^{a}	93,92	7	39,83^{b}	94,62	7
Una	SRB	38,81^{a}	90,17	8	38,77^{b}	92,08	8
$DT_{(0,05)}$		7,61			8,87		
$DT_{(0,01)}$		11,39			13,28		

Tab. 2: Výnosy sena odrůd jetele lučního (v t.ha^{-1}) s uvedením pořadí a % kontrolní odrůdy (%K)

Odrůda	Stát	seno					
		2020			2021		
		t.ha^{-1}	%K	poř.	t.ha^{-1}	%K	poř.
Start	CZE	7,61^{a}	100,00	8	7,46^{ab}	100,00	5
Ganymed	CZE	7,97^{a}	104,73	6	7,07^{b}	94,81	7
Stream	CZE	8,39^{a}	110,20	2	8,13^{ab}	109,03	2
Zoja	SRB	**8,79^{a}**	115,46	1	7,88^{ab}	105,63	3
Mlava	SRB	8,21^{a}	107,79	4	7,71^{ab}	103,35	4
Sana	SRB	8,19^{a}	107,62	5	**8,68^{a}**	116,45	1
Petnica	SRB	8,32^{a}	109,24	3	7,17^{ab}	96,20	6
Una	SRB	7,92^{a}	104,07	7	6,72^{b}	90,12	8
$DT_{(0,05)}$		1,69			1,52		
$DT_{(0,01)}$		2,53			2,27		

Výnosy sena (Tab. 2) se v prvém užitkovém roce pohybovaly od 7,61 do 8,79 t.ha^{-1}. Nejvyšší výnos byl dosažen u srbské odrůdy Zoja, která překonala kontrolní odrůdu Start o 15,46%. Také ostatní zkoušené odrůdy překonaly kontrolní odrůdu Start, ale mezi zkoušenými odrůdami nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Ve druhém užitkovém roce (2021) se výnosy sena pohybovaly od 6,72 do 8,68 t.ha^{-1}. Nejvyšší výnos byl zjištěn u srbské odrůdy Sana, která překonala kontrolní odrůdu o 16,45%. Kontrolní odrůda byla dále překonána srbskými odrůdami Zoja a Mlava a českou odrůdou Stream. Odrůda Sana statisticky průkazně překonala českou odrůdu Ganymed a srbskou odrůdu Una.
Nižší výnos zelené hmoty v roce 2020 oproti roku 2021 a vyšší výnos sena v roce 2020 oproti roku 2021 byl způsoben nižším úhrnem srážek a vyšší teplotou v roce 2020 (Klimagram 1), kdy spadlo o 60,7 mm míň srážek, a průměrná teplota za období leden-srpen byla vyšší o 0,9 °C.

Klimagram 1: Lokalita Troubsko (277 m n.m.), rok 2020 a 2021, období leden-srpen



V prvním užitkovém roce se zároveň hodnotil obsah dusíkatých látek (% NL) a množství vlákniny (% vláknina) viz Tab. 3. Vzorky na stanovení kvality zkoušených odrůd byly odebrány z první seče. U dosažených hodnot byly statisticky zpracovány odhady základních statistických charakteristik. Hodnoty vyšší oproti horní hranici intervalového odhadu střední hodnoty jsou v tabulce označeny * a hodnoty nižší ¯. Hodnoty dusíkatých látek se pohybovaly od 12,73% (Sana) do 17,85% (Zoja). Vedle této odrůdy byly dosaženy vyšší hodnoty oproti intervalovému odhadu střední hodnoty znaku u odrůd Start a Ganymed. Hodnoty vlákniny se pohybovaly od 15,39% (Una) do 19,23% (Ganymed). Vedle této odrůdy byla dosažena vyšší hodnota oproti intervalovému odhadu střední hodnoty znaku u odrůdy Petnica.

Tab. 3: Ukazatele kvality zkoušených odrůd a odhady základních statistických charakteristik

	% NL	% vlákniny
Start	16,80*	17,70
Ganymed	17,41*	19,23*
Stream	12,95-	16,67
Zoja	17,85*	15,44-
Mlava	15,88	17,33
Sana	12,73-	16,88
Petnica	15,26	18,56*
Una	14,39	15,39-
Bodový odhad střední hodnoty souboru	15,41	17,15
Variační koeficient	12,60	7,94
Dolní hranice intervalového odhadu střední hodnoty	14,11	16,24
Horní hranice intervalového odhadu střední hodnoty	16,71	18,06

Závěr

Z výsledků je patrno, že neexistuje výraznější rozdíl ve výnosu zelené hmoty mezi českými a srbskými diploidními odrůdami jetele lučního. Statisticky průkazný rozdíl oproti ostatním zkoušeným odrůdám vykazuje jenom česká odrůda Sana a srbská odrůda Una. Výnosy sena srbských odrůd jetele lučního v prvním užitkovém roce (rok 2020) výrazně převyšovali české odrůdy. Nejvyšší hodnota byla zjištěna u odrůdy Zoja, nejnižší u české odrůdy Start. V druhém užitkovém roce měla nejvyšší výnos srbská odrůda Sana, kdežto nejnižší srbská odrůda Una. Ze získaných výsledů se nabízí využití dvou srbských odrůd Sana a Zoja pro další pěstování a použití.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení projektu "Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity", Jeteloviny a ostatní pícniny, VÚP Troubsko 51834/2017-MZE-17253/6.2.2 a DKRVO, číslo MZE-RO1721, financovaného Ministerstvem zemědělství.

Literatura

Brant V.: Meziplodiny. V Českých Budějovicích: Kurent, 2008. ISBN 978-80-87111-10-9. 86 s.

Klimeš F., Graman J. a Kobes M.: Odrůdy jetele lučního v různých ekologických podmínkách. Uroda.cz [online]. 2001 [cit. 2021-9-13]. Dostupné z: https://www.uroda.cz/odrudy-jetele-lucniho-v-ruznych-ekologickych-podminkach/

Kvasničková R.: Vědci našli možnost, jak významně zvýšit výnos jetele, vyšlechtí nové odrůdy. Www.universitas.cz [online]. 2020 [cit. 2021-9-14]. Dostupné z: https://www.universitas.cz/aktuality/6372-vedci-nasli-moznost-jak-vyznamne-zvysit-vynos-jetele

Kontaktní adresa:

Ing. Ivana Frei, Ph.D.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1, 66441 Troubsko
e-mail: frei@vupt.cz

Využití metody SPRi pro studium reakce rostlin máku na stres suchem

Use of SPRi method for study of drought stress reaction in opium poppy

Hoštičková I.[1], Vráblová M.[2] , Hejna O. [1], Čurn V. [1],

[1]Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
[2] Vysoká škola Báňská – Technická univerzita Ostrava

Abstrakt

Metoda rezonance povrchového plazmonu (SPRi) je moderní optická metoda, která umožňuje studium nativních proteinů ve velmi nízkých koncentracích a v přítomnosti dalších látek. Je využitelná pro kvantifikaci specifických proteinů vazbou na specifické protilátky. U máku nebyla tato metoda dosud využita. V této práci jsme testovali metodu SPRi jako potenciálně vhodný nástroj pro studium reakce rostlin máku na simulovaný stres suchem. Stres suchem byl u klíčních rostlin máku na Petriho miskách simulován pomocí roztoku polyetylen glykolu. Podle našich výsledků se metoda SPRi ukázala jako levná, rychlá a citlivá metoda vhodná k hodnocení akumulace dehydrinů – proteinů zapojených v reakci rostlin máku na stres suchem.
Klíčová slova: metoda SPRi, kvantifikace proteinů, Papaver somniferum, PEG

Abstract

The surface plasmon resonance imaging (SPRi) is a modern optical method for the study of native proteins in very low concentrations, even in the presence of other substances. It further allows specific protein quantification by specific antibody binding. Until now, the method has not been used in opium poppy research. We tested SPRi method as a potentially suitable tool for study of opium poppy drought stress reaction. For induction of water stress, we used polyethylene glycol added to Petri dishes with germinating seeds. Our results propose the SPRi method as a cheap, fast, and sensitive method suitable for dehydrins – proteins of drought stress reaction in oppium poppy.

Keywords: SPRi method, protein quantification, Papaver somniferum, PEG

Úvod

Klíčovým faktorem, který zásadně ovlivňuje růst a vývoj rostlin a tím snižuje jejich životaschopnost je abiotický stres. Jedná se o sucho, zasolení, horko, chlad, mráz, dostupnost živin, intenzita světla, ozón a nedostatek kyslíku. U odrůd zemědělsky využívaných plodin brání plnému využití jejich genetického potenciálu, ať už přímo inhibicí metabolických procesů či nepřímo vyvolaným osmotickým, oxidativním a jiným stresem (Chinnusamy et al., 2007). Reakcí rostliny je řada morfologických, fyziologických, biochemických a molekulárních změn (Wang et al., 2003), které vzhledem k energetické a substrátové náročnosti mohou omezovat růst, zrychlovat senescenci, snižovat výnos a mohou způsobit i smrt (Ye et al., 2017). Abiotický stres je v rostlinných orgánech spojen s akumulací ochranných proteinů, mezi proteiny, které přímo chrání rostlinu před působením stresu byly identifikovány mj. dehydriny (DHN) (Ingram and Bartels, 1996). Tyto proteiny byly v minulosti identifikovány jako vhodné indikátory úrovně stresu (Klíma et al., 2012). Pro analýzu akumulace dehydrinů v klíčních rostlinách máku nejsou běžně využívané metody (SDS-PAGE, Western blot) vhodné kvůli velmi nízkému obsahu těchto proteinů v pletivech. SPRi umožňuje studium nativních proteinů i ve velmi nízkých koncentracích. Překážkou není ani přítomnost dalších látek, takže jako vzorek pro analýzu postačí hrubý extrakt z rostlinného pletiva (Douzi, 2017). Metoda využívá plazmon vznikající na rozhraní kovu a dielektrika k detekci interakcí molekul umístěných na povrchu

kovu (biočipu). Naředěná protilátka je nanesena (naspotována) na povrch biočipu a jeho odezva je sledována vždy současně na bodech obsahujících protilátku a na referenčních bodech (povrch biočipu, kde nebyla naspotována protilátka. Pro stanovení relativní akumulace dehydrinů byly připraveny extrakty termostabilních proteinů z klíčních rostlin máku vystavených simulovanému suchu.

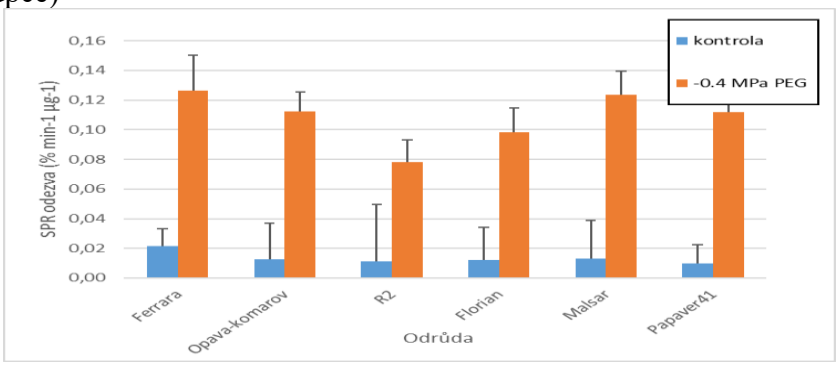
Materiál a Metody

Na Petriho miskách byla klíčena semena šesti genotypů máku: Ferrara, Papaver 41, R2, Florian, Malsar, Opava-Komarov. Před použitím byla semena sterilizována pomocí 8 % roztoku chloraminu T po dobu 30 minut. Pro každý genotyp bylo vyseto 30 semen ve třech opakováních (1x kontrola, 2x stres). Sterilní filtrační papír v miskách byl navlhčen sterilní destilovanou vodou (kontrola) a roztokem polyetylen glykolu 6000 (PEG 6000) (stres). Osmotický potenciál roztoku PEG 6000 odpovídal -0,4 MPa podle metodiky Toosi (2014). Kultivace semen probíhala ve fytotronu s konstantní teplotou 22 °C a 16 hod fotoperiodou. Klíční rostliny byly odebrány po 10 ti dnech od založení experimentu a okamžitě zmrazeny v kapalném dusíku.
Termostabilní proteiny byly izolovány podle metody Castaneda-Saucedo et al. (2014) z děložních listů klíčních rostlin, které byly homogenizovány pomocí kapalného dusíku v třecí misce. 250 mg vzorku bylo smícháno s1 ml extrakčního pufru (20 mM Tris-HCl, pH=7,5 + 0,5 M NaCl), vortexováno a poté centrifugováno při 14000 x g při 4 °C po dobu 20 minut. Odebraný supernatant byl zahříván po dobu 15 minut na 100 °C a poté 10 minut chlazen na ledu. Následovala centrifugace při 14000 x g při 4 °C po dobu 20 minut. Odebraný supernatant byl skladován při -20 °C. Před vlastním měřením byly vzorky ředěny v poměru 1:200 v 10mM PBS pufru (pH=7,4), který byl využit také jako nosný pufr. Pro vlastní SPRi analýzu byl využit komerčně dodávaný biočip CS-LD (Horiba), který obsahuje chemickou vrstvu obsahující funkční skupiny vhodné pro navázání protilátky. Protilátka anti-Dehydrin (Agrisera) byla naředěna 10 mM PBS pufrem (pH 7,4) v koncentraci 1:10 000 a byla naspotována na biočip, který byl následně vyblokován etanolaminem a saturován 1 % BSA. Po změření odezvy každého vzorku byl biočip regenerován 1 % SDS a znovu saturován 1% BSA.

Výsledky a diskuze

Na základě předchozích výsledků (Hoštičková et al., 2018) bylo vybráno 6 genotypů máku: Ferrara, Papaver 41, R2, Florian, Malsar, Opava-Komarov. Semena byla vyseta na filtrační papír v Petriho miskách v kontrolní variantě vlhčené vodou a ve variantě simulovaného sucha. Relativní akumulace dehydrinů v klíčních rostlinách byla stanovena pomocí metody SPRi. Výsledky této analýzy jsou znázorněny v grafu 1.

Graf 1: Normalizované odezvy SPR – relativní akumulace dehydrinů v rostlinách klíčených v kontrolních podmínkách (modré sloupce) a v podmínkách simulovaného sucha (oranžové sloupce)



Křivky znázorňující SPR signál vzorků získaných z klíčních rostlin kultivovaných v roztoku PEG detekovaný na spotech s protilátkou se lišily intenzitou i tvarem v porovnání s kontrolními rostlinami. Hodnoty přepočtené na relativní akumulaci dehydrinů byly vyneseny do grafu na obrázku 1. Akumulace dehydrinů byla několikanásobně vyšší u variant s PEG v roztoku než u kontrolních variant. Největší rozdíl byl pozorován u genotypu Papaver 41, kde byla akumulace dehydrinů v rostlinách klíčících v roztoku PEG více než 11x vyšší než v rostlinách kontrolních. Výrazné zvýšení akumulace dehydrinů u rostlin klíčících v roztoku PEG v porovnání s kontrolními rostlinami bylo pozorováno také u genotypu Malsar (více než 9ti násobné zvýšení) či Ostrava-Komarov (9ti násobné zvýšení). Nejmenší rozdíl mezi rostlinami kontrolními a klíčícími v roztoku PEG byl pozorován u genotypu Ferrara, kde byl naměřen nezanedbatelný téměř 6ti násobný nárůst akumulace dehydrinů u rostlin v roztoku PEG. Pro ověření interakce dehydrinů s povrchem biočipu byl použit purifikovaný dehydrin.
Důležitá role těchto proteinů v rostlinách v průběhu reakce na abiotický stres byla v minulosti prokázána například u růží (Haimi et al., 2017; Ouyang et al., 2019), bříz (Tatarinova et al., 2018), ječmene a pšenice (Kosová et al., 2011), paprik (Chen et al., 2015) či řepky (Jelínková et al., 2014, 2016; Urban et al., 2013). Běžně používané metody detekce těchto protein u stresovaných rostlin jsou SDS-PAGE či western blot (např. Hellal et al., 2018; Parmentier-Line et al., 2002). V porovnání s těmito metodami je však metoda SPRi levnější, rychlejší a citlivější. Právě její vyšší citlivost je nespornou výhodou, neboť u některých plodin je akumulace těchto proteinů tak nízká, že je pomocí konvenčních metod obtížně detekovatelná.

Závěr

Metoda rezonance povrchového plazmonu (SPRi) byla v této studii testována jako potenciálně vhodný nástroj pro studium reakce rostlin máku na simulovaný stres suchem. Klíční rostliny použité v experimentu jako rostliny stresované suchem byly kultivovány v roztoku polyetylen glykolu. Kontrolní varianta byla kultivována v destilované vodě. U klíčních rostlin kultivovaných v podmínkách simulovaného sucha byla zjištěna několikanásobně vyšší akumulace stresových proteinů – dehydrinů než u klíčních rostlin kontrolních. Metoda SPRi byla díky této studii prokázána jako relativně levná, rychlá a citlivá metoda umožňující analýzu akumulace zájmových proteinů v klíčních rostlinách máku.

Dedikace

Experimentální výsledky byly získány s využitím velké výzkumné infrastruktury ENREGAT podporované MŠMT, č. projektu LM2018098 a NAZV QK1810391

Použitá literatura

Castaneda-Saucedo, C.M., Cordova-Tellez, L., Tapia-Campos, E., Delgado-Alvarado, A., Gonzalez-Hernandez, V.A., Santacruz-Varela, A., Loza-Tavere, H., Garcia-de-Los-Santos, G., and Vargas-Suarez, M., 2014. Dehydrins Patterns in Common Bean Exposed to Drought and Watered Conditions. Rev. Fitotec. Mex., 37, 59–68.

Douzi, B., 2017. Protein-Protein Interactions: Surface Plasmon Resonance. Methods Mol Biol 1615, 257–275.

Haimi, P., Vinskienė, J., Stepulaitienė, I., Baniulis, D., Stanienė, G., Šikšnianienė, J.B., and Rugienius, R., 2017. Patterns of low temperature induced accumulation of dehydrins in Rosaceae crops—Evidence for post-translational modification in apple. Journal of Plant Physiology, 218, 175–181.

Hellal, F.A., El-Shabrawi, H.M., Abd El-Hady, M., Khatab, I.A., El-Sayed, S.A.A., and Abdelly, C., 2018. Influence of PEG induced drought stress on molecular and biochemical

constituents and seedling growth of Egyptian barley cultivars. J Genet Eng Biotechnol, 16, 203–212.

Hoštičková, I., Vráblová, M., Rychlá, A., Hronková, M., Jozová, E., and Čurn, V., 2018. Infračervená termografie jako nástroj pro výběr genotypů máku s kontrastní reakcí na stres suchem. 66, Úroda - vědecká příloha, 12, 143–146.

Chen, R., Jing, H., Guo, W., Wang, S.-B., Ma, F., Pan, B.-G., and Gong, Z.-H., 2015. Silencing of dehydrin CaDHN1 diminishes tolerance to multiple abiotic stresses in Capsicum annuum L. Plant Cell Rep, 34, 2189–2200.

Ingram, J., and Bartels, D., 1996. The Molecular Basis of Dehydration Tolerance in Plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 47, 377–403.

Jelínková, I., Chickaputaiah, C., Čurn, V., Urban, M.O., and Klíma, M., 2016. Analýza exprese genů indukovaných stresem chladem u řepky. Úroda, vědecká příloha, 12, 149–152.

Jelínková, I., Chickaputaiah, C., Havlíčková, L., Vítámvás, P., and Urban, M.O., 2014. Komparativní analýza exprese na úrovni genů/proteinů indukovaných v podmínkách stresu suchem u řepky olejky. Úroda, vědecká příloha, 12, 167-170

Klíma, M., Vítámvás, P., Zelenková, S., Vyvadilová, M., and Prášil, I.T., 2012. Dehydrin and proline content in Brassica napus and B. carinata under cold stress at two irradiances. Biol Plant, 56, 157–161.

Kosová, K., Vítámvás, P., and Prášil, I.T., 2011. Expression of dehydrins in wheat and barley under different temperatures. Plant Science, 180, 46–52.

Ouyang, L., Leus, L., De Keyser, E., and Van Labeke, M.-C., 2019. Seasonal changes in cold hardiness and carbohydrate metabolism in four garden rose cultivars. J. Plant Physiol., 232, 188–199.

Parmentier-Line, C.M., Panta, G.R., and Rowland, L.J., 2002. Changes in dehydrin expression associated with cold, ABA and PEG treatments in blueberry cell cultures. Plant Science, 162, 273–282.

Tatarinova, T.D., Vetchinnikova, L.V., Bubyakina, V.V., Perk, A.A., Ponomarev, A.G., Vasilieva, I.V., Serebryakova, O.S., and Petrova, N.E., 2018. Dehydrins in Buds of Main Birch Species under Conditions of Karelia. Russ J Plant Physiol, 65, 295–301.

Toosi, A. F., Bin Bakar, B., Azizi, M., 2014. Effect of drought stress by using PEG 6000 on germination and early seedling growth of Brassica juncea Var. Ensabi. Scientific Papers. Series A. Agronomy, 57,

Urban, M.O., Klima, M., Vitamvas, P., Vasek, J., Hilgert-Delgado, A.A., and Kucera, V., 2013. Significant relationships among frost tolerance and net photosynthetic rate, water use efficiency and dehydrin accumulation in cold-treated winter oilseed rapes. Journal of Plant Physiology, 170, 1600–1608.

Wang, W., Vinocur, B., and Altman, A., 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. Planta, 218, 1–14.

Ye, Y., Ding, Y., Jiang, Q., Wang, F., Sun, J., and Zhu, C., 2017. The role of receptor-like protein kinases (RLKs) in abiotic stress response in plants. Plant Cell Reports, 36, 235–242.

Kontaktní adresa:

Ing. Irena Hoštičková, Ph.D.

Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Branišovská 1645/31a, 37005 České Budějovice, hostickova@zf.jcu.cz, +420 389 032 939

DNA barcoding a traceabilita novošlechtění máku

DNA barcoding and traceability of poppy breeding materials

Jozová E.[1], Stará M.[1], Rychlá A.[2], Čurn V.[1]

[1]Zemědělská fakulta JU, Katedra genetiky a zemědělských biotechnologií
[2] OSEAVA PRO s.r.o., Výzkumný ústav olejnin Opava

Abstrakt
V rámci předchozí studie zaměřené na novošlechtění a hodnocení genetické diverzity u máku setého (*Papaver somniferum* L.), byl u některých odrůd zjištěný vyšší počet alel. To bylo důvodem pro provedení detailních rozborů individuálních rostlin a precizní analýze mikrosatelitů u modelové odrůdy vedené pod označením N1235, původem z Rumunska. Pro zjištění variability byly hodnoceny jak morfologické, tak i genotypové znaky u 25 rostlin dané odrůdy. Morfologickými znaky byly: barva listu, ochlupení, barva květu a barva poupěte. Genotypové znaky představovalo 10 mikrosatelitových markerů. Celkem se amplifikovalo 59 alel. Na základě fenotypové a molekulární analýzy byl zjištěn vysoký stupeň vnitroodrůdové variability a bylo prokázáno, že kombinací fenotypových a genotypových dat je možné vyhodnotit homogenitu odrůdy a provést kontrolu čistoty osiva.
Klíčová slova: mák, mikrosatelitové markery, šlechtění

Abstract
In a previous study focused on new breeding and evaluation of genetic diversity in poppy (*Papaver somniferum* L.), an unlikely number of alleles was found in some varieties. This study was focused on individual analysis of plants. The variety N1235, originating from Romania, was chosen as a model. To determine variability, both morphological and genotypic traits of 25 plants of a given variety were evaluated. The morphological characters were: leaf color, hair, flower color and bud color. Genotypic traits were evaluated using 10 microsatellite markers. The number and size of alleles were evaluated from the results of fragment analysis. A total of 59 alleles were amplified. Based on phenotypic and molecular analysis, a high degree of intraspecific variability was found and it was shown that by combining phenotypic and genotypic data it is possible to perform seed purity control.
Keywords: poppy, SSRs, breeding

Úvod

Mák setý byl původně využíván až do poloviny 17. století výhradně jako lék proti bolesti (Schulz a kol., 2004), až následovně byl mák využíván pro svoje chuťové parametry i v potravinářství. Typické je pěstování máku pro potravinářské účely pro země střední a východní Evropy. Potravinářský mák by měl obsahovat nízké množství alkaloidů, které jsou pro mák tak typické (Mičianová a kol., 2017). Pěstování máku je v České republice dlouhodobě velmi oblíbené. Osevní plocha v letošním roce dosáhla 43 867 hektarů, z toho 1400 hektarů tvoří dokonce mák bělosemenný, který začíná být velmi oblíbený v gastronomii zejména v Indii. Sklizeň máku je v letošním roce odhadována na 31 tis. tun, tedy nejvyšší za posledních deset let (www.czso.cz/csu/czso/zemedelstvi). Česká republika je v pěstování máku pravidelně na prvním místě. Export činí až 80% z celkové sklizně.

Se zvyšujícím se zájmem o pěstování ale také stoupá zájem o nové kvalitní odrůdy. Proto je velmi důležitý výběr rodičovských komponent při novošlechtění. Požadavkem jsou kvalitní homogenní odrůdy. Jak se ale v poslední době ukazuje, nestačí hodnotit pouze morfologii rostliny a chemické složení, ale také její genetický základ. Vhodným nástrojem pro tento účel

pak jsou molekulární markery. Mezi nejvíce využívané typy markerů, které lze využití k hodnocení diverzity nebo čistoty osiva, jsou například RAPD, které nejsou již tolik využívané kvůli špatné opakovatelnosti výsledků, AFLP, ISSR, SSR nebo SNP. Velmi důležité je, aby markery byly specifické právě pro daný druh a vykazovaly vysoký stupeň polymorfismu. Nejvíce využívané jsou stále mikrosatelity (SSR), jelikož mají spoustu žádoucích vlastností např. hojný výskyt v celém genomu jak u prokaryot, tak i u eukaryot (Kalia a kol., 2011), schopnost tvorby multiplexů a kodominance, tedy schopnost rozeznat homozygota a heterozygota (Guichou a kol., 2011).
Při předchozí analýze zaměřené na genetickou diverzitu u máku setého byly zjištěny u některých odrůd nejasnosti v genotypizaci. Jelikož použitým molekulárním markerem byly mikrosatelity (SSR) dalo se předpokládat, že rostliny mohou mít pouze jednu či dvě alely, podle toho, zda se jedná o homozygota či heterozygota. U některých odrůd ovšem nastala situace, kdy se amplifikovaly až čtyři alely. Proto bylo přistoupeno k individuálnímu rozboru rostlin.
Cílem této studie bylo zjistit do jaké míry je odrůda máku setého homogenní a zda nedošlo ke kontaminaci analyzovaného genetického zdroje jinou odrůdou.

Materiál a metody
Pro hodnocení individuálního rozboru rostlin, byla na základě předchozích analýz, vybrána odrůda N1235 (15O0800130), která byla vyšlechtěna v Rumunsku a do genové banky v ČR se dostala v roce 1985. Jedná se o jarní odrůdu máku setého. Na obrázku 1 je charakteristický vzhled rostliny vedený v databázi GRIN Czech Release 1.10.3.

Obrázek 4 Charakteristický obrázek pro sledovanou odrůdu

https://grinczech.vurv.cz/gringlobal/uploads/images/AIA/Papaver/61551/15O0800130-2019%20(2).JPG

Celkem bylo vyseto 25 semen této odrůdy, u kterých byly sledovány fenotypové znaky typu barva listu, ochlupení, barva květu a barva poupěte.
Během vegetačního období byl z každé rostliny odebrán list určený pro genetické analýzy. Z listů byla pomocí metody CTAB a komerčního kitu DNeasy Plant Pro and Plant Kits vyizolovaná DNA. Pro hodnocení individuálního rozboru bylo použito celkem 10

mikrosatelitových markerů: OPEST026, OPEST081c, OPEST053, OPEST106, OPGSSR001, OPEST061 (Vašek a kol., 2019), psom4, psom17 psSSR57, psSSR69 (Mičianová a kol., 2017), které jsou specifické pro rod *Papaver*. Analýza mikrosatelitů byla zpracována podle metodiky Jozová a kol. (2020). Analýza probíhala pomocí fragmentační analýzy na genetickém analyzátoru ABI 3500 (Applied Biosystems). Z výsledků byla sestavena binární matice. Statistické hodnocení dat bylo provedeno pomocí software MVSP (Kovach Computing Services).

Výsledky a diskuze

Vzhledem k nepříznivým klimatickým podmínkám a napadením škůdci nebylo možné pozorovat všechny rostliny v plném květu. Všechna zjištěná fenotypová data jsou uvedena v tabulce 1.

Tabulka 4 Fenotypové hodnocení rostlin

číslo rostliny	barva listu	ochlupení	barva květu*	antokyan. barva poupěte*
1c		ano		
2c		ne		
3c		ano		ne
4c		ne	fialová	ne
5c		ano		
6c	světlejší	ne		
7c	světlejší	ano		ne
8c		ano-malé		ne
9c	světlejší	ano		ne
10c		ano		ne
11c		ano	bílá	ne
12c		ne		ne
13c		ne	fialová	ne
14c		ano		
15c		ne	fialová	ne
16c		ano		ne
17c		ne	fialová	ne
18c		ne	fialová	ne
19c		ne	fialová	
20c		ano		ano
21c		ne	fialová	ne
22c		ne	bílofialová	
23c		ne		
24c		ne		ano
25c		ne		ne

**chybějící údaje pro barvu květů a antokyanové barvy poupěte jsou způsobené špatnými klimatickými podmínkami a škůdci*

Ze zjištěných fenotypových dat je jasně patrné, že tato odrůda je nevyrovnaná. Ačkoliv podle databáze GRIN má mít tato odrůda fialovou barvu květu, v porostu se vyskytovala i bílá, či

bílofialová barva květu. Stejně tak jsou rozdíly v barvě listu, kde u třech rostlin byla světlejší barva listu, než je u této odrůdy požadováno. Ochlupení bylo pozorováno u 11 rostlin, 14 rostlin bylo bez ochlupení. Antokyanové zbarvení poupěte bylo pozorováno u 2 rostlin.

Pro hodnocení diverzity pomocí molekulárních markerů bylo třeba nejprve vyizolovat DNA. Ačkoliv pro tyto účely byla optimalizována izolační metoda pomocí CTAB, bylo zjištěno, že v průběhu izolace dochází k inhibičním procesům, které způsobuje pravděpodobně latex obsažený ve velké míře ve starších listech. Proto byla DNA izolována pomocí kolonkového komerčně připraveného kitu DNeasy Plant Pro and Plant Kits (QIAGENE, Německo). V případě mladých listů nebo děložních lístků, kde je velmi nízký obsah latexu nebyl s izolací DNA problém zjištěn.
K účelům hodnocení čistoty dané odrůdy bylo použito 10 mikrosatelitových markerů, pomocí kterých byla hodnocena genetická diverzita v předchozí studii (Stará a kol., 2020). Výsledky mikrosatelitových markerů po PCR analýze jsou zaznamenány v tabulce 2.

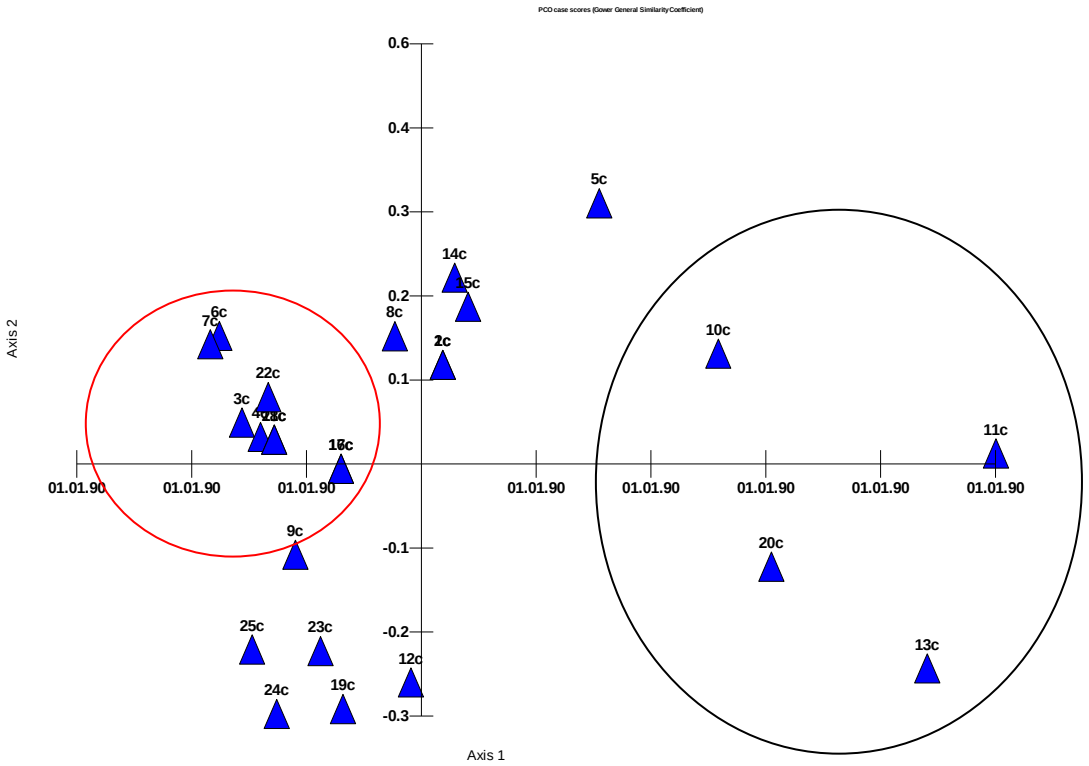
Tabulka 2 Charakteristika mikrosatelitových markerů

primer	varianta	počet alel	velikost fragmentu
Psom4	A	3	155-159
	B	1	167
psom17	A	2	101-104
	B	3	112-121
OPEST026	A	4	116-127
	B	4	141-171
OPEST081c		6	167-187
OPEST053		6	186-201
OPEST106		6	171-195
OPGSSR001		7	218-239
OPEST061		5	225-237
psSSR57	A	3	202-208
	B	5	222-234
psSSR69		4	155-166
celkem		**59**	

(Vašek a kol., 2019, Mičianová a kol., 2017)

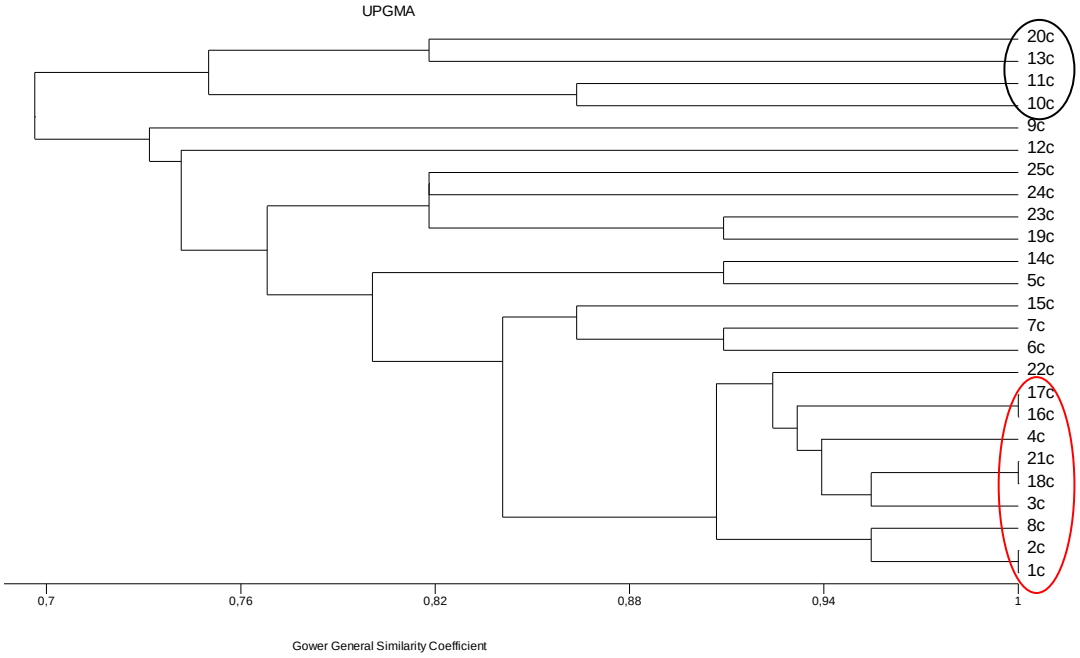
Předpokladem bylo, že odrůdy, které mají více než dvě alely se skládají z více genotypů. Tato hypotéza byla částečně vyvrácena. Jelikož při individuálním hodnocení diploidních rostlin není možné, aby se amplifikovaly více než dvě alely, vyplývá z toho, že daný mikrosatelit má v genomu více lokusů. Tento fakt byl zjištěn u 4 z deseti použitých mikrosatelitových markerů. Mezi některými rostlinami byl rozdíl i jen jedné báze, což může být způsobeno delecí či inzercí, proto je při hodnocení odrůdové variability či čistoty velmi důležité vytvářet směsné vzorky, čímž se pokryjí rozdíly způsobené přirozenou mutací. Celkový počet alel byl sice 59 oproti 70 u studie Stará a kol. (2020), ale i tak kolísal počet alel od 1 do 7, tedy byl velmi variabilní. Průměrný počet ale je 4,2 na jeden mikrosatelit oproti 2,5 alel, které udává Mičianová a kol. (2017). Zároveň je to výrazně méně než uvádí Vašek a kol. (2019) a to 6,94 alel na marker. Je tedy velmi důležité brát na zřetel, jak je mikrosatelitový marker polymorfní a jak velký má počet alel.

Z přítomnosti a nepřítomnosti alel byla sestavena binární matice a vypočtena PCO analýza, jejíž výsledek je uveden na obrázku 2.



Obrázek 5 Výsledek PCO analýzy

Výsledky PCO analýzy sestavené z binární matice a zpracované v programu MVSP ukázaly výraznou variabilitu v rámci jedné odrůdy. Vyznačený je shluk 9 rostlin analyzované odrůdy, které mezi sebou vykazují vyšší shodu, u některých rostlin dokonce shodu 100%. (vzorky 16c a 17c, 18c a 21c). Ovšem mezi těmito jedinci nelze zaznamenat žádný společný morfologický znak. Významně odlišné od ostatních jedinců jsou pak vzorky 10c, 11c, 20c, 13c, ani u těchto jedinců nelze jednoznačně říci, že by měli výrazný morfologicky odlišný znak.



Obrázek 6 Výsledek shlukové analýzy

Výsledek shlukové analýzy uvedený na obrázku 3 v podstatě potvrdil výsledky PCO analýzy. U shlukové analýzy je vyznačen jeden shluk nejpodobnějších jedinců, kteří jsou si podobní přibližně na 90%. A na opačné straně jsou jedinci, kteří mají shodu pouze ze 77%.

Závěr

Díky této studii se opět potvrdilo, jak důležité je využití molekulárních markerů nejen při šlechtění nových odrůd, ale i při hodnocení homogenity a čistoty již vyšlechtěných odrůd. U starších odrůd může vznikat problém i při udržování. Pokud nebyla odrůda ustálená, či byla složena z více linií, při přemnožování může docházet ke změně charakteru odrůdy, vzniká problém s nevyrovnanostní porostu a rozdílného fenotypového projevu. Znovu ustálit odrůdu lze za pomoci právě molekulárních markerů. Při výběru rostlin s charakteristickým fenotypovým projevem pro danou odrůdu a následnou analýzou mikrosatelitů či jiných podobně založených markerů lze vybrat konkrétní rostliny a tím znovu ustálit odrůdu.

.

Dedikace

Tato studie byla vytvořena díky podpoře projektů QK1810391- Využití technik genomiky a transkriptomiky k tvorbě genových zdrojů a výchozích materiálů máku se specifickými vlastnostmi a GAJU 027/2019/Z- Nové přístupy a techniky ve šlechtění, rostlinolékařství a hodnocení kvality rostlinných produktů.

Použitá literatura

Guichoux E., Lagache L., Wagner S., Chaumeil P., Léger P., Lepais O., Lepoittevin C., Malausa T., Revardel E., Salin F., 2011. Current trends in microsatellite genotyping. Molecular Ecology Resources, Vol. 11, p.591–611.

Jozová E., Stará M., Horáček J., Ludvíková M, Čurn V., 2020. Metodika pro genotypizaci genetických zdrojů máku setého (Pavaper somniferum L.) pomocí SSR a IRAP markerů. Jihočeská univerzita.

Kalia R.K., Rai M.K., Kalia S., Singh R., Dhawan A.K., 2011. Microsatellite markers: An overview of the recent progress in plants. Euphytica, Vol. 177, p.309–334

Mičianová V., Ondreičková K., Muchová D., Klčová L., Hudcovicová M., Havrlentová M., Mihálik D., Kraic J. 2017. Forensic application of EST-derived STR markers in opium poppy. Biologia. Vol. 72, iss 6, p.587-594.

Schulz H., Baranska M., Quilitzsch R., Schütze W. 2004. Determination of alkaloids in capsules, milk and ethanolic extracts of poppy (Papaver somniferum L.) by ATR-FT-IR and FTRaman spectroscopy. Analyst, Vol. 129, p.917–920.

Stará M., Jozová E., Čurn V., 2020. Molekulární charakterizace a hodnocení genetické diverzity genetických zdrojů máku. Úroda, Vol. 2020, iss. 12, p.157-162

Vašek J., Číhalová D., Melounová M., Svoboda P., Vejl P., Štikarová R., Vostrý L., Kuchtová P., Ovesná J., 2019. Markers for Individual Genotyping of Opium Poppy Cultivars (Papaver somniferum L.), New EST-SSR Plants, Vol. 12, iss. 1, p.10

www.czso.cz/csu/czso/zemedelstvi [online 14.10.2021]

Kontaktní adresa:

Ing. Eva Jozová, Ph.D.

Zemědělská fakulta JU, Katedra genetiky a zemědělských biotechnologií, Na Sádkách 1780, 370 05 České Budějovice

vondre01@zf.jcu.cz, 387772937

Hodnocení odolnosti souboru ozimých pšenic (*Triticum aestivum* L.) vůči suchu

Evaluation of drought response in a set of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes

Kosová K., Vítámvás P., Prášil I.T.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6 - Ruzyně, ČR

Abstrakt

Sucho představuje nejvýznamnější environmentální stresový faktor snižující výnos a kvalitu rostlinné produkce. Studium klíčových fyziologických mechanismů podílejících se na zvýšení odolnosti pšenice vůči suchu v rané fázi vegetativního vývoje představuje základní předpoklad pro porozumění suchovzdornosti. Naším cílem bylo fenotypování odezvy na sucho u souboru 7 kultivarů ozimé pšenice (Balitus, Bohemia, IS Conditor, RGT Sacramento, Tobak, Tonnage, Tybalt) pěstovaných na dvou úrovních zálivky (70% půdní vodní kapacity PVK - kontrolní rostliny; 35% PVK - rostliny vystavené suchu). Rostliny byly odebírány po 10, resp. 17 dnech od vysazení ve stadiu 3., resp. 2. listu (kontrolní, resp. suché varianty) a byly u nich stanoveny následující charakteristiky: hmotnost čerstvé nadzemní biomasy, plocha 2., resp. 1. listu, vodní sytostní deficit (VSD), osmotický potenciál, fluorescenční parametr Fv/Fm, poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO_2 (ci/ca), rychlost čisté fotosyntézy (A), rychlost transpirace (E), stomatální vodivost (Gs), účinnost využití vody (WUE) a parametr WUEi. Hodnocení souboru dat pomocí klastrové analýzy rozdělilo kultivary do dvou klastrů: klastr 1 zahrnuje kultivary Bohemia, IS Conditor, RGT Sacramento, a klastr 2 zahrnuje kultivary Balitus, Tobak, Tonnage a Tybalt. Klastrová analýza umožnila rozlišení kultivarů s odlišnou odezvou na sucho v rané fázi vegetativního vývoje.

Klíčová slova: sucho; ozimá pšenice setá; růstové charakteristiky; osmotický potenciál; Fv/Fm; fotosyntetické charakteristiky; klastrová analýza

Abstract

Drought represents the most severe environmental stress worldwide resulting in decreased crop yield and quality. Our study was focused on phenotyping drought response in 7 winter wheat cultivars (Balitus, Bohemia, IS Conditor, RGT Sacramento, Tobak, Tonnage, Tybalt) grown at two levels of watering (70% soil water content SWC - control; 35 % SWC - drought-treated plants). Plants were sampled at 10 and 17 days after planting at 3rd and 2nd leaf stage for control and drought-treated plants, respectively, and biomass, leaf area, water saturation deficit, osmotic potential, and photosynthetic characteristics were determined. Cluster analysis distinguished wheats with different drought response.

Key words: drought; winter wheat; growth characteristics; osmotic potential; Fv/Fm; photosynthetic characteristics; cluster analysis

Úvod

Sucho představuje celosvětově nejvýznamnější environmentální stresový faktor limitující rostlinnou produkci. Voda se v systému půda → rostlina → atmosféra pohybuje dle gradientu vodního potenciálu. Pokles vodního potenciálu půdy vede k nerovnováze mezi příjmem vody kořeny a výdejem vody prýtem, což vede k deficitu vody v rostlinných pletivech - tzv.

fyziologické sucho. Z hlediska zemědělské produkce je klíčové tzv. agronomické sucho, které se projevuje min. 10% snížením výnosu oproti optimálním podmínkám.

V proměnlivých klimatických podmínkách ČR je možnost výskytu sucha kdykoliv v průběhu vegetační sezóny obilnin. V naší studii jsme se zaměřili na sucho v časné fázi vegetativního vývoje rostlin. Sucho se projevuje sníženým obsahem vody v pletivech (dehydratací) a vede ke zpomalení růstu a vývoje rostlin. Proto jsme se zaměřili na hodnocení obsahu vody v listech na základě stanovení tzv. vodního sytostního deficitu (VSD; Slavík 1963), plochy nejmladšího plně vyvinutého listu, a na hmotnost čerstvé nadzemní biomasy, která v sobě zahrnuje míru hydratace rostlinných pletiv i růstové charakteristiky. Příjem vody kořeny závisí na gradientu vodního potenciálu mezi rostlinou a půdou. Hlavní složkou vodního potenciálu je osmotický potenciál, který reflektuje míru akumulace tzv. osmoticky aktivních látek zahrnujících malé molekuly (cukry a cukerné alkoholy, prolin, polyaminy, betainy) i hydrofilní proteiny, např. COR/LEA (Battaglia et al. 2008).

Fotosyntéza citlivě reaguje na environmentální stresy včetně sucha. Stres vede k nerovnováze mezi elektrontransportními procesy spojenými s absorbcí slunečního záření a mezi procesy spojenými s asimilací CO_2, což vede k poklesu množství využitelné sluneční energie a k nárůstu tepelné disipace. Nepřímým ukazatelem stavu fotosyntetického aparátu je další alternativní způsob vyzáření absorbované energie, a to fluorescence chlorofylu *a* v reakčním centru fotosystému II (Krause a Weis 1991). Jako nepřímý indikátor stresu se používá fluorescenční parametr zvaný maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm, jehož hodnoty se u temnotně adaptovaných rostlin pěstovaných za optimálních podmínek pohybují v intervalu 0,81–0,82 a u stresovaných rostlin významně klesají. Využití Fv/Fm pro hodnocení stresů u obilnin viz Rizza et al. (2011). Průduchy hrají klíčovou roli jednak z hlediska regulace výdeje vody tzv. stomatální transpirací, jednak u rostlin s tzv. C3 typem fotosyntézy, mezi něž patří i pšenice setá a další obilniny ze skupiny Triticeae je otevřenost průduchů klíčovým faktorem pro fotosyntetickou asimilaci CO_2. U C3 rostlin vystavených suchu lze rozlišit dvě kontrastní strategie odezvy průduchů: konzervativní, tzv. šetřící (water-saving) strategie, kdy rostlina zavírá průduchy již při mírném deficitu vody, čímž omezuje ztrátu vody transpirací, ale zároveň snižuje rychlost čisté fotosyntézy v důsledku nedostatku CO_2; rostliny s touto strategií mají relativně nižší rychlost čisté fotosyntézy, rychlost transpirace, stomatální vodivost i poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO_2 a naopak vyšší účinnost využití vody (WUE) ve srovnání s rostlinami s tzv. „plýtvající“ (water-spender) strategií, tj. těmi, které nechávají průduchy otevřené až do velkého stupně dehydratace (Farquhar a Richards 1984; Kosová et al. 2014, 2017, 2019).

Cílem naší studie bylo hodnocení odezvy vůči suchu u souboru sedmi kultivarů ozimých pšenic v časné fázi vegetativního vývoje rostlin (fáze 3 listů). Bylo provedeno hodnocení charakteristik souvisejících s růstem a vývojem rostlin, tj. stanovení hmotnosti čerstvé nadzemní biomasy a plochy nejmladšího plně vyvinutého listu, stanovení vodního sytostního deficitu, osmotického potenciálu, a stanovení charakteristik souvisejících s fotosyntézou a transpirací: fluorescenční parametr Fv/Fm, rychlost čisté fotosyntézy, rychlost transpirace, stomatální vodivost a poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO_2. Na základě těchto charakteristik byly vypočteny hodnoty účinnosti využití vody (WUE) a parametru WUEi. Všechny parametry byly využity v hodnocení kultivarů pomocí klastrové analýzy, která rozlišila dvě skupiny kultivarů s odlišným typem odezvy na sucho.

Materiál a metodika

Pro experiment bylo použito sedm kultivarů ozimé pšenice: Balitus, Bohemia, IS Conditor, RGT Sacramento, Tobak, Tonnage, Tybalt, jejichž osivo bylo získáno od šlechtitelské společnosti Selgen, a.s., Stupice, ČR. Osivo bylo naklíčeno v termostatech (18 °C, 2 dny) a bylo vysazeno po 7 semenech do květináčů naplněných směsí zahradnického substrátu a zeminy. Rostliny byly pěstovány v klimaboxu (Tyler, T-64, Budapešť, Maďarsko) při teplotě 18 °C, ozářenosti 350 μmol $m^{-2}s^{-1}$ a dlouhém dnu (16 h/8 h světlo/tma). Rostliny byly pěstovány 10 dnů při 75% půdní vodní kapacity (PVK) a následně byly odebrány kontrolní varianty. Poté byla zálivka snížena na 35% PVK a za dalších 7 dnů byly odebrány vzorky ze suchých variant. U obou variant byly stanoveny následující charakteristiky: hmotnost čerstvé nadzemní biomasy byla stanovena gravimetricky, plocha nejmladšího plně vyvinutého listu (2. list u kontrolních variant, 1. list u suchých variant) byla stanovena výpočtem na základě změřené délky a šířky listu, vodní sytostní deficit (VSD) byl vypočten na základě stanovení čerstvé hmotnosti (FW), hmotnosti při 100 % nasycení (TW) a suché hmotnosti (DW) dle vzorce VSD = (TW–FW)/(TW–DW)*100 (%) dle Slavíka (1963). Osmotický potenciál byl stanoven jako osmolarita ze šťávy vymačkané ze vzorků mražených listů pomocí osmometru VAPRO (WESCOR, Utah, USA) a vypočten na základě van´t Hoffovy rovnice.
Fluorescenční parametr maximální fotochemická účinnost fotosystému II Fv/Fm byl stanoevn u min. 30 min temnotně adaptovaných rostlin pomocí přenosného fluorometru FluorPen FP100 (PSI, Drásov, ČR). Rychlost čisté fotosyntézy (A), rychlost transpirace (E), vodivost průduchů (Gs) a poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO_2 (ci/ca) byly stanoveny pomocí přenosného přístroje LC PRO+ (ADC Bioscientific, Velká Británie). Parametry účinnost využití vody (WUE) a WUEi (intrinsic water use efficiency) byly vypočteny jako (A/E), resp. (A/Gs) (Gago et al. 2014).
Statistická analýza dat: Data týkající se jednotlivých charakteristik (n = 4) byla vyhodnocena pomocí jednocestné analýzy rozptylu (one-way ANOVA) následované Duncanovým testem rozpětí (DMRT) na hladině významnosti 0,05 pomocí programu STATISTICA verze 13 (TIBCO Inc., Velká Británie). Klastrová analýza byla provedena u Z-skóre transformovaných dat za aplikace Euklideánských vzdáleností a Wardových minimálních kritérií pomocí programu PermutMatrix (Caraux a Pinloche 2005).

Výsledky

Sucho vedlo k významnému poklesu hmotnosti čerstvé biomasy a listové plochy u všech kultivarů; zatímco mezi kontrolními variantami byly genotypové rozdíly, mezi suchými variantami nikoliv (Tabulka 1). Naopak sucho vedlo k významnému nárůstu vodního sytostního deficitu (VSD), přičemž se projevily genotypové rozdíly: odrůda Bohemia vykazovala za sucha nejnižší hodnotu VSD (25,97%), zatímco odrůdy IS Conditor a Tonnage dosahovaly nejvyšších hodnot 35,6%, resp. 38% VSD. Hodnoty osmotického potenciálu (OP) vykazovaly i u kontrolních variant genotypové rozdíly: nejvyšších hodnot dosahovaly odrůdy Bohemia a IS Conditor, nejnižších odrůdy Tonnage a RGT Sacramento. Suché varianty měly významně nižší hodnoty OP než kontroly, avšak genotypové rozdíly zůstaly zachovány - nejvyšších hodnot OP dosáhly opět odrůdy Bohemia a IS Conditor, nejnižších odrůdy Tonnage a RGT Sacramento.

Tabulka 1. Hmotnost čerstvé biomasy, plocha nejmladšího plně vyvinutého listu, vodní sytostní deficit (VSD) a osmotický potenciál (OP) u kontrolních a suchých variant ozimé pšenice. Data znázorňují průměr ± směrodatnou odchylku (n = 4), odlišná písmena značí statisticky významné rozdíly zjištěné pomocí jednocestné analýzy ANOVA, DMRT, $p < 0,05$.

Kultivar	Biomasa (g)	Plocha listu (cm^2)	VSD (%)	OP (MPa)
		Kontrolní varianty		
Balitus	1,353 ± 0,064 b	5,624 ± 1,366 d	6,171 ± 1,109 a	-0,933 ± 0,029 de
Bohemia	1,523 ± 0,093 a	7,863 ± 1,588 a	5.698 ± 0,848 a	-0,891 ± 0,017 bc
IS Conditor	1,203 ± 0,025 c	6,635 ± 1,325 bc	6,864 ± 0,382 a	-0,865 ± 0,02 ab
RGT Sacramento	1,23 ± 0,528 bc	7,416 ± 0,576 ab	7,301 ± 2,658 a	-1 ± 0,016 f
Tobak	1,197 ± 0,057 c	5,44 ± 1,318 d	8,602 ± 0,205 a	-0,902 ± 0,014 cd
Tonnage	1,28 ± 0,115 bc	6,512 ± 0,858 bcd	9,687 ± 2,542 a	-0,946 ± 0,022 e
Tybalt	1,343 ± 0,172 b	5,877 ± 1,588 cd	11,334 ± 2,169 a	-0,833 ± 0,023 a
Průměr	**1,304**	**6,481**	**7,951**	**-0,91**
		Suché varianty		
Balitus	0,594 ± 0,019 d	2,325 ± 0,551 e	27,59 ± 0,704 bc	-1,802 ± 0,019 i
Bohemia	0,612 ± 0,085 d	3,032 ± 0,827 e	25,974 ± 2,209 bc	-1,756 ± 0,017 i
IS Conditor	0,529 ± 0,026 d	2,575 ± 0,449 e	35,604 ± 3,076 de	-1,651 ± 0,01 h
RGT Sacramento	0,528 ± 0,034 d	3,125 ± 0,66 e	21,819 ± 3,684 bc	-1,865 ± 0,026 k
Tobak	0,504 ± 0,057 d	2,417 ± 0,515 e	21,411 ± 1,863 bc	-1,796 ± 0,038 i
Tonnage	0,526 ± 0,047 d	2,392 ± 0,727 e	38,011 ± 9,295 e	-1,967 ± 0,028 l
Tybalt	0,54 ± 0,061 d	3,342 ± 1,046 e	30,764 ± 6,294 cd	-1,594 ± 0,033 g
Průměr	**0,548**	**2,744**	**28,739**	**-1,776**

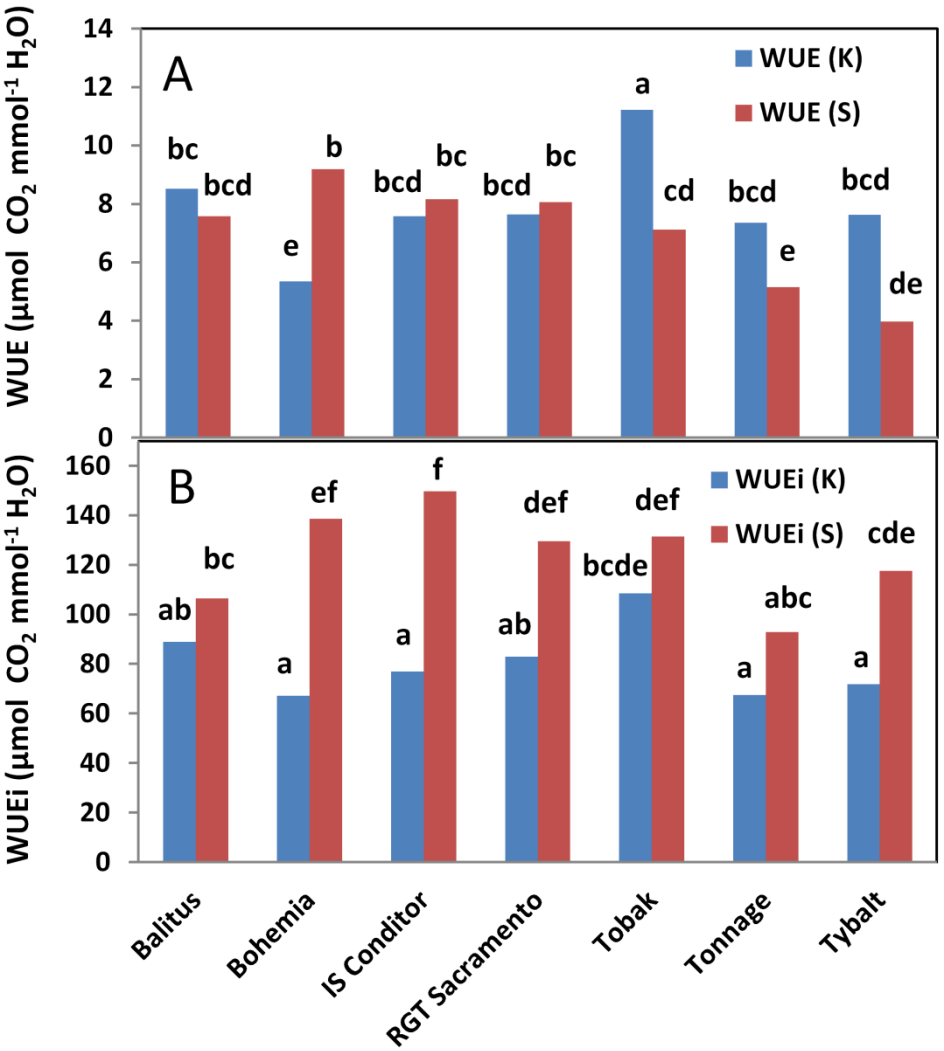
Fluorescenční parametr Fv/Fm nevykázal za podmínek daného experimentu významné rozdíly ani mezi kontrolní a suchou variantou, ani mezi genotypy. Poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO_2 (ci/ca) byl z kontrolních variant nejnižší u odrůd Balitus a Tobak, nejvyšší u odrůd Tonnage a Tybalt (Tabulka 2). Naopak ze suchých variant měly nejnižší hodnoty ci/ca odrůdy Bohemia a IS Conditor a nejvyšší odrůdy Tybalt a Tonnage. V kontrolní variantě měly nejnižší hodnoty rychlosti transpirace (E) odrůdy Bohemia a RGT Sacramento, nejvyšší pak

odrůdy Tobak a Tybalt; nejvyšší hodnotu vodivosti průduchů (Gs) měla odrůda Tybalt, nejnižší odrůda Bohemia; v případě rychlosti čisté fotosyntézy (A) dosáhla u kontrolní varianty nejvyšších hodnot odrůda Tobak, nejnižších odrůda Bohemia. U suchých variant nebyly v případě hodnot E, Gs a A zjištěny významné genotypové rozdíly.

Tabulka 2. Poměr intercelulární a ambientní koncentrace CO_2 (ci/ca), rychlost transpirace (E), stomatální vodivost (Gs) a rychlost čisté fotosyntézy (A) u kontrolních a suchých variant ozimé pšenice. Data znázorňují průměr ± směrodatnou odchylku (n = 4), odlišná písmena značí statisticky významné rozdíly zjištěné pomocí jednocestné analýzy ANOVA, DMRT, $p < 0,05$.

Kultivar	**ci/ca**	**E (mmol H_2O $m^{-2}s^{-1}$)**	**Gs (mmol H_2O $m^{-2}s^{-1}$)**	**A (µmol CO_2 $m^{-2}s^{-1}$)**
		Kontrolní varianty		
Balitus	0,639 ± 0,092 cde	2,098 ± 0,064 c	0,2 ± 0,009 c	17,806 ± 5,379 b
Bohemia	0,709 ± 0,088 abc	1,815 ± 0,204 d	0,145 ± 0,018 e	9,796 ± 3,411 d
IS Conditor	0,714 ± 0,056 abc	2,138 ± 0,086 bc	0,211 ± 0,013 c	16,184 ± 3,639 b
RGT Sacramento	0,714 ± 0,069 abc	1,74 ± 0,052 d	0,16 ± 0,001 d	13,276 ± 2,712 c
Tobak	0,622 ± 0,142 def	2,289 ± 0,346 ab	0,238 ± 0,045 b	25,25 ± 8,718 a
Tonnage	0,74 ± 0,05 abc	2,099 ± 0,138 c	0,229 ± 0,018 b	15,368 ± 2,592 bc
Tybalt	0,759 ± 0,024 abc	2,303 ± 0,171 a	0,246 ± 0,031 a	17,57 ± 2,133 b
Průměr	**0,7**	**2,069**	**0,204**	**16,464**
		Suché varianty		
Balitus	0,552 ± 0,063 fg	0,586 ± 0,06 e	0,043 ± 0,01 f	4,439 ± 0,818 e
Bohemia	0,492 ± 0,085 g	0,511 ± 0,076 e	0,036 ± 0,013 f	4,631 ± 0,765 e
IS Conditor	0,513 ± 0,049 g	0,532 ± 0,072 e	0,031 ± 0,011 f	4,329 ± 0,684 e
RGT Sacramento	0,521 ± 0,077 g	0,548 ± 0,126 e	0,036 ± 0,013 f	4,548 ± 1,681 e
Tobak	0,563 ± 0,032 efg	0,537 ± 0,066 e	0,031 ± 0,012 f	3,824 ± 0,557 e
Tonnage	0,677 ± 0,095 bcd	0,488 ± 0,058 e	0,029 ± 0,004 f	2,543 ± 0,879 e
Tybalt	0,621 ± 0,162 def	0,487 ± 0,153 e	0,031 ± 0,002 f	2,498 ± 1,969 e
Průměr	**0,563**	**0,527**	**0,034**	**3,83**

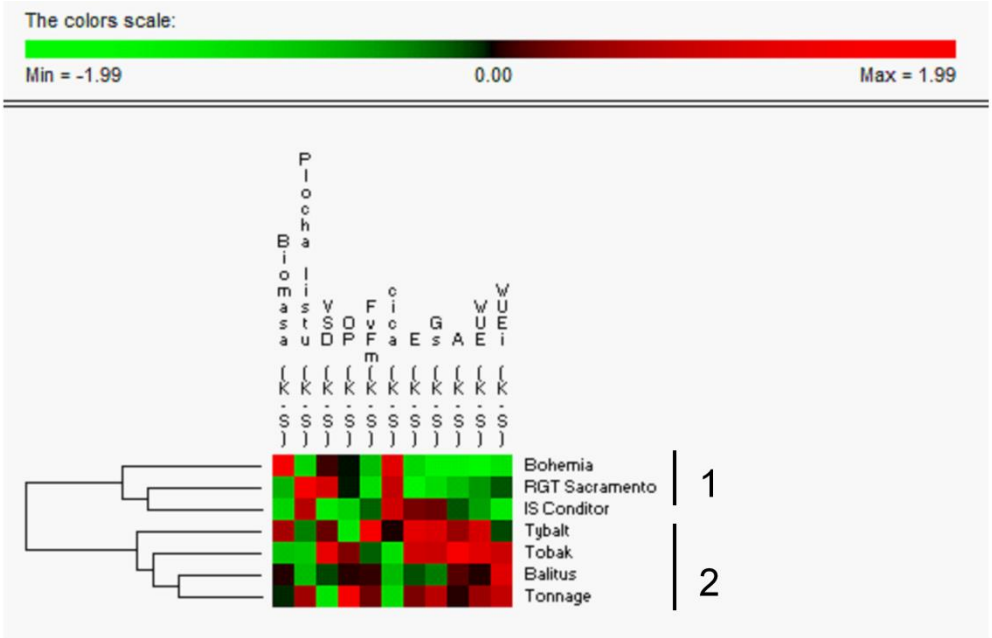
Účinnost využití vody (WUE) vykazovala významné genotypové rozdíly v kontrolní i suché variantě: v kontrolní variantě měla nejnižší hodnotu WUE odrůda Bohemia a nejvyšší hodnotu odrůda Tobak, v suché variantě měla naopak nejvyšší hodnotu odrůda Bohemia a nejnižší odrůda Tonnage (Obrázek 1). Parametr WUEi vykazoval v kontrolní variantě nejnižší hodnoty u odrůd Bohemia a Tonnage, nejvyšší u odrůdy Tobak. V suché variantě měla nejnižší hodnotu WUEi odrůda Tonnage, nejvyšší odrůdy Bohemia a IS Conditor.



Obrázek 1. Účinnost využití vody (WUE; A) a parametr WUEi (B) u kontrolních (modré sloupce; K) a suchých (červené sloupce; S) variant ozimých odrůd pšenice. Data znázorňují průměr (n = 4), odlišná písmena značí statisticky významné rozdíly zjištěné pomocí jednocestné analýzy ANOVA, DMRT, $p < 0,05$.

Klastrová analýza byla provedena na základě dat zahrnujících hmotnost čerstvé biomasy, plochu nejmladšího plně vyvinutého listu, hodnoty VSD, OP, Fv/Fm, ci/ca, E, Gs, A, WUE a WUEi u kontrolních i suchých variant a její výsledek rozdělil odrůdy do dvou klastrů: klastr 1

zahrnuje odrůdy Bohemia, RGT Sacramento a IS Conditor, klastr 2 odrůdy Balitus, Tobak, Tonnage a Tybalt (Obrázek 2).



Obrázek 2. Klastrová analýza z poměru hmotnosti čerstvé biomasy, plocha listu, VSD, OP, Fv/Fm, ci/ca, E, Gs, A, WUE a WUEi u kontrolních (K) a suchých (S) variant ozimé pšenice. Analýza byla provedena u Z-skóre transformovaných dat užitím Euklideánských vzdáleností a Wardových minimálních kritérií pomocí programu PermutMatrix (Caraux a Pinloche 2005).

Diskuse

Jak již bylo zmíněno v úvodu, rostliny s C3 typem fotosyntézy, mezi něž patří i pšenice setá, se obecně mohou vyznačovat dvěma krajními strategiemi odezvy na sucho: konzervativní, tzv. šetřící strategií, kdy rostliny zavírají průduchy již při mírné dehydrataci pletiv, čímž sice dosahují vysoké účinnosti využití vody (WUE), avšak za cenu významného omezení hodnot intercelulárního CO_2 (ci), stomatální vodivosti (Gs), rychlosti čisté fotosyntézy (A) a rychlosti transpirace (E), a naopak tzv. water-spending strategii, kdy rostliny nechávají průduchy otevřené až do relativně vysokého VSD, což snižuje hodnoty WUE, avšak přispívá k udržení relativně vyšších hodnot ci, Gs, A a E, nezbytných pro fotosyntetickou asimilaci. Klastrová analýza rozdělila sedm odrůd ozimé pšenice do dvou skupin (klastrů), přičemž odrůdy zařazené do klastru 1 lze zjednodušeně charakterizovat jako zástupce konzervativní strategie, zatímco odrůdy zařazené do klastru 2 jako zástupce „plýtvající“ (water-spending) strategie. Nutno ovšem podotknout, že z hlediska konečného výnosu v podmínkách sucha je situace složitější a vítězem nemusí být jednoznačně zástupci ani šetřící, ani spending kategorie, jelikož v případě výnosu zrna záleží na povaze sucha a rozložení srážek během celé vegetační sezóny. Obecně lze shrnout, že zástupci konzervativní strategie mají nejen vyšší WUE, ale i výnos v podmínkách kontinuálního sucha v průběhu celé vegetační sezóny, kdy celkový úhrn srážek nepřesahuje 400 mm; naopak v podmínkách proměnlivého klimatu, kdy se periody sucha

střídají s obdobími srážek vede k vyššímu výnosu spíše water-spending strategie (blíže viz Tardieu 2012; Kosová et al. 2014).

Poděkování

Práce byla podpořena projekty Ministerstva zemědělství ČR (MZe ČR), a to institucionálním projektem VÚRV, v.v.i. RO0418, a projekty QK1710302 a QK1910269.

Literatura

Battaglia, M., Olvera-Carrillo, Y., Garciarrubio, A., Campos, F., Covarrubias, A.A., 2008: The enigmatic LEA proteins and other hydrophilins. *Plant Physiol.* 148: 6–24.

Caraux, G., Pinloche, S., 2005: Permutmatrix: a graphical environment to arrange gene expression profiles in optimal linear order. *Bioinformatics* 21: 1280–1281.

Farquhar, G.D., Richards, R.A., 1984: Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use-efficiency of wheat genotypes. *Austr. J. Plant Physiol.* 11: 539–552.

Gago, J., Douthe, C., Florez-Sarasa, I., Escalona, J.M., Galmes, J., Fernie, A.R., Flexas, J., Medrano, H., 2014: Opportunities for improving water use efficiency under climate change conditions. *Plant Sci.* 226: 108–119.

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.

Kosová K., Prášil I.T., Vítámvás P., 2017: Odezva pšenice seté a ječmene setého na stres sucha: problémy a přístupy. *Úroda* 65(12): 21–26.

Kosová, K., Vítámvás, P., Klíma, M., Prášil, I.T., 2019: Breeding drought-resistant crops: G×E interactions, proteomics and pQTLs. *J. Exp. Bot.* 70: 2605–2608.

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.

Slavík, B., 1963: Relationship between the osmotic potential of cell sap and the water saturation deficit during the wilting of leaf tissue. *Biol. Plant* 5: 258–264.

Tardieu, F. 2012: Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *J. Exp. Bot.* 63: 25–31.

Kontaktní adresa:
RNDr. Klára Kosová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507/73
161 06 Praha 6 - Ruzyně, Česká republika
tel.: +420 233022447
email: kosova@vurv.cz

Hledání zdrojů rezistence u rodu Pisum sp. proti škodlivým organismům je běh na dlouhou trať

Looking for sources of resistance against harmful organisms in Pisum sp. is a run for a long distance

Krobotová E.[1], Dostálová R.[1], Seidenglanz M[1], Muñoz Arbeláez M[1], Šafář J. [1]

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

Abstrakt

Ve screeningovém polním pokusu založeném na lokalitě Šumperk v roce 2021 byl hodnocen vliv testovaných genotypů hrachu (150 položek, současné evropské odrůdy hrachu, šlechtitelský materiál) na úroveň napadení semen houbovými chorobami (*Mycosphaerela pinodes, Ascochyta pisi*), virovými chorobami (PSbMV) a hmyzími škůdci (*Bruchus pisorum, Cydia nigricana*) za podmínek přirozené infestace. U testovaných genotypů byly zaznamenány výrazné rozdíly v úrovních napadení způsobených uvedenými škodlivými organismy a téměř ve všech případech byl zaznamenán signifikatní efekt hrachového genotypu na rozdíly v napadení. V případě úrovní poškození semen způsobených *B. pisorum* byl též zjištěn statistický významný efekt těchto faktorů: poloha parcely v rámci pokusu, časnost/zpožděnost v nástupu kvetení a zbarvení pavézy.

Klíčová slova: hrách setý, škůdci, choroby, tolerance

Abstract

Under field conditions the effect of Field pea genotype as a factor (150 common commercial varieties and breeding materials were included in the trial) influencing the levels of seed damage induced by fungi pathogens (*Mycosphaerela pinodes*, *Ascochyta pisi*), viruses (PSbMV) and insect pests (*Bruchus pisorum, Cydia nigricana*) was assessed. In the group of the compared field pea genotypes significant differences in the levels of damage induced by the harmful organisms were recorded, almost in all cases the effect of field pea genotype on the level of damage showed to be significant. In the case of *B. pisorum* the levels of seed damage were also significantly affected with these factors: a position of field pea genotype through the trial crop, the time when the flowering period started and with the colour of banner.

Keywords: field pea, insect pests, diseases, tolerance

Úvod

Rod *Pisum* sp. z čeledi bobovitých zahrnuje v mnoha aspektech hospodářsky a agronomicky významné luskoviny – hrách setý polní, hrách peluška (krmný) a hrách dřeňový. Jedná se o druhou nejvíce pěstovanou luskovinu mírného pásma a nejvíce pěstovanou luskovinu v Evropě (FAOSTAT, 2021). Nejvíce pěstovanou luskovinou je i v ČR. Hrách zlepšuje půdní vlastnosti, má fytosanitární účinek, pomocí symbiózy hlízkovitých bakterií je schopen poutat vzdušný dusík, který rostlina využije a obohatí o něj půdu i pro plodiny následné. Hrách je zlepšující předplodinou, pozitivní vliv má i jeho využívání na zelené hnojení pro zlepšení úrodnosti půdy. Široké využití hrachu je hlavně v potravinářství a krmivářství pro přežvýkavce i monogastry. Dlouhodobým obecně akceptovatelným cílem je zvýšit podíl luskovin na orné půdě. Ať už v podobě hlavních plodin nebo různých typů meziplodin. To se ale ne zcela daří. Jednou z překážek pro jejich zařazování do osevních sledů (mimo ekonomické důvody) je u mnoha luskovin, hrách nevyjímaje, značná výnosová nestabilita (Rubiales et al., 2019). A příčinou této

nestability je nízká úroveň porostů tolerovat a vypořádávat se s následky (a)biotických stresů (tedy nízká úroveň resilience). Jako mnoho jiných plodin je hrách poškozován řadou chorob (houbových, virových) a škůdců. Též vykazuje poměrně nízkou schopnost konkurovat plevelům v boji o zdroje (živiny, světlo). Z houbových chorob jsou z hlediska dopadu na výnos velmi významné krčkové a kořenové choroby, skvrnitosti hrachu (původci *Mycosphaerela pinodes, Ascochyta pisi, Didymella pinodella*) a virózy (zejména komplex PEMV a PSbMV), (Ondráčková, 2021). Ze škůdců jsou to především kyjatka hrachová (*Acyrthosiphon pisum*) jako významný vektor virů a zrnokaz hrachový (*Bruchus pisorum*), který je považován za nejnebezpečnějšího škůdce hrachu celosvětově (Aznar-Fernández a Rubiales, 2019) a i v ČR se stal v poslední dekádě velmi nebezpečným (Seidenglanz et al., 2021). Za méně závažné hmyzí škůdce jsou v posledních letech považováni listopasi rodu *Sitona*, třásněnky (*Thysanoptera*) a obaleč hrachový (*Cydia nigricana*), (Seidenglanz et al., 2021).

Uplatněním šlechtitelských programů zaměřených na určité agronomické cíle odpovídající technologiím založeným na relativně vysokých vstupech se podařilo dosáhnout ve skutečnosti fantastického nárůstu rostlinné produkce a produktivity. Je to ale do jisté míry vykoupeno podle hesla „něco za něco“ poměrně nízkou úrovní genetické diverzity moderních odrůd, což se negativně projevuje jejich výkonností v podmínkách, které nejsou optimální (Verma et al. 2019). Tedy v podmínkách, se kterými se nepočítá: nad-prahový výskyt škodlivých organismů (mělo by se mu předcházet aplikací pesticidů – tedy vstupy zvenčí), nízký obsah některých živin v půdě (mělo by se mu předcházet aplikací umělých hnojiv – další vstupy zvenčí), nedostatek, přebytek, špatné rozložení srážek, neobvyklé teploty atd. Anebo taky v podmínkách, kdy se buď z přesvědčení anebo pod tlakem vnějších okolností (požadavek 50% snížení spotřeby pesticidů a umělých hnojiv) dostáváme do situace, ve které je nutné množství vstupů snižovat a přecházet od „*high input*“ k „*low input*“ technologiím. Pro technologie příznačné nízkou úrovní vstupů budou potřeba jiné odrůdy než pro intenzivní pěstitelské technologie. A to je velká výzva.

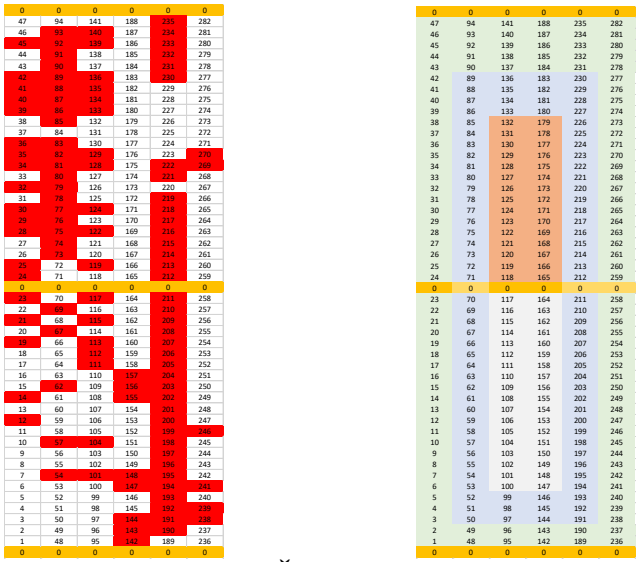
Cílem tohoto příspěvku je potvrdit nebo vyloučit tyto hypotézy:

1) Dostatečně velký soubor složený ze současných evropských odrůd a šlechtitelského materiálu (dále genotypy hrachu, GHs) vykazuje vysokou variabilitu v napadení houbovými a virovými chorobami a též škůdci.
2) GH (jako faktor) v polních podmínkách významným způsobem ovlivňuje napadení a poškození působené škodlivými organismy.
3) V dostatečně velkém souboru GHs je možné najít položky vykazující statisticky významně nižší úrovně napadení způsobené důležitými škodlivými organismy. Na ty je pak možné se zaměřit při šlechtění nebo při doporučování vhodných odrůd pro „low input systémy“ pěstování.

Materiál a metody

Screeningový pokus s 282 položkami GHs byl založen 16.4. 2021 na lokalitě Šumperk. Jednotlivé položky GH se vysely kazetovým secím strojem po standardní předseťové přípravě půdy na malé parcely o velikosti 1 m^2, s výsevem 120 semen/1 m^2 (Obrázek 1). Porost byl 18.4. preemergentně ošetřen kombinací herbicidů Command (0,2 l/ha) + Pendifin (4 l/ha). Po vzejití rostlin dne 2.5. 2021 byl dne 9.5. 2021 aplikován ještě herbicid Corum (0,2 l/ha) obohacený smáčedlem Dash (1,0 l/ha). Proti jednoděložným plevelům byl ještě aplikován herbicid Targa Super v dávce 1,75 l/ha. Pro podporu fyziologických procesů a stimulaci růstu byl 10.6. 2021 použit růstový stimulátor Atonic. Mezi 282 položkami GHs byly zahrnuty již registrované odrůdy ze seznamu doporučených odrůd, některé z nich s deklarovanou rezistencí proti houbovým a virovým chorobám a dále šlechtitelské linie, každá položka vždy jen v jednom

opakování. Z důvodů malého prostoru není možno celý soubor specifikovat po jednotlivých položkách. V souboru nebyly zahrnuty již staré (krajové) odrůdy ani další genové zdroje typu jen částečně prošlechtěných nebo dokonce planých forem druhu *P. sativum* či jiných druhů rodu *Pisum*. Cílem bylo pracovat se současnými odrůdami a se slibným šlechtitelským materiálem. Během vegetace bylo prováděno popisování morfologických znaků jednotlivých GHs. K tomu byl využit klasifikátor pro genus *Pisum* (u každého GH postupně vyhodnoceno 96 znaků; dle Pavelková et al., 1986). Ve sklizňové zralosti bylo z parcel jednotlivých GH odebráno 30 lusků k pozdějším rozborům semen. Toto bylo možné provést jen u 150 položek (viz popisek k Obrázku 1). Veškerá zde prezentovaná hodnocení se tedy týkají pouze těchto 150 položek GH. Asi jeden měsíc po sklizni se začalo s rozbory jednotlivých lusků. Hodnotily se tyto znaky: 1) počet semen v lusku, 2) počet vlezových otvorů do semen od malých larev *B. pisorum* / lusk, 3) počet napadených semen larvami *Bruchus pisorum* v lusku (proměnné 2 a 3 se mohou trochu lišit), 4) počet semen poškozených larvami obaleče hrachového (*Cydia nigricana*) / lusk, 5) počet semen se symptomy napadení od *Mycospaerella pinodes* / lusk, 6) počet semen se symptomy napadení od *Ascochytou pisi* / lusk a 7) počet semen se symptomy virózního napadení (PSbMV) / lusk. Pro každý lusk byla tedy zjištěna a zaznamenána hodnota pro znaky 1 – 7. Znaky 2 – 7 tak bylo možné s využitím znaku 1 vyjádřit v relativních hodnotách (%) pro každý lusk odděleně (toto je důležité pro velikost výběrového souboru – a tedy pro statistické analýzy). Pro každý znak (znaky 1 – 7 jako závislé proměnné) byla testována míra ovlivnění faktorem GH (nezávisle proměnná, faktor). U napadení zrnokazem byl také zjišťován vliv polohy GH v pokusu (viz Obrázek 1 vpravo) a vliv některých morfologických charakteristik květů, jež byly během vegetace u GHs vyhodnoceny s využitím klasifikátoru dle Pavelková et al. (1986). V této studii jde o posouzení vlivu těchto znaků: velikost pavézy, tvar báze pavézy, tvar vrcholu pavézy, barva pavézy, tvar křídel, barva křídel. U zrnokaza hrachového byly také ještě posuzovány vliv časnosti / pozdnosti v nástupu období kvetení a celková délka období kvetení na napadení semen tímto škůdcem. Se znaky GH, poloha v pokusu, zvolenými morfologickými charakteristiky květů, časnost / pozdnost v nástupu kvetení a délkou období kvetení bylo při výpočtu ANOVA nakládáno jako s faktory (nezávisle proměnnými) a se znaky 1 – 7 jako se závislými proměnnými (Statistica, version 12). U znaků 1 – 7 byla dále testována významnost rozdílů mezi průměry stanovenými pro jednotlivé GH: využit Tukey test a některé další metody parametrického i neparametrického testování.



Obrázek 1 – Plán pokusu na lokalitě Šumperk, rok 2021

Na obrázku vlevo je vidět design rozmístění parcel s jednotlivými GH v pokusu. Červeně označené parcely jsou GH, které bylo nutné vyřadit z hodnocení, protože nevyprodukovaly dostatečné množství lusků. Z obrázku vpravo je patrné rozdělení celé plochy pokusu do čtyř zón z hlediska předpokládaného ohrožení k napadení zrnokazem hrachovým: zelená zóna (1): nejohroženější; modrá zóna (2): ohrožená; oranžová zóna (3): méně ohrožená; světlá zóna (4): nejméně ohrožená

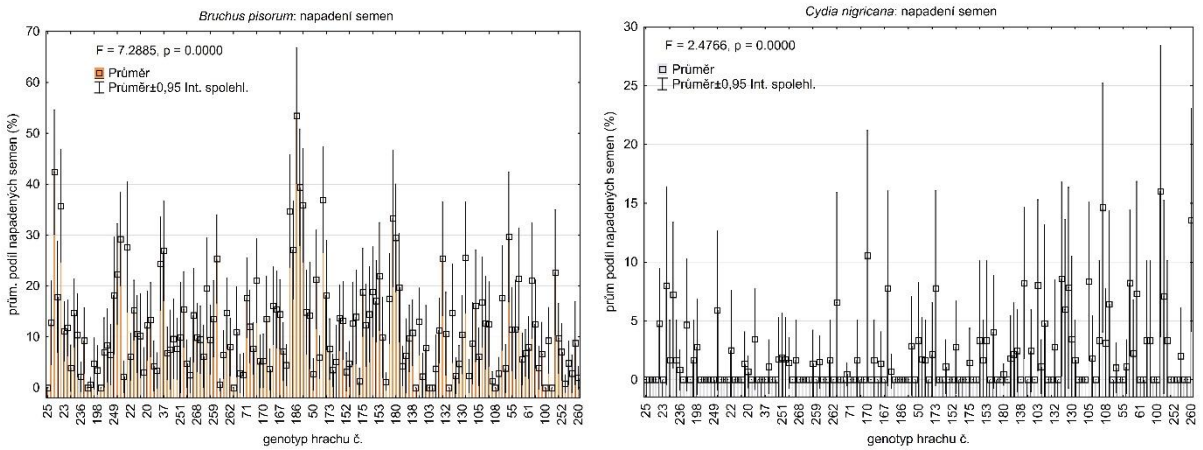
Výsledky

GH se ve zde testovaném souboru (150 položek) projevil jako významný faktor, který statisticky významně ovlivnil rozdíly v napadení způsobeném zrnokazem hrachovým i obalečem hrachovým (Obrázek 2a, b). Zejména v případě zrnokaza hrachového jsou výsledky zajímavé, neboť míra napadení v pokusu byla obecně značně vysoká. U vysokého podílu porovnávaných GHs byla zaznamenána úroveň napadení přesahující 10 %. V souboru se ale též nacházely GHs s napadením přes 30 či dokonce 50 %. Naopak několik GH bylo nenapadeno. V tomto případě nemusí jít (a zřejmě také nejde) o rezistenci k zrnokazovi hrachovému. Při poněkud odlišném designu pokusu se slibný GH může dostat do méně výhodné pozice z hlediska hrozby napadení zrnokazem (Obrázek 1 vpravo) a může se najednou projevit jako citlivý. Pozice parcely v pokusu (když je hodnocena jako faktor, nezávisle proměnná) má na napadení zrnokazem totiž také signifikantní vliv (vliv umístění parcely v pokusu: $F = 2.6878$, $p < 0.05$, Sign.), i když ne tak vysoký jako GH (vliv GH: $F = 7.2885$, $p < 0.0001$, Sign.; viz také Tabulka 1). Z podrobnějšího rozboru situace vyplývá, že ve výhodnějším postavení byly jen parcely, které se vyskytovaly ve světlé čtvrté zóně (Obrázek 3a + popisek pod obrázkem 1 vpravo). Napadení semen zrokazem je ale také významně ovlivněno obdobím nástupu kvetení ($F = 2.3597$, $p < 0.05$, Sign.). GHs s pozdějším začátkem kvetení (66 – 68 dní od setí) byly statisticky významně méně napadeny zrnokazem než GHs, které začaly kvést dříve (57 – 65 dní od setí, Obrázek 3b). Kupodivu (protože v nesouladu s našim očekáváním) se jako signifikantní neprojevil vliv faktoru délka kvetení na úroveň napadení semen zrnokazem hrachovým ($F = 1.7700$, $p > 0.05$, Nesign., Obrázek 3c).

Samice zrnokaza musí před tím, než začnou klást přijmout hrachový pyl (jinak zůstanou sterilní). Do jaké míry ovlivňují ovipoziční chování samic zrnokaza (a následně tedy i napadení semen) vybrané morfologické charakteristiky květů (v této studii posuzován vliv těchto parametrů: velikost pavézy, tvar báze pavézy, tvar vrcholu pavézy, barva pavézy, tvar křídel, barva křídel) ukazují výsledky statistických analýz seřazené v Tabulce 2. Prokazatelný vliv měla pouze barva pavézy (Obrázek 4a). GHs se světle fialovou a fialovou barvou pavézy byly zrnokazem napadeny statisticky významně méně, než GHs s bílou a krémovou barvou. I v případě barvy křídel byly GHs s bílou a krémovou barvou více napadené než GHs s fialovou, karmínovou a světle růžovou barvou – efekt tohoto faktoru se ale neprojevil jako statisticky významný (Obrázek 4b).

Napadení semen GHs houbovým patogenem *Mycosphaerela pinodes* dosáhlo obecně spíše nízké úrovně v pokusu, přesto zde bylo několik položek napadených silně. Celkově se vliv faktoru GH na napadení tímto patogenem ukázal být statisticky vysoce významný ($F = 34.351$, $p < 0.0001$, Sign.; Obrázek 5a). Efekt GH na rozdíly v napadení dalším houbovým patogenem, *Ascochytou pisi*, byl podstatně slabší, avšak stále vysoce statisticky průkazný ($F = 1.9947$, $p < 0.0001$, Sign.; Obrázek 5b). Na rozdíl od předcházejících dvou houbových patogenů, byla frekvence semen nesoucích příznaky napadení PSbMV v pokusu relativně vysoká a HG se zde opět projevil jako faktor prokazatelně ovlivňující rozdíly v napadení ($F = 8.6345$, $p < 0.0001$,

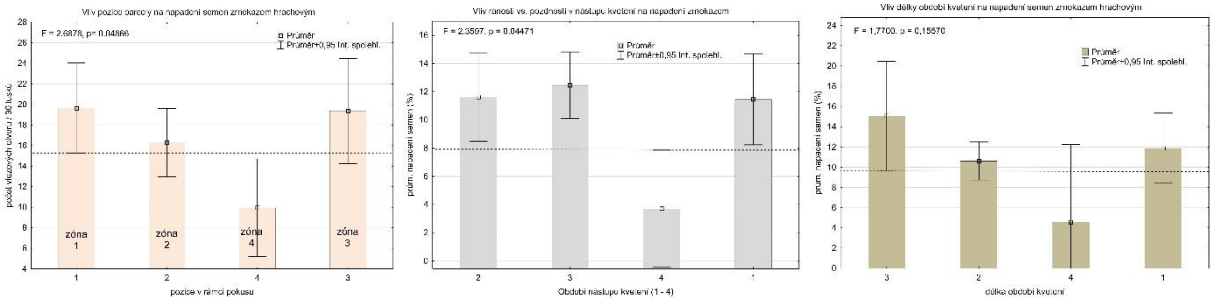
Sign.; Obrázek 6a). I počet semen v luscích byl jasně ovlivněn faktorem GH (F = 9.9133, p < 0.0001, Sign.; Obrázek 6b).



Obrázek 2a,b – Rozdíly v napadení semen zrnokazem hrachovým (vlevo) a obalečem hrachovým (vpravo) u porovnávaných GHs

Tabulka 1 – Vliv GH na míru napadení hrachu *B. pisorum, C. nigricana, M. pinodes, A. pisi* a virózami (PSbMV). U obou škůdců byl ještě zjišťován význam velikosti lusků (zde vyjádřený jako počet semen / lusk) pro napadení

Faktor	*B. pisorum*: prům podíl napadených semen	*C. nigricana*: prům podíl napadených semen	*M. pinodes*: prům podíl napadených semen	*A. pisi*: prům podíl napadených semen	*PSbMV*: prům podíl napadených semen
GH	**F = 7.2885; p = 0.0000; S[1]**	**F = 2.47665; p = 0.0000; S[1]**	**F = 34.351; p = 0.0000; S[1]**	**F = 1.9947; p = 0.0000; S[1]**	**F = 8.6345; p = 0.0000; S[1]**
prům. počet semen / lusk	F = 0.84037; p = 0.56685; NS[1]	**F = 3.0463; p = 0.002; S[1]**	nehodnoceno	nehodnoceno	Nehodnoceno



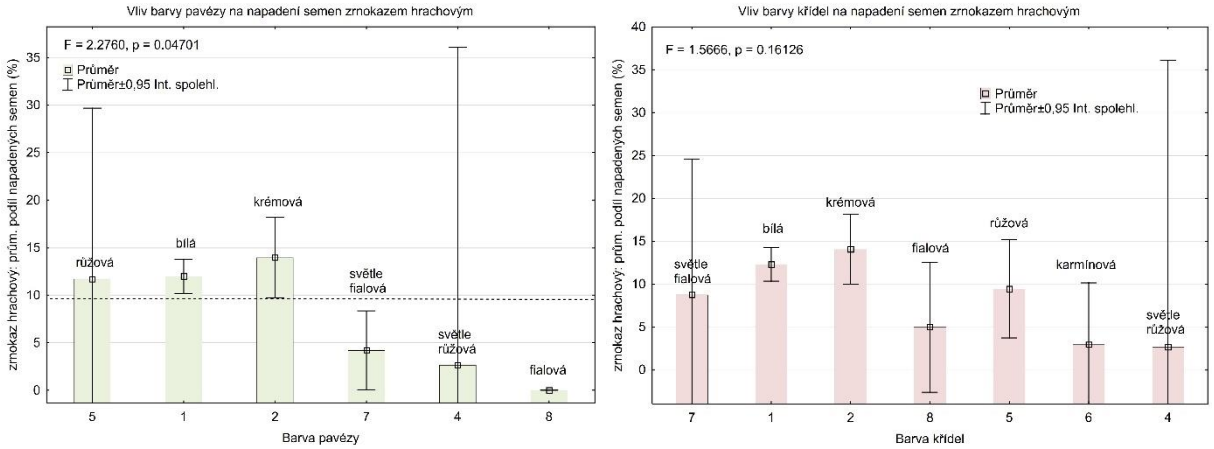
Obrázek 3a,b,c – Vliv polohy parcely v pokusu (3a - vlevo), časnosti / pozdnosti v nástupu květení (3b uprostřed) a délky období kvetení (3c vpravo) na napadení semen zrnokazem hrachovým.

Vysvětlivky: 3a: Rozložení jednotlivých zón (1 – 4) v pokusu je patrné z Obrázku 1. 3b: Čas nástupu kvetení: kód 1 = 57 – 59 dní od setí, kód 2 = 60 – 62 dní od setí, kód 3 = 63 – 65 dní od setí, kód 4 = 66 – 68 dní od setí. 3a: délka období kvetení: kód 1: 6 – 8 dní, kód 2: 9 – 11 dní, kód 3 = 12 – 14 dní, kód 4 = 15 – 16 dní.

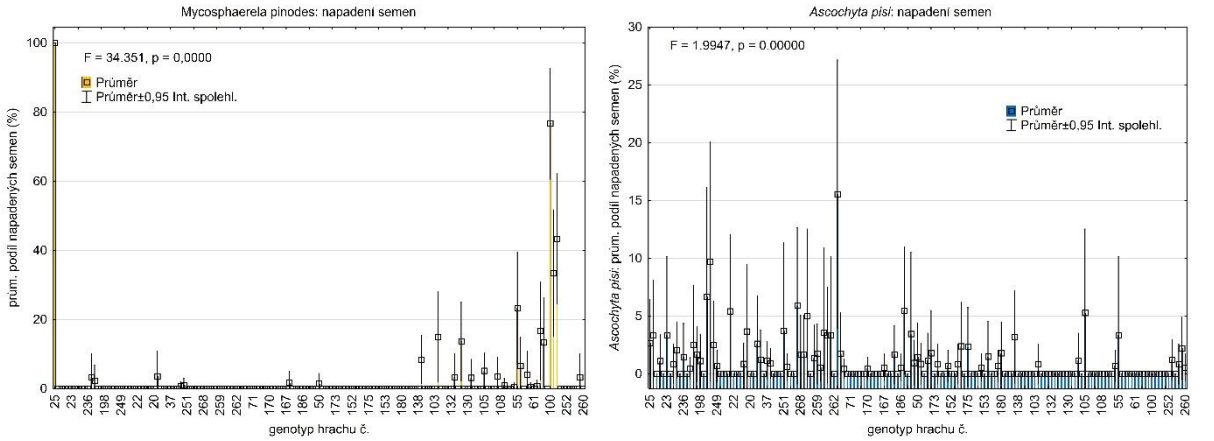
Tabulka 2 – Vliv morfologických charakteristik: velikost pavézy, tvar báze pavézy, tvar vrcholu pavézy, barva pavézy, tvar křídel a barva křídel (nezávislá proměnná, faktor) na napadení semen zrnokazem hrachovým (závislá proměnná). Jde o výsledky ANOVA provedené pro každý s posuzovaných faktorů zvlášť.

Hodnocený znak (faktor)	Vliv na napadení semen zrnokazem hrachovým (%, závislá proměnná)		
	hodnota F (Fischerovo rozhraní)	P (hladina významnosti)	efekt[1]
Velikost pavézy	0.6990	p > 0.05	NS
Tvar báze pavézy	0.5344	p > 0.05	NS
Tvar vrcholu pavézy	0.9514	p > 0.05	NS
Barva pavézy	**2.2760**	**p < 0.05**	**S**
Tvar křídel	1.2672	p > 0.05	NS
Barva křídel	1.5666	p > 0.05	NS

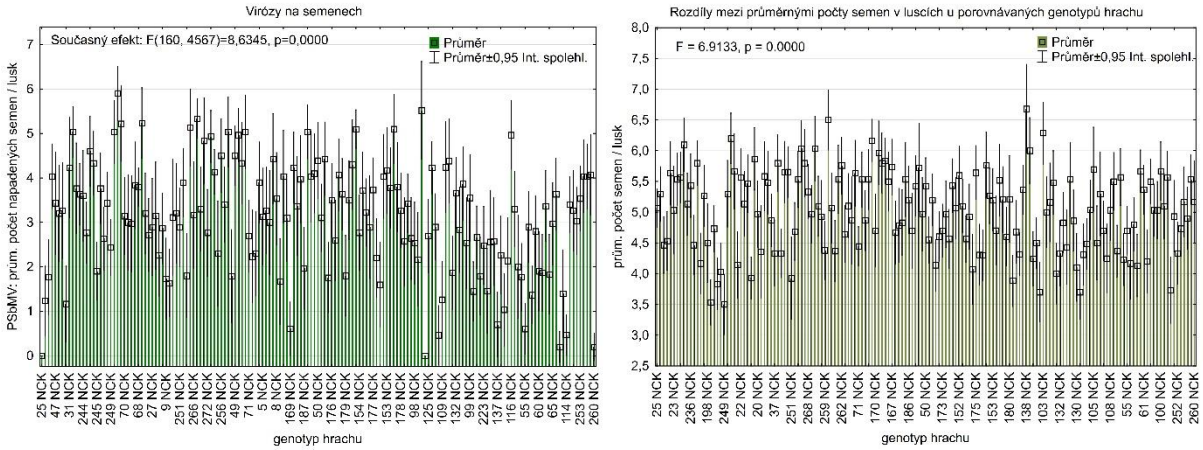
[1]***S = statisticky významný efekt faktoru****, NS = nevýznamný efekt faktoru*



Obrázek 4a,b – Vliv barvy pavézy (4a - vlevo) a barvy křídel (4b - vpravo) na napadení semen zrnokazem hrachovým. Hodnoty obou faktorů určeny dle Pavelková et al. (1986).



Obrázek 5a,b – Rozdíly v napadení semen *Mycosphaerelou pinodes* (vlevo) a *Ascochytou pisi* (vpravo) u porovnávaných GHs



Obrázek 6a,b – Rozdíly ve frekvenci semen nesoucích příznaky napadení PSbMV (vlevo) a průměrnými počty semen v luscích (vpravo) u porovnávaných GHs

Diskuze

Z výsledků hodnocení vyplývají v některých případech zajímavé a prakticky využitelné rozdíly mezi porovnávanými GHs v úrovních napadení způsobených jednotlivými hodnocenými škodlivými organismy. I když se ve skupině zde porovnávaných GHs nepracovalo s genovými zdroji (charakteristických např. nějakými unikátními vlastnostmi), nýbrž jen s „běžnými" v Evropě dostupnými odrůdami (či šlechtitelským materiálem směřujícím ke komercializaci). O významných rozdílech v reakcích komerčních odrůd hrachu k různým škodlivým organismům je ve vědecké literatuře ale referováno. A to zejména v případě hmyzích škůdců (Teshome et al., 2015; Kaniuczak 2009). To zachovává jistou naději, že je i mezi běžně dostupnými odrůdami možné vybírat ty, které jsou na tom, co se týče funkčnosti obranných mechanismů poněkud lépe než ostatní. V Evropě se nyní čím dál hlasitěji a častěji z různých asociací zabývajících se ochranou porostů ozývá názor, že u některých plodin již vážně hrozí kolaps pěstebních technologií závislých na vysokých vstupech. Není to ale myšleno z hlediska environmentální udržitelnosti. Zde jde o jiné důvody. Je to jednak nedostatek nových účinných látek pesticidů, jejichž stálý přísun je pro intenzivní technologie nutný (vývoj nových látek je v podstatě u ledu) a s tím i nešťastně spojené snižování množiny použitelných starších látek z důvodů pokračujících zákazů a čím dál častěji také z důvodu rezistence (Clarke et al., 2009; Jensen 2015). Za této situace je nezbytné (z hlediska výzkumu) hledat, testovat a v praxi ověřovat technologie pěstování, jejichž důležitou součástí budou odrůdy (nebo jejich směsi) schopné ve vyšší míře odolávat různým stresovým situacím bez výraznějších dopadů na produkci porostu při výrazně nižší podpoře zvenčí (pesticidní zásahy, hnojení). Z tohoto důvodu má i smysl probírat se soubory dostupných odrůd a hledat ty, které jsou na tom po této stránce lépe (Robertson et al., 2005). V praxi se to může již brzy velmi hodit.

Závěr

1) Testovaný soubor tvořený 150 položkami GHs (současné evropské odrůdy a šlechtitelský materiál) vykázal vysokou variabilitu v úrovních citlivosti k houbovým a virovým chorobám a též ke škůdcům.

2) GH pojímaný jako faktor (nezávislá proměnná) měl v tomto pokusu významný vliv na úroveň napadení semen houbovými patogeny *Mycosphaerela pinodes* a *Ascochyta pisi*, na rozdíly ve frekvenci semen vykazujících příznaky napadení PSbMV, na rozdíly v úrovních napadení semen zrnokazem hrachovým a obalečem hrachovým a též na rozdíly v průměrných počtech semen v luscích.

3) V testovaném souboru GHs se nacházejí položky vykazující výrazně nižší úrovně napadení hodnocenými škodlivými organismy. Toto však ještě neznamená, že jde o rezistentní nebo tolerantní GHs k daným škodlivým organismům. Slibné GHs ze screeningových pokusů je nutné podrobit dalšímu zkoumání.

4) Je nutné pátrat po GHs s lépe nastavenými přirozenými obrannými mechanismy k více rozdílným typům škodlivých organismů.

Poděkování

Příspěvek je založen na výsledcích získaných při řešení projektu MZE-RO1018 a projektu TAČR č. TN01000062/05.

Literatura

Aznar-Fernández T., Rubiales, D., 2019. Flower and pod source influence on pea weevil (Bruchus pisorum) oviposition capacity and preference. Frontiers in plant science, 10, 491-498.

Clarke J., et al., 2009. Pesticide availability for cereals and oilseeds following revisions of Directive 91/414/EEC; Effects of losses and new research priorities. Research Review 70. HGCA, London, 127pp.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAOSTAT) http://www.fao.org/faostat/en.Visited on October 2021

Jensen JE., 2015**.** Perspectives on the implementation of IPM in EU – the advisory perspective. In: Paper given in IPM innovation in Europe, Poznan, Poland January 15-17, 2015 www.pure-ipm.eu/node/430.

Kaniuczak Z., 2009. The occurrence and harmfulness of the pea moth (Laspeyresia nigricana Steph.) on peas. Journal of Plant Protection Research, 49(2), 535-538. /in Polish/

Ondráčková E., 2021. Ochrana hrachu proti strupovitosti. Úroda, 69(2), 70–72.

Pavelková A., et al., 1986. Klasifikátor, genus *Pisum* L. vydal: Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha – Ruzyně. Praha, 1986, 46 stran.

Robertson GP., et al., 2005. Reconciling agricultural productivity and environmental integrity: a grand challenge for agriculture. *Frontiers. Ecol. Environ.*, 3, 38-46.

Rubiales D., et al., 2015. Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistence. Crit. Rev. Plant. Sci., 34, 195-236.

Seidenglanz M., Munoz M., Heděnec P., P. Šafář J., Bajerová R., 2021. Uspořádáním hrachového porostu lze ovlivnit disperzi zrnokaza v prostoru. Úroda, 69(10), 53–57.

Teshome A., et al., 2015. Screening the primary geene pool of field pea (*Pisum sativum* L. subsp. *sativum*) in Ethiopia for resistence against pea weevil (*Bruchus pisorum* L.). Genetic Resources & Crop Evolution, 62(4), 525-538.

Verma T., et al., 2019. Screening of Fiel dpea (*Pisum sativum* L.) Genotype against Pod Borer Complex. International Journal of Plant & Soil Science, 30, 1-5.

Kontaktní adresa:

Ing. Krobotová Eliška

Agritec Plant Research, s.r.o.

Zemědělská 16, 787 01 Šumperk

krobotova@agritec.cz

tel: 583 382 302

Transformace lnu s využitím TALENs

The use of TALENs for linseed transformation

Ludvíková M.[1], Griga M.[1], Prokopová M.[1], Hudzieczek V.[2]

[1] Agritec Plant Research s.r.o., Zemědělská 16, 78701 Šumperk

[2] Biofyzikální ústav Akademie věd České republiky, v.v.i.

Abstrakt

Práce popisuje tvorbu a použití vektorových konstruktů obsahujících TALENs (transcription activator-like effector nucleases) pro transformaci lnu setého (*Linum usitatissimum* L.) za účelem modifikace obsahu mastných kyselin. Použití metody TALENs v souvislosti s transformací lnu dosud nebylo publikováno. Bylo vytvořeno a pro transformaci použito celkem 5 různých konstruktů s cílem dosáhnout indukované mutace v genech *fad2-1* a *fad2-2* u lnu. Z regenerantů rostoucích na selekčních médiích/ zakořeněných prýtů/ rostlin přesazených do zeminy byly odebírány vzorky pro PCR detekci selekčního genu a oblasti *virG* a současně pro detekci indukované mutace prostřednictvím metody enrichment PCR. Podařilo se prokázat vznik transformovaných rostlin obsahujících selekční gen *bar*, nicméně doposud nebyl zachycen vzorek s úspěšně indukovanou mutací.

Klíčová slova: len, transformace, TALENs, *Agrobacterium tumefaciens*

Abstract

This work describes the creation and the use of vector constructs containg TALENs (transcription activator-like effector nucleases) for the transformation of flax (*Linum usitatissimum* L.) in order to modify the fatty acid content. The use of TALENs in connection with the transformation of flax has not been published, yet. A total of 5 different constructs were generated and used for transformation to induce a mutation in the *fad2-1* and *fad2-2* genes in flax. Samples were taken from regenerants growing on selection media/ rooted shoots/ plants replanted into soil for PCR detection of the selection gene and the virG region and at the same time for detection of the induced mutation by enrichment PCR. The emergence of transformed plants containing the bar selection gene has been demonstrated, however, a sample with a successfully induced mutation has not been captured, yet.

Key words: flax, transformation, TALENs, *Agrobacterium tumefaciens*

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, popsaná 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 prašníkové kultury, které jsou kokultivovány s *A. tumefaciens* (Chen a Dribnenki, 2003; Chen et al., 2008; Chen et al., 2015). 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 bylo popsáno použití metody „floral dip“ pro agrobakteriální transformaci přadného i olejného lnu (Bastaki a Cullis, 2014; 2019). V posledních letech se u rostlin rozšířilo využití technik tzv. cílené modifikace genomu (Targeted genome modification), za pomocí kterých je možné modifikovat genom na specifickém místě a zabránit náhodné inzerci transgenu, což je odlišuje od tradičních metod transgenoze. Tyto přístupy (CRISPR, TALENs, ZFNs) jsou proto často skloňovány jako alternativa k metodám klasického šlechtění rostlin a užívaných transgenních přístupů a můžeme nadále předpokládat expanzi v jejich využití.

Materiál a metody

Pro tvorbu konstruktů byly osekvenovány geny *fad2-1 a fad2-2* v linii lnu, která byla následně použita pro transformaci (responzivní linie AGT 583/05). Primery na sekvenování byly navrženy na základě sekvencí dostupných v GenBank: JQ963159.1 a DQ222824.1.

Jako výchozí byl použit binární vektorový systém pCLEAN, konkrétně vektor G-126 spolu s pomocným pCLEAN S-167 (Thole at al., 2007). Konstrukty obsahují v oblasti T-DNA TALE kazetu (podle Cermak et al., 2011) s *Fok*I katalytickou doménou (heterodimer - KKR/ELD - Doyon et al., 2011) pod 35S promotorem, která byla vytvořená cíleně pro oba *fad2* geny.

Mimo oblast T-DNA byly všechny konstrukty shodně doplněny o gen *nptI*. Do T-DNA oblasti byl vedle TALE kazety naklonován gen *bar* pod *nos* promotorem pro selekci úspěšně transformovaných rostlin.

Vzniklé kontrukty byly elektroporovány do *Agrobacterium tumefaciens* a použity ke transformaci. Při transformaci lnu bylo postupováno dle metodiky agrobakteriální genetické transformace lnu vytvořené ve firmě Agritec (Vrbová, 2010).

Transformované vzorky byly pomocí PCR testovány na přítomnost genu *bar*. Za pomocí amplifikace oblasti *virG* byla vyloučena případná agrobakteriální kontaminace. Sekvence primerů pro amplifikaci genu *bar* a oblasti *virG* jsou uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1: Primery pro PCR testování prýtů po transformaci hypokotylů TALENs konstrukty

Název primeru	Sekvence (5'-3')
Bar_1	GAGTCCACCGTGTACGTCAG
Bar_2	GAAGTCCAGCTGCCAGAAAC
Vir-G-Forw43	AGGCGATCTCCTTAATCAATAG
Vir-G-Rev295	GATAAGAAGAACGTGTTTCAAC

Teplotní profil PCR reakce byl pro obě PCR: 94 °C /3 min + 35x (94 °C /30 s, 55 °C /1 min, 72 °C /60 s) se závěrečnou elongací 72 °C /10 min.

Pro detekci mutací indukovaných v transgenních vzorcích byla nejprve izolována DNA z rostlinného materiálu. Vzorky byly homogenizovány v kapalném dusíku a pomocí kitu Invisorb® Spin Plant Mini Kit (STRATEC Molecular, Berlín, Německo) z nich byla izolována genomová DNA dle protokolu výrobce. 5 µg DNA bylo následně použito pro restrikční reakci. Složení reakční směsi pro restrikci 1 znázorňuje tabulka 2, použité restrikční endonukleasy tabulka 3.

Tab. 2: Složení reakční směsi pro restrikci 1 (enrichment PCR)

Reagencie	Objem (µl)
Ultračistá H_2O	do 20
Příslušný pufr	2
Restrikční enzym	0,1
DNA	5µg
celkem	20

Tab. 3: Restrikční endonukleasy pro testování transformantů dle použitých konstruktů

Použitý konstrukt	Restrikční enzym pro testování
pVO045/pVO046	*Hpa*II nebo *Msp*I
pVO047	*Mbo*I nebo *Dpn*I
pVO048	*Bst*XI
pVO049	*Cvi*QI

Dalším krokem byla amplifikace lokusu našeho zájmu. K detekci indukovaných mutací u GM lnu modifikovaného konstrukty pVO045, pVO046, pVO047 byla použita PCR amplifikace genu *fad2-1*. K detekci mutací indukovaných konstrukty pVO048 a pVO049 byla použita PCR amplifikace genu *fad2-2*. Primery pro amplifikaci genů a délky získaných PCR produktů jsou uvedeny v tabulce 4.

Tab. 4: Primery pro PCR amplifikaci pro testování indukovaných mutací po transformaci jednotlivými konstrukty (enrichment PCR)

Primery pro *fad2-1*	**Konstrukt**	**Délka produktu**
FAD-F1:AGGTGGAAGAATGCCAGTGC	pVO045,46,47	442 bp
FAD-R1: CTCATCACGATCAAGCGATCC		
Primery pro *fad2-2*	**Konstrukt**	**Délka produktu**
FAD2-F1: GTCGCCACCACTCCAATACT	pVO048	401 bp
FAD2-R1: GGTGTGCTGCAAGAAAGTGA		
FAD2-F2: AATAAGGCGGACTCCGAAAC	pVO049	446 bp
FAD2-R2: TTCTGCTTGGGGACAAAAAC		

Teplotní profil PCR reakce byl: 95 °C/ 9 min + 40x (95 °C/ 45 s, 54 °C/ 1 min, 72 °C/ 90 s) se závěrečnou elongací 72 °C/ 7 min. 10 µl vzorku po PCR reakci bylo pro kontrolu naneseno na agarózový gel. Zbylých 40 µl bylo štěpeno pomocí stejného restrikčního enzymu jako v 1. restrikční reakci. Složení reakční směsi pro 2. restrikční reakci zachycuje tabulka 5.

Tab. 5: Enrichment PCR – složení reakční směsi pro 2. restrikční reakci

Reagencie	Objem (µl)
Ultračistá H_2O	4,5
Příslušný pufr	5
Restrikční enzym	0,5
PCR reakce	40
celkem	50

Výsledky

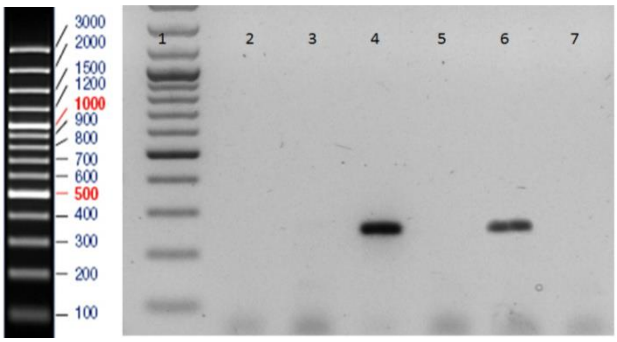
Byly vytvořeny konstrukty pVO045, pVO046, pVO047 pro indukci mutace v genu *fad2-1* a konstrukty pVO048 a pVO049 pro indukci mutace v genu *fad2-2*. Bylo provedeno celkem 5 sérií transformací, ve kterých byly postupně použity jednotlivé konstrukty. V každé pokusné sérii se pracovalo s 250 segmenty hypokotylů lnu.

Selekce úspěšně transformovaných explantátů probíhala na základě genu *bar*. Kultura *in vitro* regenerantů byla udržována na médiu s fosfinotricinem pro vyloučení netransgenních sektorů. Prýty rostoucí z transformovaných kalusů byly pasážovány na selekční médium (obr. 1). Prýty, které na selekčním médiu úspěšně zakořenily, byly přesazeny do zeminy a pěstovány pro získání semen (obr. 2).

Obr. 1 a 2: Transformace konstrukty TALENs

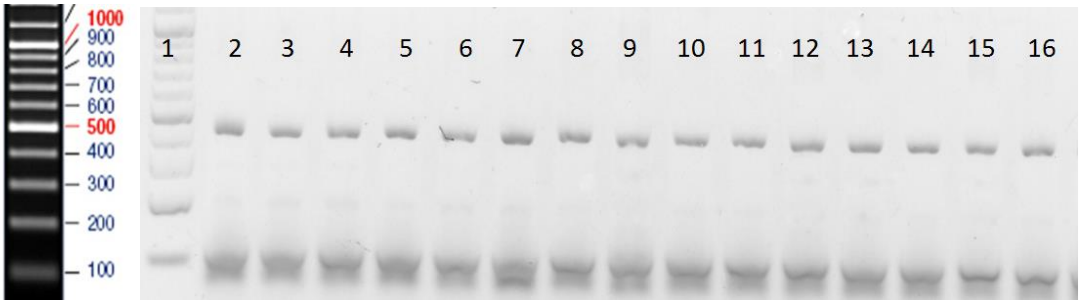
Vlevo přepasážované prýty po transformaci konstruktem pVO046 na médiu s fosfinotricinem, vpravo rostliny linie AGT 583/05 transformované konstrukty TALENs přesazené do zeminy

K detekci GM lnu úspěšně transformovaného konstrukty TALENs byla aplikována metoda PCR amplifikace selekčního genu *bar*. Očekávaná délka amplifikovaného fragmentu byla 243 bp. Testovány byly vzorky během různých fází regenerace. U vzorků DNA pocházejících z prýtů, u kterých vycházel PCR test na přítomnost genu *bar* pozitivně, byl prováděn také PCR test kontaminace agrobakteriem. Použity byly primery amplifikující fragment o velikosti 270 bp v oblasti *virG*. Příklad PCR detekce vzorku kontaminovaného agrobakteriem je uveden na obr. 3. PCR metodou byla přítomnost genu *bar* potvrzena u 12 rostlin, které byly přesazeny do zeminy a pěstovány do semen.

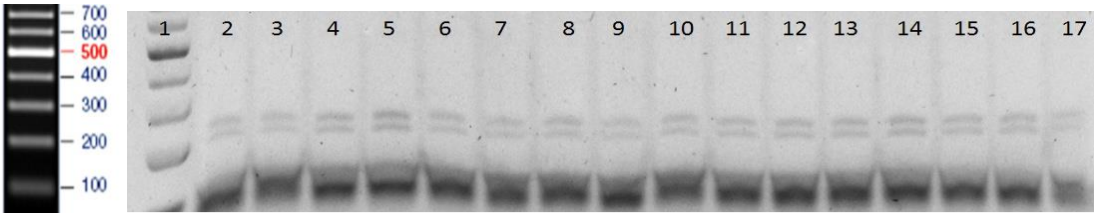


Obr. 3: PCR testování agrobakteriální kontaminace prostřednictvím amplifikace virG
1. 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Vilnius, Litva), 2, 3 a 5.vzorky negativní, 4. vzorek s pozitivní detekcí kontaminace agrobakteriem, 6. pozitivní kontrola, 7. negativní kontrola

Pro detekci mutací indukovaných v transgenních rostlinách byla izolována DNA, která byla následně použita pro restrikční reakci s restrikčním enzymem odpovídajícím použitému konstruktu. Dalším krokem byla amplifikace lokusu našeho zájmu. K detekci indukovaných mutací u GM lnu modifikovaného konstrukty pVO045, pVO046, pVO047 byla použita PCR amplifikace genu *fad2-1*. K detekci indukovaných mutací u lnu modifikovaného konstrukty pVO048 a pVO049 byla použita PCR amplifikace genu *fad2-2*. 10 µl vzorku po PCR reakci bylo vždy pro kontrolu naneseno na gel (obr. 4). Zbytek vzorku po PCR reakci byl štěpen pomocí stejného restrikčního enzymu jako v první restrikční reakci. Po proběhnutí reakce byla reakční směs nanesena na gel (obr 5).



Obr. 4: Výsledky PCR amplifikace genu fad2-1 (dílčí krok testování pomocí enrichment PCR) 1. 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Vilnius, Litva), 2. – 16. amplifikované fragmenty genu fad2-1 u jednotlivých testovaných vzorků (442 bp)



Obr. 5: Výsledek 2.restrikční reakce (finální krok testování pomocí enrichment PCR)
1. 100 bp Plus DNA Ladder (Fermentas, Vilnius, Litva), 2. – 17. fragmenty genu fad2-1 štěpené enzymem HpaII o délce 237 a 205 bp.

V případě správného fungování nukleasy měl být na gelu patrný neštěpený PCR fragment – obsahující mutaci v restrikčním místě. V případě, že jsou na gelu patrné štěpené fragmenty, nedošlo k indukci vzniku mutace v cílovém genu.
Doposud nebyl detekován neštěpený produkt, který by potvrdil úspěšnou indukci mutace pomocí konstruktů TALENs. Vzorky transformované konstruktem pVO045/ pVO046 dávaly po restrikci fragmenty o délce 237 a 205 bp (obr. 5), potenciální transformanti získaní s použitím konstruktu pVO047 fragmenty o délkách 130 a 312 bp. Také u vzorků transformovaných konstruktem pVO048 a pVO049 se amplifikací genu *fad2-2* a následnou restrikcí nepodařilo detekovat neštěpený fragment, pouze štěpené fragmenty o délce 318 a 83 bp, resp. 356 a 90 bp. Indukované mutace v genech *fad2* nebyly objeveny navzdory tomu, že PCR detekce potvrdila v rostlinách přítomnost selekčního genu *bar*.

Diskuse

V této práci bylo využito progresivních metod – tzv. „targeted genome editing“, pomocí kterých je možné upravit gen zájmu na specifickém místě v genomu. Výhoda metod „targeted genome editing“ oproti klasické transgenozi spočívá v tom, že nedochází k náhodným inzercím transgenů. V práci byla konkrétně použita technika TALENs (Tale nucleases trascription activator-like effectors). U lnu doposud její použití nebylo popsáno v žádné publikaci. Tento fakt by významně zvyšoval publikovatelnost výsledků a to i v případě, pokud by byla objevena mutace indukovaná konstruktem TALENs, která by neměla vliv na fenotyp. Na základě sekvencí genů *fad2-1* a *fad2-2* byly navrženy konstrukty TALENs. Sekvence obou *fad2* genů jsou však natolik odlišné, že se jevilo jako nevhodné cílit je stejným TALENs konstruktem. Jako kompromis byly tedy vytvořeny konstrukty pro indukci mutací v každém *fad2* genu zvlášť, ačkoliv dle dřívějších publikací (např. Haun et al., 2014) se jevila jako lepší strategie indukce mutací v obou genech najednou. Konstrukty byly cíleny na gen *fad2-1* (v případě konstruktů pVO045, pVO046, pVO047) a na gen *fad2-2* (konstrukty pVO048 a pVO049). U jednotlivých konstruktů byla předpokládána různá míra účinnosti TALE kazety, proto bylo pro transformaci použito pět různých variant konstruktů, které mají různá rozpoznávací místa. Použití většího množství konstruktů mohlo vést k zajímavému srovnání účinnosti jednotlivých konstruktů pro indukci mutací, ale také srovnání efektu těchto indukovaných mutací při fenotypovém projevu.

V případě funkčnosti konstruktů TALENs by po úspěšné transformaci lnu měla vzniknout v genu *fad2-1* či *fad2-2* mutace, čímž by měla být snížena jeho funkčnost, a tudíž i desaturace kyseliny olejové na kyselinu linolovou. V semenech lnu by tak vznikal olej s vysokým podílem kyseliny olejové.

Stejně jako v publikaci Haun et al. (2014) byl v námi vytvořených konstruktech obsažen pouze selekční gen *bar*, zatímco reportérový gen byl vynechán, ve snaze „zmenšit“ oblast T-DNA a snadněji vytvořit „transgene free“ rostliny. Pravdou však zůstává, že přítomnost reportérového genu přináší při transformaci výhodu a dle našich dosavadních zkušeností zvyšuje pravděpodobnost a rychlost získání transformantů. Možnost získání rostlin s kýženou mutací, nicméně beze stop „cizí“ DNA v genomu, vede k úvahám nad změnou legislativy pro použití technologií programovatelných nukleas.

Závěr

V rámci této práce byly vytvořeny a pro transformaci lnu použity konstrukty TALENs (Tale nucleases trascription activator-like effectors). Jedná se o programovatelné nukleasy, účinnou skupinu chimérických enzymů, používaných u celé řady organismů k indukci dvouřetězcových zlomů. Po úspěšné transformaci měla dle předpokladu vzniknout v genu *fad2-1* či *fad2-2* mutace, přičemž měl být zkoumán její vliv na funkčnost genu.

Pro transformaci segmentů hypokotylů bylo použito celkem pět různých TALENs konstruktů, tři pro indukci vzniku mutace v genu *fad2-1* (konstrukty pVO045, pVO046, pVO047); dva pro vznik mutace v genu *fad2-2* (konstrukty pVO048 a pVO049). Transformací byly získány transformované rostliny obsahující selekční gen *bar*, nicméně dle výsledků enrichment PCR a sekvenace žádná z doposud testovaných rostlin neobsahovala mutaci indukovanou v genu *fad2-1/fad2-2* TALENs konstruktem.

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): Flax Transformation via Floral Dipping Part of the Plant Genetics and Genomics: Crops and Models book series (PGG, volume 23) Genetics and Genomics of Linum, 195 – 214.

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.

CERMAK T., DOYLE E.L., CHRISTIAN M., WANG L., ZHANG Y., SCHMIDT C., BALLER J.A., SOMIA N.V., BOGDANOVE A.J., VOYTAS D.F. (2011): Efficient design and assembly of custom TALEN and other TAL effector-based constructs for DNA targeting. Nucleic Acids Research, 39: 7879.

DOYON Y., VO T. D., MENDEL M. C., GREENBERG S. G., WANG J., XIA D. F., MILLER J. C., URNOV F. D., GREGORY P. D., HOLMES M. C. (2011): Enhancing zinc-finger-nuclease activity with improved obligate heterodimeric architectures. Nature Methods 8: 74 – 79.

HAUN W., COFFMAN A., CLASEN B. M., DEMOREST Z.L., LOWY A., RAY E., RETTERATH A., STODDARD T., JUILLERAT A., CEDRONE F., MATHIS L., VOYTAS F. D., ZHANG F. (2014): Improved soybean oil quality by targeted mutagenesis of the fatty acid desaturase 2 gene family. Plant Biotechnology Journal, 12: 934 – 940.

JORDAN M.C., MCHUGHEN A. (1988): Glyphosate tolerant flax plants from *Agrobac-terium* mediated gene transfer. Plant Cell Reports, 7: 281 – 284.

THOLE V, WORLAND B, SNAPE JW, VAIN P (2007): The pCLEAN dual binary vector system for *Agrobacterium*-mediated plant transformation. Plant Physiology, 145: 1211 – 1219.

VRBOVÁ M. (2010): Metodika agrobakteriální genetické transformace lnu (*Linum usitatissimum* L.). Agritec Plant Research s.r.o, ISBN: 978-80-87360-04-0.

WIJAYANTO T., MCHUGHEN A. (1999): Genetic transformation of *Linum* by particle bombardment. In Vitro Cellular and Developmental Biology, 6: 456 – 465.

Dedikace

Příspěvek 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,
583382127, ludvikova@agritec.cz

Rostlinná vodní strategie „plýtvač a šetřič“: metabolomické a proteomické objasnění reakce pšenice na sucho

Water-saving and water-spending strategy: The metabolomic and proteomic clarification of the wheat response to drought

Nešporová T.[1,2], Vítámvás P.[1], Renaut J.[3]

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha, ČR
[2]Vysoká škola chemicko-technologická Praha, ČR
[3]Luxembourg Institute of Science and Technology, Luxembourg

Abstrakt
Sucho představuje celosvětově nejrozšířenější a nejproměnlivější faktor environmentálního stresu. V této studii byly studovány dva kultivary pšenice jako zástupci dvou kontrastních strategií vodního režimu rostliny, strategie šetřící vodu (kultivar Baletka) oproti strategii plýtvající vodu (kultivar Tobak), aby poskytly komplexní pohled na jejich fenotypové reakce na sucho. Fyziologické charakteristiky sice dokázali odlišit oba kultivary, ovšem proteomické a metabolomické analýzy odhalily v průběhu sucha u Baletky (strategie „šetřič“) významnou remodelaci buněčné stěny, změny v endocytóze a buněčné signalizaci a specifickou orgánovou odpověď v syntéze dalších obranných proteinů.
Klíčová slova: vodní strategie „šetřič“ a „plýtvač“; pšenice; sucho; orgánová odpověď

Abstract
Drought represents the most occurring and the most variable environmental stress factor worldwide. In the present study, two wheat cultivars Baletka and Tobak as representatives of two contrasting strategies, a water-saver strategy versus a water-spender strategy, were studied to provide a complex view on their phenotypic responses to drought. Physiological characteristics clearly distinguished Baletka and Tobak, and, moreover, proteomic and metabolomics analyses revealed in Baletka significant remodelling of cell wall, changes in endocytosis, and specific tissue response in synthesis of other defence proteins.
Keywords: water-saver and -spender strategy; wheat; drought; tissue response

Úvod

Sucho jako nedostatek vody v půdě vede u rostlin k nerovnováze mezi příjmem vody a jejím uvolňováním, a představuje tak celosvětově nejrozšířenější ekologický stres. U rostlin s fotosyntézou typu C3 včetně obilovin ze skupiny *Triticeae* představují průduchy hlavní místo uvolňování vody a příjmu CO_2, které je nezbytné pro fotosyntetickou asimilaci. Rostliny C3 tak přijaly širokou škálu strategií zvládání deficitu vody, mezi které patří zejména strategie „úspory vody“, která vede k uzavření průduchů již při mírném deficitu vody, což vede k vyšší účinnosti využívání vody a snížení čisté rychlosti fotosyntézy, a strategie „utrácení vody“, při níž rostlina nechává průduchy otevřené pro zachování fotosyntetické asimilace až do relativně závažného nedostatku vody. Z agronomického hlediska mohou strategie „úspory vody“ i „utrácení vody“ vést k relativně vysokému konečnému výnosu plodin za podmínek sucha v závislosti na daném „scénáři“ stresu (Tardieu, 2012). Vzhledem ke komplexním dopadům sucha na plodiny je k pochopení reakce rostlin na sucho zapotřebí nejen fyziologický pohled, ale také informace na proteomické a metabolomické úrovni.

Ačkoli klíčová role v ochraně rostlin před abiotickým stresem, zejména suchem, u mnoha stresem indukovaných proteinů či metabolitů již byla potvrzena a bylo provedeno mnoho fyziologických, proteomických a metabolomických studií (Bowne et al., 2012; Ford et al., 2011; Guo et al., 2018; Herzog et al., 2018; Kosova et al., 2014; Kosová et al., 2011), komplexní fyziologické a molekulární studie využívající „omické" přístupy k popisu stresových reakcí na sucho v plodinách jsou stále velmi vzácné.
V této studii byly kultivary pšenice Baletka jako zástupce strategie úspory vody a Tobak jako zástupce strategie utrácení vody analyzovány v průběhu krátkodobého (7denní vysychání na 30% půdní vodní kapacitu, PVK) a dlouhodobého sucha (10denní udržení na 30% PVK) a následně opětovného zalití. Cílem této studie bylo prozkoumat diferenciální reakce Baletky a Tobaku jako modelových kultivarů představujících kontrastní strategie vodního režimu v průběhu sucha na úrovni fyziologie, celkové proteomiky a metabolomiky.

Materiál a metody

Biologický materiál

Rostliny pšenice ozimé (*Triticum aestivum*) odrůd Baletka a Tobak byly pěstovány v klimaboxu při 19 °C, 16 h světla a se 70% PVK. Od fáze plně vyvinutého druhého listu stresované rostliny vysychaly 7 dní na 30% PVK (odběr 1), kde byly udržovány 10 dnů (odběr 2) s následnou rehydratací na 70% PVK (odběr 3 - 12 hodin po zalití) po další 3 dny (odběr 4). Kontrolní rostliny byly udržovány na 70% PVK po celou dobu experimentu. Pro všechny analýzy listů byly odebírány pouze poslední plně vyvinuté listy.

Analýza fyziologických parametrů

Z fyziologických parametrů byl měřen relativní obsah vody v listech (RWC) a osmotický potenciál (OP). Pro stanovení RWC se čerstvě odebrané listy saturovaly vodou po dobu min. 5 hodin při laboratorní teplotě do plného nasycení a následně byly vysušeny přes noc při 65 °C. OP byl stanoven na přístroji VAPRO 5600 (Wescor), efektivita fotosystému II (Fv/Fm) byla měřena pomocí přístroje Fluorpen FP100 (Photon Systems Instruments) a ostatní fyziologické parametry byly měřeny pomocí systému LCpro (Opti-Sciences, Inc), vše podle pokynů výrobce.

Proteomická analýza pomocí 2D-DIGE

Vzorky pro analýzu totálního proteomu byly extrahovány pomocí TCA/aceton extrakce (Vitamvas et al., 2015). Extrakty byly obarveny fluorescentními barvivy CyDye podle pokynů výrobce (GE Healthcare) a isoelektrická fokusace byla provedena za použití IPG stripů (24 cm, pI = 3-10, GE Healthcare) s max. napětím 10 000 V, 75 000 Vh; následována SDS-PAGE (2D HPETM Large Gel NF-12,5%, SERVA). Výsledné gely byly analyzovány v softwaru Samespot (TotalLab Ltd) a vybrané proteinové spoty byly identifikovány pomocí hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (SciexTOF/TOFTM 5800, SCIEX) a serveru MASCOT (NCBI-*Triticeae* nebo JGI-*Triticum aestivum* databáze) a na základě homologních sekvencí pomocí programu BLAST.

Metabolomická analýza pomocí GC-MS/MS

Vzorky pro analýzu metabolomu byly extrahovány pomocí methanol-chloroformové extrakce (Lisec et al., 2006) a vzorky byly derivatizovány methoxyaminem a MSTFA. Následující analýza pomocí GC-MS probíhala na přístroji 7000C Triple Quadrupole GC/MS (Agilent) za parametrů: nástřik 1 µl vzorku ve spleteš módu, průtok He 2 ml/min, 30m MDN-35 kolona, teplotní program: 2 min při 80 °C, následně 60-ti minutový gradient do 330 °C a 6 min

při 330°C. Hmotnostní detekce byla provedena v rozmezí 70 – 600 m/z v rozsahu 20 scan/s. Píky ze získaných hmotnostních spekter byly integrovány a extrahovány pomocí softwaru MZmine 2. Pro analýzu byly vybrány pouze ty píky, které byly alespoň v jedné třetině všech vzorků. K identifikaci metabolitů byla použita standardní referenční databáze NIST, verze 2.3 (National Institute of Standards and Technology, USA, 4.5.2017).

Statistická analýza

Data byla zpracována v programu Microsoft Office Excel 365 a R, verze 3.5.3, a pro statistickou analýzu dat byl použit software Statistica 12 (StatSoft), relativní koncentrace proteinů, resp. metabolitů byly navzájem porovnány pomocí klasického Student's Two Sample Test s rozptylem v rozptylu s minimální hladinou významnosti 0,01 pro proteiny, respektive 0,05 pro metabolity.

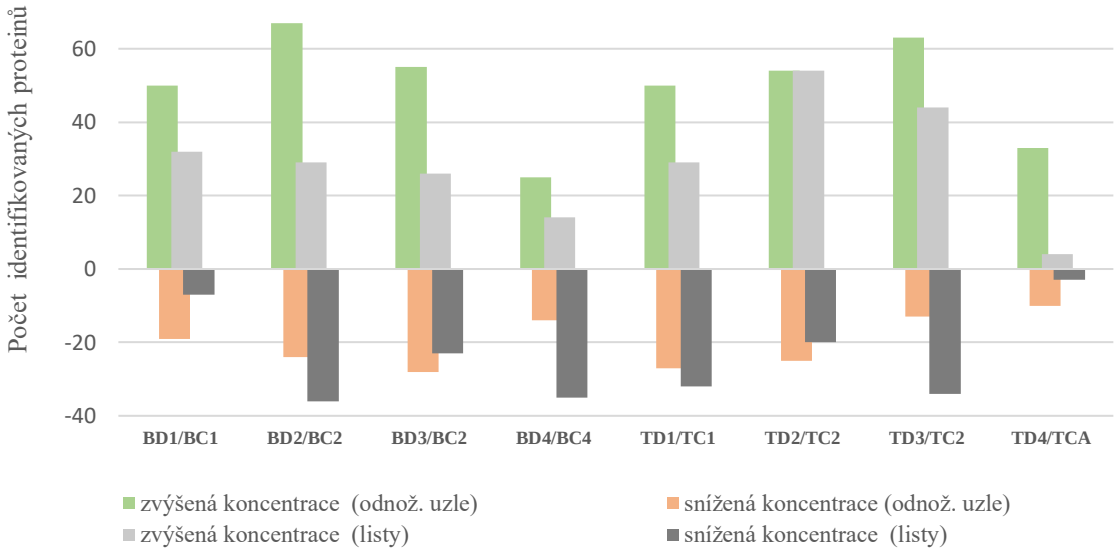
Výsledky

Fyziologické parametry

Během období vysychání půdy (1. odběr) byla většina fyziologických charakteristik významně snížena; při udržování 30% PVK se však většina parametrů výrazně zvýšila, což naznačuje aktivní přizpůsobení snížené dostupnosti vody v půdě, neboť např. ve vodou šetřící odrůdě Baletka nebyly žádné významné rozdíly v hodnotách Fv/Fm a účinnosti využití vody (WUE) mezi kontrolními a stresovanými rostlinami po dlouhodobé aklimatizaci na sucho. Po opětovném zalévání se RWC, OP a Fv/Fm obnovily na kontrolní úrovně u obou kultivarů, také se zvýšila čistá fotosyntéza a rychlost transpirace a WUE dokonce překročil kontrolní úrovně. Kultivary se však vzájemně významně lišily zejména v poměru RWC a Fv/Fm po 7denním vysychání (vyšší u Baletky) a během dlouhodobého sucha v mezibuněčné koncentraci CO_2 (vyšší u Baletky).

Proteomická analýza

Proteomická analýza byla provedena na dvou rostlinných pletivech – listech a odnožovacích uzlech. Testované kultivary vykazovaly rozdílnou orgánově specifickou odpověď. Baletka odhalila vyšší počet různě abundantních proteinových spotů (DAPS) ve stresovaných odnožovacích uzlech, zatímco v listech v průběhu sucha je akumulace jednotlivých proteinů spíše inhibována, přičemž Tobak má zejména během dlouhodobého sucha poměrně



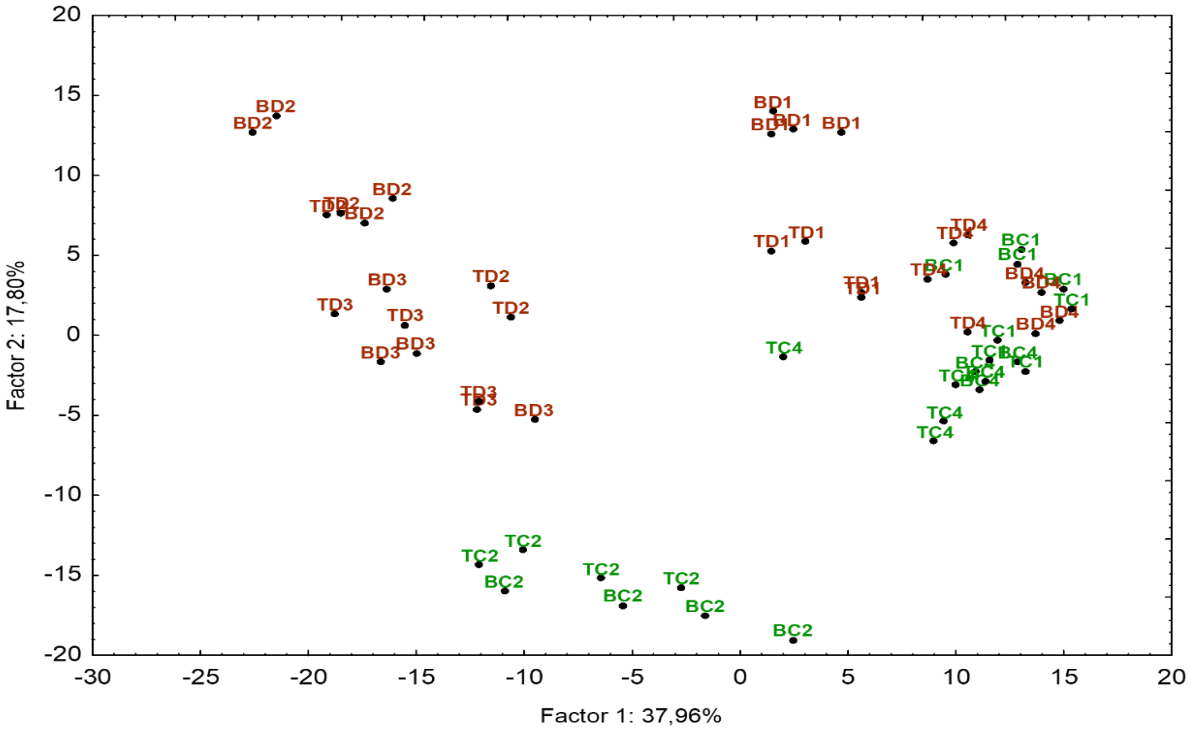
Obr. 7: Dynamika identifikovaných proteinů v průběhu sucha. B – Baletka; T – Tobak; D – suchem stresované rostliny; C – kontrolní rostliny; 1,2,3,4 – odběr: 1 - vysychání; 2 – udržení sucha; 3 – 12 h po zalití; 4 - regenerace

vyrovnanou orgánovou odezvu a výrazné rozdíly lze nalézt až po třech dnech regenerace (Obr. 1).

Zobrazením výsledků DAPS odnožovacích uzlů s foldchange > 2,5 analýza hlavních komponent (PCA) úspěšně potvrdila odlišné shlukování vzorků stresovaných a kontrolních rostlin, a to i v rámci jednotlivých vzorků či odrůd (obr. 2). V listech, na rozdíl od odnožovacích uzlů, PCA neodhalila specifickou distribuci vzorků pravděpodobně proto, že mnoho DAPS bylo identifikováno jako RuBisCO, které překrývaly relativně méně abundantní proteiny.

Jelikož předchozí statistické analýzy nezjistily významné rozdíly mezi kultivary, rozdíly mezi genotypy byly stanoveny párovým t-testem na hladině významnosti 0,01 pro každý identifikovaný DAPS. Pro podrobnější charakterizaci byla data prezentována jako zvýšení/snížení relativního množství DAPS ve stresu nebo regeneraci s ohledem na kontrolu.

Analýza proteinů listů odhalila několik DAPS identifikovaných jako RuBisCO; na rozdíl od

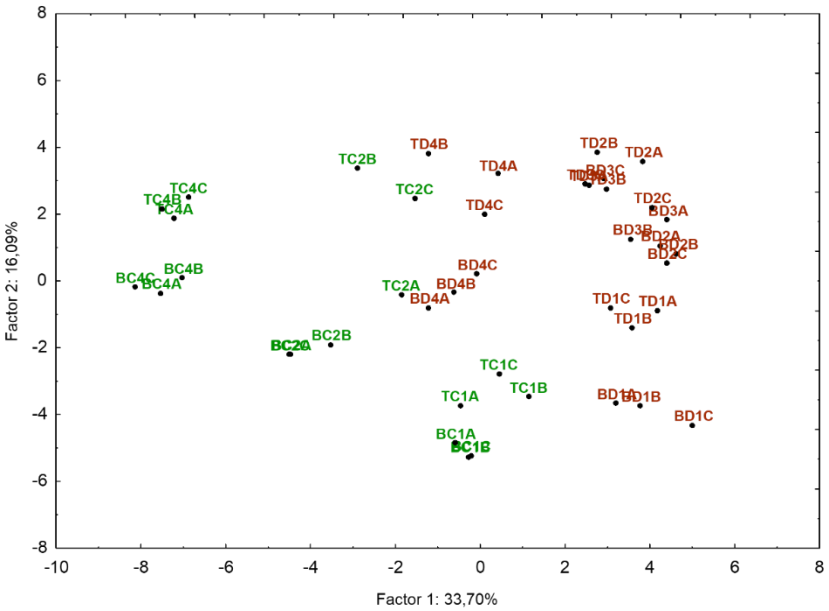


Obr. 8: PCA odnožovacích uzlů, resp. DAPS s fold change > 2,5. B – Baletka; T – Tobak; D – suchem stresované rostliny; C – kontrolní rostliny; 1,2,3,4 – odběr: 1 - vysychání; 2 – udržení sucha; 3 – 12 h po zalití; 4 - regenerace

jiných statistických analýz však byly mezi DAPS nalezeny také proteiny související se stresem a vybrané proteiny jsou diskutovány v diskusi.

Metabolomická analýza

Metabolomická analýza identifikovala 49 metabolitů, z nichž nejhojněji zastoupeny byly sacharidy glukóza, fruktóza, manóza, cukerné alkoholy a organické kyseliny (45 %). Mezi další skupiny patří aminokyseliny (28 %) a metabolity citrátového cyklu (10 %). Zobrazení pomocí PCA všech metabolitů úspěšně potvrdilo odlišné shlukování vzorků stresovaných a kontrolních rostlin, a to i v rámci jednotlivých vzorků nebo odrůd podobně jako u PCA proteinů odnožovacích uzlů (Obr. 3). Aplikace párových t-testů vedla k detekci několika významných



Obr. 9: PCA identifikovaných metabolitů. B – Baletka; T – Tobak; D – suchem stresované rostliny; C – kontrolní rostliny; 1,2,3,4 – odběr: 1 - vysychání; 2 – udržení sucha; 3 – 12 h po zalití; 4 - regenerace

rozdílů indikujících rozdílnou odezvu sucha mezi kultivary také na úrovni metabolitů a vybrané metabolity jsou diskutovány v diskusi.

Diskuse

Mnoho proteinů, nalezených během stresu suchem s různým profilem relativní abundance jak v odnožovacích uzlech, tak i v listech, odpovídá klasické reakci rostliny na abiotický stres či proteinům zapojeným do regenerace rostlin. Jedná se zejména o proteiny katalasa, PR10, lipooxygenasa, rovněž transkripční proteiny, proteiny cytoskeletu, heat shock proteiny (HSP) a proteiny zachycující ROS. Další proteiny, zapojené do reakce rostlin na sucho, měly specifickou orgánovou odpověď, zejména u šetřící odrůdy Baletka. Jedná se zejména o 3-ketoacyl-CoA-thiolasu, jež se účastní β-oxidace mastných kyselin a hraje důležitou roli v regulaci signální dráhy aktivované ABA (Jiang et al., 2011), a regulační 31 kDa ribonuclear protein, jehož hlavní funkcí je stabilizovat mRNA proteinů fotosystému I (Kupsch et al., 2012). Další protein s různým tkáňovým profilem je HSP90, jenž se podílí mimo jiné na signalizaci ABA a ovlivňuje uzavření průduchů (Clément et al., 2011). V našem experimentu byla většina isoforem HSP90 pozorována se sníženou akumulací zejména v odnožovacích uzlech Baletky během krátkodobého sucha, zatímco během regenerace byl tento trend opačný, kdy HSP90 byly zvýšeny v uzlech a sníženy v listech. Naproti tomu odrůda Tobak orgánově specifickou odpověď příliš nevykazovala. Proteiny LEA se přímo podílejí na reakci rostlin na nedostatek vody např. jako osmoprotektory díky jejich hydrofilní povaze. V našem experimentu byly LEA1 a LEA3 nejvíce změněnými proteiny v celém proteomu u obou odrůd (až 40násobně). Zajímavé rozdíly byly pozorovány mezi odrůdami v odnožovacích uzlech, kdy odrůda Baletka měla téměř dvojnásobně zvýšenou akumulaci LEA proteinů než Tobak, v listech však vykazovaly LEA proteiny opačný trend. Naše výsledky potvrzují i výsledky studie, která detekovala větší množství LEA proteinů ve stoncích než v kořenech a listech (Liu et al., 2013). Celkově Baletka centralizovala ochranné proteiny do odnožovacích uzlů, na rozdíl od Tobaku, který ochranné proteiny distribuuje rovnoměrně po celé rostlině, a proto nemá žádnou orgánově specifickou obranu proti suchu.

Změny v buněčné stěně

Buněčná stěna rostlin je velmi rigidní buněčnou součástí, a v případě abiotických stresů lze pozorovat velké změny ve složení buněčné stěny (Moura et al., 2010). V našem experimentu byl zjištěn zvýšený obsah degradačních produktů celulosy a hemicelulos, tj. zejména celobiosy, mannobiosy, gentiobiosy a melibiosy, které byly zvýšeny zejména po delším suchu u odrůdy Baletka (šetřící vodu). Melibiosa se navíc podílí na podpoře tolerance vůči chladu a odolnosti vůči suchu (Merewitz et al., 2012). Reorganizace hemicelulóz a pektinu také odpovídá detekci neobvyklých cukrů, jako je allosa a talosa, a byl rovněž nalezen jeden spot s endoxyloglucantransferasou se zvýšenou abundancí v průběhu sucha v odnožovacích uzlech Baletky.V některých studiích byla po vystavení rostlin abiotickému stresu, včetně sucha, detekována kalosa mezi buněčnou stěnou a plazmatickou membránou (Gregorová et al., 2015). Kalosa je degradována β-1,3-glukanasami, jež byly v našich stresovaných vzorcích nalezeny ve dvou isoformách. Tyto isoformy byly exprimovány pouze při dlouhodobém suchu ve vodou šetřící Baletce a po zalití se jejich hladina okamžitě snížila na kontrolní úroveň. Lze tedy předpokládat, že s prodlouženým účinkem sucha již v Baletce nastává aklimatizační fáze, kdy dochází k obnově nové homeostasy a během stresu vytvořená kalosa již není potřeba.

Další složky buněčné stěny reagující na sucho jsou fenolické látky nezbytné pro tvorbu buněčné stěny a během sucha se jejich obsah v buněčné stěně výrazně zvyšuje (Hura et al., 2009; Piasecka et al., 2017). V našem experimentu jsme pozorovali velké rozdíly v chování fenolických látek (např. glycerolferulát a kyselina vanillylmandlová) nejen u obou odrůd, ale také během krátkodobého či dlouhodobého sucha, jež korespondují s jinými studiemi. Podobně byla v období sucha u šetřící Baletky zjištěna také zvýšená akumulace proteinu fenylalaninamoniumlyasy (PAL), jež je klíčovým enzymem pro výrobu fenolických látek, a hraje pozitivní roli v obraně rostlin proti vodnímu deficitu (Gholizadeh, 2010). Fenolické látky v cytoplazmě mohou hrát také úlohu neenzymatických antioxidantů a mohou chránit fotosyntetický aparát před poškozením fotoinhibitory během sucha (Yildiz-Aktas et al., 2009).

Endocytosa během sucha

Během dlouhodobého sucha byla také zjištěna zvýšená akumulace proteinu dynamin, jenž se podílí na mnoha buněčných procesech, avšak primárně se podílí na endocytóze zprostředkované klatrinem (Bednarek & Backues, 2010) a na recyklaci lipidů a proteinů plazmatické membrány (Fujimoto & Tsutsumi, 2014). Náš experiment dále detekoval receptor PYR1-like reagující na ABA u odrůdy Baletka. Receptor PYR1 je z plazmatické membrány degradován právě endocytózou zprostředkovanou interakcí klatrin-dynamin (Belda-Palazon et al., 2016). Dynamin v plazmatické membráně interaguje hlavně s fosfoinositidy (Backues & Bednarek, 2010), syntetizovanými fosforylací myoinositolu, který byl v tomto experimentu během sucha rychle redukován, zejména u Baletky. Všechny tyto poznatky implikují zvýšenou endocytosu v kultivaru se strategií šetřící vodu v průběhu sucha.

Závěr

Srovnávací proteomická a metabolomická analýza ukázala, že pro srovnání tolerance dvou jinak podobných odrůd nelze spoléhat na analýzu klasických obranných molekul proti suchu, jako je obsah prolinu nebo dehydrinů. Představitelé kontrastních strategií vodního režimu pro objasnění molekulárních mechanismů, tj. odrůdy pšenice ozimé Baletka (strategie „šetřič“) a Tobak (strategie „plýtvač“), v průběhu sucha vykazovaly signifikantní rozdíly fyziologických parametrů, přičemž Baletka vykazovala vyšší účinnost využití vody a vyšší Fv/Fm. Z metabolomického a proteomického hlediska vykazovala Baletka celkové změny v metabolických cestách, zejména změny v endocytose, změny v remodelaci buněčné stěny

a tkáňově specifické změny v syntéze obranných proteinů, jako jsou zejména proteiny LEA 1 a LEA 3, HSP90 a 31 kDa ribonuclear protein.

Poděkování

Tato práce vznikla za finanční podpory MŠMT, project č. 16_02110008503–01, MZE č. RO08 a QK1710302.

Literatura

Backues, S. K., & Bednarek, S. Y. (2010). Arabidopsis dynamin-related protein 1A polymers bind, but do not tubulate, liposomes. *Biochem Biophys Res Commun*, *393*(4), 734-739.

Bednarek, Sebastian Y., & Backues, Steven K. (2010). Plant dynamin-related protein families DRP1 and DRP2 in plant development. *Biochemical Society Transactions*, *38*(3), 797-806.

Belda-Palazon, B., Rodriguez, L., Fernandez, M. A., Castillo, M. C., Anderson, E. M., Gao, C., Gonzalez-Guzman, M., Peirats-Llobet, M., Zhao, Q., De Winne, N., Gevaert, K., De Jaeger, G., Jiang, L., Leon, J., Mullen, R. T., & Rodriguez, P. L. (2016). FYVE1/FREE1 Interacts with the PYL4 ABA Receptor and Mediates Its Delivery to the Vacuolar Degradation Pathway. *Plant Cell*, *28*(9), 2291-2311.

Bowne, J. B., Erwin, T. A., Juttner, J., Schnurbusch, T., Langridge, P., Bacic, A., & Roessner, U. (2012). Drought responses of leaf tissues from wheat cultivars of differing drought tolerance at the metabolite level. *Mol Plant*, *5*(2), 418-429.

Clément, M., Leonhardt, N., Droillard, M.-J., Reiter, I., Montillet, J.-L., Genty, B., Laurière, C., Nussaume, L., & Noël, L. D. (2011). The Cytosolic/Nuclear HSC70 and HSP90 Molecular Chaperones Are Important for Stomatal Closure and Modulate Abscisic Acid-Dependent Physiological Responses in Arabidopsis. *Plant Physiology*, *156*(3), 1481-1492.

Ford, K. L., Cassin, A., & Bacic, A. (2011). Quantitative proteomic analysis of wheat cultivars with differing drought stress tolerance. *Front Plant Sci*, *2*, 44.

Fujimoto, M., & Tsutsumi, N. (2014). Dynamin-related proteins in plant post-Golgi traffic. *Front Plant Sci*, *5*, 408.

Gholizadeh, A. (2010). Anti-Oxidation Profile in the Leaves of Maize Inbreds: Elevation in the Activity of Phenylalanine Ammonia Lyase under Drought Stress. *Journal of Plant Sciences*, *5*(2), 137-145.

Gouveia, C. S. S., Ganança, J. F. T., Lebot, V., & de Carvalho, M. Â. A. P. (2018). Quantitation of oxalates in corms and shoots of Colocasia esculenta (L.) Schott under drought conditions. *Acta Physiologiae Plantarum*, *40*(12).

Gregorová, Z., Kováčik, J., Klejdus, B., Maglovski, M., Kuna, R., Hauptvogel, P., & Matušíková, I. (2015). Drought-Induced Responses of Physiology, Metabolites, and PR Proteins in Triticum aestivum. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *63*(37), 8125-8133.

Guo, R., Shi, L., Jiao, Y., Li, M., Zhong, X., Gu, F., Liu, Q., Xia, X., & Li, H. (2018). Metabolic responses to drought stress in the tissues of drought-tolerant and drought-sensitive wheat genotype seedlings. *AoB Plants*, *10*(2), ply016.

Herzog, M., Fukao, T., Winkel, A., Konnerup, D., Lamichhane, S., Alpuerto, J. B., Hasler-Sheetal, H., & Pedersen, O. (2018). Physiology, gene expression, and metabolome of two wheat cultivars with contrasting submergence tolerance. *Plant Cell Environ*, *41*(7), 1632-1644.

Hura, T., Hura, K., & Grzesiak, S. (2009). Possible contribution of cell-wall-bound ferulic acid in drought resistance and recovery in triticale seedlings. *J Plant Physiol*, *166*(16), 1720-1733.

Jiang, T., Zhang, X. F., Wang, X. F., & Zhang, D. P. (2011). Arabidopsis 3-ketoacyl-CoA thiolase-2 (KAT2), an enzyme of fatty acid beta-oxidation, is involved in ABA signal transduction. *Plant Cell Physiol*, *52*(3), 528-538.

Kosova, K., Vitamvas, P., & Prasil, I. T. (2014). Proteomics of stress responses in wheat and barley-search for potential protein markers of stress tolerance. *Front Plant Sci*, *5*, 711.

Kosová, K., Vítámvás, P., Prášil, I. T., & Renaut, J. (2011). Plant proteome changes under abiotic stress — Contribution of proteomics studies to understanding plant stress response. *Journal of Proteomics*, *74*(8), 1301-1322.

Kupsch, C., Ruwe, H., Gusewski, S., Tillich, M., Small, I., & Schmitz-Linneweber, C. (2012). Arabidopsis chloroplast RNA binding proteins CP31A and CP29A associate with large transcript pools and confer cold stress tolerance by influencing multiple chloroplast RNA processing steps. *Plant Cell*, *24*(10), 4266-4280.

Lisec, J., Schauer, N., Kopka, J., Willmitzer, L., & Fernie, A. R. (2006). Gas chromatography mass spectrometry-based metabolite profiling in plants. *Nat Protoc*, *1*(1), 387-396.

Liu, Y., Wang, L., Xing, X., Sun, L., Pan, J., Kong, X., Zhang, M., & Li, D. (2013). ZmLEA3, a multifunctional group 3 LEA protein from maize (Zea mays L.), is involved in biotic and abiotic stresses. *Plant Cell Physiol*, *54*(6), 944-959.

Merewitz, E. B., Du, H., Yu, W., Liu, Y., Gianfagna, T., & Huang, B. (2012). Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation. *J Exp Bot*, *63*(3), 1315-1328.

Moura, J. C., Bonine, C. A., de Oliveira Fernandes Viana, J., Dornelas, M. C., & Mazzafera, P. (2010). Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants. *J Integr Plant Biol*, *52*(4), 360-376.

Piasecka, A., Sawikowska, A., Kuczynska, A., Ogrodowicz, P., Mikolajczak, K., Krystkowiak, K., Gudys, K., Guzy-Wrobelska, J., Krajewski, P., & Kachlicki, P. (2017). Drought-related secondary metabolites of barley (Hordeum vulgare L.) leaves and their metabolomic quantitative trait loci. *Plant J*, *89*(5), 898-913.

Prasad, R., & Shivay, Y. S. (2017). Oxalic Acid/Oxalates in Plants:From Self-Defence to Phytoremediation. *Current Science*, *112*(08).

Tardieu, F. (2012). Any trait or trait-related allele can confer drought tolerance: just design the right drought scenario. *J Exp Bot*, *63*(1), 25-31.

Tooulakou, G., Giannopoulos, A., Nikolopoulos, D., Bresta, P., Dotsika, E., Orkoula, M. G., Kontoyannis, C. G., Fasseas, C., Liakopoulos, G., Klapa, M. I., & Karabourniotis, G. (2016a). Alarm Photosynthesis: Calcium Oxalate Crystals as an Internal CO2 Source in Plants. *Plant Physiol*, *171*(4), 2577-2585.

Tooulakou, G., Giannopoulos, A., Nikolopoulos, D., Bresta, P., Dotsika, E., Orkoula, M. G., Kontoyannis, C. G., Fasseas, C., Liakopoulos, G., Klapa, M. I., & Karabourniotis, G. (2016b). Reevaluation of the plant "gemstones": Calcium oxalate crystals sustain photosynthesis under drought conditions. *Plant Signal Behav*, *11*(9), e1215793.

Vitamvas, P., Urban, M. O., Skodacek, Z., Kosova, K., Pitelkova, I., Vitamvas, J., Renaut, J., & Prasil, I. T. (2015). Quantitative analysis of proteome extracted from barley crowns grown under different drought conditions. *Front Plant Sci*, *6*, 479.

Yildiz-Aktas, L., Dagnon, S., Gurel, A., Gesheva, E., & Edreva, A. (2009). Drought Tolerance in Cotton: Involvement of Non-enzymatic ROS-Scavenging Compounds. *Journal of Agronomy and Crop Science*, *195*(4), 247-253.

Kontakt:

Ing. Tereza Nešporová, Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Drnovská 507, 161 06 Praha 6, Česká republika, +420 770 119 958; tereza.nesporova@vscht.cz

Hodnocení vlivu sucha na hospodářské parametry vybraných genotypů lnu

Evaluation of the drought effect on the economic parameters of selected flax genotypes

Prokopová M.[1], Bjelková M.[2]

[1]Agritec Plant Research, s.r.o. Zemědělská 16, Šumperk
[2]AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o., Zemědělská 16, Šumperk

Abstrakt

Vliv suchých roků s nedostatkem srážek, které se vyskytly v poledních letech, má negativní dopady na hospodaření napříč různými zemědělskými plodinami. Již řadu let je cílem šlechtitelů najít takové odrůdy, které by nedostatek vláhy a vysoké teploty snášely bez velkého výkyvu výnosových a kvalitativních parametrů. V rámci využití genových zdrojů lnu (*Linum usitatissimum* L.) bylo otestováno 23 genotypů lnu s cílem najít a vyhodnotit takové parametry, které by mohly napomoci při výběru odrůdy lnu, vhodné pro pěstování i ve zhoršených klimatických podmínkách.
Klíčová slova: *Linum usitatissimum* L., nedostatek srážek, výnos, omega3-nenasycené mastné kyseliny

Abstract

The impact of dry years with a lack of rainfall, which occurred in the current years, has negative effects on farming across different crops. For many years, the goal of breeders has been to find varieties that would tolerate a lack of moisture and high temperatures without large fluctuations in yield and quality parameters. As part of the use of flax gene resources (*Linum usitatissimum* L.), 23 flax genotypes were tested in order to find and evaluate such parameters that could help in the selection of a flax variety suitable for cultivation even in degraded climatic conditions.
Keywords: *Linum usitatissimum* L., lack of precipitation, yield, omega3-unsaturated fatty acids

Úvod

Ve světovém měřítku je sucho nejvýznamnější faktor, který omezuje produktivitu rostlin. Očekávané globální oteplování by mohlo vést k dalšímu zesílení těchto vlivů. Nicméně rostliny mají obranné strategie, kterými se jim brání. Rostliny, vzhledem k přisedlému způsobu života, si v průběhu fylogeneze vyvinuly velmi bohaté genetické mechanizmy, které jim umožňují vyrovnávat se s různými typy stresů. Vliv stresových faktorů na rostliny se projevují snižováním její vitality a u kulturních plodin také snižováním výnosů. Proto šlechtění odolných genotypů je v popředí zájmu šlechtitelů. Jsou nezbytné znalosti mechanizmů odolnosti k jednotlivým typům stresových faktorů, znalosti molekulárních mechanizmů, genetická determinace odolnosti a s tím možnost identifikace genů podílejících se na odolnosti (Řepková, 2021).

Vědci dokážou měnit vlastnosti rostlin na úrovni morfologické, fyziologické i molekulární. Je důležité říct, na co rostlinu adaptujeme. Nelze vytvořit „superodrůdu“, která vydrží sucho, horko a mráz a bude odolná vůči chorobám a škůdcům, a ještě bude mít supervýnos. Cestou k toleranci sucha má být i větší vitalita osiva. Vědci se proto snaží získat taková, která nebudou

v půdě čekat na ideální podmínky, ale i za zhoršených rychle vytvoří kořenový systém a klíček. Jedinec tak bude lépe připravený na zhoršené podmínky. Velký potenciál skrývají i geneticky modifikované organismy, ke kterým je Evropská unie skeptická a není pro ně příliš prostoru na rozdíl od USA (Středa, 2021).
U lnu sucho brzdí výnos a kvalitu oleje (Braulio et al., 2019). Pokles všech růstových parametrů začíná, když bylo spotřebováno 30–80 % dostupné půdní vody. Mezi různými vyhodnocenými parametry růstu existovaly lineární vztahy. Tyto vztahy nebyly ovlivněny ani stavem vody v půdě, ani odrůdami. Relativní obsah vody u odrůd lnů klesl poté, co bylo vyčerpáno 25–67 % dostupné půdní vody (Karuiki et al., 2016). Pro ověření této skutečnosti byl naplánován skleníkový pokus s aktuálně pěstovanými odrůdami lnu, u kterých byly následně sledovány změny v kvalitativních parametrech důležitých při hospodářském využití této plodiny.

Materiál a metody

Bylo vybráno 23 odrůd lnu z genové banky AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o. (Alaska, Astella, Bajkal, Baladin, Batsman, Bethune, Bilton, Bowler, Bukoz, Festival, Flanders, Floral, Galand, Koral, Leane, McDuff, Omegalin, Prairie Blue, Sideral, Solal, Spring, Szafir, Winter). Tyto genotypy byly pěstovány v polních a skleníkových podmínkách.
Skleníkový pokus (viz obrázek č.1) – 23 odrůd vyseto 1. 5. 2021, sklizeno 18. 8. 2021. Zálivka do fáze rychlého růstu, po 12.6.2021 ukončena.
Polní pokus – 23 odrůd vyseto 24.4.2021, sklizeno 15.8.2021, suma srážek za vegetaci : rok 2021 byl srážkové průměrný, v měsících duben – srpen napršelo 319,5 mm.

Obrázek 1: Skleníkový pokus – 23 genových zdrojů lnu při ukončení zálivky (A) a před sklizní (B), detail rostlin v řádku – před ukončením zálivky (C) a před sklizní (D)

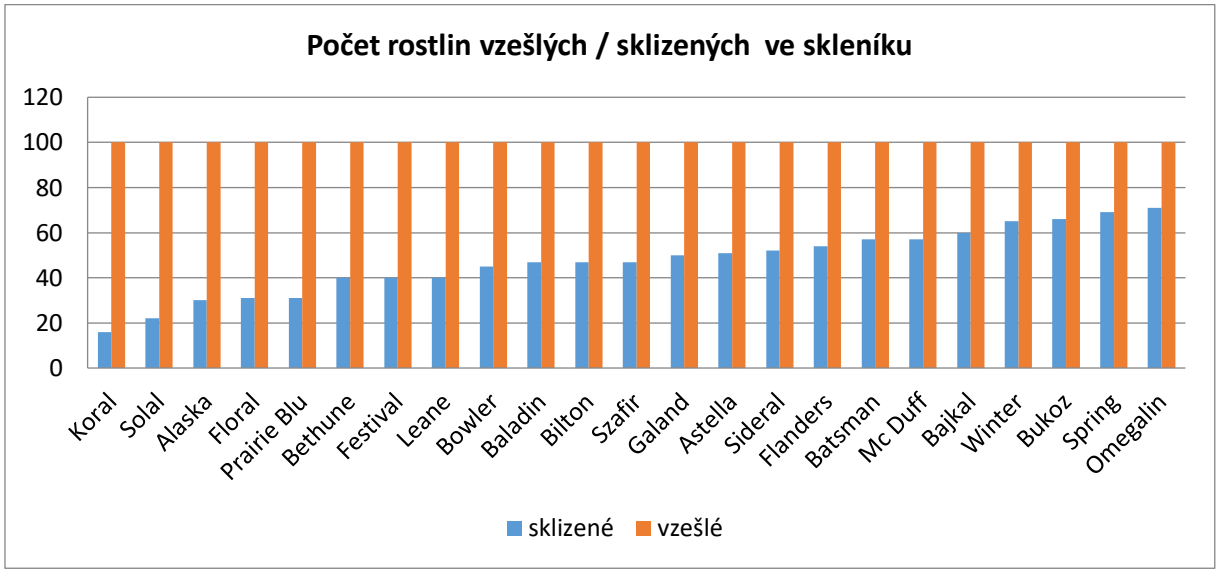
Kromě obsahu mastných kyselin (především k. olejové a k.linolenové) byla hodnocena hmotnost tisíce semen (HTS), a počet sklizených rostlin.
Stanovení poměrného obsahu jednotlivých mastných kyselin u lnu bylo prováděno metodou plynové chromatografie (GC DANI, kapilární kolona Famewax 30 m, detector FID). Mastné kyseliny jsou pro potřeby analýzy převáděny na methylestery dle metodiky Bhatty and Rowland (1990).

Výsledky

Prvním ukazatelem při hodnocení výsledků byl celkový počet sklizených rostlin v porovnání s vzešlými. Na začátku pokusu bylo u každého genotypu ponecháno 100 vzešlých rostlin. Po ukončení experimentu se jednotlivé genotypy výrazně lišily v počtech sklizených rostlin (viz graf č.1) Například odrůda Koral - z původních 100 vzešlých rostlin bylo do sklizňové

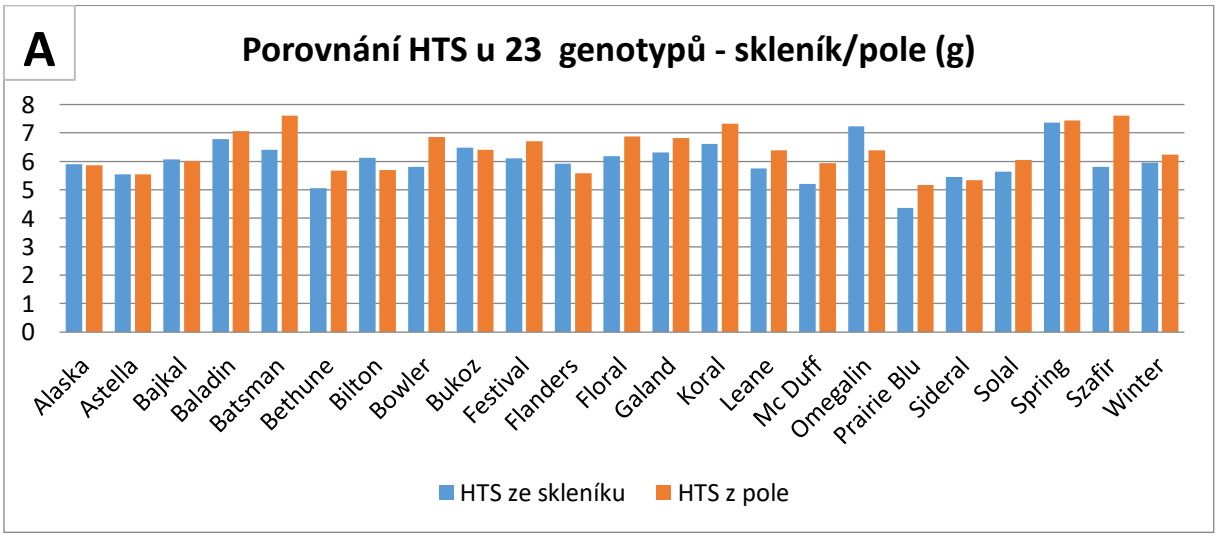
zralosti dopěstováno pouze 16. Naproti tomu u odrůdy Omegalin dorostlo do sklizňové zralosti v podmínkách bez jakýchkoliv srážek 71 rostlin ze sto vzešlých rostlin.

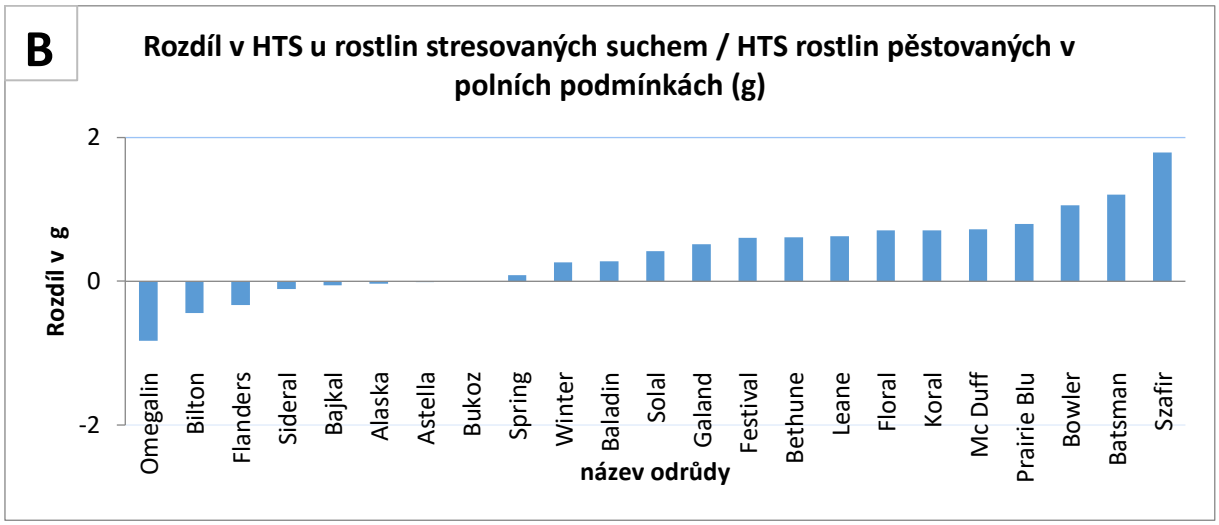
Graf 1: Vliv sucha na počet sklizených rostlin – počet sklizených/počet vzešlých (100 rostlin)



Dalším hodnoceným parametrem byla hmotnost tisíce semen u vybraných genotypů. Zde byl pozorován rozdíl mezi jednotlivými odrůdami a jejich HTS z rostlin stresovaných suchem nebo z pole. U některých odrůd byl rozdíl v hmotnosti zanedbatelný (Astella, Flanders, Omegalin, Bilton), u některých ale došlo k významnému poklesu HTS (o 1g i více) vlivem sucha – Bowler, Batsman, Szafir (graf č. 2 A, B). V průměru se HTS snížila o 0,37g.

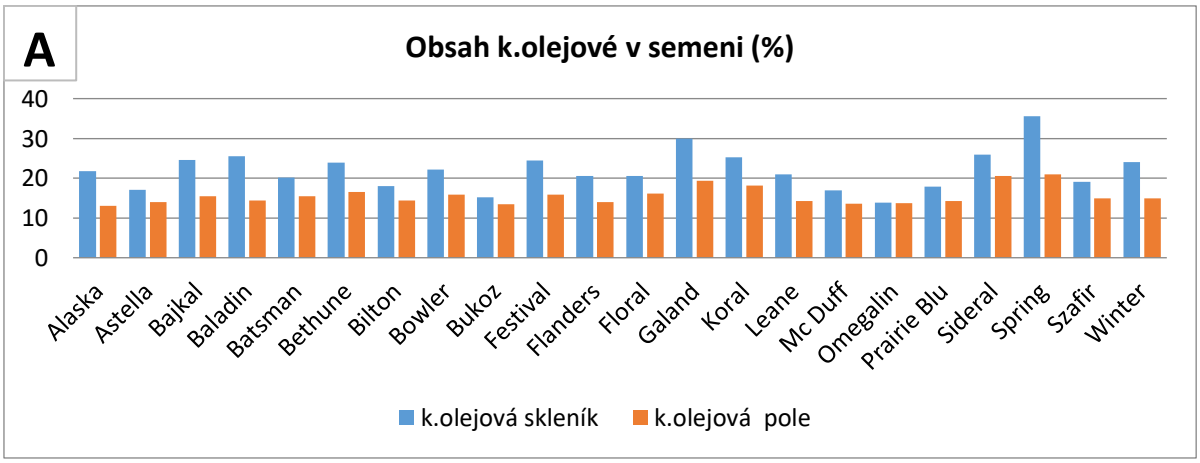
Graf 2: A) Vliv sucha na HTS – srovnání HTS u rostlin stresovaných suchem a HTS u z rostlin pěstovaných na poli B) Rozdíl v gramech mezi HTS ze skleníku a z pole

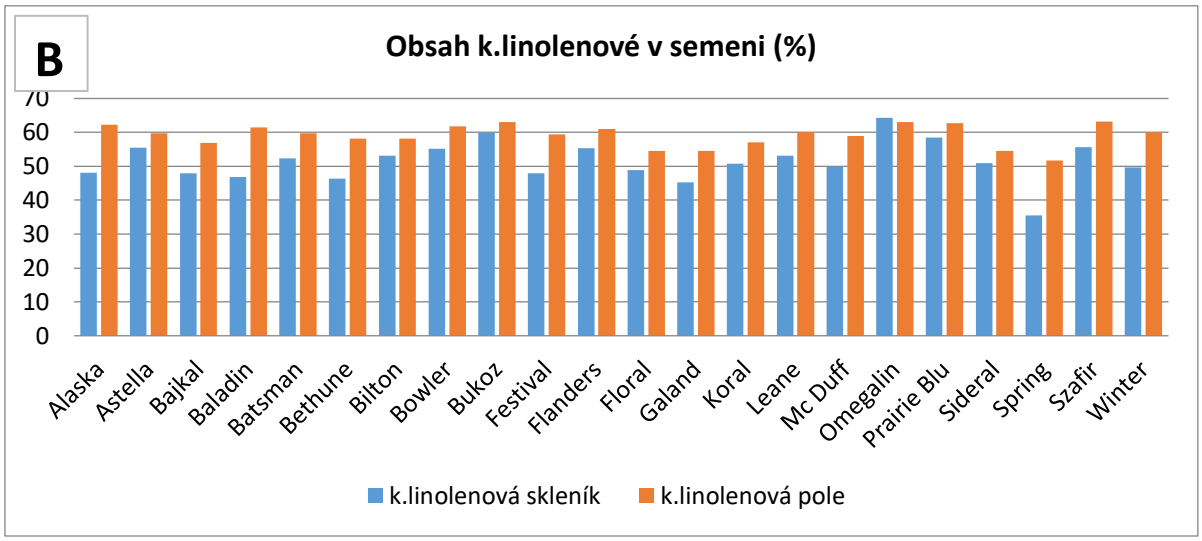




Dalším hodnoceným parametrem byl obsah kyseliny olejové a linolenové, což jsou důležité ukazatele v hodnocení kvality odrůd. Byla průkazná změna v obsahu kyselin, vlivem sucha došlo ke snížení obsahu kyseliny olejové u všech hodnocených odrůd (v průměru o 6,3 %). Naopak o všech odrůd došlo k průkaznému zvýšení obsahu kyseliny linoleové (v průměru o 7,8 %) (Graf 3 A, B).

Graf 3: Porovnání obsahu k. linolenové (A) a obsahu k. olejové (B) u jednotlivých odrůd





Diskuze

V každém ze sledovaných parametrů byly pozorovány rozdíly mezi rostlinami stresovanými nedostatkem srážek a pěstovanými v polních podmínkách. Nejmarkantnější rozdíl byl v počtu sklizených rostlin z počtu vzešlých, kde se počty sklizených lišily o desítky procent od rostlin vzešlých, což potvrzuje řada publikací (Kariuki, 2016; Sehgal, 2018). Stejně tak se vlivem sucha projevily změny v obsahu mastných kyselin v semeni – obsah kyseliny olejové se snížil, obsah kyseliny linoleové se zvýšil. I tyto změny byly již dříve pozorovány u souboru genotypů olejných typů lnu (Misha D., 2020). Změny v obsahu mastných kyselin se významně liší především mezi jednotlivými odrůdami. Při porovnání změn v HTS u stresovaných a nestresovaných rostlin se celkové průměrné snížení vlivem nedostatku srážek pohybovalo jen v řádu procent, významný rozdíl však byl mezi jednotlivými odrůdami, tedy opět lze pozorovat silnou odrůdovou závislost snášenlivosti nedostatku srážek (Braulio J., 2019).

Závěr

Vliv sucha na hospodářské parametry plodin je dlouho diskutovaná skutečnost. Velmi důležitá je především doba, ve které se nedostatek srážek u dané plodiny dostaví. U lnu byl v tomto případě navozen nedostatek srážek od začátku období butonizace (nasazování květu) až do úplné zralosti. Vliv sucha na počet dopěstovaných rostlin, změny v HTS a obsahu mastných kyselin v našem experimentu byl zaznamenán, přičemž ale významné rozdíly byly pozorovány především mezi jednotlivými odrůdami. Tato skutečnost potvrzuje, že snášenlivost nedostatku srážek bude vlastnost odrůdově závislá a nejlepší možnou cestou k získání takových genotypů je screening odrůd již pěstovaných.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, Národní program pro genofondy rostlin, 51834/2017-MZE-17253/6.2.8 a MZE RO 1018

Literatura

Bhatty R.S., Rowland G.G. (1990): Measurement of α-Linolenic acid in the development of edible oil flax, JAOCS, 67, 364-367

Braulio J. et al. (2019): Identifying drought-resilient flax genotypes and related-candidate genes based on stress indices, root traits and selective sweep. Euphytica 215, 41.

Kariuky L. et a. (2016): Effect of water stress on growth of three linseed (*Linum usitatissimum* L.) varieties. Springerplus 2016; 5(1): 759**.**

Misha D. (2020): Quality evaluation of flaxseed obtained from different locations. Presented at the 1st International Electronic Conference on Plant Science, 1–15 December 2020; Available online: https://iecps2020.sciforum.net/.

Řepková J. (2019): Genetika rostlin, ÚEB Biol, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita. https://is.muni.cz/do/rect/el/estud/prif/js13/genetika/web/pages/08-rezistence-k-abiotickym-faktorum.html

Sehgal A. et a. (2018): Drought or/and heat-stress effects on seed filling in food crops: impacts on functional biochemistry, seed yields, and nutritional quality. Front. Plant Sci., 27.

Středa T. (2016): Vědci chtějí odolnější obilí vůči suchu, rozvíjí kořenový systém. Zdroj: https://www.denik.cz/z_domova/vedci-chteji-odolnejsi-obili-vuci-suchu-rozviji-korenovy-system-20160905.html

Kontaktní adresa:

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

Hodnocení napadení genových zdrojů hrachu (*Pisum sativum* L.) zrnokazem hrachovým (*Bruchus pisorum L.*)

Evaluating the levels of infestation in field pea (*Pisum sativum* L.) genetic resources induced by pea weevil (*Bruchus pisorum* L.)

Prokopová M.[1], Seidenglanz M.[2], Ondráčková E.[3], Munoz-Arbeláez M.[4], Šafář J.[5]

[1]AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, s.r.o.; [2,3,4,5]Agritec Plant Research, s.r.o.

Abstrakt

Ve screeningovém polním pokusu založeném na lokalitě Šumperk v roce 2021 byl hodnocen vliv testovaných genotypů hrachu (47 položek, genové zdroje = GZ, *Pisum sativum* L.) na úroveň napadení semen zrnokazem hrachovým (*Bruchus pisorum* L.) za podmínek přirozené infestace. Vliv GZ (jako faktoru) na rozdíly v napadení semen způsobených *B. pisorum* se projevil jako vysoce průkazný ($F = 4.3922$, $p < 0.0001$). Ze 13 hodnocených morfologických znaků květů a lusků se průkazný vliv na úroveň napadení semen zrnokazem prokázal pouze u dvou: délka květní stopky ($F = 3.0527$, $p < 0.05$) a tvar báze pavézy ($F = 3.6049$, $p < 0.05$).
Klíčová slova: genové zdroje, *Pisum sativum* L., *Bruchus pisorum* L., rezistence, tolerance

Abstract

Under field conditions the effect of Field pea genotype as a factor (47 accessions of field pea, *Pisum sativum* L., genetic resources were included in the trial) influencing the levels of seed damage induced by pea weevil (*Bruchus pisorum* L.) was assessed. Effect of genetic resource (assessed as a factor) on influencing the levels of seed damage induced by the pea weevil proved to be highly significant ($F = 4.3922$, $p < 0.0001$). From the 13 morphological traits describing the colour and shape of individual parts of flowers and pods, only two of them had significant effect on the level of damage induced by the pea weevil. They were, the length of flower stalk ($F = 3.0527$, $p < 0.05$) and the shape of the basal part of banner ($F = 3.6049$, $p < 0.05$).
Keywords: genetic resources, *Pisum sativum* L., *Bruchus pisorum* L., resistance, tolerance

Úvod

Dlouhodobým obecně akceptovatelným cílem je zvýšit podíl luskovin na orné půdě. Ať už v podobě hlavních plodin nebo různých typů meziplodin. To se ale ne zcela daří. Jednou z překážek pro jejich zařazování do osevních sledů (mimo ekonomické důvody) je u mnoha luskovin, hrách nevyjímaje, značná výnosová nestabilita (Rubiales et al., 2015). A příčinou této nestability je nízká úroveň porostů tolerovat a vypořádávat se s následky (a)biotických stresů (tedy nízká úroveň resilience). Jako mnoho jiných plodin je hrách poškozován řadou chorob (houbových, virových) a škůdců. Též vykazuje poměrně nízkou schopnost konkurovat plevelům v boji o zdroje (živiny, světlo). Z houbových chorob jsou z hlediska dopadu na výnos velmi významné krčkové a kořenové choroby, strupovitosti hrachu (původci *Mycosphaerela pinodes, Ascochyta pisi, Didymella pinodella*) a virózy (zejména komplex PEMV a PSbMV), (Ondráčková, 2021). Ze škůdců jsou to především kyjatka hrachová (*Acyrthosiphon pisum*) jako významný vektor virů a zrnokaz hrachový (*Bruchus pisorum*), který je považován za nejnebezpečnějšího škůdce hrachu celosvětově (Aznar-Fernández a Rubiales, 2019) a i v ČR se stal v poslední dekádě velmi nebezpečným (Seidenglanz et al., 2021). Za méně závažné hmyzí škůdce jsou v posledních letech považováni listopasi rodu *Sitona*, třásněnky (*Thysanoptera*) a obaleč hrachový (*Cydia nigricana*), (Seidenglanz et al., 2021).

Odhaduje se, že člověk selekcí pozměnil nebo přímo převedl do kulturního stavu (odrůdy) asi 2500 druhů rostlin. U každého z těchto druhů něco cílevědomě změnil, aby zvýšil výnos a kvalitu těch částí jejich rostlinných těl, o které mu jde. I když globálně rostlinná produkce vztažená na jednotku plochy a tím pádem i produktivita ve druhé polovině dvacátého století a ve 21. století výrazně vzrostly, relativní ztráty působené škodlivými organismy (kombinovaný efekt plevelů, chorob a škůdců) neklesají. Jen škůdci (herbivorní druhy hmyzu) snižují čistou primární produkci (*net primary production*) kulturních rostlin stále asi o 20 %. A to i přesto, že spotřeba insekticidů v tomto období rostla (Gripenberg et al., 2010). Tato zjištění podporují potřebu vyvíjet, testovat a do praxe zavádět pěstební technologie, jejichž úspěch nebude tak silně determinován pravidelnými aplikacemi pesticidů. Principiálně je správné, že se na tuto cestu v Evropě dáváme. V těchto technologiích musí být daleko více položen důraz na využití přirozených obranných mechanismů rostlin. Odrůdy hodící se do takových technologií musí tedy tyto atributy splňovat. Jinak řečeno být připravené vyrovnávat se s biotickými stresy pomocí vlastních obranných mechanismů.

Tento příspěvek se zaměřuje na zrnokaza hrachového, škůdce jehož význam roste s probíhající klimatickou změnou. Škůdce, kterého je těžké udržet pod kontrolou insekticidními aplikacemi. Příspěvek si klade za cíl potvrdit či vyloučit dvě hypotézy:

1) V dostatečně velkém náhodně sestaveném souboru genových zdrojů hrachu (*Pisum sativum* L.) lze očekávat vysokou variabilitu v úrovních napadení semen zrnokazem hrachovým (*Bruchus pisorum* L.) mezi jednotlivými genotypy za podmínek přirozené infestace.
2) Rozdíly v napadení semen zrnokazem hrachovým je možné vysvětlit morfologickými odlišnostmi (zejména v utváření květů) mezi porovnávanými genovými zdroji hrachu.

Materiál a metody

V pokusu se pracovalo se 72 genovými zdroji (GZ) hrachu setého (*Pisum sativum* L.), které byly vysety na lokalitě Šumperk dne 18.4.2021. Způsob rozmístění parcel s jednotlivými genovými zdroji v rámci pokusu je patrný z Obrázku 1. Žlutou barvou zvýrazněná místa v plánu pokusu ukazují na polohu parcel s GZ, které bylo možné zařadit do hodnocení v této studii (celkem 47 položek). Ostatní GZ (celkem 25 položek) byly z hodnocení vyřazeny z důvodu nízké kvality porostů: rostliny buď nevzešly nebo nevyprodukovaly generativní orgány. Ze souboru 47 do pokusu zařazených GZ se jednalo o 5 komerčních (v současnosti dostupných) odrůd vybraných z Katalogu odrůd (položky se jmény), dále o 22 GZ bezlistých (*semi-leaf less*) starých (krajových) odrůd různého původu a o 20 listových odrůd různého původu (tyto položky jsou označeny pouze čísly).

Jednotlivé položky GZ se vysely kazetovým secím strojem po standardní předseťové přípravě s výsevem 120 semen/1 m^2. Porost byl bezprostředně po setí (18.4.) preemergentně ošetřen kombinací herbicidů Command (0,2 l/ha; ú.l. clomazone) + Pendifin (4 l/ha; ú.l. pendimethalin). Po vzejití rostlin byl 9.5. 2021 aplikován ještě herbicid Corum (0,2 l/ha; ú.l. bentazone + imazamox) se smáčedlem Dash (1,0 l/ha). Proti jednoděložným plevelům byl ještě aplikován herbicid Targa Super (ú.l. quizalofop-P-ethyl) v dávce 1,75 l/ha. Pro podporu fyziologických procesů a stimulaci růstu byl 10.6. 2021 použit růstový stimulátor Atonic.

Během vegetace bylo prováděno popisování morfologických znaků jednotlivých GZ. K tomu byl využit klasifikátor pro genus *Pisum* (u každého GZ postupně vyhodnoceno 96 znaků; dle Pavelková et al., 1986). Ve sklizňové zralosti bylo z parcel jednotlivých do hodnocení zahrnutých GZ odebráno 30 lusků k pozdějším rozborům semen. Veškerá zde prezentovaná hodnocení se tedy týkají pouze těchto k hodnocením vybraných 47 položek (Obrázek 1). Asi jeden měsíc po sklizni se začalo s rozbory jednotlivých lusků. Hodnotily se tyto znaky: 1) počet

semen v lusku, 2) počet vlezových otvorů do semen od malých larev *B. pisorum* / lusk, 3) počet napadených semen larvami *Bruchus pisorum* v lusku (proměnné 2 a 3 se mohou trochu lišit), 4) počet semen poškozených larvami obaleče hrachového (*Cydia nigricana*) / lusk, 5) počet semen se symptomy napadení od *Mycospaerella pinodes* / lusk, 6) počet semen se symptomy napadení od *Ascochytou pisi* / lusk a 7) počet semen se symptomy virového napadení (PSbMV) / lusk. Pro každý lusk byla tedy zjištěna a zaznamenána hodnota pro znaky 1–7. Znaky 2–7 tak bylo možné s využitím znaku 1 vyjádřit v relativních hodnotách (%) pro každý lusk odděleně (toto je důležité pro velikost výběrového souboru – a tedy pro statistické analýzy). Pro znaky 2 a 3 + jejich relativní vyjádření v % (týkají se z. hrachového; posuzovány jako závislé proměnné) byla testována míra jejich ovlivnění faktorem testovaného GZ hrachu (GZ tedy brán jako nezávislá proměnná = faktor). Stejným způsobem byl též hodnocen vliv vybraných morfologických znaků charakterizujících odlišnosti v utváření květů a částečně i lusků (vyhodnoceno během vegetace pomocí klasifikátoru, dle Pavelková et al. 1986) na úroveň napadení semen zrnokazem hrachovým (závisle proměnná). Do tohoto hodnocení byly zahrnuty tyto znaky (celkem 13 znaků): počet květů v hroznu, délka květní stopky, velikost pavézy, tvar báze pavézy, tvar vrcholu pavézy, barva pavézy, tvar křídel, barva křídel, stupeň vytvoření kýlu člunku, způsob zakončení horního páru kališních lístků, lusk: pergamenová vrstva, lusk: stupeň zahnutí (v zelené zralosti) a typ zakončení lusku. Vybrané znaky (opět brány jako faktory = nezávisle proměnné) byly posuzovány samostatně s cílem zjistit významnost jejich vlivu (koeficient Fischerova rozhraní F a hladina významnosti, p) na výsledné napadení semen zrnokazem hrachovým. K výše popsaným analýzám byla využita ANOVA (stanovení hodnot Fischerova rozhraní F, Statistica v. 12). Dále byla testována významnost rozdílů mezi průměrnými hodnotami napadených semen z. hrachovým pro jednotlivé GZ: využit Tukey test a některé další metody parametrického i neparametrického testování (Statistica v. 12). Dále byly provedeny korelační analýzy pro vybrané páry znaků. Vždy šlo o srovnání napadení semen zrnokazem hrachovým (proměnná 1) a některou z dalších proměnných vyhodnocených pro jednotlivé GZ. V pozici proměnné 2 se tak postupně objevily: počet semen / lusk, HTS, napadení semen obalečem hrachovým, napadení semen patogenem *M. pinodes*, napadení semen houbovým patogenem *A. pisi* a frekvence semen nesoucích příznaky napadení virózami (PSbMV). Korelace byla vyjádřena pomocí Spearmanova korelačního koeficientu, protože většina ze zde porovnávaných proměnných nevykazuje, co se disperze hodnot ve výběrovém souboru týče, normální rozdělení.

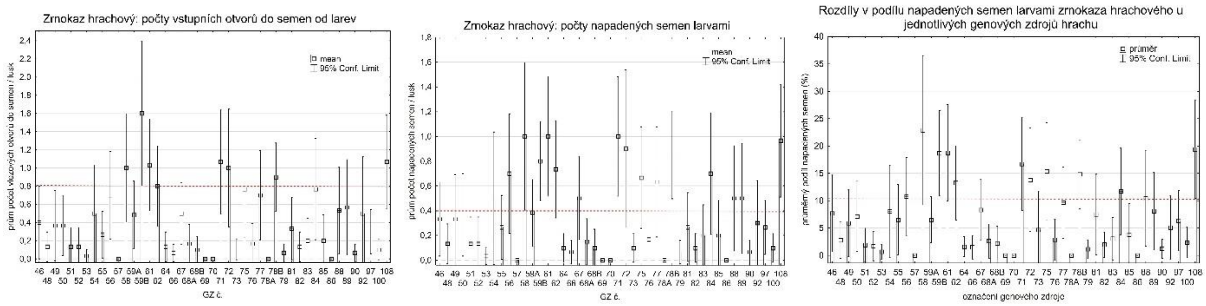
Ještě byla provedena *Principal Component Analysis* s cílem vysvětlit rozložení, které v rámci testovaného souboru nabývají jednotlivé hodnocené znaky (napadení semen zrnokazem hrachovým, obalečem hrachovým, *M. pinodes, A. pisi*, virózami, HTS, počet semen v lusku) pomocí různosti do screeningového pokusu zahrnutých GZ.

	1. řada		2.řada		3.řada			4.řada	
	54	AVATAR	**72**	05L0101044	**90**	05L0101105		**108**	05L0100383
	53	TRENDY	**71**	05L0101043	**89**	05L0101104		**107**	05L0100374
	52	SAXON	**70**	05L0101031	**88**	05L0101103		**106**	05L0100371
	51	POSEIDON	**69**	05L0100989	**87**	05L0101102		**105**	05L0100361
	50	TIP	**68**	05L0100964	**86**	05L0101099		**104**	05L0100334
	49	05L0101033	**67**	05L0100927	**85**	05L0101093		**103**	05L0100320
	48	05L0100804	**66**	05L0100900	**84**	05L0101091		**102**	05L0100317
	47	05L0101107	**65**	05L0100865	**83**	05L0101052		**101**	05L0100314
	46	05L0101106	**64**	05L0100762	**82**	05L0101051		**100**	05L0100293
	45	05L0500103	**63**	05L0100761	**81**	05L0200218		**99**	*05L0100255*
	44	05L0500375	**62**	05L0100736	**80**	05L0200387		**98**	05L0100189
	43	05L0500153	**61**	05L0100644	**79**	05L0200420		**97**	05L0100167
	42	05L0500154	**60**	05L0100617	**78**	05L0200468		**96**	05L0100123
CESTA	**41**	05L0500462	**59**	05L0100615	**77**	05L0101093	**CESTA**	**95**	05L0100113
3m	**40**	05L0500464	**58**	05L0100530	**76**	05L0101051	**3m**	**94**	05L0100100
	39	05L0500481	**57**	05L0100506	**75**	05L0100530		**93**	05L0100093
	38	05L0500486	**56**	05L0100463	**74**	Brunschviga		**92**	05L0100046
	37	05L0500903	**55**	05l0100438	**73**	Grejtukan		**91**	05L0100041

Obrázek 1: Design screeningového pokusu s genovými zdroji hrachu setého (*Pisum sativum* L.). Velikost parcely: 1 x 4.5 m.

Výsledky

Z Obrázků 2a-c je patrné, že rozdíly v napadení jednotlivých GZ porovnávaných v pokusu byly v řadě případů velmi výrazné. Ve všech třech typech hodnocení se projevil vliv GZ (jako faktoru) jako vysoce signifikantní. Rozdíly v napadení tedy byly nenáhodně ovlivněny GZ. V případě srovnání počtů vlezových otvorů od larev do semen byla hodnota F 4.2594 ($p < 0.0001$, Obrázek 2a), v případě srovnání počtů larvami napadených semen v luscích byla hodnota F 4.1886 ($p < 0.0001$, Obrázek 2b) a v případě srovnání podílů napadených semen byla hodnota F 4.3922 ($p < 0.0001$, Obrázek 2c). Rozdíly v napadení byly mezi některými položkami statisticky významné (výsledky Tukey testu). V souboru testovaných GZ se nacházely jak položky poměrně výrazně napadené (s podílem napadených semen nad 10 %), tak položky (celkem 5), u kterých nebyla nalezena žádná napadená semena. Tyto nenapadené GZ (č. 57, 69, 70, 78 a 86) by bylo ovšem předčasné považovat za rezistentní k zrnokazovi hrachovému.



Obrázek 2a-c: Rozdíly v napadení semen larvami zrnokaza hrachového vyjádřené třemi různými způsoby. Na obrázku vlevo (2a) jsou uvedeny rozdíly v počtu vlezových otvorů do

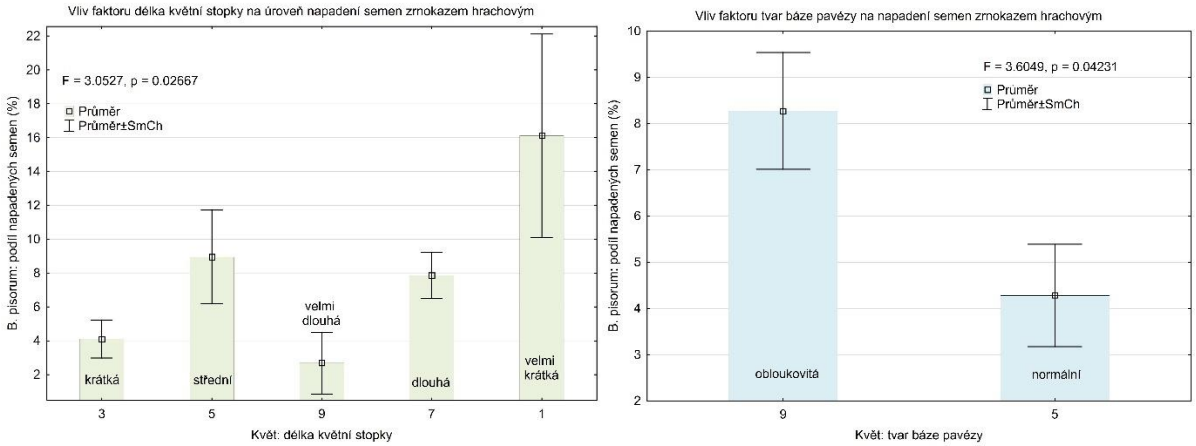
semen od larev / lusk, na obrázku uprostřed (2b) jde o porovnání počtů larvami napadených semen / lusk a na obrázku vpravo (2c) jde o porovnání podílů (%) larvami napadených semen.

Na napadení zrnokazem může mít vliv to, jak jsou u jednotlivých GZ utvářeny specifické části těl jeho hostitelské rostliny (zrnokaz je striktní monofág). Zde byl hodnocen potenciální efekt třinácti vybraných morfologických znaků determinujících způsob utváření květů a lusků (Tabulka 1). Tyto znaky nebyly vybrány náhodně (více v diskuzi). Statisticky významný efekt na úroveň napadení semen tímto škůdcem se projevil pouze u dvou z těchto znaků. Vliv měly znaky, délka květní stopky a tvar báze pavézy. Tyto dva znaky nenáhodně ovlivnily konečné rozdíly v napadení semen tímto škůdcem v souboru testovaných GZ (Obrázek 3a,b). Samice zrnokaza hrachového v pokusu ke kladení preferovaly (to se projevilo následným vyšším napadením semen) GZ s velmi krátkou květní stopkou, naopak je odpuzovaly GZ s velmi dlouhou květní stopkou (Obrázek 3a). Co se týče druhého významného morfologického květního znaku se signifikantním vlivem na napadení semen, tvaru báze pavézy, samice dávaly přednost obloukovité před normální (Obrázek 3b).

Tabulka 1: Vliv morfologických charakteristik posuzovaných jednotlivě (jako nezávislá proměnná, faktor) na napadení semen zrnokazem hrachovým (závislá proměnná). Jde o výsledky ANOVA provedené pro každý s posuzovaných faktorů zvlášť.

Hodnocený znak (faktor)	Vliv na napadení semen zrnokazem hrachovým (%, závislá proměnná)		
	hodnota F (Fischerovo rozhraní)	P (hladina významnosti)	efekt[1]
Květ: počet květů v hroznu	1.7784	p > 0.05	NS
Květ: délka květní stopky	**3.0527**	**p = 0.02667**	**S**
Květ: velikost pavézy	2.2517	p > 0.05	NS
Květ: tvar báze pavézy	**3.6049**	**p = 0.04231**	**S**
Květ: tvar vrcholu pavézy	2.8748	p > 0.05	NS
Květ: barva pavézy	1.1733	p > 0.05	NS
Květ: tvar křídel	0.02751	p > 0.05	NS
Květ: barva křídel	1.7194	p > 0.05	NS
Květ: stupeň vytvoření kýlu článku	0.5469	p > 0.05	NS
Květ: kališní lístky / zakončení horního páru	0.1417	p > 0.05	NS
Lusk: pergamenová vrstva	0.1254	p > 0.05	NS
Lusk: stupeň zahnutí (v zelené zralosti)	0.1786	p > 0.05	NS
Lusk: zakončení	0.1957	p > 0.05	NS

[1]*S = statisticky významný efekt faktoru, NS = nevýznamný efekt faktoru*



Obrázek 3a, b: Efekt dvou morfologických květních znaků, délky květní stopky (vlevo, 3a) a tvaru báze pavézy (vpravo, 3b) na výslednou úroveň napadení semen v testovaném souboru GZ. Vliv těchto dvou znaků se ukázal jako signifikantní (viz hodnoty F a p vložené do grafů).

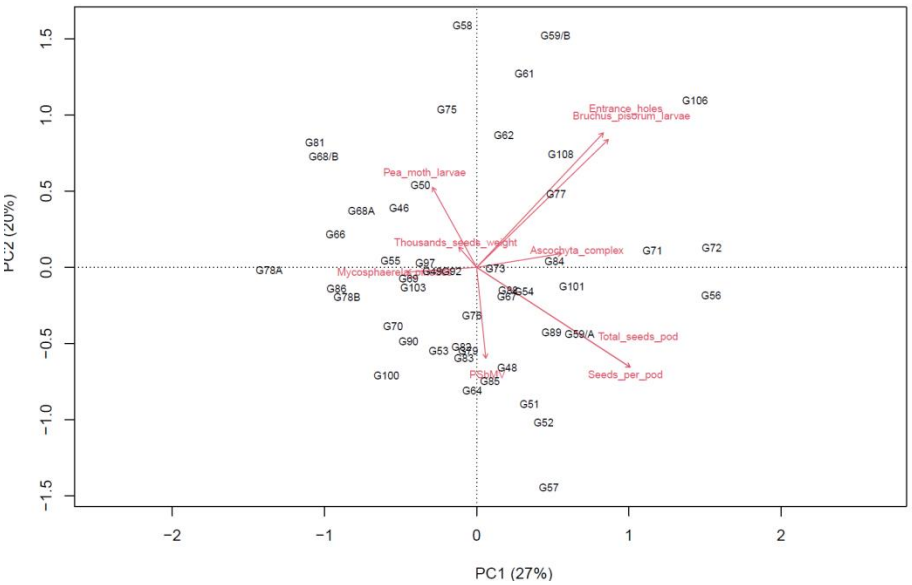
V tabulce 2 jsou seřazeny výsledky korelačních analýz pro vybrané dvojice proměnných v nichž vždy figuruje jako proměnná 1 úroveň napadení semen zrnokazem hrachovým. Z výsledků je zcela zřejmé, že napadení semen tímto škůdcem nekorelovalo ani s jedním do této analýzy zařazených znaků.
Obrázek 4 ukazuje velice zjednodušeně výsledky *Principal Component Analysis*. Z předcházejících hodnoceních zaměřených jen na zrnokaza hrachového (hlavní objekt zájmu v tomto příspěvku) je zřejmé, že se v souboru testovaném v roce 2021 vyskytují GZ tímto škůdcem preferované i opomíjené (schválně nevolíme termín rezistentní). Lze ale najít GZ, které jsou na tom lépe než ostatní ve smyslu nižší míry citlivosti k širšímu spektru škodlivých organismů (všichni zde hodnocení škůdci a choroby) a současně vykazující vyšší hodnoty některých žádaných znaků (počet semen / lusk, HTS)? Obrázek 4 výstižně naznačuje, že takové GZ nebude snadné nalézt.

Tabulka 2: Výsledky korelačních analýz mezi úrovněmi napadení semen zrnokazem hrachovým a dalšími vybranými proměnnými vyhodnocenými pro jednotlivé GZ

Proměnná 1	Proměnná 2	Koeficient koreace **r**[1]	Hladina významnosti[2]	Popis výsledku
úroveň napadení semen semen zrnokazem hrachovým u jednotlivých GZ	HTS (g)	-0.01	p > 0.05	stat. nevýznamná velmi slabá (téměř neexistující) negativní korelace
	prům. počet semen v luscích	0.15	p > 0.05	stat. nevýznamná slabá pozitivní korelace
	napadení semen obalečem hrachovým	0.06	p > 0.05	stat. nevýznamná velmi slabá (téměř neexistující) pozitivní korelace
	napadení semen *A. pisi*	0.14	p > 0.05	stat. nevýznamná slabá pozitivní korelace
	napadení semen *M. pinodes*	-0.13	p > 0.05	stat. nevýznamná slabá negativní korelace
	napadení semen virózani (PSbMV)	-0.03	p > 0.05	stat. nevýznamná velmi slabá (téměř neexistující) negativní korelace

[1]V tomto případě byl využit Spearmanův korelační koeficient, protože většina zde porovnávaných proměnných nevykazuje, co se disperze hodnot ve výběrovém souboru týče, normální rozdělení

[2]Aby byla korelace statisticky významná alespoň s pravděpodobností 95 %, musela by být hodnota p < 0.05. Ani jeden z případů tedy nelze označit za statisticky významnou korelaci



Obrázek 4: Výsledky PCA. G+číslo = konkrétní GZ

Diskuze

Ve screeningovém pokusu byly zařazeny GZ, které se v řadě případů výrazně liší mírou napadení zrnokazem hrachovým. V některých případech jsou rozdíly statisticky významné. GZ jako faktor významně (nejde o náhodu) přispěl (faktorů může být více) k tomu, že rozdíly v napadení semen zrnokazem hrachovým v souboru vykazují vysokou variabilitu. Toto zjištění je v souladu s řadou studií zaměřených na hledání zdrojů rezistence v rámci druhu *Pisum sativum* (nebo šířeji v rámci rodu *Pisum* sp.) k tomuto škůdci (Clement et al., 2009; Aznar-Fernández a Rubiales, 2019). Zrnokaza hrachového, přesněji řečeno jeho kladoucí samice, ovlivňuje při hledání vhodných hostitelských rostlin řada faktorů nejrůznější povahy (De Sousa Majer et al., 2007). Může jít i o morfologické znaky, zejména pak ty, co jsou nějakým způsobem spjaté s utvářením generativních orgánů (Reddy et al., 2017). To souvisí s těsnou vazbou vývoje zrnokaza hrachového na jeho hostitelskou rostlinu. Samice, dříve než mohou začít klást, musí přijmout hrachový pyl, jinak zůstanou sterilní a nerozmnoží se (Mendesil et al., 2016). Je tedy pravděpodobné, že vybírají mezi genotypy podle kvality generativních orgánů, kterou mohou pro ně předznamenávat určité morfologické znaky květenství a jednotlivých květů. To, že zrnokaz mezi genotypy hrachu lišících se samozřejmě i fenotypově rozlišuje a některé pro rozmnožování preferuje, je známo (Clement et al., 2009 a mnoho dalších). Proto jsme se v tomto příspěvku zaměřili na hledání souvislostí mezi napadením semen způsobeným zrnokazem a 11 květními znaky (+ dvěma znaky charakterizující lusky). Vztah k výslednému napadení semen se ve zde rozebíraném pokusu prokázal pouze u dvou znaků (délka květní stopky a tvar báze pavézy). Není nám známo, že by se někdo v pokusech soustředil na tyto morfologické aspekty, nemůžeme tedy zatím tyto výsledky s dalšími porovnat.

Zrnokaz má tendenci ke kladení preferovat zóny v porostu s vyšší frekvencí vitálnějších (s vyšším počtem plodonosných pater) a zdravějších rostlin. Vyhýbá se např. zónám s vyšší frekvencí rostlin poškozených kořenovými a krčkovými chorobami a napadených *M. pinodes* (jeden z původců strupovitosti), (Seidenglanz et al., 2021). Proto jsme rozhodli provést korelační analýzy mezi napadením způsobeným zrnokazem a napadením způsobeným dalšími hodnocenými škodlivými organismy. Hypoteticky by bylo očekávatelné, že výsledky budou naznačovat (alespoň v některých případech) negativní korelaci. To jsme ovšem nezaznamenali. Půjde zřejmě o složitější zákonitosti, na jejichž postihnutí je korelační analýza příliš hrubou metodou.

Výsledky PCA analýzy naznačují, že hledání zdrojů rezistence / tolerance proti více škodlivým organismům najednou bude velmi složité. To ovšem není žádným překvapením (Gripenberg et al., 2010).

Závěr

1) Genotyp hrachu výrazně ovlivňuje míru napadení semen zrnokazem hrachovým. Není tedy bezúčelné pátrat po zdrojích rezistence (nebo tolerance) k tomuto škůdci ve sbírkách genových zdrojů hrachu.
2) Nalezení zcela rezistentního genotypu je spíše nepravděpodobné. Vzhledem k vysoké variabilitě v souboru genových zdrojů hrachu je však možné nalézt genotypy s výrazně nižší atraktivitou a vyšší tolerancí k tomuto škůdci, které mohou být zařazeny do šlechtitelských programů zaměřených na produkci odrůd, které mohou být pro zemědělce velmi cenné (viz tlak na nižší spotřebu pesticidů a tedy i insekticidů).
3) Hledání zdrojů rezistence / tolerance v rámci druhu *Pisum sativum* L. proti více škodlivým organismům najednou bude velmi složité.

Poděkování
Příspěvek je založen na výsledcích získaných při řešení projektu MZE-RO1018.

Literatura

Aznar-Fernández T., Rubiales D. 2019. Flower and pod source influence on pea weevil (*Bruchus pisorum*) oviposition capacity and preference. Frontiers in Plant Science, 10, 1-7.

Clement S.L., McPhee K.E., Elberson L.R., Evans M.A., 2009. Pea weevil, *Bruchus pisorum* L. (Coleoptera: Bruchidae), resistance in *Pisum sativum* x *Pisum fulvum* interspecific crosses. Plant Breed, 128, 478 – 485.

De Sousa Majer M.J., Hardie D.C., Turner N.C., Higgins TJ.V., 2007. Bean α-amylase inhibitors in transgenic peas inhibit development of pea weevil larvae. J Econ Entomol, 100, 1416 – 1422.

Gripenberg S., Mayhew P.J., Parnell M., Roslin T. 2010. A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. Ecol Lett, 13, 383-393.

Mendesil E., Rämert B., Marttila S., Hillbur Y., Anderson P., 2016. Oviposition preference of pea weevil, *Bruchus pisorum* L. among host and non-host plants and its implication for pest management. Front Plant Sci, 6, 1 – 9.

Ondráčková E., 2021. Ochrana hrachu proti strupovitosti. Úroda, 69(2), 70–72.

Reddy G.V.P., Sharma A., Gadi R.L., 2017. Biology, ecology, and management of the pea weevil (Coleoptera: Chrysomelidae). Ann Entomol Soc Am, doi: 10.1093/aesa/sax078.

Rubiales D., et al., 2015. Achievements and challenges in legume breeding for pest and disease resistence. Crit. Rev. Plant. Sci., 34, 195-236.

Pavelková A., et al., 1986. Klasifikátor, genus *Pisum* L. vydal: Výzkumný ústav rostlinné výroby Praha – Ruzyně. Praha, 1986, 46 stran.

Seidenglanz M., Munoz M., Heděnec P., P. Šafář J., Bajerová R., 2021. Uspořádáním hrachového porostu lze ovlivnit disperzi zrnokaza v prostoru. Úroda, 69(10), 53–57.

Kontaktní adresa:
Ing. Miroslava Prokopová, Ph.D.
Zemědělská 2520/16, Šumperk, 787 01
prokopova@agritec.cz, 583382106

Identifikace odrůd česneku pomocí analýzy mikrosatelitů

Identification of garlic variety using microsatellites

Leišová-Svobodová L., Stavělíková H., Zámečník J.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6 – Ruzyně

Abstrakt

Amplifikací 28 mikrosatelitních lokusů u 31 vzorků současných odrůd česneku bylo detekováno celkem 117 alel. Klastrová analýza ukázala na přítomnost 3 skupin – dva shluky obsahovaly odrůdy česneku typu paličák a jeden shluk odrůdy typu nepaličák. Větší míra variability byla nalezena u odrůd typu paličák (0,44) oproti odrůdám typu nepaličák (0,38). Byl prokázán statisticky významný rozdíl mezi oběma typy česneku. Metoda analýzy mikrosatelitů je vhodnou metodou pro identifikaci odrůd česneku. Soubor 20 mikrosatelitních lokusů s hodnotou PIC větší než 0,3 dokáže rozlišit české odrůdy česneku z listiny povolených odrůd ÚKZÚZ.

Klíčová slova: *Allium sativum*, genetická variabilita, SSR

Abstract

In total, 117 alleles were detected by the amplification of 28 microsatellite loci in 31 samples of modern varieties of garlic. Cluster analysis showed there are three clusters – two of them is formed by garlic varieties of the type bolting and one cluster involves garlic varieties of the type non-bolting. Higher level of variability was found in varieties of the type bolting (0.44) comparing to garlic varieties of the type non-bolting (0.38). The method of microsatellite analysis is a suitable method for garlic varieties identification. A set of 20 microsatellite loci with a PIC value higher than 0.3 can distinguish Czech varieties of garlic from the list of registered varieties of ÚKZÚZ.

Keywords: *Allium sativum*, genetic variability, SSR

Úvod

Česnek kuchyňský (*Allium sativum* L) je vytrvalá diploidní rostlina s téměř výhradně klonálním způsobem rozmnožování. Pochází z oblastí mongolských stepí a byl pěstován již ve starověkém Egyptě. Přestože nepatří mezi nutričně významné plodiny, jeho celosvětová spotřeba i produkce v posledních čtyřiceti letech dle statistiky FAO neustále roste (FAOSTAT, http://apps.fao.org). Český česnek, tedy české odrůdy česneku se díky své ostré chuti řadí ve světě mezi nejkvalitnější.

Identifikace odrůd hospodářsky významných plodin pro potřeby nejen semenářských podniků, šlechtitelských stanic a odrůdového zkušebnictví, ale též pro kontrolu pravosti odrůd je obecným problémem. S objevem polymerázové řetězové reakce (PCR) a jejím zavedením jako rutinní metody v laboratořích molekulární biologie 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 jsou vhodné pro detekci genetické variability. Jednou z metod, která se rutinně používá pro studium variability i pro forenzní účely je analýza mikrosatelitů. Mikrosatelity jsou úseky DNA s opakujícím se motivem nejčastěji dvou nukleotidů. Počet opakování daného motivu je dán mnoha faktory a je nutno ho chápat z fylogenetického hlediska. Vlastní příčinou je chromosomální dynamika: chromosomální aberace, nerovnoměrný crossing-over, amplifikace a neúplná replikace určitých segmentů chromosomální DNA (Ondřej, 1992; Goldstein et Schlötterer, 2000). Mikrosatelity se tudíž vyznačují vysokou mírou variability v počtu opakování jejich motivů, která se ve vlastní analýze projeví jako vysoká míra délkového polymorfismu amplifikovaných fragmentů DNA daného mikrosatelitního lokusu. Výhodou analýzy mikrosatelitů je hypervariabilita,

kodominance alel, hojný výskyt v genomech eukaryot, potřeba pouze malého množství DNA, vysoká reproducibilita, možnost provádět analýzy jako multiplex, tj. v jedné reakci analyzovat více SSR lokusů, což výrazně zlevňuje cenu analýz (de Vienne et al., 1998). Z mnoha komparativních studií (např.: Russel et al. 1997; Nagaoka a Ogihara, 1997) se analýza mikrosatelitů ukazuje jako nejvhodnější metoda pro analýzy genetické variability v rámci druhu – jinými slovy tato metoda nejlépe detekuje rozdíly mezi odrůdami téhož rostlinného druhu.
Cílem této práce bylo nalézt soubor mikrosatelitních markerů použitelný pro jednoznačnou identifikaci aktuálně povolených odrůd česneku.

Materiál a Metody

Celkem bylo analyzováno 31 vzorků česneku (*Allium sativum*) převážně z listiny povolených odrůd ÚKZÚZ (Tabulka 1). Vzorky byly získány z Genové banky, pracoviště Olomouc. DNA byla extrahována z listů pomocí detergentu CTAB (Saghai-Maroof et al., 1984) dle optimalizovaného protokolu. Kvalita a koncentrace extrahované DNA byly ověřeny elektroforeticky v 0,8% agarózovém gelu a vizualizaci pomocí ethidiumbromidu v UV světle srovnáním s velikostním a koncentračním standardem λHind III (Fermentas).

Tabulka 1 – Seznam odrůd česneku analyzovaných pomocí mikrosatelitních lokusů

	ECN	Název	Původ	Typ	Šlechtitel
1	09H0101168	Jovan	CZE	P	Kozák
2	09H0101169	Vekan	CZE	P	Kozák
3	09H0101171	Lukan	CZE	N	Kozák
4	09H0101190	Tantal	CZE	P	Tagro
5	09H0101191	Tristan	CZE	P	Tagro
6	09H0101195	Benátčan	CZE	N	Kozák
7	09H0101196	Anton	CZE	N	Kozák
8	09H0101197	Anin	CZE	P	Kozák
9	09H0101198	Bjetin	CZE	P	Kozák
10	09H0101199	Slavin	CZE	P	Kozák
11	09H0101210	Lumír	CZE	N	Moravoseed
12	09H0101220	Dukát	CZE	P	Moravoseed
13	09H0101221	Staník	CZE	P	Kozák
14	09H0101223	Džambul	CZE	P	Kozák
15	09H0101224	Unikát	CZE	P	Moravoseed
16	09H0101237	Karel IV	CZE	P	Semo
17	09H0101241	Havel	CZE	P	Kozák
18	09H0101242	Záhorský II	CZE	N	Kozák
19	09H0101243	Japo II	CZE	N	Kozák
20	09H0101244	Havran	CZE	P	Kozák
21	09H0101248	Tutor	CZE	N	Tagro
22	09H0101249	Trubač	CZE	P	Tagro
23		Mirka	CZE	P	Kozák
24		Vekan II	CZE	P	Kozák
25		Adam	CZE	N	Semo
26		Topaz	CZE	P	Moravoseed
27	09H0101250	Štěpán	CZE	N	Semo
28	09H0101251	Blanin II	CZE	P	Kozák

29	09H0101253	Tarly	CZE	N	Tagro
30	09H0101254	Ivan	CZE	P	Semo
31	09H0101255	Václav	CZE	P	Semo

K této analýze uvedeného souboru odrůd česneku (*Allium sativum*) byl vybrán soubor 24 publikovaných mikrosatelitních markerů amplifikujících 28 mikrosatelitních lokusů (Tabulka 2). Jeden z dvojice primerů je značen fluorescenční barvou 6-fam, vic, ned nebo pet, což umožňuje multiplexovou analýzu produktů PCR reakce. PCR reakce s mikrosatelitními primery byla prováděna dle optimalizovaného protokolu. Reakční směs o objemu 15 µl obsahovala 0,5 µM příslušné dvojice primerů (tzv. forward a reverse), 0,2 mM dNTP, 1x pufr, $MgCl_2$, Tth polymerázu Biotools firmy DYNEX a 100 ng vzorku DNA. Reakce byla prováděna v cykleru fy Sensoquest (Německo). Základní reakční cyklus se skládá z první denaturace 5 min při 95°C.; následuje 35 cyklů: 30 sec při 95°C, 30 sec při T_a, 30 sec při 72°C a závěrečná doba syntézy 5 min při 72°C. Separace produktů PCR reakce byla prováděna metodou kapilární elektroforézy v přístroji ABI PRISM 3130 firmy Applied Biosystems (USA). Jako interní velikostní standard byla použit LIZ500. Elektroforetogramy byly analyzovány pomocí programů GeneMapper a MS Excel do podoby sestavy alel.

Tabulka 2 – Seznam mikrosatelitních lokusů použitých v práci

Locus	Alely - rozsah	Počet alel	H*	PIC**	Reference
ASM53b	190-218	9	0,838	0,838	Ma et al., 2009
ASM40	256-284	7	0,785	0,785	Ma et al., 2009
ASA14	225-247	9	0,771	0,771	Cunha et al., 2012
ASM72b	237-277	8	0,771	0,771	Ma et al., 2009
GM15	267-287	6	0,767	0,767	Liu et al., 2015
ASM59	269-295	6	0,700	0,700	Ma et al., 2009
GM91	158-172	4	0,696	0,696	Liu et al., 2015
GM02	162-170	4	0,683	0,683	Liu et al., 2015
GM03	215-343	6	0,680	0,680	Liu et al., 2015
GM92a	255-261	4	0,674	0,674	Liu et al., 2015
GM107	254-268	4	0,663	0,663	Liu et al., 2015
GM23	112-118	4	0,660	0,660	Liu et al., 2015
ASA10	222-232	5	0,654	0,654	Cunha et al., 2012
ASM78	176-210	6	0,627	0,627	Ma et al., 2009
ASM105	202-230	5	0,558	0,558	Ma et al., 2009
ASM72a	217-221	3	0,459	0,459	Ma et al., 2009
GM19	128-134	5	0,442	0,442	Liu et al., 2015
GM12b	281-283	2	0,424	0,424	Liu et al., 2015
ASM80	152-156	2	0,389	0,389	Ma et al., 2009
GM92b	260-261	2	0,375	0,375	Liu et al., 2015
GM84	114-116	2	0,296	0,296	Liu et al., 2015
GM90	143-155	4	0,295	0,295	Liu et al., 2015
GM09	275-277	2	0,219	0,219	Liu et al., 2015
ASM53a	162-166	2	0,153	0,153	Ma et al., 2009
ASA06	199-203	2	0,129	0,129	Cunha et al., 2012
GM35	90-128	3	0,081	0,081	Liu et al., 2015
GM22	280	1	0,000	0,000	Liu et al., 2015
GM12a	261	1	0,000	0,000	Liu et al., 2015

Ze získaných dat byly vypočteny genetické vzdálenosti mezi genotypy a sestrojen dendrogram pomocí programu Darwin (Perrier a Jacquemoud-Collet, 2006). Věrohodnost byla testovány pomocí vypočtených bootstrapů s počtem znáhodněného výběru 2000. Hodnoty bootstrapů jsou uvedeny u každé větve dendrogramu v procentech (Obrázek 1).
Genotypová diverzita byla počítána pomocí programu TFPGA (Miller, 1997). Míra informativnosti daného polymorfismu byla vypočtena podle vzorce:

$PIC = 1 - \sum p_i^2$,

kde p_i je frekvence i-té alely.

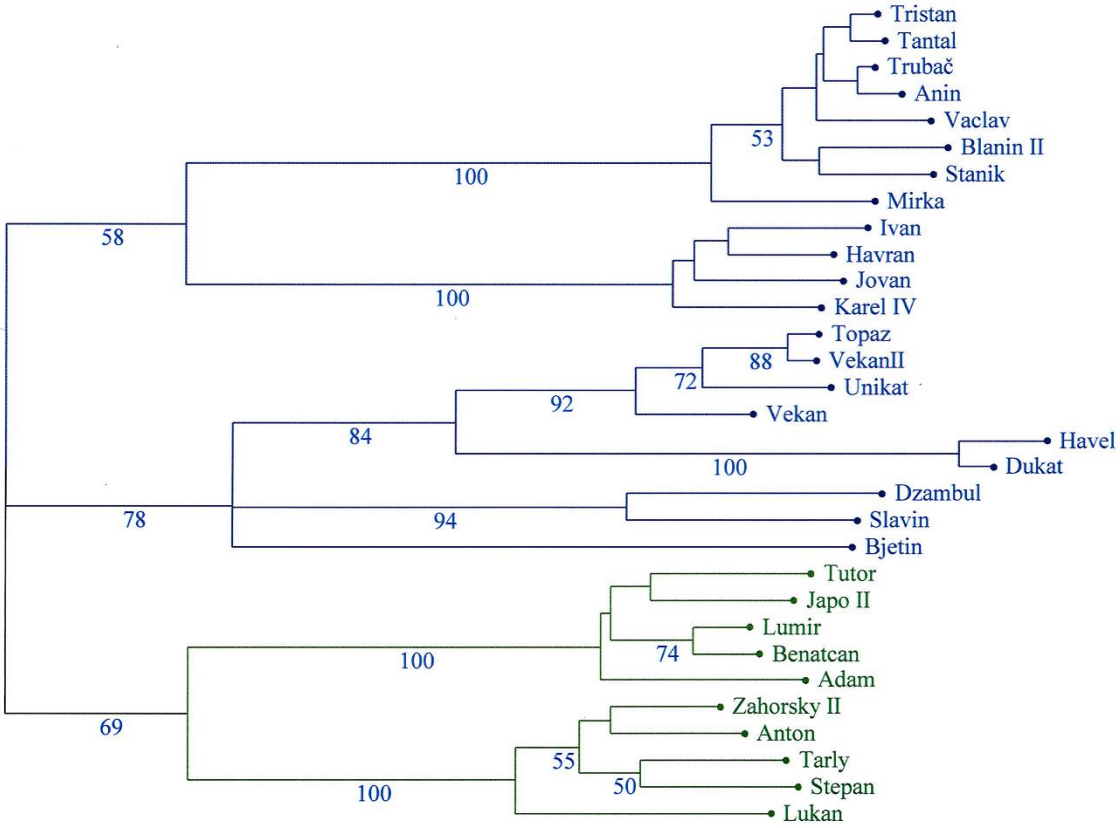
Výsledky a diskuse

Základní předností metody analýzy mikrosatelitů je, že je dobře aplikovatelná pro rutinní využití, je robustní a s vysokou mírou reprodukovatelnosti. Pomocí této metodiky lze rozlišit i velmi příbuzné genotypy v závislosti na počtu použitých lokusů. Zároveň vysoká míra reprodukovatelnosti umožňuje využít tuto metodu pro forenzní účely, v našem případě pro identifikaci a ochranu odrůd česneku (určení pravosti, případně vyloučení pravosti deklarované odrůdy).

Analýzou 28 mikrosatelitních lokusů u 31 vzorků bylo detekováno celkem 117 alel. Nejvyšší variabilitu vykazovaly lokusy ASM53b (9 alel), ASA14 (9 alel) a ASM72b (8 alel). Lokusy GM12a a GM22 byly u studovaného souboru monomorfní. Nejvyšší hodnoty PIC (polymorphism information content) vykazují lokusy ASM53b, ASM40, ASA14, ASM72b, GM15 a ASM59 (Tabulka 2). Na základě hodnoty PIC bylo připraveno několik testovacích souborů: PIC > 0,1; > 0,2; > 0,3; > 0,4; > 0,5, u kterých byly spočteny genetické vzdálenosti a sestrojen dendrogram. Bylo zjištěno, že lokusy s PIC < 0,3 je možno z analýzy vyloučit, aniž dojde ke ztrátě informací. Vyloučením lokusů s PIC < 0,4 už zbylý počet 18 lokusů nebylo schopno rozlišit mezi všemi testovanými odrůdami česneku. Výsledný dendrogram s 20 mikrosatelitními lokusy s PIC > 0,3 je uveden na Obrázku 1. Průměrná hodnota PIC výsledného souboru je 0,63. Tato hodnota je srovnatelná s hodnotou PIC nalezenou u mikrosatelitních lokusů pšenice, která v práci Smithe et al. (1997) činila 0,62.
Shluková analýza identifikovala ve studovaném souboru odrůd česneku s velmi dobrou mírou věrohodnosti 3 skupiny (Obrázek 1). Dvě větve dendrogramu odpovídají skupinám česneku typu paličák. Všechny studované odrůdy česneku typu nepaličák jsou soustředěny do třetího shluku. Odrůdy česneku typu paličák vykazují vyšší míru genetické variability (H = 0,44) než je tomu u odrůd česneku typu nepaličák (H = 0,38). Hodnota F (0,35) je značně vysoká a svědčí o malém genovém toku mezi oběma typy česneku. Tento fakt je podpořen výsledkem testování rozdílnosti obou skupin pomocí exaktního testu diferenciace populací (χ^2 = 317,08, df = 52, p < 0,01). Proč tomu tak je může odhalit až celogenomové sekvenování.
Úskalím metody analýzy mikrosatelitů je, že bez použití standardů alel a referenčních odrůd není možné spolehlivě identifikovat danou odrůdu či detekovat hledanou alelu a porovnávat výsledky analýz prováděných v různou dobu či v různých laboratořích. Toto úskalí lze však snadno překonat zvolením tzv. standardů alel a ty pak analyzovat vždy s danými vzorky. V pilotní studii bylo navrženo 7 standardů alel, které jsou v dalších analýzách standardně používány.
Výsledky analýzy mikrosatelitů ukázaly rovněž na vysokou úroveň genetické variability u současných odrůd česneku, což je značně překvapivé vzhledem k faktu, že se česnek množí pouze klonálně a šlechtění probíhá pouze výběrem z existujících genotypů, převážně krajových odrůd. Tyto genetické zdroje jsou tedy pravděpodobně značně rozdílné, jak naznačují vysoké hodnoty bootstrapů jednotlivých větví dendrogramu. V další práci bude analyzován širší soubor

genetických zdrojů česneku, aby bylo možno získat podrobnější znalosti o míře diverzity odrůd a genetických zdrojů česneku České republice. Získané výsledky, tj. sestavy alel byly vloženy do databáze GRIN Czech k příslušným genotypům. Dosažené výsledky označení rodin odrůd česneku typu paličák jsou shodné s výsledky u týchž odrůd analyzovaných v roce 2014 (Ovesná et al. 2014).

Obrázek 1: – Dendrogram sestrojený na základě matice párových genetických vzdáleností vypočtených z dat analýzy mikrosatelitů
(modře jsou označeny odrůdy typu paličák a zeleně odrůdy typu nepaličák)



Závěr

Metoda analýzy mikrosatelitů se ukázala jako vhodná pro identifikaci odrůd česneku. Soubor 20 vybraných lokusů dokáže rozlišit české odrůdy česneku z listiny povolených odrůd ÚKZÚZ. Výsledky analýzy mikrosatelitů ukázaly rovněž na vysokou úroveň genetické variability u současných odrůd česneku, což je značně překvapivé vzhledem k faktu, že se česnek množí pouze klonálně. Získané výsledky byly vloženy do databáze GRIN Czech.

Literatura

Cunha C.P., Hoogerheide E.S.S., Zucchi M.I., Monteiro M., Pinheiro J.B. (2012): New microsatellite markers for garlic, *Allium sativum* (*Alliaceae*). American Journal of Botany: e17-e19.

de Vienne D., Santoni S. (1998): Les principales sources de marqueur moléculaires. In: de Vienne et al.: Les marqueur moléculaire en génétique et biotechnologies végétales. INRA, Paris, 1998: 15-47.

Goldstein D.B., Schlötterer Ch. (2000): Microsatellites: evolution and application. Oxford university press, New York, US, 2000.

Liu T., Zeng L., Zhu S., Chen X., Tang Q., Mei S., Tabg S. (2015): Large-scale development of expressed sequence teg-derived simple sequence repeat markers by deep transcriptome sequencing in garlic (*Allium sativum* L.). Molecular Breeding 35:204.

Ma K.H., Kwag J.G., Zhao W., Dixit A., Lee G.A., Kim H.H., Chung I.M., Kim N.S., Lee J.s., Ji J.J., Kim T.S., Park Y.J. (2009): Isolation and characteristics of eight novel polymorphic microsatellite loci from the genome of garlic (*Allium sativum* L.). Scientia Horticulturae 122: 355-361.

Nagaoka T., Ogihara Y. (1997): Applicability o inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. Theoretical and Applied Genetics 94: 597-602.

Ondřej M. (1992): Genové inženýrství kulturních rostlin. Academia, Praha 1992.

Ovesná J., Leišová-Svobodová L., Kučera L. (2014): Microsatellite analysis indicates the specific genetic basis of Czech bolting garlic. Czech J.Genet. Plant Breed. 50: 226-234.

Perrier X, Jacquemoud-Collet JP. (2006): DARwin software http://darwin.cirad.fr/darwin.

Russell J., Fuller J., Young G., Thomas B., Taramino G., Macaulay M., Waugh R., Powell W. (1997): Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers. Genome 40: 442-450.

Saghai-Maroof M.A., Soliman K.M., Jorgensen R.A., Allard R.W. (1984): Ribosomal DNA spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location, and population dynamics. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **81**: 8014-8018.

Smith J.S.C., Chin E.C.L., Shu H., Smith O.S., Wall S.J., Senior M.L., Mitchell S.E., Kresovich S., Ziegle J. (1997): An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.) comparisons with data from RFLP and pedigree. Theoretical and Applied Genetics 95: 163-173.

Poděkování

Tento výzkum byl podpořen finančními prostředky projektu NAZV QK1910476. Autoři děkují Haně Udavské za technickou pomoc při molekulárních analýzách.

Kontaktní adresa:

RNDr. Mgr. Leona Leišová-Svobodová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně
702 087 672, leisova@vurv.cz

Hibernace čmeláka zemního (B*ombus terrestris*) v laboratorním chovu

Hibernation of the bumblebee (*Bombus terrestris*) in laboratory breeding

Votavová Alena

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

Abstrakt

Hibernace patří mezi významnou část životního cyklu čmeláků. V přírodních podmínkách může trvat 6-9 měsíců, což může být i více než polovina života čmeláčí matky. V laboratorních podmínkách je hibernace obvykle krácena, kvůli vysoké úmrtnosti po 6. měsíci. Není tak téměř nic známo o úspěšnosti přežívání déle trvající hibernace u čmeláka zemního (*Bombus terrestris*). Zde přinášíme výsledky 2 letého (2018−2020) sledování úspěšnosti přežívání hibernace v laboratorních podmínkách, trvající 4,7−12,5 měsíců. Zatímco po 6,5−7,4 měsících hibernace dosáhlo přežívání ve dvouletém průměru 60 %, po 7,5−8,4 měsících 36 %, po 8,5−9,4 měsících 38 %, po 9,5−10,4 měsících 24 %, po 10,5−11,4 měsících 11 % a po 11,5−12,5 měsících 4,5 %. V roce 2020 pět matek, které přežily hibernaci dlouhou 11,9 měsíců, založilo hnízdo a odchovalo nové matky. Počty mladých matek z těchto hnízd byly 15, 33, 69, 120, 202.

Klíčová slova: Bombus terrestris, hibernace, diapausa

Abstract

Hibernation is an important part of the life cycle of bumblebees. Under natural conditions, it can last 6−9 months, which can be more than half of the life of a queen. Under laboratory conditions, hibernation is usually shortened, due to high mortality after 6 months. Almost nothing is known about the success of surviving longer−lasting hibernation in the bumblebee (*Bombus terrestris*). Here we present the results of a 2−year (2018−2020) monitoring of the success of surviving hibernation in laboratory conditions, lasting 4.7−12.5 months. While after 6.5−7.4 months of hibernation, the two−year average survival reached 60%, after 7.5−8.4 months 36 %, after 8.5−9.4 months 38 %, after 9.5−10.4 months 24%, after 10.5−11.4 months 11 %, and after 11.5−12.5 months 4.5%. In 2020, five queens who survived 11.9 months of hibernation established a nest and raised new queens. The numbers of young queens from these nests were 15, 33, 69, 120, 202.

Keywords: (max 5 slov): Bombus terrestris, hibernation, diapause

Úvod

Čmeláci patří mezi důležité opylovatele mnoha zemědělských a divokých rostlin. Hnízda produkovaná v laboratorním chovu jsou využívána zejména ve sklenících s rajčaty, při šlechtění v izolátorech, pro opylování sadů a plantáží. V evropských podmínkách je laboratorně chován pouze čmelák zemní (*Bombus terrestris*, L.). Jedná se o nejhojnější druh, který je snadno dostupný a výborně snáší laboratorní podmínky (Velthuis & van Doorn, 2006).

Životní cyklus čmeláků začíná ve středoevropských podmínkách probuzením matek ze zimního spánku (hibernace) od počátku března (Macek, 2010). První probuzené matky však byly v ČR pozorovány už v půlce února. Matky hledající místo k založení hnízda lze nalézt až do poloviny května. Jakmile hnízdo vychová dostatek dělnic, začne hnízdo produkovat pohlavní jedince (nové matky a samce). Obvykle k tomu dochází v červenci (Macek, 2010), ale líhnutí pohlavních jedinců může začít už koncem května (u raně založených hnízd nebo u hnízd, kde došlo k narušení přirozeného vývoje např. úhynem matky). Mladé matky si vytvoří tukové zásoby, které jim umožní přežít několik měsíců bez potravy, a opustí hnízdo, aby se spářily. Po

té se ještě do rodného hnízda vrátí, aby si naplnily volátko medem, a následně si vytvoří v zemi úkryt (hibernaculum), ve kterém přečkají do jara.
V literatuře je uváděna obvyklá doba hibernace 6−9 měsíců (Alford, 1969), což odpovídá standardnímu průběhu sezóny s nástupem hibernace v červenci a probuzením koncem března. Avšak u matek, které se vylíhly a spářily koncem května − začátkem června, by doba hibernace mohla být prodloužena na 10−11 měsíců. V dostupných studiích, věnovaných hibernaci čmeláků se obvykle pracuje s krátkou dobou hibernace, nepřesahující 8 měsíců (Bogo, et al. 2017, Vesterlund et al. 2013, Beekman & Stratum, 2000, Beekman et al. 1998 a další).
Bylo zjištěno, že délka hibernace má negativní vliv na přežívání (Gosterit & Gurel, 2009) a že na úspěšnost přežívání má větší vliv hmotnost matky než teplota okolního prostředí (Beekman et al. 1998, Vesterlund et al. 2013). Nepodařilo se mi však najít žádnou studii věnovanou hibernaci delší než 9 měsíců, s výjimkou práce Horbera (1961), kterému se podařilo hibernovat matky čmeláka rokytového (*Bombus hypnorum*) 9 měsíců s úctyhodnou 87% úspěšností přežívání při teplotě 1 °C. Zajímavá je ovšem zmínka, že část matek byla v době ukončení hibernace stará 10,5−11 měsíců, protože po spáření byly na několik týdnů umístěny při teplotě 2−4 °C, než byly hromadně zazimovány při 1 °C. Sám Horber tuto dobu do hibernace nezapočítává, nicméně z dnešního přístupu k hibernaci by se tato doba počítat měla a ve skutečnosti tak dosáhl hibernace delší než 9 měsíců.
V Zemědělském výzkumu, spol. s r.o. v Troubsku se laboratorně chovají čmeláci zemní (*Bombus terrestris*), kteří nejsou šlechtěni. Do chovu jsou pravidelně zařazovány matky odchycené v přírodě, aby byl zajištěn „gene flow“ a nedošlo k ustanovení laboratorní subpopulace. Životní cyklus je nezměněn, ale není závislý na ročním období.
Zde přinášíme výsledky ze sledování úspěšnosti přežívání hibernace v laboratorních podmínkách.

Materiál a metody
Mladé čmeláčí matky byly vybírány z hnízda každý 2. nebo 3. den a ponechány 7 dní ve tmě při teplotě 25 °C v plastovém chovném úlku s cukerným nektarem a pylem. Po té k nim byli přidáni nepříbuzní samci a úlky byly umístěny do místnosti s denním světlem. Jedinci byli každých 15 minut kontrolováni (průměrná doba kopulace u čmeláka zemní je 30 min, viz Röseler, 1973) a kopulující páry byly vyjmuty do krabičky, kde měly k dispozici cukerný sirup. Po ukončení spojení byli samci odebráni a matky byly umístěny do temné místnosti při pokojové teplotě po dobu 4−7 dnů a následně zazimovány. Při zimování byly matky umístěny do kelímku, který byl částečně naplněn vlhkým lignocelem a uzavřen víkem s větracím otvorem. Kelímky byly následně vloženy do větší plastové dózy s víkem a umístěny v běžných lednicích různých značek při kolísavé teplotě 0−8 °C.
Vzhledem k tomu, že sledování nebylo prováděno samostatně, byly matky probouzeny průběžně podle chovných potřeb a délka hibernace byla měřena v počtu dní. Z toho důvodu je nebylo možné rozdělit jednoduše na skupinu hibernující 4, 5, 6 atd. měsíců, ale pro přehlednost byl počet dní hibernace vydělen 30 a délka hibernace byla stanovena intervalem. Nejkratší doba hibernace trvala 4,7 měsíců, nejdéle zimující matka hibernovala 12,5 měsíce.

Při ukončení hibernace byly matky vyjmuty z lednice, byl zhodnocen stav přežívání a následně byly stimulovány ke kladení.
Pokus probíhal v letech 2018−2020.
Celkem bylo do pokusu zařazeno 5637 matek, které byly zimovány v období duben 2018 – listopad 2019 a 5481 matek, které byly zimovány v období květen 2019 − listopad 2020.

Výsledky

Počty hibernovaných matek v jednotlivých měsíčních intervalech, počet živých matek po skončení hibernace a procentuální zastoupení přežívání je uvedeno v Tabulce 1.

Tab. 1. Výsledky úspěšnosti přežívání hibernace. N – počet hibernovaných matek, n − počet živých po ukončení hibernace.

	Ukončení hibernace 2019			Ukončení hibernace 2020		
Délka hibernace (měsíce)	N	živé	n	N	živé	n
4,7−5,4	157	82,8%	130	304	94,4%	287
5,5−6,4	1024	68,4%	700	986	72,7%	717
6,5−7,4	1870	60,4%	1130	1768	58,9%	1025
7,5−8,4	845	34,2%	289	463	37,1%	172
8,5−9,4	557	43,3%	241	554	31,9%	177
9,5−10,4	317	19,6%	62	486	28,0%	136
10,5−11,4	325	9,8%	32	347	11,8%	41
11,5−12,5	542	4,2%	23	573	4,7%	27
suma	5637		2607	5481		2582

V roce 2020 pět z 27 matek, které přežily hibernaci dlouhou 11,9 měsíců, založilo hnízdo a odchovalo nové matky. Počty mladých matek z těchto hnízd byly 15, 33, 69, 120, 202.

Diskuze

Obvyklá doba hibernace čmeláčích matek v přírodě je 6−9 měsíců (Horber, 1961, Alford, 1969), zatímco v laboratorním chovu čmeláků obvyklá doba hibernace nepřesahuje 6 měsíců (Velthuis and van Dorn, 2004), protože po 6 měsících významně klesá úspěšnost přežívání, což potvrzují i naše výsledky. Úspěch Horbera (1961), který hibernoval čmeláka rokytového při teplotě 1 °C s 87% úspěšností, lze považovat za naprosto unikátní. Beekman et al. (1998), kteří se studiu hibernace čmeláka zemního intenzivně věnovali a publikovali na toto téma řadu prací, se ve své studii o testování optimální teploty pro hibernaci k těmto výsledkům ani zdaleka nepřiblížili. Jelikož se jedná o jedinou publikovanou studii úspěšnosti přežívání hibernace v jednotlivých měsících, kde bylo sledováno i období delší než 6 měsíců, tak tyto výsledky uvádíme pro srovnání v Tabulce 2.

Tabulka 2. Výsledky úspěšnosti přežívání hibernace publikované Beekman et al. (1998)

Table 2. Results of the 45 different diapause treatments. M stands for the number of months of exposure. N is the total number of queens per treatment, n is the number of survivors or the number of surviving queens that laid eggs. pp stands for the preoviposition period (number of days between applying honeybee workers and the first eggs laid)

Diapause regime (°C/M)	Without transition period Number of queens					pp: (d)	With transition period Number of queens					pp: (d)
	Total	Survivors		With eggs			Total	Survivors		With eggs		
	(N)	(%)	(n)	(%)	(n)		(N)	(%)	(n)	(%)	(n)	
15/1	49	98	48	25	12	23.5	–					
15/2	64	86	55	40	22	21.8	–					
15/4	44	91	40	73	29	11.1	–					
15/6	38	21	8	38	3	10.3	–					
15/8	39	0	0	–	0	–	–					
10/1	43	98	42	31	13	24.5	41	98	40	20	8	20.2
10/2	47	72	34	47	16	11.4	45	60	27	48	13	26.7
10/4	44	34	15	33	5	14.8	33	0	0	–	0	–
10/6	55	2	1	100	1	9.0	32	0	0	–	0	–
10/8	50	0	0	–	0	–	34	0	0	–	0	–
5/1	51	88	45	18	8	10.3	45	100	45	56	25	12.2
5/2	38	100	38	55	21	12.6	41	98	40	45	18	12.8
5/4	43	79	34	74	25	7.0	42	67	28	54	15	5.8
5/6	45	51	23	48	11	11.0	44	23	10	60	6	2.6
5/8	47	26	12	33	4	9.8	46	24	11	45	5	5.8
0/1	49	88	43	42	18	11.6	51	88	45	53	24	14.6
0/2	39	87	34	65	22	9.0	48	85	41	59	24	13.3
0/4	48	96	46	48	22	9.1	36	92	33	36	12	6.6
0/6	38	3	1	0	0	–	35	6	2	0	0	–
0/8	37	0	0	–	0	–	39	0	0	–	0	–
−5/1	43	72	31	23	7	6.4	50	96	48	54	26	16.5
−5/2	49	90	44	20	9	6.6	43	95	41	68	28	5.3
−5/4	40	78	31	26	8	7.4	56	79	44	61	27	6.7
−5/6	43	0	0	–	0	–	27	0	0	–	0	–
−5/8	58	0	0	–	0	–	37	8	3	67	2	8.5

Nejlepších výsledků po 8 měsících hibernace dosáhli Beekman et al. (1998) při teplotě 5 °C s 26% přežíváním. Oproti této studii jsou naše výsledky přežívání v 7,5−8,4 měsících s průměrem 36 % o něco úspěšnější. Pokles na průměrných 24% přežívání byl naší metodou dosažen až v intervalu 9,5−10,4 měsíce. Nejzajímavější výsledkem však v naší studii bylo téměř 4,5% přežívání u matek vystavených hibernaci trvající déle než 11,5 měsíce s nejdelší zaznamenanou dobou hibernace 12,5 měsíce. Z 27 matek, které přežily takto dlouhou hibernaci v roce 2020, založilo hnízdo s úspěšnou produkcí matek 5 z nich, přičemž jedno hnízdo dokonce vychovalo 202 matek.

Naše pozorování potvrdilo negativní vliv délky hibernace na přežívání, ale zároveň jsme prokázali, že malé procento matek je schopno minimálně v laboratorních podmínkách takto dlouhou hibernaci nejen zvládnout, ale dokonce založit hnízdo s velkou produkcí nových matek.

Závěr

Naše pozorování přináší málo známá data o úspěšnosti přežívání hibernace trvající delší než 6 měsíců v laboratorních podmínkách. Potvrdili jsme negativní vliv délky hibernace na přežívání, ale zároveň jsme prokázali, že matky čmeláka zemního jsou i po téměř 12 měsících hibernace schopny založit hnízdo s velkou produkcí mladých matek.

Použitá literatura

Alford, D. V., 1969. A study of the hibernation of bumblebees (Hymenoptera: Bombidae) in southern England. Journal of Animal Ecology 38: 149–170.

Beekman, M. & Van Stratum P. & Lingeman, R., 1998. Diapause survival and post−diapause performance in bumblebee queens (Bombus terrestris). Entomologia Experimentalis et Applicata. 89. 207−214. 10.1046/j.1570−7458.1998.00401.x.

Beekman, M. & Van Stratum, P., 2000. Does the diapause experience of bumblebee queens Bombus terrestris affect colony characteristics? Ecological Entomology, 25: 1−6. https://doi.org/10.1046/j.1365−2311.2000.00235.x

Bogo, G. & de Manincor, N. & Fisogni, A. & Galloni, M. & Bortolotti, L., 2017. Effects of queen mating status, pre−diapause weight and pupae's sex on colony initiation in small−scale rearing of Bombus terrestris. Apidologie. 48. 10.1007/s13592−017−0529−z.

Gosterit, A. & Gurel, F., 2009. Effect of different diapause regimes on survival and colony development in the bumble bee, Bombus terrestris, Journal of Apicultural Research, 48:4, 279−283, DOI: 10.3896/IBRA.1.48.4.08

Horber, E., 1961. Beitrag zur Domestikation der Hummeln: Untersuchungen über die natürliche Überwinterung, die Lagerung im Kühlschrank und die kontinuierliche Haltung ganzer Völker von Bombus hypnorum L. (Apidae, Hym.) Vierteljahr. Naturforschenden Ges. Zür., 106: 424−447.

Macek, J., 2010. Blanokřídlí České republiky. Praha: Academia, 2010. Atlas. ISBN 978−80−200−1890−8.

Röseler, P.−F., 1973. Die Anzahl der Spermien im Receptaculum seminis von Hummelköniginnen (Hym., Apoidea, Bombinae), Apidologie 4, 267– 274.

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

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

Vesterlund, S.−R. & Lilley, T. & Ooik, T. & Sorvari, J., 2014. The effect of overwintering temperature on the body energy reserves and phenoloxidase activity of bumblebee Bombus lucorum queens. Insectes Sociaux. 61. 10.1007/s00040−014−0351−9.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení projektu DKRVO, číslo MZE−RO1721, financovaného Ministerstvem zemědělství.

Kontaktní adresa:

Mgr. Alena Votavová, Ph.D.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
e-mail: votavova@vupt.cz, tel. 547 138 809

Fyziologické charakteristiky jednotlivých trsů novošlechtění bramboru získané z bezpilotního multispektrálního snímání

Physiological characteristics of individual potato breeding material obtained from unmanned multispectral scanning

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

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
[2]Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

Abstrakt
Vývoj senzorů pro měření spektrální odrazivosti vytvořil příležitost pro kvantitativní vyhodnocení fyziologických parametrů vegetace, jako je množství biomasy, listová plocha, hustota porostu, výživný stav nebo zásobenost vodou a produkce nadzemní biomasy. Z analýzy dat dálkového průzkumu porostu novošlechtění bramboru pomocí multispektrální kamery vyplynulo, že pro zachycení genotypových rozdílů ramší bramboru je nejcitlivějším kritériem integrální hodnota stupňů šedi a to pro studované vegetační indexy Green Normalized Difference Vegetation Index (GNDVI), Normalized Difference Vegetation Index (NDVI), Leaf chlorophyll index (LCI), Normalized difference red edge (NDRE) a pro Optimized soil adjusted vegetation index (OSAVI).
Klíčová slova: suchovzdornost, dálkový průzkum, multispektrální analýza, novošlechtění

Abstract
The development of sensors for measuring spectral reflectance has created an opportunity for quantitative evaluation of physiological parameters of vegetation, such as the amount of biomass, leaf area, stand density, nutritional status or water supply and above-ground biomass production. Analysis of data from remote sensing of new breeding potato canopy using a multispectral camera showed that the most sensitive criterion for capturing genotypic differences in new potato breeding is the integral value of grayscale for the studied indices: Green Normalized Difference Vegetation Index (GNDVI), Normalized Difference Vegetation Index (NDVI) Leaf chlorophyll index (LCI) Normalized difference red edge (NDRE) and Optimized soil adjusted vegetation index (OSAVI).
Key words: drought resistance, remote sensing, hyperspectral analysis, new breeding

Úvod

Využití dálkového průzkumu a zejména pak multispektrální zaznamenávání odrazivosti porostu znamená v posledních letech významný přínos pro pěstební technologie většiny zemědělských plodin. Hospodaření rostlin bramboru s vodou je významným stabilizujícím prvkem v produkci brambor. V polních podmínkách brambor trpí nedostatkem vody a je tímto faktorem prokazatelně snížen výnos a kvalitativní vlastnosti. Jednou z nejefektivnějších cest je použít širokého spektra geneticky založené odolnosti bramboru k suchu (Zámečník et al. 2018, Zámečník 2015). V posledních letech je snaha o zjednodušení výběru novošlechtění bramboru pomocí dálkového průzkumu (Zámečník et al. 2020).
Dostupnost senzorů pro měření spektrální odrazivosti zemědělských porostů vytvořil příležitost pro kvantitativní vyhodnocení fyziologických parametrů vegetace, jako je množství biomasy, listová plocha, hustota porostu, výživný stav, zásobenost vodou a produkce nadzemní biomasy (Luo et al. 2020). Základem pro využití spektrální odrazivosti v dálkovém průzkumu je

absorpce určité části spektra rostlinnými pigmenty, a tím změna odraženého spektra. Z hlediska fyziologie nejdůležitějšími rostlinnými pigmenty jsou chlorofyl a, chlorofyl b. Množství absorbovaného světla těmito pigmenty určuje fotosyntetický potenciál. Fotosyntetický aparát velmi citlivě reaguje na fyziologické změny způsobené nedostatkem vody, výživou dusíkem, poškozením abiotickými a biotickými stresovými faktory a senescencí.
Cílem práce je tvorba systému pro využití spektrální odrazivosti k výpočtu vegetačních indexů, které mají pro šlechtitele praktický význam. Hlavní přínos této studie vychází ze skutečnosti, že při velkém počtu hodnocení jedinců (tisíce) nelze použít jiný způsob hodnocení porostu odhadu produkce nadzemní biomasy, než dálkové snímání spektrální odrazivosti jedinců.

Materiál a Metody

Studovali jsme soubor 1740 novošlechtění bramboru, ramší (kombinace křížení v první polní hlízové generaci) na jednom stanovišti (lokalita U lesíka, Valečov) v jednom pokusném roce představujících genetickou rozmanitost po křížení vybraných rodičů. Snímky byly pořízené z bezpilotního letounu DJI Phanotom 4 Multispectral z výšky 20 a 50 m v pásmech Blue (B): 450 nm ± 16 nm; Green (G): 560 nm ± 16 nm; Red (R): 650 nm ± 16 nm; Red edge (RE): 730 nm ± 16 nm; Near-infrared (NIR): 840 nm ± 26 nm a RGB. Letecká mise byla naprogramována a řízena pomocí programu DJI GS PRO. Samotné snímání bylo realizováno koncem července s dopředným/stranovým překryvem jednotlivých snímků 75/75 % při automatickém nastavení expozice, clony a citlivosti v návaznosti na kompenzační činnost iradiačního senzoru. Ortorektifikace snímku byla provedena programem DJI Terra a Pix4D. Výsledná mozaika byla dále zpracována v programu ImageJ pro dekompozici na jednotlivé multispektrální složky, odstranění pozadí (půdy) tak, aby analýza vegetačních indexů byla provedena výhradně na samotných rostlinách ve vytyčených transektech na jednotlivých pixlech.
Jednotlivé spektrální snímky již lépe charakterizují jednotlivé vegetační indexy, jejich relativní úroveň než jejich reálné hodnoty. Při samotném měření bylo dbáno na to, aby měřený porost byl konstantně ozářen. Při proměnlivých podmínkách ozářenosti porostu nebyla data brána do analýzy. Postup vyhodnocení snímků: Řádky novošlechtěnců bramboru byly proloženy v programu ImageJ přímkou širokou 20 pixelů což reprezentovalo ve skutečnosti 33 cm. Pak byly pro jednotlivé vegetační indexy vyhodnoceny stupně šedi odpovídající hodnotě vegetačnímu indexu. Kalibrace snímacího senzoru multispektrální kamery byla prováděna v automatickém módu programu DJI GS PRO. Tyto hodnoty byly překopírovány do tabulky Excelu. Vznikla tak matice 32 krát 6800 tj. přibližně 217 600 hodnot stupňů šedi. Pomocí Excelové funkce MAX byla zjištěna hodnota šedi ve vybrané části matice odpovídající genotypu bramboru. Hodnota šedi odpovídala definici vegetačnímu indexu ze vztahu jednotlivých vlnových délek. Pomocí funkce četnosti bylo zjištěno pořadí nejvyšších hodnot šedi. Ty byly označeny podle řádku a sloupce.
Charakteristika jednotlivých vegetačních indexů
Green Normalized Difference Vegetation Index (**GNDVI**) je vegetační index pro odhad fotosyntické aktivity a je běžně používaným indexem vegetace k určení příjmu vody a dusíku do nadzemní části rostliny a senescence. Rovnice pro výpočet: GNDVI = (NIR - GREEN)/ (NIR + GREEN) (Gitelson et.al. 1996), kde NIR je v rozsahu 760-900 nm, GREEN je v rozsahu 520-600 nm.
Normalized Difference Vegetation Index (**NDVI**) – vegetační index vodního stresu. identifikuje fotosynteticky aktivní část rostliny a její stav v určité oblasti a dodnes je nejznámějším a velmi často používaným vegetačním indexem. NDVI odráží zavadání rostlin či uvadnutí. Hodnoty vegetačního indexu NDVI se pohybují v intervalu od -1 do +1, při hustém pokryvu vegetací je

většinou mezi 0,3 až 0,8. Rovnice pro výpočet: NDVI=NIR−RED/NIR+RED (Rouse 1973), kde RED je v rozsahu 630-690 nm

Leaf chlorophyll index (**LCI**) - listový chlorofylový index, se používá k výpočtu celkového obsahu chlorofylu v listech. Je citlivý na malé odchylky v obsahu chlorofylu a konzistentní u většiny druhů. Obsah chlorofylu v listech souvisí se suchem, výživou N a napadením jednotlivými škodlivými faktory. Rovnice pro výpočet: LCI= (R850-R710)/(R850+R680) Kaur et. al (2015).

Normalized difference red edge (**NDRE**) - normalizovaný rozdílový index červených okrajů. Snímky získané z více spektrálních obrazových senzorů vypovídají o zdravé vegetaci a o olistěnosti. Je podobný normalizovanému vegetačnímu indexu (NDVI). Jeho běžný rozsah pro zelenou vegetaci je 0,2 až 0,9. Rovnice pro výpočet: NDRE= (NIR − RED)/(NIR + RED) Thompson et al. (2019).

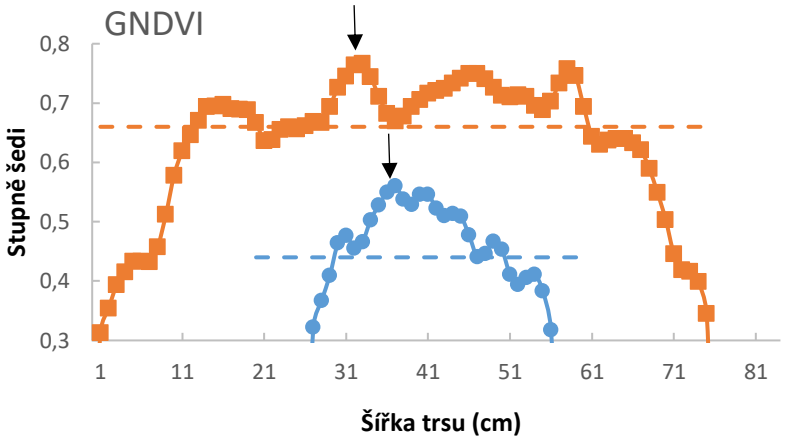
Optimized soil adjusted vegetation index (**OSAVI**) – optimalizovaný vegetační index vegetace očištěný o půdu. Používá standardní hodnotu 0,16 pro faktor nastavení pozadí nadzemní části rostliny. Tento vegetační index se nejlépe používá v oblastech s relativně řídkou vegetací, kde je půda viditelná přes rostlinný pokryv. Rovnice pro výpočet: OSAVI =(NIR-RED)/(NIR+RED+0,16) Rondeaux et al. (1996).

Výsledky a diskuze

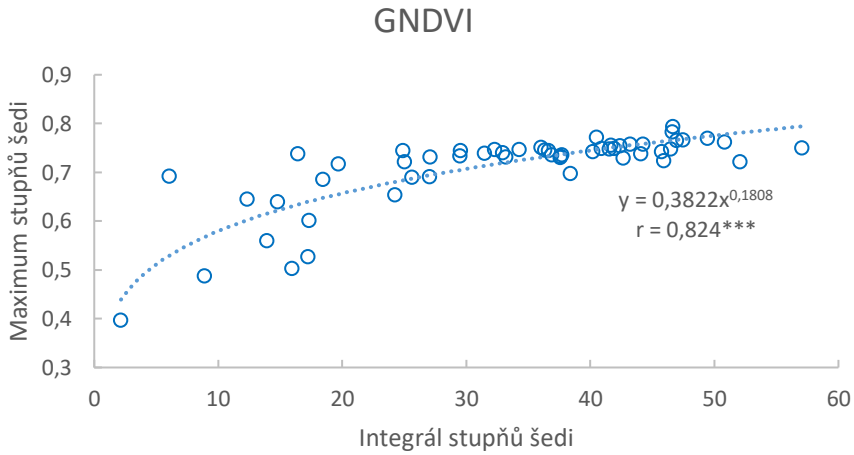
Z výsledků z dálkového snímání multispektrální kamerou (obr. 1) vyplývá, že na příkladu náhodně vybraného velkého a malého trsu maximální hodnoty šedi se liší, stejně tak i u průměrné hodnoty šedi. Na rozdíl od těchto dvou charakteristik, integrální hodnota trsu zohledňuje jak intenzitu stupňů šedi, tak i šíři trsu. V tomto příkladu (obr. 1) je integrální hodnota plochy stupňů šedi pod křivkou. Integrál hodnot stupňů šedi u velkého trsu je 47,5 a malého 13,9 tj. přibližně velký trs má tuto hodnotu 3,5krát větší než malý trs. Tato závislost byla zkoumána u 55 trsů v jedné řadě. Jak plyne z obr. 2. maximum stupňů šedi u jednotlivých trsů koreluje s integrální hodnotou stupňů šedi, ale maximum stupňů šedi je málo citlivé pohybuje se od 0,397 do 0,793 tj. přibližně dvounásobek nejnižší hodnoty vzhledem k nejvyšší hodnotě, ve srovnání s integrální hodnotou stupňů šedi která se pohybuje od 2,15 – 57,04 tj. je 26krát vyšší než nejnižší hodnota.

Podobně tomu je u vztahu mezi průměrem stupňů šedi u jednotlivých trsů v korelaci s integrální hodnotou stupňů šedi (obr. 3). Průměr stupňů šedi u jednotlivých trsů jako kritérium je málo citlivé, pohybuje se od 0,131 do 0,763 tj. přibližně šestinásobek nejnižší hodnoty k nejvyšší, ve srovnání s integrální hodnotou stupňů šedi je opět málo citlivý, když se srovná šestinásobek s 26násobkem.

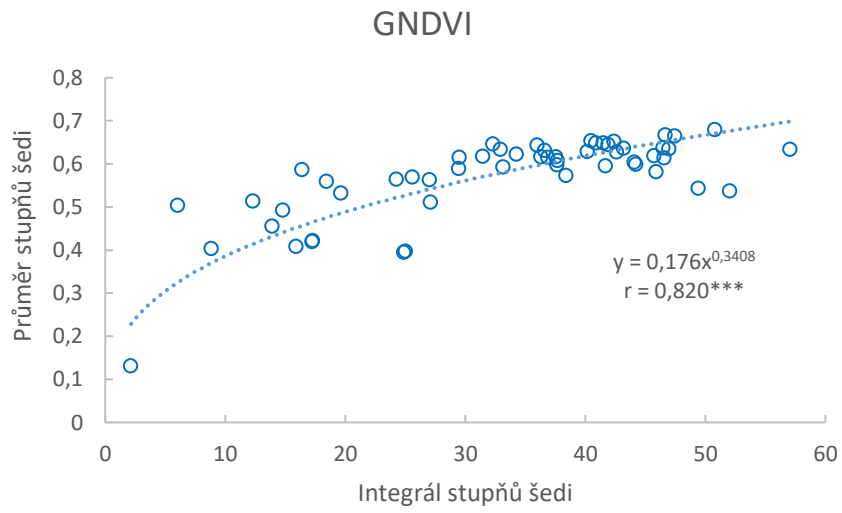
Vztah mezi průměrnou hodnotou stupňů šedi v závislosti na jejím maximu (obr. 4) je velmi těsný a jak z předchozího vyplývá, jsou oba málo citlivé pro hodnocení dálkového snímání porostu bramboru. Podobné výsledky jako s byly získány ještě pro další vegetační indexy NDVI, LCI, ENDRE a OSAVI. Data analýz zbylých vegetačních indexů nejsou zahrnuta do výsledků tohoto sdělení. Na základě měření byly odhaleny trsy brambor s nejvyššími



Obr. 1 Porovnání GNDVI u velkého trsu (červená křivka) a malého trsu (modrá křivka) bramboru. Čárkované přímky vyjadřují průměr hodnot stupňů šedi vegetačního indexu GDNVI trsu. Integrální hodnota je plocha pod křivkami tvořenými jednotlivými hodnotami. Šipky ukazují maximální hodnotu stupňů šedi u trsu. Pod hodnotou 0,3 stupňů šedi je pozadí, povrch půdy, jehož hodnoty nebyly brány do výpočtů.

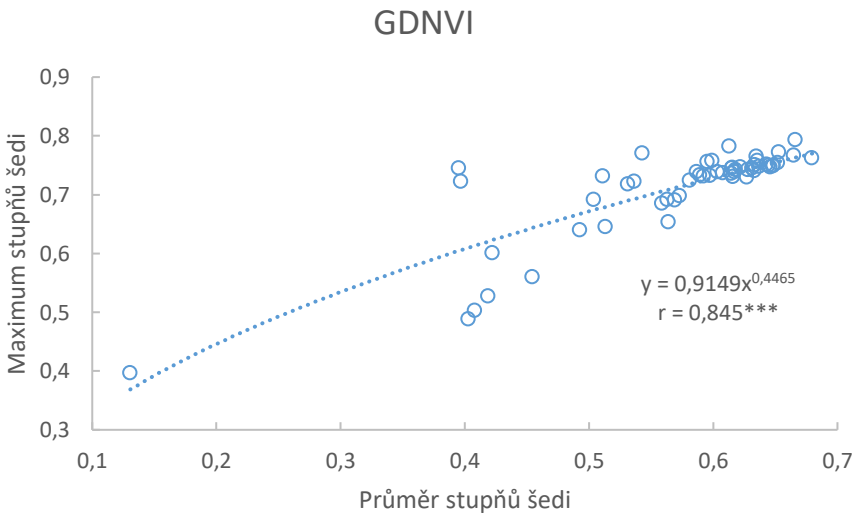


Obr. 2 Porovnání vztahu maximální hodnoty stupňů šedi a integrál stupňů šedi pro jednotlivé trsy. Hodnotami je proložena mocninová funkce. Podle indexu determinace r se jedná o vysoce průkaznou závislost. n=55.



.

Obr. 3 Porovnání vztahu průměru stupňů šedi a integrálu stupňů šedi pro jednotlivé trsy. Hodnotami je proložena mocninová funkce. Podle indexu determinace r se jedná o vysoce průkaznou závislost. n=55



Obr. 4 Porovnání vztahu maximální hodnoty stupňů šedi a průměru stupňů šedi pro jednotlivé trsy. Hodnotami je proložena mocninová funkce. Podle indexu determinace r se jedná o vysoce průkaznou závislost. n=55

hodnotami maxima stupňů šedi u příslušného vegetačního indexu. Žádný vegetační index se nepřekrýval u žádného trsu. Což svědčí o zásadním rozdílu mezi jednotlivými vegetačními indexy.

V případě použití ručních senzorů na určité zájmové ploše při pohybu nad porostem a sběr průměrné hodnoty spektrálních vegetačních indexů (Klem et al. 2014) plyne i velmi malá vypovídací schopnost vzhledem k malé citlivosti průměrných hodnot vegetačních indexů (obr.3). Vyloučení nejvyšších a nejnižších dat z analýzy, stejně tak jako klouzavý průměr nemělo vliv na zlepšení vypovídací hodnoty průměru.

Běžně využívané spektrální vegetační indexy, jako je např. NDVI, jsou proto nedostatečně citlivé ke změnám v rozpětí od středního do vysokého obsahu dusíku. Tento vegetační index je

naopak velmi citlivý ke struktuře porostu (především hustotě, nadzemní biomase a indexu listové plochy LAI), což značně znesnadňuje interpretaci ve vztahu k dusíkaté výživě (Mistele a Schmidhalter 2010).

Závěr

Z analýzy dat dálkového průzkumu porostu bramboru pomocí multispektrální kamery vyplynulo, že pro zachycení genotypových rozdílů ramší bramboru je nejcitlivějším kritériem integrální hodnota stupňů šedi a to pro vegetační index GNDVI. Další analýzou bylo prokázáno v případě dalších vegetačních indexů platnost integrální hodnoty jako vhodného kritéria pro vhodný způsob vyhodnocení spektrálních charakteristik porostu ramší bramboru.

Dedikace

Tato práce vznikla za částečné podpory projektů TAČR TH04030159 a RO0418 a dotačního programu 3.d.1.

Použitá literatura

Gitelson, A.A., Y.J. Kaufman, and M.N. Merzlyak. (1996). Remote Sens. Environ. 58:289–298.

Kaur, R., Singh, B., Singh, M., & Thind, S. K. (2015). Journal of the Indian Society of Remote Sensing, 43(3), 551-558.

Klem,K, Míša,P.,Míša M., Křen J. (2014) Využití měření spektrální odrazivosti a odvozených specializovaných vegetačních indexů v pěstební technologii jarního ječmene (Metodika pro zemědělskou praxi) Certifikováná metodika, Agrotest fyto, s.r.o. ISBN 978-80-87555-12-5

Luo, S., He, Y., Li, Q., Jiao, W., Zhu, Y., Yu, J., ... & Li, C. (2020). Journal of Applied Remote Sensing, 14(1), 014517.

Mistele, B., & Schmidhalter, U. (2010).. Agronomy Journal, 102(2), 499-506.

Rondeaux, G., Steven, M., & Baret, F. (1996). Remote sensing of environment, 55(2), 95-107.

Rouse, J. W., Jr., Haas, R. H., Schell, J. A., 2nd Deering, D.W. (1973), Monitoring vegetation systems in the great plains with ERTS. InThird ERTS symposium, NASA SP-351, U.S.-Govt. Printing Office, Washington, D.C., vol. 1, pp.309–317

Shanahan, J. F., Schepers, J. S., Francis, D. D., Varvel, G. E., Wilhelm, W. W., Tringe, J. M., ... & Major, D. J. (2001). Agronomy Journal, 93(3), 583-589.

Thenkabail, P. S., Smith, R. B., & De Pauw, E. (2000). Remote sensing of Environment, 71(2), 158-182.

Thompson, C. N., Guo, W., Sharma, B., & Ritchie, G. L. (2019). Crop Science, 59(5), 2167-2177.

Zámečník J., Domkářová J. , Lukáš J., Faltus M. , Švecová R. , Ptáček J.(2020) Úroda roč. 68, č. 12, vědecká příloha, 191-194

Zámečník J., Domkářová J., Faltus M., Čepl 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

Kontaktní adresa:

Ing. Jiří Zámečník, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 16106 Praha 6 - Ruzyně
zamecnik@vurv.cz , +420702087666

Uplatnění markery asistované selekce ve šlechtění jabloní

Application of the marker assisted selection in apple breeding

Žďárská I., Rejlová M., Podlipný J., Vávra R., Čmejlová J.

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

Abstrakt

Molekulární markery mají velký potenciál pro zlepšení účinnosti a přesnosti konvenčního šlechtění. Prostřednictvím markery asistované selekce (MAS) je možné vyselektovat jedince obsahující požadované znaky již ve velmi raných vývojových fázích. Podmínkou je existence molekulárních markerů, které jsou ve vazbě s geny kontrolujícími tyto znaky, nebo se nacházejí přímo v těchto genech. Pro účely MAS byla použita velmi rychlá a spolehlivá metoda detekce molekulárních markerů pomocí real-time PCR a alelické diskriminace. Pro analýzy bylo vybráno 18 rodičovských kombinací. Tato křížení byla zaměřena především na tvorbu kvalitních sloupcových odrůd s genem rezistence vůči strupovitosti *Rvi6*, dále na pyramidizaci genů rezistence vůči této chorobě *Rvi4* a *Rvi6* a na získání jedinců s homozygotním genotypem výše uvedených znaků. MAS umožnila odstranit více než polovinu jedinců neperspektivních ve sledovaných znacích již v prvním roce šlechtitelského procesu.

Klíčová slova: strupovitost, rezistence, sloupcový růst, SNP markery

Abstract

Molecular markers have a great potential to improve the efficiency and accuracy of conventional breeding. Through marker-assisted selection (MAS), it is possible to select individuals containing the desired traits already in the very early developmental stages. The precondition is the existence of molecular markers that are linked to genes controlling these traits. For the purposes of the MAS, we used a very fast and reliable method for the detection of molecular markers using real-time PCR and allelic discrimination. 18 parent combinations were selected for analysis. These crosses were focused mainly on the creation of quality columnar cultivars with the *Rvi6* scab resistance gene, as well as on the pyramidization of the *Rvi4* and *Rvi6* scab resistance genes and on the acquisition of individuals with a homozygous genotype above stated traits. The MAS allowed us to select out more than half of the individuals not perspective in the monitored traits already in the first year of the breeding process.

Keywords: scab, resistance, columnar growth, SNP markers

Úvod

Jabloň domácí (*Malus x domestica* Borkh.) je celosvětově jedním z nejpěstovanějších ovocných druhů, pěstované odrůdy se však musí neustále přizpůsobovat nejen poptávce trhu, ale i měnícím se přírodním podmínkám. Šlechtitelé se proto snaží využívat v procesu šlechtění nové techniky, které umožní dosáhnout stejného výsledku šlechtění v podobě hodnotné odrůdy s mnohem nižším objemem vynaložené práce a nákladů než při konvenčním šlechtění. Mezi hlavní šlechtitelské cíle patří zlepšení kvality plodů, zlepšení odolnosti vůči abiotickému a biotickému stresu, dobré pěstitelské vlastnosti aj. Znaky jako rezistence a odolnost vůči chorobám nebo odolnost vůči suchu mohou být pro šlechtitele obtížněji hodnotitelné, znaky jako chuťové vlastnosti, barva plodů nebo skladovatelnost pak lze hodnotit až po několika letech, když se strom dostane do plodné fáze a je možné získat první plody. Díky molekulárním metodám je však možné určit požadovaný znak, pro který je znám jeho genetický základ, případně genetický marker, již ve velmi raných vývojových fázích semenáče. Proto je zařazení MAS (markery asistované selekce) vhodným doplněním klasického šlechtění.

Mezi nejzávažnější chorobu, která u jabloní snižuje produkci komerčně uplatnitelných plodů, patří strupovitost jabloně. Původcem strupovitosti je houbový patogen *Venturia ineaqualis* (Cooke) G. Winter. Pěstování odrůd citlivých vůči tomuto patogenu může vyžadovat i 20-30 fungicidních postřiků produkčních sadů ročně (Manktelow et al. 1996), což je nejen finančně náročné, ale aplikované látky mohou rovněž negativně ovlivnit životní prostředí a lidské zdraví v podobě zůstatkových reziduí v půdě nebo v plodech. Proto se v současné době klade důraz na šlechtění odrůd rezistentních vůči strupovitosti, jejichž pěstování spolu s použitím vhodné agrotechniky umožnuje významné snížení spotřeby fungicidů. Rezistentní odrůdy se vyznačují přítomností tzv. genů rezistence, neboli *Rvi* genů. Bylo jich identifikováno již více než 20 (Bus et al. 2011; Soriano et al. 2014; Patocchi et al., 2020). Většina moderních odrůd jabloní rezistentních vůči strupovitosti nese gen rezistence získaný z genotypu *Malus floribunda* 821. Tento gen rezistence označený jako *Rvi6* (původní označení *Vf*) je však v mnoha regionech Evropy překonáván určitými rasami *V. ineaqualis* (Parisi et al. 2004). Dalšími využívanými geny jsou *Rvi2, Rvi4, Rvi5, Rvi7, Rvi9, Rvi10, Rvi11, Rvi12, Rvi13, Rvi14, Rvi15* (Patocchi et al., 2020). Některé z těchto genů (*Rvi5, Rvi11, Rvi12, Rvi14, Rvi15*) mohou navodit trvalou rezistenci, avšak na různých místech světa byly identifikovány virulentní izoláty patogenu *V. ineaqualis* schopné překonat většinu ostatních genů *Rvi* (Bus et al. 2011; Caffier et al. 2015; Peil et al. 2018; Patocchi et al., 2020). Proto je strategie šlechtění jabloní rezistentních vůči strupovitosti zaměřena na tzv. pyramidizaci (kumulaci) genů rezistence, kdy je rezistence dána dvěma nebo více různými geny. Při tvorbě pyramidální rezistence je téměř nezbytné využití molekulárních markerů, a to z toho důvodu, že je kumulace genů rezistence k jednomu patogenu velmi obtížně určitelná jen na základě fenotypového projevu infekce. Je možné ji hodnotit pouze po řízené inokulaci určitými kmeny patogenu schopnými křížově překonávat jednotlivé geny *Rvi* (Peil et al. 2008).

Další aktuální téma pěstitelů je intenzifikace sadu za účelem zvýšení produkce, s čímž souvisí i zvýšení počtu ovocných stromů při prakticky nezměněné ploše sadů. Pro vysokou produkci plodů na hektar potřebují stromy s obvyklým habitem velmi intenzivní péči, zejména řez, opěrné systémy, pěstování pod závlahou. V šedesátých letech minulého století byla v Kanadě identifikována mutace, která ovlivňuje habitus jabloně a způsobuje sloupcový růst stromu (Fisher, 1970). Později bylo zjištěno, že za projev tohoto znaku je zodpovědná dominantní alela genu 2OG-Fe(II) oxygenázy (Wolters et al., 2013), která byla nazvaná *Co* (z anglického „Columnar“). Sloupcový růst je tedy monogeneticky daný znak, který se projevuje kompaktním růstem s krátkými internodii, omezeným počtem bočních výhonů a bohatým obrostem krátkých plodonošů (Fisher, 1970; Petersen, 2013). Díky tomu je možné sloupcové jabloně v sadu vysazovat velmi hustě, v důsledku čehož se výrazně zvyšují výnosy z osázené plochy. Tento sad vyžaduje minimální řez, není tedy nutné budovat opěrný systém. Sloupcové jabloně zároveň produkují vyšší výtěžky na hektar než standardní jabloně a jsou odolnější i vůči suchu (Petersen, 2013; Lazar, 2015). Vzhledem k tomu, že jsou plody nahloučené v krátké vzdálenosti od kmene, může být v sadech použita mechanizovaná sklizeň, což dále snižuje náklady a pracnost. Tyto jabloně však mají i řadu nevýhod, jako jsou například střídavá plodnost (Blažek, 2011), horší chuťové vlastnosti, krátká skladovatelnost plodů a vysoká citlivost k chorobám (Petersen, 2013). Proto se klade velký důraz na vyšlechtění kvalitních sloupcových odrůd, u kterých je již téměř samozřejmostí introdukovaná rezistence ke strupovitosti.

Předpokladem pro spolehlivé použití MAS je existence validovaných markerů asociovaných s požadovaným znakem. Validovaný marker pro konkrétní znak již může být rutinně implementován do šlechtitelského programu bez nutnosti dalšího testování (Chagné et al. 2019). V současné době jsou nejpoužívanější molekulární markery typu SNP (jednonukleotidové polymorfizmy) a SSR (marker založený na rozdílném počtu opakování

krátké sekvence). Pro detekci těchto markerů se využívá několik různých technologií. Pro SSR markery je využívaná především metoda fragmentační analýzy, ideálně na kapilárním genetickém analyzátoru. Pro markery typu SNP se využívají například sekvenování nebo komerčně dostupné čipy (Jänsch et al. 2015; Chagné et al. 2019). Pro rutinní testování v průběhu MAS, kde se obvykle analyzuje až několik tisíc vzorků, však tyto metody nejsou zcela vhodné, ať již z důvodu pracnosti, či ceny v případě sekvenování, nebo z důvodu náročnosti na vybavení a vyhodnocování v případě technologie čipů. Tato technologie je vhodná především pro analýzu velkého počtu SNP a pro vědecké účely. Velmi zajímavou alternativou pro MAS, ať již z hlediska ceny, pracnosti nebo možnosti analyzovat větší počet vzorků, se proto stává metoda alelické diskriminace, která probíhá při PCR v reálném čase (qPCR). Alelická diskriminace je dobře reprodukovatelná metoda použitelná v každé molekulární laboratoři vybavené v dnešní době běžnými laboratorními přístroji.

Materiál a metody

V roce 2020 bylo provedeno křížení a pro analýzy MAS bylo vybráno 18 rodičovských kombinací. Vybraná křížení byla zaměřena především na tvorbu kvalitních sloupcových odrůd s genem rezistence *Rvi6*, dále na pyramidizaci genů rezistence *Rvi4* a *Rvi6* a na získání jedinců s homozygotním genotypem pro geny *Rvi6* a *Co*. Jako rodičovské komponenty byly použity i) sloupcové odrůdy, přičemž většina z nich nese i rezistenci *Rvi6*: HL1, HL17, HL191, HL445, HL648, ‘Herald’, ‘Redlane’, ‘Suncats’; ii) odrůdy, které jsou nositeli rezistence *Rvi6*: ‘Admirál’, ‘Frosta’, ‘Karneval’, ‘Reluga’, ‘Reglindis’; iii) odrůdy, které jsou nositeli rezistence *Rvi4*: ‘Realka’ iv) odrůdy, které nenesou žádný s uvedených znaků, ale mají jiné kvalitativní vlastnosti a jsou využívány ve šlechtění: ‘Fugi Kiku’, ‘Fugi Kiku Nagafu’, ‘Galaval’, HL1108, ‘Evelína’, ‘Jazz’ (tabulka 1). Všechna křížení byla prováděna přímo v sadu, opylené květy byly řádně zaizolovány, aby se zabránilo opylení cizím pylem. Plody vzniklé řízeným opylením byly po dozrání sesbírány a získaná semena byla stratifikována po dobu osmi týdnů při 5 °C, poté byla od začátku února postupně vysévána ve skleníku do sadbovačů. Z těchto křížení bylo v roce 2021 získáno 631 semenáčů (tabulka 1). Odběry pro MAS probíhaly již od fáze 2 – 4 pravých listů v průběhu dubna a května.

Tabulka 1: Přehled křížení a sledovaných znaků

Matka	Otec	Počet semenáčů	Sledovaný znak
HL1	HL648	66	*Co* homozygot, *Rvi6*
HL17	‘Redlane’	45	*Co* homozygot, *Rvi6*
HL17	‘Herald’	15	*Co* homozygot, *Rvi6*
‘Suncats’	HL648	17	*Co* homozygot, *Rvi6*
‘Fuji Kiku’	HL191	12	*Co, Rvi6*
‘Fuji Kiku’	‘Suncats’	3	*Co, Rvi6*
‘Fuji Kiku Nagafu’	HL191	10	*Co, Rvi6*
‘Galaval’	HL445	16	*Co, Rvi6*
HL1108	HL191	57	*Co, Rvi6*
HL1108	‘Herald’	89	*Co, Rvi6*
HL17	‘Karneval’	18	*Co, Rvi6*
‘Frosta’	‘Karneval’	30	*Rvi6* homozygot
‘Reglindis’	‘Admirál’	17	*Rvi6* homozygot
‘Reluga’	‘Karneval’	14	*Rvi6* homozygot
‘Reluga’	‘Admirál’	13	*Rvi6* homozygot
‘Jazz’	‘Story Inored’	91	*Rvi6*
‘Realka’	‘Karneval’	74	*Rvi4, Rvi6*
‘Realka’	‘Evelína’	44	*Rvi4*

Pro detekci lokusu *Rvi4* byl použit validovaný SNP marker K146 nacházející se v oblasti FBsnRvi4-1, u kterého nukleotid T určuje rezistentní alelu a nukleotid G senzitivní alelu. Pro lokus *Rvi6* byl použit validovaný SNP marker R156 nacházející se v oblasti M8S, u kterého nukleotid A určuje rezistentní alelu a nukleotid G senzitivní alelu (Jänsch et al. 2015; Chagné et al. 2019). Byly použity specifické primery a sondy rozlišující senzitivní (Sens) a rezistentní (Res) alelu genů rezistence *Rvi4* a *Rvi6* (Žďárská et al., publikace v přípravě). Pro detekci lokusu sloupcového růstu byly použity specifické primery a sondy schopné odlišit mutovanou sloupcovou alelu – *Co* a alelu divokého typu – WT (Čmejlová et al., 2020). DNA byla extrahována z listů pomocí kitu QuickExtract^{TM} Plant DNA Extraction Solution (Biosearch Technologies). Připravená DNA byla použita jako templát pro real-time PCR reakci. PCR amplifikace probíhala v Rotor-Gene Q (Qiagen) real-time PCR cykleru s následujícím teplotním profilem: úvodní denaturace 94 °C/5 minut; amplifikace v 50 cyklech: 94 °C/20 s, 58 °C/20 s, 72 °C/30 s. Výsledky byly vyhodnoceny metodou alelické diskriminace. Sekvenace pro ověření funkčnosti systému MAS byla provedena pomocí sekvenačního kitu Gerbera Sequencing Kit v3.1 (SEQme). Následná purifikace sekvenační reakce byla provedena kitem BigDye XTerminator Purification (Thermo Fisher Scientific).

Výsledky a diskuze

Ze všech 631 semenáčů byla extrahována DNA a byla provedena MAS (tabulky 2a-d).

U celkem 348 semenáčů, které vznikly z křížení sloupcových odrůd, byla nejdříve vyhodnocena přítomnost alely *Co* pro sloupcový růst. Pouze u vzorků, které obsahovaly alelu *Co*, byla následně provedena další analýza pro detekci alel genu rezistence *Rvi6* (tabulka 2a). Pomocí molekulárních analýz jsme u sloupcových křížení identifikovali 60 semenáčů s jednou *Co* alelou pro sloupcový růst, které zároveň nesou rezistentní alelu pro gen *Rvi6*. U dalších 14 semenáčů jsme detekovali genotyp s homozygotní sestavou *Co* alel a u sedmi z těchto čtrnácti vzorků byla navíc přítomna i rezistentní alela genu *Rvi6*.

Hodnocení semenáčů z hlediska rezistence dané pouze genem *Rvi6* je shrnuto v tabulce 2b. U křížení zaměřených na získání homozygotních rezistentů u genu *Rvi6* jsme homozygotní sestavu rezistentních alel objevili pouze ve třech vzorcích ze 74 analyzovaných a 33 vzorků mělo sestavu alel heterozygotní, zbytek genotypů (38) byl senzitivní. Tento nepoměr v segregaci a obtížná tvorba rezistentních homozygotů jsou zřejmě způsobeny přítomností třech subletálních genů (*sl1, sl2* a *sl3*) ze kterých dva, a to *sl1* a *sl2,* jsou v těsné vazbě s genem rezistence *Rvi6* (Gao a van de Weg, 2006). U křížení 'Jazz' x 'Story Inored' byla hodnocena pouze přítomnost či absence rezistentní alely genu *Rvi6*, přičemž genotyp Res/Sens byl detekován u 42 vzorků a genotyp Sens/Sens u 49 vzorků z celkem 91 analyzovaných vzorků.

U křížení zaměřeného na pyramidizaci genů rezistence *Rvi4* a *Rvi6* jsme u 74 semenáčků detekovali devět genotypů, které nesly rezistentní alelu genu *Rvi4* a zároveň rezistentní alelu genu *Rvi6,* 35 genotypů neslo rezistentní alelu jen u genu *Rvi4* a 7 genotypů neslo rezistentní alelu jen u genu *Rvi6* (tabulka 2c).

U křížení 'Realka' x 'Evelína' s 44 potomky byla hodnocena pouze přítomnost či absence rezistentní alely genu *Rvi4*, přičemž genotyp Res/Sens byl detekován u 21 vzorků a genotyp Sens/Sens u 23 vzorků (tabulka 2d).

Tabulky 2a-d: Výsledky MAS pro genotypy jednotlivých sledovaných znaků a jejich alelické složení: a) počty semenáčů, u kterých se sledoval sloupcový růst s rezistencí *Rvi6*; b) počty semenáčů, u kterých byla analyzována pouze rezistence *Rvi6*; c) počty semenáčů, u kterých byla vyhledávána rezistence *Rvi4* a kumulace rezistence *Rvi4* a *Rvi6*; d) počty

semenáčů, u kterých byla testována pouze rezistence *Rvi4*. Znak - v tabulce znamená, že daná alelická sestava tímto křížením vůbec nevzniká.

a)

Křížení	*Co*/WT + Res/Sens (*Rvi6*)	*Co*/WT + Sens/Sens (*Rvi6*)	*Co*/*Co* + Res/Sens (*Rvi6*)	*Co*/*Co* + Sens/Sens (*Rvi6*)	WT/WT
HL1 x HL648	8	17	0	0	41
HL17 x 'Redlane'	8	15	5	6	11
HL17 x 'Herald'	5	3	2	1	4
'Suncats' x HL648	4	9	0	0	4
'Fuji Kiku' x HL191	1	0	-	-	11
'Fuji Kiku' x 'Suncats'	0	0	-	-	3
'Fuji Kiku Nagafu' x HL191	0	1	-	-	9
'Galaval' x HL445	1	6	-	-	9
HL1108 x HL191	13	6	-	-	38
HL1108 x 'Herald'	16	21	-	-	52
HL17 x 'Karneval'	4	7	-	-	7

b)

Křížení	Res/Sens (*Rvi6*)	Sens/Sens (*Rvi6*)	Res/Res (*Rvi6*)
'Frosta' x 'Karneval'	17	10	3
'Reglindis' x 'Admirál'	8	9	0
'Reluga' x 'Karneval'	3	11	0
'Reluga' x 'Admirál'	5	8	0
'Jazz' x 'Story Inored'	42	49	-

c)

Křížení	Res/Sens (*Rvi4*)	Sens/Sens (*Rvi4*)	Res/Sens (*Rvi4*) + Res/Sens (*Rvi6*)	Res/Sens (*Rvi4*) + Sens/Sens (*Rvi6*)	Sens/Sens (*Rvi4*) + Res/Sens (*Rvi6*)	Sens/Sens (*Rvi4*) + Sens/Sens (*Rvi6*)
'Realka' x 'Karneval'	-	-	9	35	7	23

d)

Křížení	Res/Sens (*Rvi4*)	Sens/Sens (*Rvi4*)
'Realka' x 'Evelína'	21	23

Funkčnost celého systému MAS, který sestává z extrakce DNA pomocí kitu QuickExtract™, následné real-time PCR amplifikace za použití specifických primerů a sond a vyhodnocení metodou alelické diskriminace, byla ověřena sekvenací. Bylo testováno, zda skutečně tento systém rozpoznává validované SNP pro geny rezistence *Rvi4* a *Rvi6* a výsledky alelické diskriminace odpovídají určenému genotypu. U 40 vzorků byla osekvenována oblast obsahující determinační SNP R156 pro gen rezistence *Rvi6* a u 8 vzorků byla osekvenována oblast obsahující determinační SNP K146 pro gen rezistence *Rvi4*. Vzorkům, u kterých byl pomocí alelické diskriminace identifikován genotyp Res/Sens, odpovídal při sekvenování ve všech případech genotyp A/G pro SNP R156, tj. semenáče nesly skutečně senzitivní i rezistentní alelu *Rvi6*, respektive G/T pro SNP K146, což odpovídá senzitivní i rezistentní alele *Rvi4*. Genotypu Sens/Sens obou typů rezistencí bez výjimky odpovídal genotyp G/G pro SNP R156 patřící senzitivní alele *Rvi6*, respektive genotyp G/G pro SNP K146 značící senzitivní alelu *Rvi4*. Byly osekvenovány i dva vzorky s homozygotní sestavou alel Res/Res u genu rezistence *Rvi6*, rovněž v tomto případě oba vzorky vykazovaly rezistentní genotyp A/A pro SNP R156.

Závěr

Pro potřeby MAS byla zavedena a optimalizována velmi rychlá metoda odběru a analýzy velkého počtu vzorků potomstva vzniklého řízeným křížením. Pomocí MAS je možné

selektovat vzniklé semenáče již ve velmi rané fázi vývoje, což přináší nemalé finanční úspory díky úspoře práce, materiálu i prostor nezbytných pro jejich pěstování. MAS nám umožnilo již krátce po vyklíčení odstranit více než polovinu, a sice 322 semenáčů neperspektivních ve sledovaných znacích, a do dalšího pěstování zařadit jen vybrané hybridní semenáče rezistentní vůči strupovitosti či mající sloupcový růst. Díky MAS bylo rovněž možné identifikovat semenáče s kumulací různých požadovaných genů. Použitý systém selekce zároveň umožňuje rozlišení heterozygotů od homozygotů nesoucích pouze rezistentní alely genu *Rvi4* nebo genu *Rvi6*, případně pouze alely pro sloupcový růst. Tyto homozygotní genotypy jsou velmi cenným šlechtitelským materiálem, protože budou v dalším křížení teoreticky poskytovat pouze jedince nesoucí vždy alespoň jednu rezistentní alelu, eventuálně alelu pro sloupcový růst. Vzhledem k nízké pravděpodobnosti nežádoucího vyrekombinování sledovaného znaku z potomka tedy nebude nutné tyto semenáče testovat a všechny budou nositeli požadovaného genu, což přinese další úspory při šlechtění. Případné ověření bude stačit provést až u jedinců vybraných pro další šlechtitelský program, nebo před jejich registrací coby nové odrůdy.

Poděkování

Tato práce vznikla za podpory Ministerstva zemědělství České republiky z institucionální podpory DKRVO pod číslem RO1521.

Literatura

Blažek, J., Křelinová, J. 2011. Tree growth and some other characteristics of new columnar apple cultivars bred in Holovousy, Czech Republic. Hort. Sci. (Prague) 38: 11-20.

Bus, V. G. M., Rikkerink, E. H. A., Caffier, V. *et al.* 2011. Revision of the nomenclature of the differential host-pathogen interactions of Venturia inaequalis and Malus. Annu. Rev. Phytopathol. 49: 391-413.

Caffier, V., Patocchi, A., Expert, P. *et al.* 2015. Virulence characterization of *Venturia inaequalis* reference isolates on the differential set of Malus hosts. Plant Dis. 99: 370-375.

Čmejlová, J., Vávra, R., Čmejla, R. 2020. A rapid real-time PCR assay for detecting columnar growth in apples (*Malus* × *domestica*). Plant Breed. 139(6): 1244-1250.

Fisher, D. V. 1970. Spur strains of McIntosh discovered in British Colombia. Journal of the American Pomological Society 24: 27–32.

Gao, Z. S., van de Weg, W. E. 2006. The *Vf* gene for scab resistance in apple is linked to sub-lethal genes. Euphytica 151: 123-132.

Chagné, D., Vanderzande, S., Kirk, C., *et al.* 2019. Validation of SNP markers for fruit quality and disease resistance loci in apple (*Malus* × *domestica* Borkh.) using the OpenArray® platform. Hortic. Res. 6(1): 1-16.

Jänsch, M., Broggini, G. A. L., Weger, J. *et al.* 2015. Identification of SNPs linked to eight apple disease resistance loci. Mol. Breeding 35: 1-21.

Lazăr, A.M., Baciu, A. A. 2015. Growth and fructification characteristic at apple hybrids with columnar port, resulted from various combinations and mutations, as compared to standard descendants. Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology 19: 71-76.

Manktelow, D. W. L., Beresford, R. M., Batchelor, T. A., Walker, J. T. S. 1996. Use patterns and economics of fungicides for disease control in New Zealand apples. Acta Hortic. 422: 187-192.

Parisi, L., Fouillet, V., Schouten, H. J. *et al.* 2004. Variability of the pathogenicity of Venturia inaequalis in Europe. Acta Hortic. 663: 107-529 113.

Patocchi A., Wehrli A., Dubuis P. H. *et al.* 2020. Ten Years of VINQUEST: First Insight for Breeding New Apple Cultivars with Durable Apple Scab Resistance. Plant Dis. 104(8): 2074-2081.

Peil, A., Dunemann, F., Richter, K. *et al.* 2008. Resistance breeding in apple at Dresden-Pillnitz. In: Boos M (ed) Ecofruit. Proceedings of 13th international conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing, Weinsberg, Germany, 18–20 Feb 2008, s. 220–225.

Peil, A., Patocchi, A., Hanke, M.-V., Bus, V. G. M. 2018. Apple cultivar Regia possessing both *Rvi2* and Rvi4 resistance genes is the source of a new race of Venturia inaequalis. European Journal of Plant Pathol. 151: 533-539.

Petersen, R., Krost, C. 2013. Tracing a key player in the regulation of plant architecture: the columnar growth habit of apple trees (Malus × domestica). Planta 238: 1–22.

Soriano, J., Madduri, M., Schaart, J. *et al.* 2014. Fine mapping of the gene Rvi18 (V25) for broad-spectrum resistance to apple scab, and development of a linked SSR marker suitable for marker-assisted breeding. Mol. Breeding 34: 2021-2032.

Wolters, P. J., Schouten, H. J., Velasco, R. *et al.* 2013. Evidence for regulation of columnar habit in apple by a putative 2OG-Fe(II) oxygenase. New phytol. 200: 993-999.

Kontaktní adresda:

Ing. Ivona Žďárská
Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o
Holovousy 129
508 01 Holovousy
+420 737 991 353, zdarska@vsuo.cz

Dormance a klíčivost semen rostlin z čeledi fabaceae

Dormancy and germination of fabaceae seeds

Kopecký P.[1,2], Frei I.[3], Brus J.[2], Balarynová J.[2], Smýkal P.[2]

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Olomouc
[2]Univerzita Palackého v Olomouci
[3]Zemědělský výzkum, spol. s r. o. Troubsko

Abstrakt
U celkem 69 položek vzorků 19 rostlinných druhů z čeledi bobovité (Fabaceae) získaných sběrem na území Moravy z míst reprezentujících variabilitu prostředí byla hodnocena dormance, resp. míra bobtnání, a klíčení při teplotách: 5, 10 a 23 °C. Po 119 dnech se procento nabobtnaných semen pohybovalo v rozpětí od 0 (*Astragalus cicer*) do 98 (*Lotus corniculatus*), klíčivost pak od 0 (*Astragalus glycyphyllos*) do 88 % (*Vicia hirsuta*). Ukázalo se, že u největšího počtu semen byla dormance ukončena při 5 °C (průměrná hodnota bobtnání byla 23,17 %, průměrná klíčivost 17,1 %), naopak nejmenší průměrná hodnota bobtnání (15,67 %) a klíčení (10,57 %) byla při teplotě 23 °C. Dále bylo zjištěno, že největší vliv prostředí na dormanci semen v místě jejího výskytu má průměrná teplota v nejsušším čtvrtletí (BIO 9). Z morfologických charakteristik pak jejich délka a poměr délky k šířce.
Klíčová slova: bobtnání, dormance, Fabaceae, klíčivost, prostředí, semena, teplota

Abstract
In total, 69 accessions of 19 plant species from Fabaceae family collected in Moravia region representing environmental variability were tested for imbibition and dormancy under controlled conditions in three different temperature regimes (5, 10 a 23 °C). Imbibition rate varied from 0 (*Astragalus cicer*) to 98 % (*Lotus corniculatus*) and germination rate 0 (*Astragalus glycyphyllos*) to 88 % (*Vicia hirsuta*) after 119 days. Dormancy breaking was the highest at 5 °C (imbibition rate 23.17 %, germination rate 17.1 %), on the other hand the lowest were at 23 °C (imbibition rate 15.67 %, germination rate 10.57 %). Environmental factor of plants influencing its seed imbibition and dormancy is mean temperature of driest quarter (BIO 9), morphometrical length of the seed and also length to width ratio.
Keywords: imbibition, dormancy, Fabaceae, germination, environment, seeds, temperature

Úvod

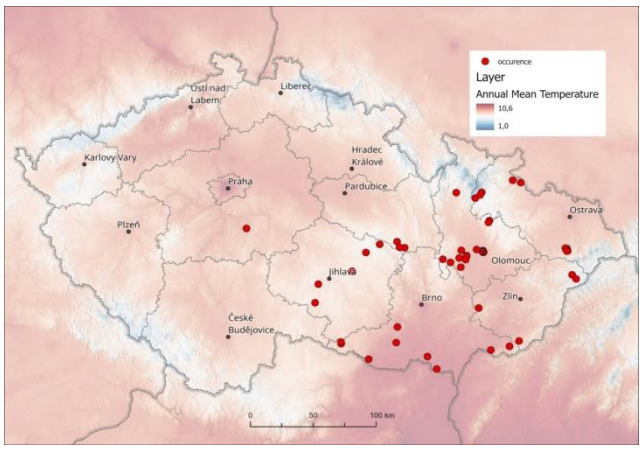
Mnoho zralých semen je dormantních a různými mechanismy oddaluje klíčení (Baskin a Baskin, 1989). Dormance semen je neschopnost klíčit ve specifickém časovém období při jakékoliv kombinaci různých fyzikálních faktorů prostředí (teplota, světlo/tma, atd.), které jsou jinak pro klíčení příznivé. Na základě fylogenetického, evolučního, biogeografického hlediska a také na základě propustnosti vody osemením (propustné nebo nepropustné), morfologie embrya (plně vyvinuté nebo nevyvinuté) a fyziologické odpovědi celého semena k teplotě nebo sérii teplot rozlišujeme fyziologickou, morfologickou, morfofyziologickou, fyzikální a kombinovanou (fyzikální + fyziologickou) dormanci semen (Baskin a Baskin, 2004). Fyzikální dormance, typická pro čeleď bobovité (Fabaceae), je způsobená jednou nebo více vodě nepropustnými vrstvami palisádově uspořádaných makrosklereid v osemení (Baskin et al., 2000, Smýkal et al. 2014). Nejčastěji dochází k ukončení této dormance pomocí narušení struktury osemení, kudy se dostává voda k embryu (Baskin et al., 2000). Mechanická nebo chemická skarifikace napomáhá ukončení fyzikální dormance a následnému klíčení u semen,

která nemají fyzikální dormanci kombinovanou s fyziologickou dormancí. Mechanismy podílející se na ukončení fyzikální dormance v přírodních podmínkách nejsou zcela známy, předpokládá se kombinace vlivu teplot, vlhkosti půdy, ale i vliv mikrobiální.
Zda je semeno dormantní nebo ne se liší nejen mezi rostlinnými druhy, ale také mezi jedinci stejného druhu, tzn. ve vzorku semen daného druhu se vyskytují semena s různou mírou dormance (Baskin a Baskin, 2004). Čeleď bobovité (Fabaceae) je charakteristická tím, že většina semen je pro vodu nepropustná (fyzikálně dormantní).
Cílem této práce bylo zjistit, jak je míra dormance semen vybraných druhů z čeledi bobovité (Fabaceae) ovlivněna podmínkami prostředí, ze kterého pocházejí, a to prostřednictvím testování vlivu různé teploty na bobtnání a klíčení jejich semen.

Materiál a Metody

Rostlinný materiál

Pro studium dormance a klíčení bylo sběrem nebo z genových bank získáno 250 planých položek z čeledi bobovité (Fabaceae) včetně pasportních údajů a GPS souřadnic sběru. V experimentu bylo využito 69 položek, u kterých bylo získáno dostatečné množství semen. Jedná se o položky získané sběrem, především na území Moravy (obr. 1) z míst reprezentujících variabilitu prostředí, kdy průměrná roční teplota lokalit sběru semen se pohybovala od 5,2 po 9,6 °C, průměrné roční srážky od 506 po 957 mm a nadmořská výška od 210 do 833 m n. m.



Obrázek 10: Lokality sběru vzorků semen rostlin z čeledi Fabaceae

Studováno bylo následujících 19 rostlinných druhů: *Astragalus cicer* L. (3 položky), *Astragalus glycyphyllos* L. (5 položek), *Lathyrus latifolius* L. (2 položky), *Lathyrus pratensis* L. (14 položek), *Lathyrus sylvestris* L. (1 položky), *Lathyrus tuberosus* L. (4 položky), *Lotus corniculatus* L. (2 položky), *Medicago lupulina* L. (4 položky), *Medicago minima* L. (3 položky), *Ononis spinosa* L. (1 položka), *Trifolium retusum* L. (3 položky), *Trifolium striatum* L. (1 položky), *Vicia angustifolia* L. (1 položka), *Vicia cracca* L. (16 položek), *Vicia hirsuta* L. (3 položky), *Vicia lathyroides* L. (1 položka), *Vicia sepium* L. (1 položka), *Vicia striata* M. Bieb. (1 položka), *Vicia tetrasperma* (L.) Schreb. (3 položky).
Sklizené zralé lusky byly vloženy do papírových sáčků a následně vysoušené při pokojové teplotě (22–24 °C) a 30% vzdušné vlhkosti. Semena poté byla manuálně vyčištěná (Hradilová et al., 2017). Testy klíčivosti byly provedené do dvou měsíců od sběru.

Testy klíčivosti

Zralá a suchá semena byla položena na vlhký filtrační papír (Whatman Grade 1, Sigma CZ) v 90 mm Petriho miskách (P-Lab, Česko). 25 semen od každé položky bylo v duplikátu testováno ve tmě v kontrolovaných podmínkách inkubátorů (Laboratory Incubator ST4, BioTech CZ) ve třech různých konstantních teplotních režimech (5 °C, 10 °C a 23 °C). Pro prevenci výskytu houbových chorob bylo aplikováno 25 g/l fludioxonilu a 10 g/l metalaxylu-M (Syngenta, Česko). Bobtnání (zvětšení objemu semene po příjmu vody) a klíčení semen (proniknutí klíčku osemením) bylo hodnoceno každý týden po dobu 119 dní. Voda byla doplňovaná dle potřeby přibližně každých 14 dní.

Hodnocení klimatických podmínek prostředí

Podmínky prostředí, ze kterého byla semena sklizená, byly získány z WorldClima databáze (http://worldclim.org/version2) pomocí ArcGIS Pro software (https://pro.arcgis.com). Bioklimatické proměnné byly odvozené od měsíčních hodnot teploty a srážek (Fick a Hijmans, 2017) reprezentující roční trendy (průměrná roční teplota BIO1, roční srážky BIO12), sezonalitu (např. roční rozmezí teplot a srážek BIO4 a BIO15) a také extrémní a limitující faktory prostředí (např. teplota nejchladnějšího a nejteplejšího měsíce BIO5 a BIO6 nebo množství srážek vlhkého a suchého čtvrtletí BIO16 a BIO17; Hradilová et al., 2017).

Hodnocení velikosti semen

Všechna semena byla zvážena, pomocí počítačky semen (Contador, Německo) spočítána a následně stanovena hmotnost tisíce semen (HTS). Dále bylo 10 semen každé položky vyfotografováno za použití stereomikroskopu Olympus SZ61 (Olympus Corp., Tokyo, Japansko) vybaveného digitálním fotoaparátem Canon EOS 1300D (Canon Inc., Thajsko). Obrazovou analýzou SmartGrain (Tanabata et al., 2012) byly stanovené rozměry semen (plocha (AS), obvod (PL), šířka (W), délka (L), poměr délky k šířce (LWR), cirkularita (CS) a vzdálenost průsečíku délky se šířkou od těžiště (DS)).

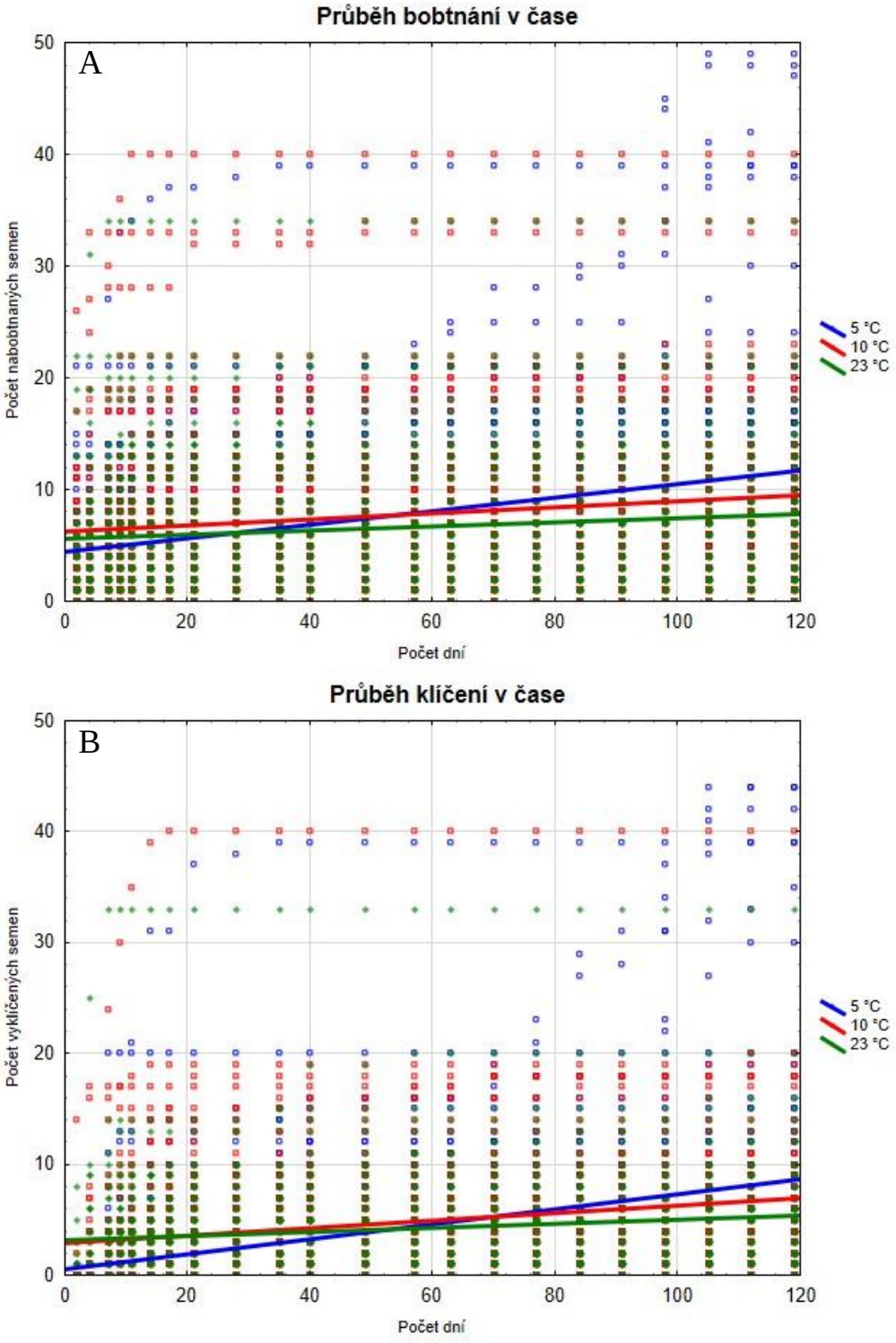
Statistické vyhodnocení

Pro hodnocení počtu nabobtnaných a vyklíčených semen byl použit zobecněný lineární model (GLM) s 19 bioklimatickými daty a 9 morfometrickými parametry semen jako nezávislými (vysvětlujícími) proměnnými pro vyhodnocení vlivu použité teploty při klíčení a bobtnání (jako závislé proměnné). Data byla zpracována v programu CANOCO 5.0. Vzájemná korelace mezi počtem nabobtnaných a vyklíčených semen k bioklimatickým datům a morfometrii semen byla posouzena Monte Carlo permutačním testem a Waldovým testem. K celkovému popisu základních vztahů byla po centralizaci a standardizaci dat využita lineární metoda PCA (analýza hlavních komponent) v programu CANOCO 5.0 (terBraak, Šmilauer, 2012). Krabicové grafy byly vytvořeny v programu Statistica 14.0.0.15. Horizontální linie reprezentují minimum a maximum hodnot.

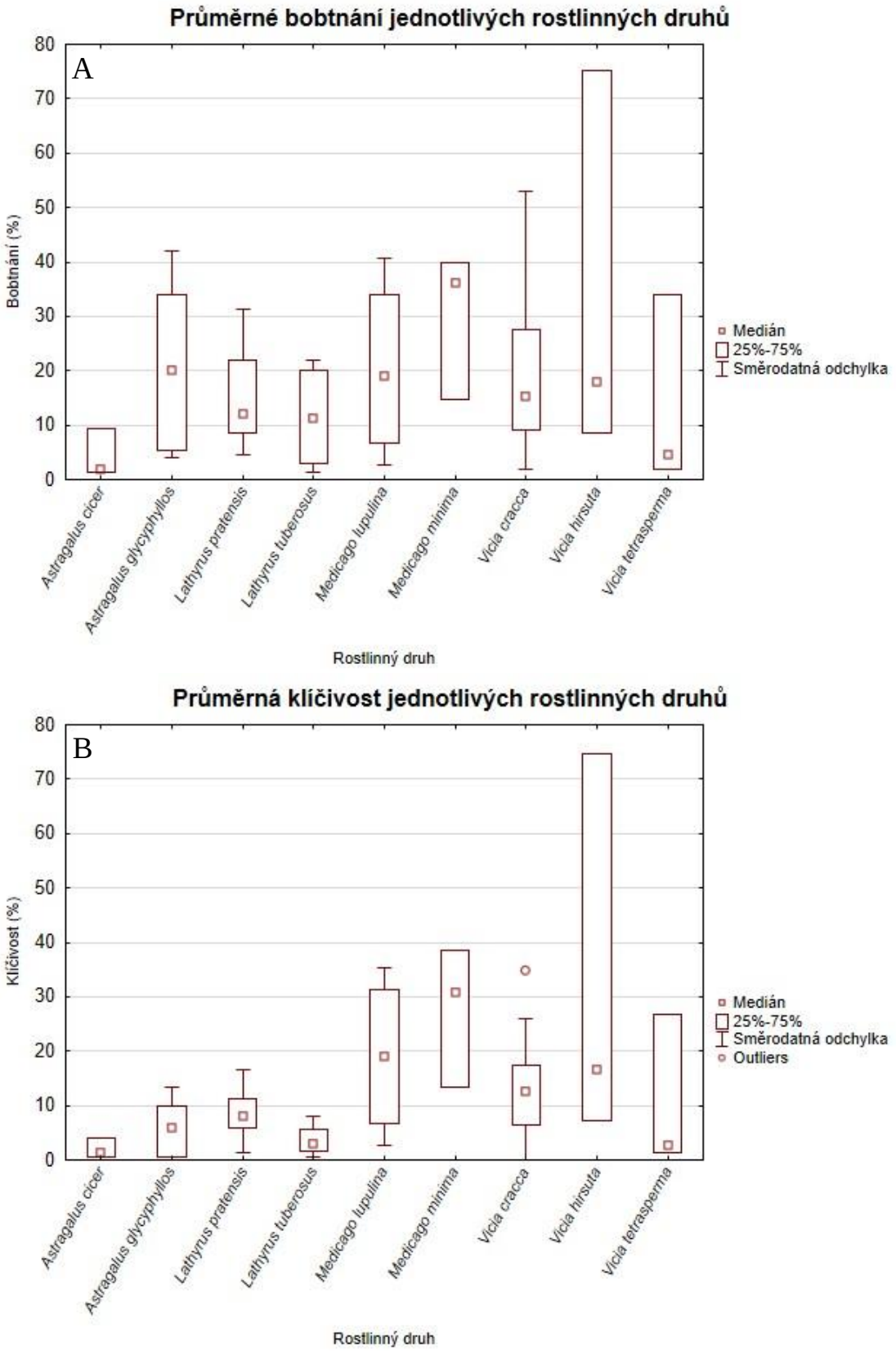
Výsledky a diskuze

U 69 položek planých druhů čeledi bobovité (Fabaceae) bylo po dobu 119 dní hodnoceno bobtnání a klíčivost. Bylo zjištěno, že teplota má vliv na míru dormance a po 119 dnech nejvyšší průměrné hodnoty bobtnání dosahuje při 5 °C (23,17 %) a také nejvyšší průměrné klíčivosti (17,1 %). Naopak nejvíce dormantní byla semena při 23 °C, ať už se to týká průměrné hodnoty bobtnání (15,67 %) nebo klíčení (10,57 %, obr. 2). Bobtnání a klíčení jednotlivých druhů je znázorněno pomocí krabicových grafů na obr. 3.

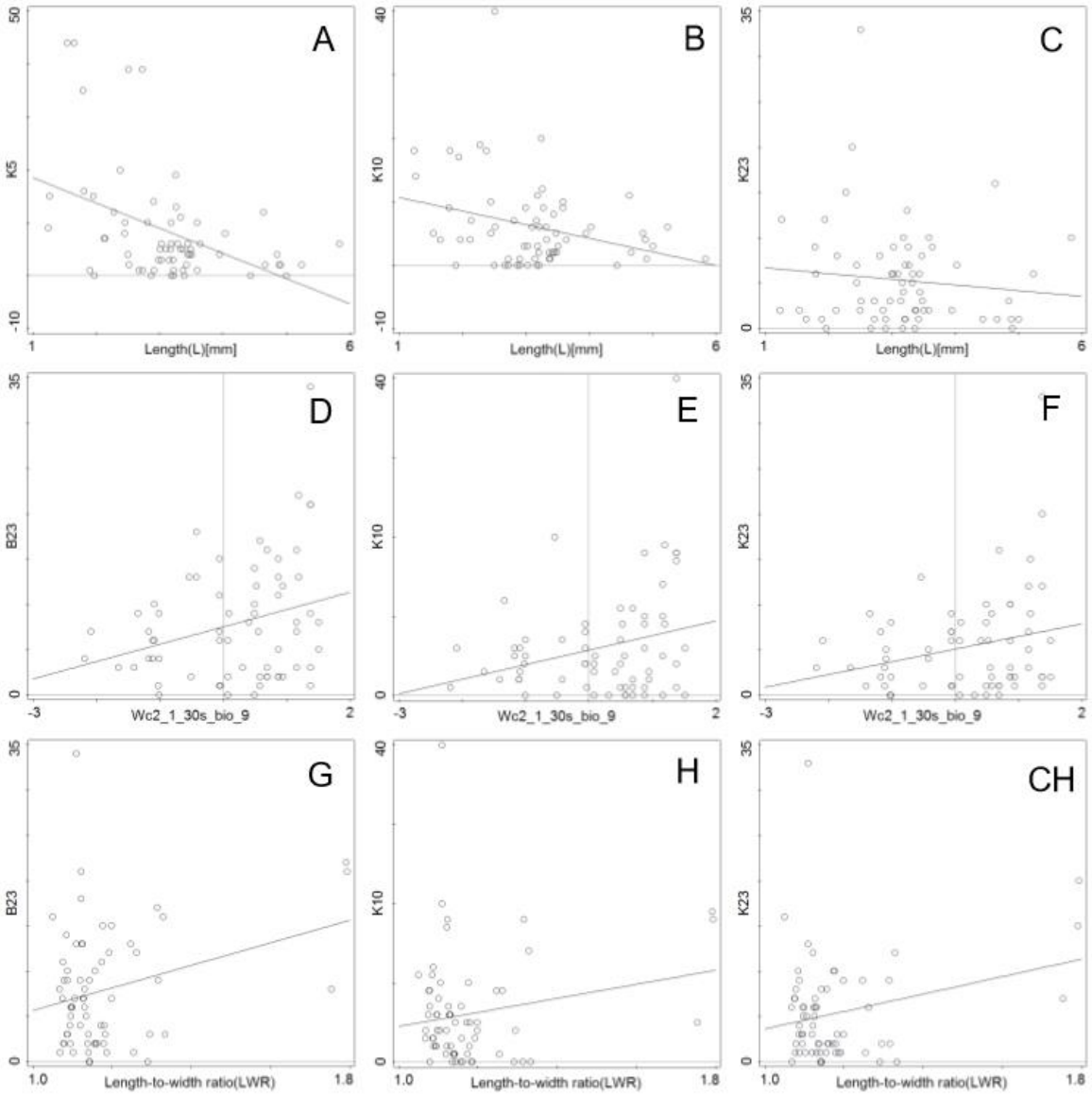
Pro lepší zjištění míry vlivu teploty na ukončení dormance semen byly zvoleny tři konstantní teplotní režimy (5, 10 a 23 °C), na rozdíl např. od publikace Hradilová et al., 2019, která zvolila teplotní oscilaci v režimu 25/15 a 35/15 °C, jež lépe odpovídají teplotám při dozrávání semen tolice (*Medicago truncatula*) a planého hrachu (*Pisum elatius*). Teplota s vyšší mírou bobtnání a klíčivosti ve zmiňované publikaci byla 35/15 °C. Tento rozdíl teplot by mohl vysvětlovat jiný rostlinný druh, který byl předmětem jejich zájmu a také lokalitami sběru, které byly v oblasti Středozemního moře, kde jsou vyšší letní i zimní teploty ve srovnání s teplotními podmínkami lokalit sběru v této publikaci. Výsledky Hradilové et al., 2019 a Probert, 2000 potvrzují, že teplota má vliv na bobtnání i klíčení semen.



Obrázek 11: Průběh bobtnání (A) a klíčení (B) vybraných položek rostlin z čeledí Fabaceae při třech různých teplotách - 5 °C, 10 °C a 23 °C v čase



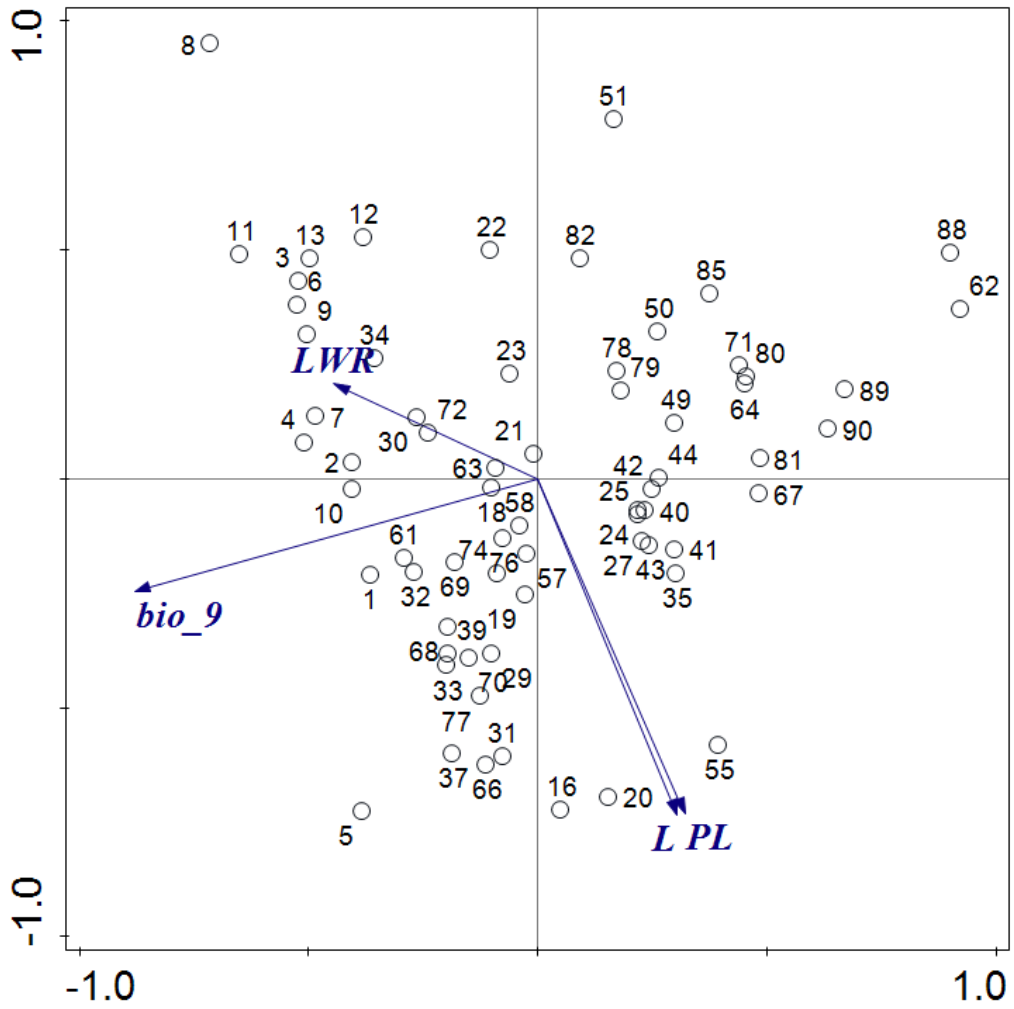
Obrázek 12: Průměrná hodnota bobtnání (A) a klíčivost (B) jednotlivých druhů z čeledi Fabaceae po 119 dnech. Horizontální linie reprezentují minimum a maximum hodnot



Obrázek 4: Zobecněný lineární model (GLM) vlivu délky semen (Length), poměru délky ku šířce semen (Length to width ratio) a také vlivu vliv průměrné teploty v nejsušším čtvrtletí (wc2_1_30s_bio_9) na bobtnání při 23 °C (D, G) a klíčení při 5 °C (A), 10 °C (B, E, H) a 23 °C (C, F, CH).

Vliv 19 bioklimatických proměnných prostředí a 9 morfometrických proměnných semen byl pro každou teplotu (5, 10 a 23 °C) testován zvlášť. Ze získaných výsledků testování vlivu proměnných prostředí (bioklimatická data) a morfometrie semen má na bobtnání (u vzorků hodnocených při teplotě 23 °C) a klíčení semen (u vzorků hodnocených při teplotě 10 a 23 °C) největší vliv průměrná teplota v nejsušším čtvrtletí (wc2_1_30s_bio_9). Lépe bobtnala a klíčila semena rostlin, která v zimním období nebyla vystavena mrazu (Obr. 4). U ostatních proměnných nebyly zjištěny žádné statisticky průkazné hodnoty. Při testování vlivu morfometrie semen na bobtnání byl zjištěn statisticky průkazný vliv LWR (u vzorků hodnocených při teplotě 23 °C). U klíčení byl pak zjištěn statisticky průkazný vliv LWR (vzorky hodnocené při teplotě 10 a 23 °C), PL (vzorky hodnocené při teplotě 5 °C) a L (vzorky hodnocené při teplotě 5, 10 a 23 °C; obr. 4).

Pro PCA analýzu (Obr. 5) byly zvoleny průkazné proměnné při použitém GLM, a to L, LWR, PL a bio_9. Z grafu je patrné, že délka semena a obvod semena (PL) přímo korelují s bioklimatickým faktorem průměrná teplota v nejsušším čtvrtletí (bio_9).



Obrázek 5: PCA analýza vlivu délky semen (L), poměru délky k šířce semen (LWR), obvodu (PL) a také vlivu průměrné teploty v nejsušším čtvrtletí (bio_9) na bobtnání a klíčení semen jednotlivých položek z čeledi Fabaceae při teplotě 5, 10 a 23 °C). *A. cicer* reprezentují body 19, 25, 61, *A. glycyphyllos* 30, 49, 54, 72, 74, *L. latifolius* 16, 20, *L. pratensis* 27, 42, 43, 50, 53, 58, 70, 71, 76, 79, 81, 88, 89, 90, *L. sylvestris* 55, *L. tuberosus* 31, 37, 66, 77, *L. corniculatus* 22, 51, *M. lupulina* 1, 7, 12, 40, *M. minima* 4, 1, 13, *O. spinosa* 23, *T. retusum* 3, 9, 65, *T. striatum* 10, *V. angustifolia* 33, *V. cracca* 18, 21, 24, 29, 39, 41, 44, 57, 62, 64, 67, 68, 78, 80, 82, 85), *V. hirsuta* 2, 8, 32, *V. lathyroides* 6, *V. sepium* 35, *V. striata* 5 a *V. tetrasperma* 34, 63, 69.

Závěr

Závěrem je možné říci, že teplota vykazující trend, při které jsou semena 19 rostlinných druhů z čeledi Fabaceae nejméně dormantní, tzn. ve větší míře ukončí dormanci a následně bobtnají a klíčí je 5 °C, což odpovídá jarnímu klíčení druhů mírného pásma po chladovém působení. Naopak trend nejnižší míry klíčivosti a bobtnání je při teplotě 23 °C. Na bobtnání a klíčení má

z 19 testovaných bioklimatických charakteristik statisticky významný pozitivní vliv pouze průměrná teplota v nejsušším čtvrtletí a z morfometrických charakteristik semen je to délka semen poměru délky k šířce semen.

Dedikace

Tato publikace byla podpořena Grantovou agenturou UP (PrF-2020-003, IGA-2021-001) a za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO0418.

Použitá literatura

Baskin J. M., Baskin C. C., 1989. Physiology of dormancy and germination in relation to seed bank ecology. pp. 53–66 in Leck, M.A.; Parker, V.T.; Simpson, R.L. (Eds) Ecology of soil seed banks. San Diego, Academic Press.

Baskin J. M., Baskin C. C., Li, X., 2000. Taxonomy, ecology, and evolution of physical dormancy in seeds. Plant Species Biology 15, 139–152.

Baskin J. M., Baskin, C. C., 2004. A classification system for seed dormancy. Seed science research, 14(1), 1-16.

Fick S. E., Hijmans R. J., 2017. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. International Journal of Climatology 37:4302-4315.

Hradilová I., Duchoslav M., Brus J., Pechanec V., Hýbl M., Kopecký P., Smržová L., Štefelová N., Vaclávek T., Bariotakis M., 2019. Variation in wild pea (Pisum sativum subsp. elatius) seed dormancy and its relationship to the environment and seed coat traits. PeerJ,7, e6263.

Probert R., 2000. The role of temperature in the regulation of seed dormancy and germination. In: Fenner M, ed. Seeds: the ecology of regeneration in plant communities. Wallingford: CAB International, 261292

Smýkal P., Vernoud V., Blair M. W., Soukup A., Thompson R. D., 2014. The role of the testa during development and in establishment of dormancy of the legume seed. Frontiers in Plant Science, 5, 351.

Tanabata T., Shibaya T., Hori K., Ebana K., Yano M., 2012. SmartGrain: high-throughput phenotyping so

terBraak, C. J. F., Šmilauer, P., 2012. Canoco Reference Manual and User's Guide:Software of Ordination (version 5.0). MicrocomputerPower, Ithaca.

Kontaktní adresa:

Mgr. Pavel Kopecký
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Olomouc
Šlechtitelů 29
783 71 Olomouc
kopecky@genobanka.cz, +420 702 087 794

Nové herbicidy na ochranu rostlin do pohanky seté

New herbicide products for sown buckwheat

Frydrych J., Bradáčová L.

OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří

Abstrakt

Cílem výzkumu bylo ověřit selektivitu pohanky seté (*Fagopyrum esculentum*) vůči vybraným herbicidům a jejich využití pro zemědělskou praxi. Výsledkem výzkumu v roce 2019 a 2020 bylo ověření selektivity pohanky vůči herbicidům Betanal Tandem, Stemat Super a Lontrel 300. V roce 2021 na základě výsledků výzkumu v letech 2017–2020 byl podán Návrh na rozšíření povolení na menšinová použití přípravku na ochranu rostlin do množitelských porostů pohanky seté u herbicidních přípravků Betanal Tandem, Stemat Super, Lontrel 300, Agil 100 EC a Fusilade Forte 150 EC. Výzkum se zaměřením na pěstitelskou technologii pohanky s testováním nových herbicidů a kvalitativních parametrů zrna bude pokračovat i v následujících letech.

Klíčová slova: pohanka setá, herbicidy, fytotoxicita, výzkum

Abstract

The aim of the research was to verify the selectivity of buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) against selected herbicides and their use for agricultural practice. At present, a herbicide preparation against weeds in the sown buckwheat is not registered in the Czech Republic. The result of the research in 2019 and 2020 was the verification of the selectivity of buckwheat against the herbicides Betanal Tandem, Stemat Super and Lontrel 300. In 2021, based on the research results in 2017–2020, a proposal was submitted to extend the buckwheat for herbicides Betanal Tandem, Stemat Super, Lontrel 300, Agil 100 EC and Fusilade Forte 150 EC. Research focusing on buckwheat growing technology with testing of new herbicides and grain quality parameters will continue in the coming years.

Key words: buckwheat, herbicides, phytotoxicity, research

Úvod

V roce 1993 bylo založeno celosvětově asi 2 milióny hektarů pohanky seté (Myers and Meinke, 1994). Mezi největší světové producenty pohanky můžeme zařadit Spojené státy americké, Čínu, Rusko, Ukrajinu a Francii (AG Canada Outlok, 2007); Alberta Agriculture and Food, 2001). Zvýšený zájem spotřebitelů v České republice o pohanku setou (*Fagopyrum esculentum*) se začíná projevovat od 90. let minulého století, zejména pro její nezastupitelnou úlohu v racionální výživě člověka a bezlepkové dietě. Zájem o pohanku v současnosti je motivován zejména důvody zdravotními, dietou, která posiluje imunitní systém člověka, zvyšuje pružnost cévních stěn, reguluje krevní srážlivost a obsah cholesterolu v krvi. Produkce pohanky se v posledních letech celosvětově zvýšila v důsledku poptávky na trhu se zdravou výživou po mouce, krupici a pohankovém medu (Myers a Meinke, 1994).

Tradičně u nás převažují názory, že pohanka je málo náročná na agroekologické podmínky. Dnes ovšem chceme využít pohanku jako perspektivní tržní plodinu k přímému potravinářskému využití s dobrou jakostí (Petr a kol., 1997). Z toho vyplývá, že musíme vytvořit co nejlepší podmínky pro pohanku tak, aby byl využit co nejlépe její výnosový

potenciál a dosaženo požadovaného výnosu a kvality produkce zrna. Pohanka má však všestranné využití nejen jako obilnina, ale i jako zelenina a krmivo pro hospodářská zvířata. Lze ji využít na zelené hnojení či k získávání fytofarmak. Pohanka je plodina vhodná pro pěstování v ekologickém zemědělství a díky svým vynikajícím nutričním vlastnostem je považována za jednu z nejhodnotnějších plodin (Janovská a kol., 2008).

Pohanka v současnosti začíná nabývat na významu jako minoritní plodina a výzkum selektivity pohanky vůči herbicidům významným způsobem inovuje pěstitelskou technologii této plodiny. V oblasti pěstitelských technologií ve všech plodinách je ochrana proti plevelům rozhodující opatření, které směřuje k zajištění odpovídajícího výnosu, ale také potřebné kvality produkce. V současnosti není v České republice registrován herbicid proti plevelům do pohanky seté. Plevele negativně ovlivňují růst pohanky zejména v období vzcházení, tvorby pravých listů až do začátku tvorby poupat, a to zejména jednoděložné a dvouděložné plevele. Současně plevele způsobují snížení výnosu osiva pohanky. Z těchto důvodů je menšinové povolení herbicidů do pohanky velmi důležité. Pěstovaná plocha pohanky seté v ČR není ČSÚ evidována a její odhadovaná pěstovaná plocha se dle různých zdrojů pohybuje zpravidla kolem 3 000 ha. Pohanka setá tedy výměrou, na které je pěstována, splňuje kritérium menšinového použití dle § 37 odstavec 2a zákona.

Sama pohanka je dobrou předplodinou pro obilniny, dokonce s fytosanitárním účinkem. Jen u prosovitých obilnin se zjistilo, že výluhy z posklizňových zbytků pohanky inhibovaly klíčení a vzcházení. Ovšem po pohance je velmi dlouhé meziporostní období, takže se může tento vliv zmírnit (Petr a kol., 1997).

Pohanka má dobrou konkurenční schopnost vůči plevelům za tepla a vlhka. Mechanická regulace plevelů se provádí plečkováním širokořádkového porostu nebo vláčením plecími branami s vysokými prutovými nebo plochými prsty. Úzké i široké řádky lze odplevelit vláčením porostu plecími branami ve fázi 3–5 listů, tj. do výšky 20–25 cm vždy v odpoledních hodinách, kdy jsou rostliny pružné a nelámou se (Janovská a kol., 2008). Plevele škodí v pohance seté zejména po založení porostu, vedle pozdních jarních plevelů je to v současnosti zejména ježatka kuří noha (*Echinochloa crus-galli*), která může výrazným způsobem oslabit porost pohanky před zapojením porostu (Frydrych a kol., 2016)

V roce 2019 a 2020 byl testován v pohance seté přípravek Lontrel 300 (účinná látka clopyralid 300 $g.l^{-1}$) v dávce 0,4 $l.ha^{-1}$ a 0,8 $l.ha^{-1}$, Betanal Tandem (účinné látky phenmedipham 200 $g.l^{-1}$ a ethofumesate 190 $g.l^{-1}$) v dávkách 0,5 $l.ha^{-1}$ a 1 $l.ha^{-1}$ a Stemat Super (účinná látka ethofumesate 500 $g.l^{-1}$) v dávkách 0,5 $l.ha^{-1}$ a 1 $l.ha^{-1}$. Lontrel 300 hubí zejména plevele heřmánkovité, pcháč oset (*Cirsium arvense*), lociku kompasovou (*Lactuca serriola*), mléč rolní (*Sonchus arvensis*), bodlák (*Carduus*), lopuch (*Arctium*), turan kanadský (*Conyza canadensis*), výdrol slunečnice (*Helianthus*), ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*), hrachu (*Pisum*), starčeky (*Senecio*), pampelišku lékařskou (*Taraxacum officinale*), rdesna (*Persicaria*), tetluchu kozí pysk (*Aethusa cynapium*), lilek černý (*Solanum nigrum*), blín černý (*Hyoscyamus niger*), regenerující jeteloviny (*Trifolium*) a pelyněk černobýl (*Artemisia vulgaris*).

Betanal Tandem spolehlivě účinkuje proti širokému spektru dvouděložných jednoletých plevelů. Citlivé jsou zejména svízel přítula (*Galium aparine*), merlíky (*Chenopodium*), lebedy (*Atriplex*), ředkev ohnice (*Raphanus raphanistrum*), hořčice rolní (*Sinapis arvensis*), lilek černý (*Solanum nigrum*), bažanka roční (*Mercurialis annua*), violka rolní (*Viola arvensis*), zemědým lékařský (*Fumaria officinalis*), rdesna (*Persicaria*), hluchavky (*Lamium*), ptačinec žabinec (*Stellaria media*), kokoška pastuší tobolka (*Capsella bursa-pastoris*), máky (*Papaver*), durman obecný (*Datura stramonium*), bér zelený (*Setaria viridis*). Méně citlivé plevele jsou laskavec

ohnutý (*Amaranthus retroflexus*), kopřiva žahavka (*Urtica urens*), psárka polní (*Alopecurus myosuroides*), oves hluchý (*Avena fatua*), ježatka kuří noha (*Echinochloa crus-galli*), rdesno ptačí (*Polygonum aviculare*). Stemat Super spolehlivě účinkuje proti svízeli přítule, drchničce rolní (*Anagallis arvensis*), bažance roční (*Mercurialis annua*), kolenci rolnímu (*Spergula arvensis*), rdesnům (*Persicaria*), ptačinci žabinci (*Stellaria media*), konopici napuchlé (*Galeopsis tetrahit*) a merlíku bílému (*Chenopodium album*). Méně citlivé plevele jsou laskavce (*Amaranthus*), rozrazily (*Veronica*), mák vlčí (*Papaver rhoeas*), zemědým lékařský (*Fumaria officinalis*), svlačec rolní (*Convolvulus arvensis*), chrpa modrá (*Centaurea cyanus*), lebeda rozkladitá (*Atriplex patula*) a výdrol obilnin. Současný zvýšený zájem pěstitelů a spotřebitelů o pohanku vytváří nové možnosti pro výzkumnou práci. Zejména je třeba řešit otázku pěstitelské technologie pohanky a zaměřit se na její slabá místa. Cílem nového výzkumu bude inovace pěstitelské technologie pohanky v současné zemědělské praxi a zvýšení kvality výsledného produktu zrna, který bude odpovídat vysokou jakostí potravinářským parametrům. Jedním ze slabých článků pěstitelských postupů je chemická ochrana proti plevelům (Frydrych a kol., 2016).

Materiál a metody

Pro ověřování biologické účinnosti herbicidů v pohance seté (*Fagopyrum esculentum*) ve dvouletém období let 2019 a 2020 byly založeny maloparcelkové pokusy o výměře parcely 10 m^2. Výsevek pohanky činil 100 $kg.ha^{-1}$, pro testování byla vybrána odrůda pohanky seté 'Zita'. Pohanka byla vyseta do bloku se čtyřmi opakováními pro jeden přípravek. V roce 2019 a 2020 byl testován přípravek Betanal Tandem v dávkách 0,5 $l.ha^{-1}$ a 1 $l.ha^{-1}$ (účinné látky phenmedipham 200 $g.l^{-1}$ a ethofumesate 190 $g.l^{-1}$), přípravek Stemat Super (účinná látka ethofumesate 500 $g.l^{-1}$) v dávkách 0,5 $l.ha^{-1}$ a 1 $l.ha^{-1}$ a přípravek Lontrel 300 (účinná látka clopyralid 300 $g.l^{-1}$) v dávce 0,4 $l.ha^{-1}$ a 0,8 $l.ha^{-1}$. Do pokusu byla zařazena i neošetřená kontrola.

Přípravky byly aplikovány v roce 2019 a 2020 ve fázi pohanky 3–5 listů. Dávka vody pro přípravky činila 200 $l.ha^{-1}$. Pozorování bylo provedeno ve dvou termínech, 14 dnů po aplikaci a měsíc po aplikaci přípravků a zjišťovala se vizuální fytotoxicita po aplikaci (Tab. 1). Fytotoxicita byla hodnocena vizuálně v % odhadem se zaměřením na chlorózu a deformaci rostlin. V tabulce Tab. 1 jsou uvedeny průměrné hodnoty odhadované fytotoxicity u rostlin po aplikací přípravků. Byl stanoven výnos zrna, hmotnost tisíce semen a klíčivost.

Tab. 1: Testované přípravky a dávky použité v roce 2019 a 2020 (odhady v %)

Varianta	Přípravek	Dávka ($l.ha^{-1}$)	Fytotoxicita za 14 dnů průměr dvou let	Fytotoxicita za 28 dnů průměr dvou let
1	Kontrola			
2	Betanal Tandem	0,5	5	0
3	Betanal Tandem	1,0	10	0
4	Stemat Super	0,5	5	0
5	Stemat Super	1,0	10	0
6	Lontrel 300	0,4	5	0
7	Lontrel 300	0,8	10	0

Výsledky a diskuze

V současnosti není v Seznamu povolených přípravků a pomocných prostředků na ochranu rostlin pro rok 2021 uveden herbicid použitelný do pohanky. (Petr a kol., 1997) udává na základě zkušeností pěstitelů v praxi v minulosti možnost použití přípravků pro postemergentní aplikace do pohanky Racer 25 EC 1,2–2 kg.ha^{-1}, Ramrod 5 kg.ha^{-1}, Synbetan D 3 l.ha^{-1} + Citowet 0,1 l.ha^{-1}, Kusagard 1,5–2 kg.ha^{-1} a Fusilade 1,5–2 l.ha^{-1}. Tyto přípravky rovněž nebyly registrovány v metodikách pro zemědělskou praxi. Frydrych (2016) uvádí ověření selektivity přípravků Garland Forte – ú. l. propachizafop – 100 g.l^{-1} a Fusilade Forte 150 EC – ú. l. fluazifop-P-butyl – 150 g.l^{-1} v roce 2015 a 2016 v pohance seté. Fytotoxicita u přípravků Garland Forte a Fusilade Forte 150 EC v pohance nebyla prokázána ve sledovaných znacích výnosu zrna a hmotnosti tisíce semen v obou letech 2015 a 2016.

V roce 2019 a 2020 byl testován přípravek Lontrel 300 v dávce 0,4 l.ha^{-1} a 0,8 l.ha^{-1}, Betanal Tandem v dávkách 0,5 l.ha^{-1} a 1 l.ha^{-1} a přípravek Stemat Super 0,5 l.ha^{-1} a 1 l.ha^{-1} v pohance seté. Aplikace proběhla v obou letech 2019 a 2020 v první polovině měsíce června.

Fytotoxicita u těchto přípravků v rozsahu 5–10 % se projevovala mírným zežloutnutím listů, pokroucením listů a nižším vzrůstem rostlin čtrnáct dnů po aplikaci u všech ošetřených variant. Měsíc po aplikaci přípravků příznaky fytotoxicity u nižších i vyšších dávek vymizely. Hodnocení fytotoxicity proběhlo v obou letech 2019 a 2020 v druhé polovině června a v první polovině měsíce července.

Tab. 2: Výnos semene v roce 2019 a 2020 (kg.ha^{-1})

2019	Průměr (kg.ha^{-1})	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu	2020	Průměr (kg.ha^{-1})	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu
1	1 609	100,00		**1**	1 811	100,00	++
2	1 780	110,66	++	**2**	1 954	107,88	++
3	1 748	108,67	++	**3**	1 942	107,20	++
4	1 792	111,38	++	**4**	1 987	109,70	++
5	1 784	110,88	++	**5**	1 965	108,49	++
6	1 743	108,36	++	**6**	1 939	107,07	++
7	1 734	107,82	++	**7**	1 939	107,07	++

Anova: md 0,05: 19,230 md 0,01: 26,164 Anova: md 0,05: 15,645 md 0,01: 21,286
++ vysoce průkazný rozdíl + průkazný rozdíl

U přípravků Betanal Tandem, Stemat Super a Lontrel 300 se neprojevila fytotoxicita ve sledovaném znaku výnos semene (Tab. 2). Nejnižší výnos v roce 2019 a 2020 byl zaznamenán u neošetřené kontroly.

Tab. 3: Hmotnost tisíce semen v roce 2019 a 2020 (g)

2019	Průměr (g)	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu	2020	Průměr (g)	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu
1	26,91	100,00		**1**	28,27	100,00	
2	27,72	103,01	++	**2**	29,06	102,78	++
3	27,50	102,20	++	**3**	28,88	102,16	++
4	28,22	104,89	++	**4**	29,50	104,32	++
5	27,85	103,49	++	**5**	29,20	103,27	++
6	27,48	102,12	++	**6**	28,98	102,48	++
7	27,39	101,78	+	**7**	28,80	101,86	++

Anova: md 0,05: 0,386 md 0,01: 0,525 Anova: md 0,05: 0,382 md 0,01: 0,519

++ vysoce průkazný rozdíl + průkazný rozdíl

Tab. 4: Klíčivost semen v roce 2019 a 2020 (%)

2019	Průměr (%)	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu	2020	Průměr (%)	% na kontrolu	Průkaznost na kontrolu
1	97,00	100,00		**1**	98,25	100,00	
2	98,75	101,80	++	**2**	99,25	101,02	++
3	98,00	101,03	++	**3**	99,00	100,76	+
4	99,25	102,32	++	**4**	99,75	101,53	++
5	99,00	102,06	++	**5**	99,50	101,27	++
6	97,75	100,77	++	**6**	98,75	100,51	0
7	97,50	100,52	0	**7**	98,50	100,25	0

Anova: md 0,05: 0,524 md 0,01: 0,713 Anova: md 0,05: 0,681 md 0,01: 0,926

++ vysoce průkazný rozdíl + průkazný rozdíl

Výsledky výzkumu byly zpracovány statistickou metodou Anova.

U přípravků Betanal Tandem, Stemat Super a Lontrel 300 se neprojevila fytotoxicita ve sledovaném znaku hmotnost tisíce semen (Tab. 3) a klíčivost (Tab. 4) ve dvou zkušebních letech. U obou sledovaných znaků byly nejnižší hodnoty u neošetřené kontroly.

Sakaliene a kol. (2008) uvádí výsledky ověření herbicidů Lontrel 300 s účinnou látkou clopyralid a herbicidu Betanal AM s účinnou látkou desmedipham a jejich kombinací v pohance seté. Autoři uvádí účinnost vybraných herbicidních variant na cílené plevele. U pohanky byl hodnocen vliv ošetření u jednotlivých variant na počet rostlin na metr čtvereční, výšku rostlin, hmotnost rostlin, počet semen, výnos zrna a hmotnost tisíce semen. Autoři zjistili, že kombinace herbicidních přípravků významně nezvyšovaly výnos zrna pohanky oproti neošetřené kontrole. U samostatných aplikací clopyralidu a desmediphamu docházelo k navýšení výnosu zrna u některých dávek účinné látky. Výzkum probíhal ve 4 letech.

V roce 2021 na základě výsledků výzkumu v letech 2017–2020 byl podán Návrh na rozšíření povolení na menšinová použití přípravku na ochranu rostlin do množitelských porostů pohanky seté u herbicidních přípravků Betanal Tandem, v dávce 1 $l.ha^{-1}$, Stemat Super v dávce 1 $l.ha^{-1}$, Lontrel 300 v dávce 0,4 $l.ha^{-1}$, Agil 100 EC v dávce 1,2 $l.ha^{-1}$ a Fusilade Forte 150 EC v dávce 1,6 $l.ha^{-1}$. Všechny herbicidy jsou určeny pro postemergentní ošetření ve fázi 3–5 listů pohanky seté (BBCH 13–15). V publikaci jsou uvedeny výsledky výzkumu fytotoxicity herbicidů v pohance seté, a to přípravků Betanal Tandem, Stemat Super a Lontrel 300. Publikace je určena

pro odbornou zemědělskou veřejnost. Současně jsou uvedeny v publikaci i přípravky Agil 100 EC a Fusilade Forte 150 EC navrženy pro minoritní použití z důvodu kompletní informace o použití herbicidů do množitelských porostů pohanky seté.

Závěr

Na základě výsledků výzkumu nebyla prokázána fytotoxicita po použití přípravků Betanal Tandem v dávce 0,5 $l.ha^{-1}$ a 1 $l.ha^{-1}$, Stemat Super v dávce 0,5 $l.ha^{-1}$ a 1 $l.ha^{-1}$, Lontrel 300 v dávce 0,4 $l.ha^{-1}$ a 0,8 $l.ha^{-1}$ v pohance seté v roce 2019 a 2020 u sledovaných znaků výnos zrna, hmotnost tisíce semen a klíčivost. Příznaky fytotoxicity na rostlinách vymizely měsíc po aplikaci přípravků. V roce 2021 na základě výsledků výzkumu v letech 2017–2020 byl podán Návrh na rozšíření povolení na menšinová použití přípravku na ochranu rostlin do množitelských porostů pohanky seté u herbicidních přípravků Betanal Tandem, Stemat Super, Lontrel 300, Agil 100 EC a Fusilade Forte 150 EC. Výzkum se zaměřením na pěstitelskou technologii pohanky s testováním nových herbicidů a kvalitativních parametrů zrna bude pokračovat i v následujících letech. V současnosti je pohanka pěstována bez ošetření herbicidy, existují však plevele, které je nutno eliminovat již v počátečních stádiích vývoje této plodiny. Zvýšené množství odborných dotazů z řad zemědělské praxe na použití herbicidů v pohance tuto skutečnost dokládá.

Dedikace

Publikace vznikla za finanční podpory MZe v rámci institucionální podpory na rozvoj výzkumné organizace OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří č. MZE-RO1821.

Literatura

Ag Canada Outlook, 2007. Buckwheat/Fababeans. http://www.fna.ca/index.php?option5com_content&task5view&id5341&Itemid51. Accessed: March, 2008.

Alberta Agriculture and Food, 2001. Common Buckwheat. http://www1.agric.gov.ab.ca/$department/deptdocs.nsf/all/agdex103?opendocument. Accessed: March, 2008.

Frydrych J., Volková P., 2016. Selektivita pohanky seté vůči vybraným herbicidům. Úroda, vědecká příloha, roč. 64, č. 12, s. 205–208.

Janovská D., Kalinová J., Michalová A., 2008. Metodika pěstování pohanky obecné v ekologickém a konvenčním zemědělství. Metodika pro praxi, 14 s.

Myers R. L. and Meinke L. J., 1994. Buckwheat: a Multipurpose, Short Season Alternative. MU Extension G4306. https://extension.missouri.edu/publications/g4306. Accessed: March, 2008

Petr J., Hradecká D., 1997. Základy pěstování pohanky a prosa. IVV MZe ČR Praha, 32 s.

Sakaliene O., Clay S. A., Koskinen W. C. and Source G. A., 2008. Early Season Weed Suppression in Buckwheat Using Clopyralid. Weed Technology, Vol. 22, No. 4, pp. 707–712.

Kontaktní adresa:

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

Účinnost vybraných silic druhů z čeledi *Lamiaceae* k patogenu *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*

Efficacy of selected essential oils of species from *Lamiaceae* family against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*

Jílková B.[1], Víchová J.[1], Pokorný R. [1]

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

V laboratorních podmínkách byla diskovou difuzní metodou testována účinnost vybraných silic a jejich komponent k pektinolytické bakterii *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* a následně byla hodnocena minimální baktericidní koncentrace (MBC) v tekutém médiu. Do testů byly zařazeny silice máty, oregana, rozmarýnu a komponenty carvacrol, menthon, thymol přírodní a syntetický a jako kontrola byla použita silice ze skořice.

Všechny testované silice a jejich komponenty vykazovaly antibakteriální účinnost do koncentrace 50 µl/ml. Žádný inhibiční efekt však neměly v koncentracích 10 a 5 µl/ml. U silic z oregana a skořice bylo dosaženo MBC již při koncentraci 25 µl/ml, zatímco u silice z máty byla MBC 100 µl/ml.

Klíčová slova: mokrá hniloba, *Solanum tuberosum*, biologická ochrana

Abstract

The effectiveness of selected essential oils and their components against the pectinolytic bacterium *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* was detected by the disk diffusion assay and subsequently the minimum bactericidal concentration (MBC) was evaluated in the liquid medium under laboratory conditions. Essential oils from mint, oregano, rosemary and components carvacrol, menthon and thymol (natural and synthetic) were included in the tests. Essential oil from cinnamon was used as a control. All tested essential oils and their components showed antibacterial activity up to concentration of 50 µl/ml. However, no inhibitory effect was evaluated at concentrations of 10 and 5 µl/ml. MBC of essential oils from oregano and cinnamon was achieved at a concentration of 25 µl/ml, while MBC of essential oil from mint was 100 µl/ml.

Keywords: soft rot disease, *Solanum tuberosum*, biological control

Úvod

Pectobacterium carotovorum subsp. *carotovorum* (*Pcc*) je společně s dalšími bakteriálními druhy *Pectobacterium atrosepticum*, *Dickeya solani* a *Dickeya diathicola* významným patogenem bramboru, na němž způsobuje bakteriální černání stonku a měkkou hnilobu hlíz. Tento organismus je polyfágní a je schopen přežívat v půdě v rostlinných zbytcích nebo v rhizosféře kulturních a plevelných rostlin (Kůdela et al., 2002), proto je velmi důležitá ochrana k zabránění infekce hlíz bramboru. V současné době nejsou povoleny žádné přípravky, které by mohly být využitelné pro moření proti bakteriálním patogenům, především do systémů ekologického zemědělství, proto se pozornost zaměřuje na využití silic různých druhů rostlin nebo jejich jednotlivých purifikovaných složek. Vůči *Pcc* byly účinné silice např. z *Myrtus communis*, *Ferula gummosa, Artemisia dranunculus* (Hajian-Maleki et al., 2021), *Saturea khuzistanica*, *Zataria multiflora* (Hajian-Maleki et al., 2019) a *Peganum harmala* (Shaheen a Issa, 2019).

Cílem naší studie bylo rozšíření možného spektra silic z druhů rostlin čeledi *Lamiaceae*, případně jejich komponent. Celkem bylo vybráno osm přírodních látek se známými antimikrobiálními účinky, a to silice z máty peprné (*Mentha × piperita*) (Guerra et al., 2014) a komponent menthon, silice dobromysli obecné neboli oregana (*Origanum vulgare*) a komponenty carvacrol a thymol ve formě přírodní a syntetické (Božik, et al., 2017) a silice z rozmarýnu lékařského (*Rosmarinus officinalis*) (Mehrsorosh et al., 2014). Božik et al. (2017) a Bravo Cadena et al. (2018) prokázali silný baktericidní účinek u silice ze skořice (*Cynnymomum zeylanicum*), což bylo potvrzeno i našimi předešlými testy s *Pcc*. Na základě této skutečnosti byla silice ze skořice zvolena jako standard do dalších našich pokusů.

Materiál a metody

Disková difuzní metoda (DDM)

Metodika vychází z EUCAST (2021) s uzpůsobením pro podmínky antibakteriálního vlivu silic. Pro zajištění optimálního růstu byl kmen *Pcc* (CPPB 56, VÚRV Praha-Ruzyně) kultivován na King B médiu (HiMedia Lab.) při teplotě 28 °C po dobu 48 h. Poté byla ve fyziologickém roztoku připravena bakteriální suspenze o koncentraci $1{,}5.10^8$ CFU/ml, což odpovídá 0,5 McFarlandovy zákalové stupnice. Stanovení bylo provedeno pomocí denzitometru DEN-1 (BIOSAN).

Silice a jejich komponenty (M&H Míča a Harašta s.r.o., Sigma-Aldrich) byly ředěny 96% ethanolem s přidáním Tween 20 pro lepší homogenitu a pro získání základní koncentrace 100 µl/ml. Další koncentrace (75, 50, 25, 10 a 5 µl/ml) byly připraveny ze základního ředění přidáním sterilní destilované vody a Tween 20.

Na Petriho misky s Mueller Hinton agarem (MHA) (HiMedia Lab.) bylo pipetováno 100 µl připravené bakteriální suspenze a sterilní hokejkou rovnoměrně rozetřeno. Po zaschnutí inokula bylo pipetováno 7,5 µl roztoku silice o dané koncentraci na čtyři disky sterilního filtračního papíru o průměru 6 mm, které byly na Petriho misce rovnoměrně rozmístěny do čtverce. Inkubace probíhala v termostatu při 28 °C a po 24 h byly odečítány vzniklé inhibiční zóny. Testování probíhalo ve třech opakováních, s růstovou kontrolou (disky se sterilní destilovanou vodou) a ethanolem.

Výsledky byly statisticky zpracovány analýzou variance (ANOVA) a Tukey-HSD testem při hladině významnosti $P \leq 0.05$ (program STATISTICA 12).

Minimální baktericidní koncentrace (MBC)

Metodika byla převzata od Hajian-Maleki et al. (2021) a EUCAST (2003) a významně modifikována dle testovaných podmínek.

Příprava inokula probíhala stejným způsobem jako u DDM, s tím rozdílem, že byla bakteriální suspenze připravena v Mueller Hinton Broth (MHB) (HiMedia Lab.).

Přírodní látky byly ředěny totožně jako u DDM, nicméně jejich roztoky byly připraveny 1,1x koncentrovanější. U následných koncentrací byl k ředění použit MHB.

Vzhledem k těkavosti silic a jejich komponent bylo zvoleno testování v 0,2 ml mikrozkumavkách, do kterých bylo pipetováno 135 µl roztoku přírodní látky v daných koncentracích a 15 µl inokula. Destička s mikrozkumavkami byla zabalena do folie a inkubována při teplotě 28 °C s nepřetržitým třepáním při rychlosti 100 rpm. Po 24 h byl z mikrozkumavek odebrán vzorek 10 µl, který byl pipetován na plotny s MHA a inkubován při teplotě 28 °C dalších 24 h. První koncentrace, u které nebyl zjištěn růst bakterií, byla hodnocena jako MBC.

Testování probíhalo ve čtyřech opakováních, s kontrolou růstu bakterie, kontrolou čistoty média a ethanolem.

Výsledky a diskuze

Disková difuzní metoda

Všechny testované silice a jejich komponenty vykazovaly antibakteriální účinnost do koncentrace 50 µl/ml (Tab. 1). Žádný inhibiční efekt však již neměly v koncentracích 10 a 5 µl/ml. Při 25 µl/ml si účinnost zachovala silice z oregana a komponenty silic carvacrol a thymol přírodní. Thymol syntetický, který si držel podobnou až vyšší účinnost jako thymol přírodní, měl při koncentraci 25 µl/ml nevýznamný antibakteriální vliv. Při porovnání velikosti inhibičních zón všech koncentrací se jako nejúčinnější jeví komponenty silic carvacrol a thymol přírodní, ze silic poté oregano. U skupiny oregano, máta, rozmarýn a menthon bylo zajímavé zjištění, že antibakteriální efekt klesal se snižující se koncentrací velmi pozvolna.
U silic a příslušných komponent bylo zaznamenáno podobné působení na bakteriálního patogena. U dvojice máta x menthon byl menthon lehce slabší, u oregana x carvacrolu, thymolu přírodního a syntetického byla naopak účinnost lehce vyšší u testovaných komponent.

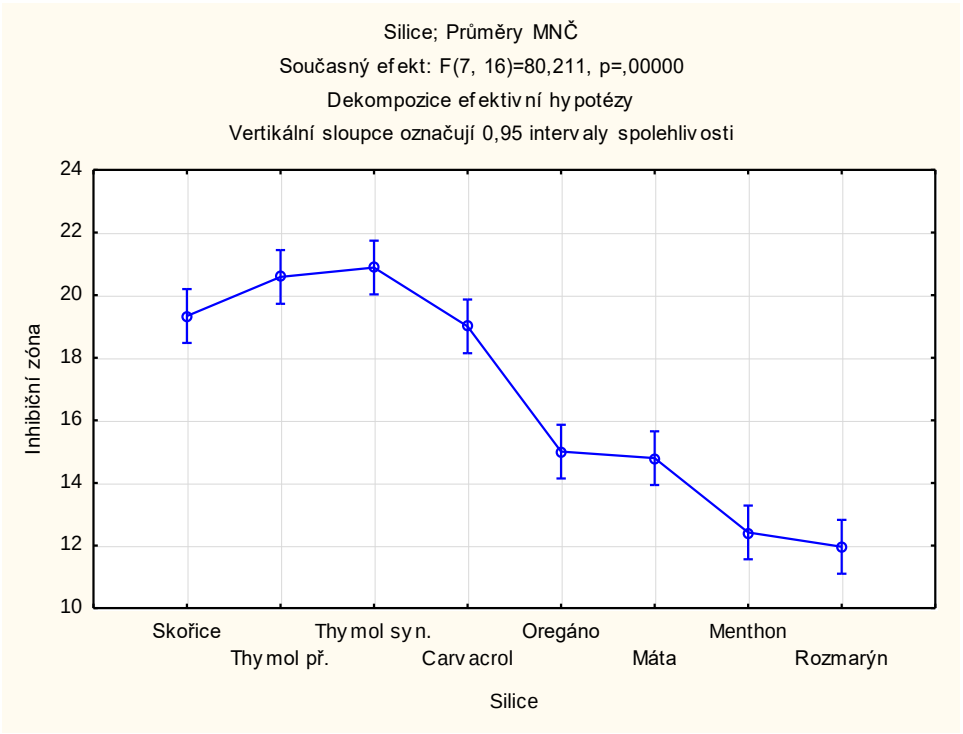
Tabulka 1. Inhibiční zóny testovaných silic a komponent a MBC v daných koncentracích

SILICE	KONCENTRACE SILICE (µl/ml)				MBC (µl/ml)
	100	**75**	**50**	**25**	
Skořice	$19,3^{j}$	$15,3^{i}$	$12,6^{fg}$	$10,5^{cdef}$	25
Thymol přírodní	$20,6^{j}$	$14,9^{i}$	$10,3^{cde}$	$7,8^{ab}$	50
Thymol syntetický	$20,9^{j}$	$12,3^{defg}$	$10,8^{def}$	$6,2^{a}$	50
Carvacrol	$19,0^{j}$	$14,3^{ghi}$	$11,6^{def}$	$8,4^{bc}$	50
Oregano	$15,0^{i}$	$12,7^{fgh}$	$11,7^{def}$	$8,5^{bc}$	25
Máta	$14,8^{hi}$	$12,4^{efg}$	$11,2^{def}$	$6,0^{a}$	100
Menthon	$12,4^{efg}$	$11,7^{def}$	$8,6^{bc}$	$6,0^{a}$	75
Rozmarýn	$12,0^{def}$	$10,3^{cd}$	$8,7^{bc}$	$6,0^{a}$	50

Pozn.: Odlišná malá písmena uvnitř buněk indikují průkazné rozdíly ($P \leq 0.05$) podle Tukey-HSD testu. Inhibiční zóny jsou měřeny v mm, terčík (6mm) je započítán do výsledku. MBC – minimální baktericidní koncentrace.

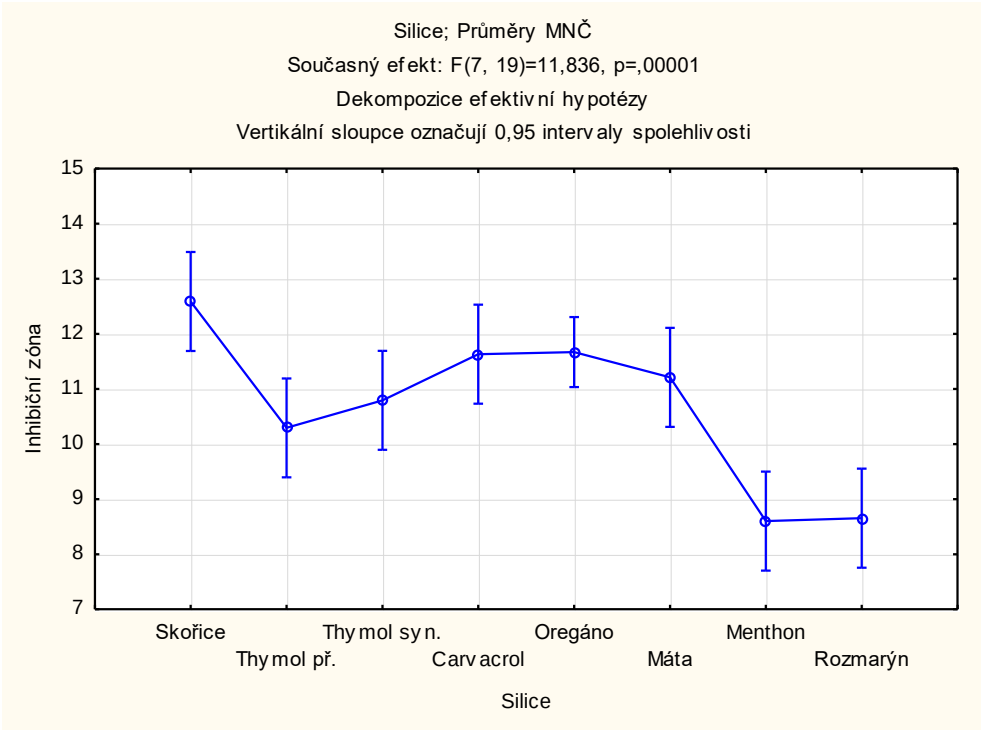
Silice a jejich komponenty byly hodnoceny také zvlášť po jednotlivých koncentracích. Při koncentraci 100 µl/ml (Graf 1) byl viditelný významný antibakteriální účinek thymolu přírodního, thymolu syntetického a carvacrolu, který byl srovnatelný se standardem silice ze skořice. U koncentrace 50 µl/ml (Graf 2), což byl hraniční bod, při kterém měly ještě všechny silice a jejich komponenty baktericidní vliv na *Pcc*, bylo dosaženo podobných hodnot inhibičních zón silic, jejich komponent a standardu skořice s výjimkou menthonu a rozmarýnu.

Graf 1. Srovnání jednotlivých silic a jejich komponent při koncentraci 100 µl/ml



Pozn.: Inhibiční zóny jsou měřeny v mm.

Graf 2. Srovnání jednotlivých silic a jejich komponent při koncentraci 50 µl/ml



Pozn.: Inhibiční zóny jsou měřeny v mm.

Minimální baktericidní koncentrace (MBC)

Bylo zjištěno, že silice z oregana má baktericidní účinky již při koncentraci 25 µl/ml, což je srovnatelné s MBC pro skořici (Tab. 1). U silice z rozmarýnu a rovněž thymolu přírodního, thymolu syntetického a carvacrolu bylo dosaženo MBC až při 50 µl/ml. Nejnižší účinek na *Pcc* byl zaznamenán u silice z máty s MBC odpovídající 100 µl/ml.

Božik et al. (2017) potvrzují významný účinek silice z oregana na *Pcc* a zároveň konstatují, že samostatné komponenty carvacrol a thymol měly slabší účinek než silice z oregana. Didry et al. (1994) uvádí, že carvacrol a thymol působí synergicky, což by vysvětlovalo silnější účinek silice z oregana oproti carvacrolu a thymolu. Kachur a Suntres (2020) zdůrazňují také možnost využití carvacrolu a thymolu pro desinfekci různých produktů proti bakteriálním patogenům člověka přenosných potravinami.

Prieto et al. (2020) při hodnocení účinnosti silic na původce aktinobakteriální obecné strupovitosti bramboru *Streptomyces scabiei* zjistili vysokou účinnost silic z tymiánu a nižší účinnost silic z oregana a máty. Naopak vysokou účinnost silic z různých druhů a mezidruhových kříženců rodu *Mentha* vůči bakterii *Rhizobium radiobacter* a *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* vyhodnotili ve svých testech Schollenberger et al. (2018).

Nižší antibakteriální účinnost k *Pcc* byla v našich testech zjištěna u silice z rozmarýnu. Také Alamshahi et al. (2010) uvádí, že silice z rozmarýnu má mírné účinky na *Pcc*. Oproti tomu Bellumori et al. (2021) zjistili vysokou účinnost různých komponent silice z rozmarýnu na bakterii *Pseudomonas viridiflava*.

Závěr

U všech vybraných silic a komponentů z rostlin čeledi *Lamiaceae* byly v laboratorních podmínkách prokázány baktericidní účinky k bakterii *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. Toto zjištění je významné pro následné testování a rozšiřování spektra silic a komponent, které by mohly být využitelné v oblasti ochrany rostlin v systémech ekologického zemědělství.

Dedikace

Tento příspěvek vznikl za podpory NAZV Mze č. QK21010083.

Použitá literatura

Alamshahi L., Hosseininezhad M., Panjehkeh N., Sabbagh S. K., Sadri S., 2010. Antibacterial effects of some essential oils on the growth of *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum*. The 8th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology, Pattaya, Thailand. 170–176.

Bellumori M., Innocenti M., Congiu F., Cencetti G., Raio A., Menicucci F., Mulinacci N., Michelozzi M., 2021. Within-plant variation in *Rosmarinus officinalis* L. terpenes and phenols and their antimicrobial activity against the Rosemary Phytopathogens *Alternaria alternata* and *Pseudomonas viridiflava*. Molecules, 26, 3425. https://doi.org/ 10.3390/molecules26113425.

Božik M., Nový P., Klouček P., 2017. Susceptibility of postharvest pathogens to essential oils. Scientia Agriculturae Bohemica, 48 (3), 103–111.

Bravo Cadena M., Preston G. M., Van Der Hoorn R. A. L., Townley H. E., Thompson I. P., 2018. Species-specific antimicrobial activity of essential oils and enhancement by encapsulation in mesoporous silica nanoparticles. Industrial Crops and Products, 122 (1), 582–590.

Didry N., Dubreuil L., Pinkas M., 1994. Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenole on oral bacterial. Pharm Acta Helv., 69, 25–28.

EUCAST, 2003. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. European Society of Clinical Microbiology and Infection Diseases, CMI, 9, 1–7.

EUCAST, 2021. Vyšetření citlivosti k antibiotikům, EUCAST disková difuzní metoda. European Society of Clinical Microbiology and Infection Diseases, verze 9, 1–21.

Guerra M. L., Guerra Y. L., Souza E. B., Mariano R. L. R.**,** 2014. Essential plant oils in reducing the intensity of soft rot in Chinese cabbage. Revista Ciência Agronômica [online]. 45 (4), 760–766. Dostupné na: <https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000400014>.

Hajian-Maleki H., Baghaee-Ravari S., Moghaddam M., 2019. Efficiency of essential oils against *Pectobacterium carotovorum* subsp. *carotovorum* causing potato soft rot and their possible application as coatings in storage. Postharvest Biology and Technology, 156, 110928.

Hajian-Maleki H., Baghaee-Ravari S., Moghaddam M., 2021. Herbal essential oil exert a preservative effect against the potato soft rot disease. Scientia Horticulturae, 285, 110192.

Kachur K., Suntres Z., 2020. The antibacterial properties of phenolic isomers, carvacrol and thymol. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 60, 18, 3042–3053.

Kůdela V., Novacky A., Fucikovsky L., 2002. Rostlinolékařská bakteriologie. Academia Praha.

Mehrsorosh H., Gavanji S., Larki B., Mohammadi M. D., Karbasiun A., Bakhtari A., Hashemzadeh F., Mojiri A., 2014. Essential oil composition and antimicrobial screening of some Iranian herbal plants on *Pectobacterium carotovorum*. Global NEST Journal, 16 (2), 240–250.

Prieto M. C., Lapaz M. I., Lucini E. I., Pianzzola M. J., Grosso N. R., Asensio C. M., 2020. Thyme and suico essential oils: promising natural tools for potato common scab control Plant Biology 22, 81–89.

Sheheen H. A., Issa M. Y., 2020. In vitro and in vivo activity of *Peganum harmala* L. alkaloids against phytopathogenic bacteria. Scientia Horticulturae, 264, 108940.

Schollenberger M., Staniek T. M., Paduch-Cichal E., Dasiewicz B., Gadomska-Gajadhur A., Mirzwa-Mróz E., 2018. The activity of essential oils obtained from species and interspecies hybrids of the *Mentha* genus against selected plant pathogenic bacteria. Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus, 17(6), 167–174. DOI: 10.24326/asphc.2018.6.17.

Kontaktní adresa:

Ing. Barbora Jílková, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství
Zemědělská 1665/1, 613 00 Brno
+420 545 133 124, jilkova@mendelu.cz

Vliv vybraných rostlinných silic na růst mycelia houby *Rhizoctonia solani* Kühn, 1858

The effect of selected plant essential oils on mycelial growth of fungus *Rhizoctonia solani* Kühn, 1858

Kmoch M.[1], Nevolová H.[1], Jílková B.[2], Pokorný R.[2], Vacek J.[1]

[1] Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.
[2]Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Houba *Rhizoctonia solani* je významným půdou přenosným patogenem bramboru. Pro její eliminaci jsou využívány syntetické fungicidy, které mohou mít řadu negativ. Ekologickou alternativou jsou esenciální oleje (EO), silice, které jsou extrahované z aromatických rostlin. Cílem pokusů bylo vyhodnocení vlivu vybraných rostlinných silic (cinamaldehyd, carvacrol, D-carvone, α-pinene a L-linalool) na růst mycelia *R. solani*. Pro tento účel byly provedeny *in vitro* testy s použitím čistých EO o koncentraci 0, 100, 200, 400, 800 a 1600 ppm v kultivačním médiu a byla stanovena inhibice růstu mycelia. Mezi kontrolou a jednotlivými koncentracemi EO byly zjištěny statisticky významné rozdíly. Všechny hodnocené EO měly vliv na inhibici růstu mycelia. Antifungální aktivita jednotlivých EO se však významně lišila. Nejsilnější antifungální aktivitu prokázal carvacrol a cinamaldehyd, nejnižší naopak α-pinen.
Klíčová slova: *Rhizoctonia solani*, esenciální oleje, antifungální aktivita.

Abstract

The fungus *Rhizoctonia solani* is an important soil-borne potato pathogen. For its elimination synthetic fungicides are used that can have many disadvantages. An ecological alternative are essential oils (EO) extracted from aromatic plants. The aim of the trials was an evaluation of the effect of selected plant essential oils (cinamaldehyde, carvacrol, D-carvone, α-pinene and L-linalool) on mycelial growth of *R. solani*. For this purpose *in vitro* tests were performed using pure EO in concentrations of 0, 100, 200, 400, 800 and 1600 ppm in the culture medium and mycelial growth inhibition was determined. Statistically significant differences were found between control and individual EOs concentrations. All evaluated EOs had an effect on mycelial growth inhibition. However, the antifungal activity of individual EOs differed significantly. The highest antifungal activity was recorded for carvacrol and cinamaldehyde, the lowest one for α-pinene.
Keywords: *Rhizoctonia solani*, Essential oils, Antifungal activity.

Úvod

Rhizoctonia solani J.G. Kühn, 1858 [teleom.: *Thanatephorus cucumeris* (A.B. Frank) Donk, 1956) je jedním z nejzávažnějších houbových patogenů přenosných půdou (Sneh *et al*., 1991). Houba je patogen rostlin a saprofyt (Frank & Leach, 1980). Napadá celou řadu plodin hospodářského významu po celém světě, včetně brambor, fazolí, rajčat, sóji, jahod, tulipánů aj. (Kotba *et al*., 2018; Lahlali & Hijri, 2010; Ismail & Ismail, 2011; Naher *et al*. (2014). Onemocnění bramboru vyvolává hlavně anastomóza skupiny 3 (AG-3), i když brambor může rovněž infikovat několik dalších skupin (AG-4, AG-5 a AG-9) [Anguiz & Martin, 1989; Balali *et al*., 1995]. *R. solani* může vyvolat značné ztráty na výnosu brambor (Tsror, 2010). Na bramboru způsobuje krátce po výsadbě infekce klíčků a stolonové a stonkové nekrózy a může výrazně zpozdit vzcházení rostlin. Stolonová infekce ovlivňuje počet a velikost sklizených hlíz

a při vyšší infekci celkové snížení výnosu (1994; Hide *et al*., 1996). Na hlízách se mohou vyvíjet sklerocia *R. solani*, což má za následek vzniku tzv. vločkovitosti hlíz bramboru, která ovlivňuje kvalitu hlíz a působí jako zdroj inokula (Banville, 1989). Sklerocia v půdě na organickém materiálu zůstávají životaschopná po mnoho let (Tsror, 2010).

K zamezení ztrát na výnosu způsobených *R. solani* se často používají chemické fungicidy. Jejich intenzivní a nesprávné používání vedlo nejen k vývoji rezistentních patogenů, ale i k toxickým účinkům na necílové organismy a k zvýšení kontaminace půdy (Arcury & Quandt 2003; Huang *et al*., 2012). Evropská unie prosazuje regulaci používání fungicidů z důvodu jejich dopadu na ekosystém a nepříznivých účinků, které mohou představovat pro člověka. (Sempere *et al*., 2021). Díky výše popsaným skutečnostem je třeba hledat alternativní způsoby ochrany před patogeny (Zubrod *et al*., 2019). Ekologickou alternativou syntetických chemikálií k omezování patogenů jsou silice (esenciální oleje, EO) a jejich složky s nízkou toxicitou extrahované z aromatických rostlin (Isman & Machial, 2006; Sempere *et al*., 2021). EO jsou koncentrované, hydrofobní kapaliny obsahující těkavé aromatické látky (komplexní směsi esterů, aldehydů, ketonů, terpenů a dalších těkavých sloučenin s nízkou molekulovou hmotností) [Isman, 2000; Bakkali *et al*., 2008; Isman *et al*., 2011; Bergman *et al*., 2019). Slouží mj. k obraně proti býložravým škůdcům a k přilákání opylovačů (Theis & Lerdau *et al*., 2003; Tholl, 2006]. Silice s pesticidními účinky byly získány z rostlin různých čeledí, např. Apiaceae, Asteraceae, Chenopodiaceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Zingiberaceae, Umbelliferae a Geraniaceae [Regnault *et al*., 2012; Ebadollahi & Jalali, 2015; Rajendran & Sriranjini, 2008; Bahrami *et al*., 2016]. Získávají se z různých částí rostlin, jako jsou květy, pupeny, semena, listy, větve, kůra, dřevo, plody a kořeny (Bergman *et al*., 2019). Kvůli přirozenému původu jsou snadno biologicky rozložitelné (Pavela, 2016). Rostlinné extrakty se po staletí používají k nejrůznějším účelům (např. tradiční medicína, průmyslové aplikace, kosmetika, konzervace potravin) kvůli jejich antimikrobiálním vlastnostem, a protože většina z nich je zařazena do kategorie bezpečných pro člověka (Busquet *et al*., 2005). Hlavní důvody pro použití esenciálních olejů jako antifungálních látek je jejich přírodní původ a malá šance na vývoj rezistence patogenů. Mají minimální nepříznivý účinek na fyziologické procesy rostlin a prostředí ve srovnání s jejich syntetickými alternativami (Gnanamanickam, 2002).

Cílem pokusů bylo *in vitro* vyhodnocení vlivu vybraných rostlinných silic (cinamaldehyd, carvacrol, D-carvone, α-pinene a L-linalool) na růst mycelia *R. solani*.

Materiál a Metody

Houby *R. solani* potřebné pro pokusy byly izolovány z přirozeně infikovaných hlíz bramboru vykazujících typické příznaky onemocnění (sklerocia na slupce). Hlízy pocházely z České republiky (Českomoravská vrchovina). Sklerocia oddělená z hlíz byla dezinfikována v 70% ethanolu po dobu jedné minuty, poté byla promyta sterilní destilovanou vodou a sušena na sterilním filtračním papíru. Dezinfikovaná sklerocia byla rozdělena na několik kusů a dále kultivována na PDA (Potato dextrose agar) médiu při 25 ± 1 °C a byla provedena purifikace izolovaných hub. Patogen byl potom na základě vlastností kultur, morfologických a mikroskopických charakteristik identifikován jako *R. solani*, jak popsal Sneh *et al*. (1991).

Antifungální aktivita testovaných silic byla stanovena za použití techniky inhibice radiálního růstu mycelia. Pro pokusy byly vybrány čisté přírodní EO cinamaldehyd (≥95%, natural), carvacrol (99%, natural), D-carvone (≥96%, natural), α-pinene (98%) a L-linalool (≥95%, natural) [Sigma-Aldrich, Německo]. Testované EO byly ředěny 96% etanolem (100 µl oleje v 1 ml ethanolu) s následným přidáním pár kapek Tweenu 20 [0,01% (v/v)] k dokonalému rozptýlení v médiu. Příslušný objem rozpuštěné silice byl přidán do sterilizovaného PDA média (o teplotě 40–45°C) pro získání konečné koncentrace 0-1600 ppm. Po dostatečném promíchání

byly výsledné roztoky PDA okamžitě nality do Petriho misek (20 ml/PM) o průměru 9 cm. Po ztuhnutí živné půdy byl pomocí korkovrtu vykrojen agarový disk s inokulem houby (o průměru 6 mm) z mladé kultury a umístěn do středu Petriho misek, které byly následně utěsněny parafilmem. Od každé varianty koncentrace byly připraveny tři opakování a PM byly inkubovány při 25 ± 1 ° C po dobu tři až pět dnů, dokud růst mycelia na kontrolách (PDA bez EO) nedosáhl okraje PM. Potom byl změřen průměr kolonií jednotlivých variant pokusu (v mm) a byly vypočítány parametry inhibice růstu mycelia. MGI (inhibice růstu mycelia) byla vypočítána pomocí následujícího vzorce (Albuquerque *et al*., 2006): MGI (%) = [(DC - DO)/DC] × 100

DC: Radiální růst mycelia kontroly (mm) – průměr kolonie houby neošetřené EO

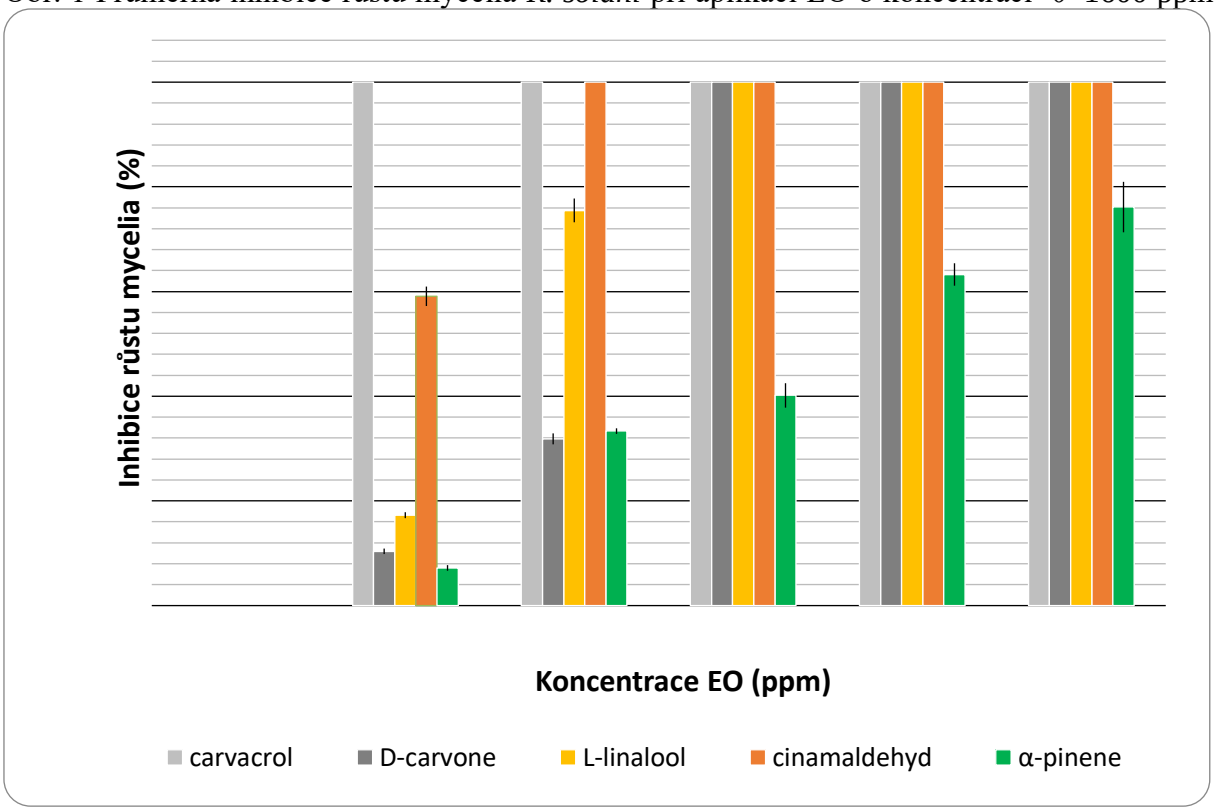
DO: Radiální růst mycelia (mm) – průměr kolonie houby ošetřené EO

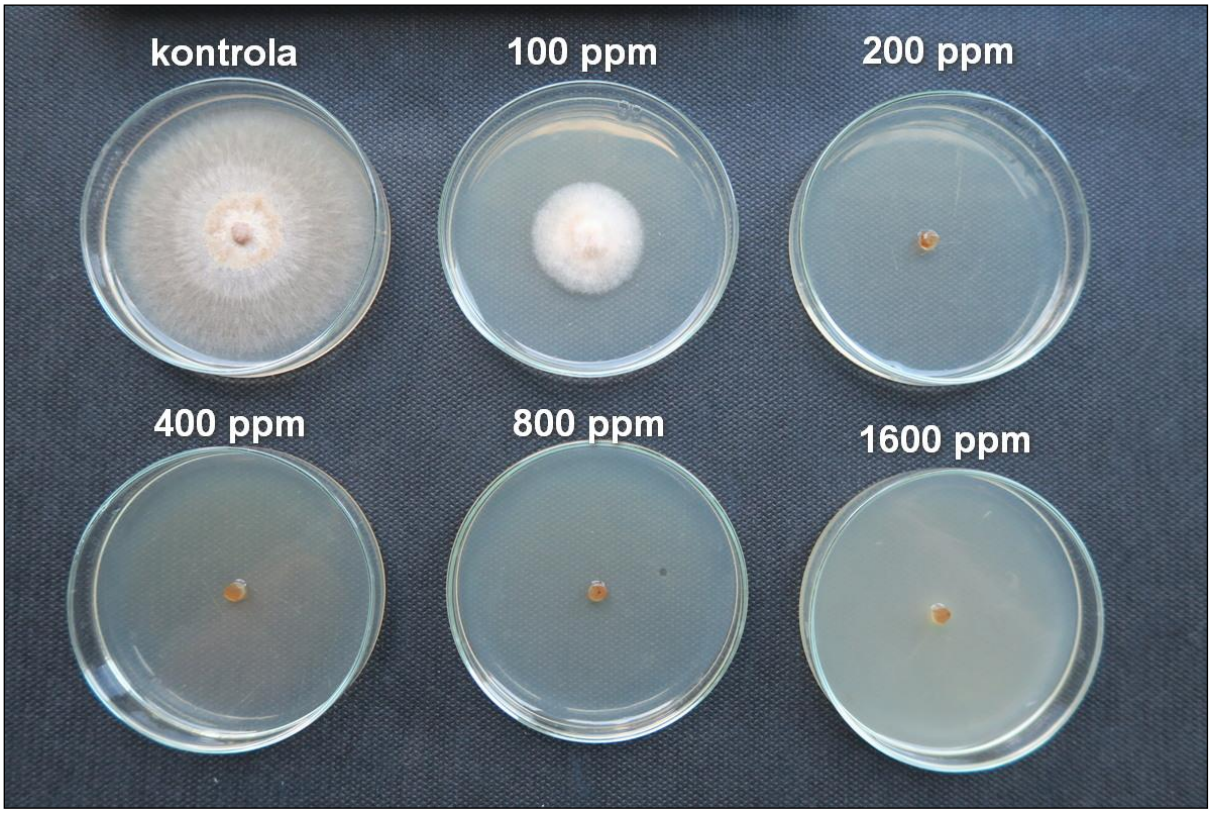
Statistické vyhodnocení pokusu bylo provedeno pomocí analýzy rozptylu (MS Excel).

Výsledky a diskuze

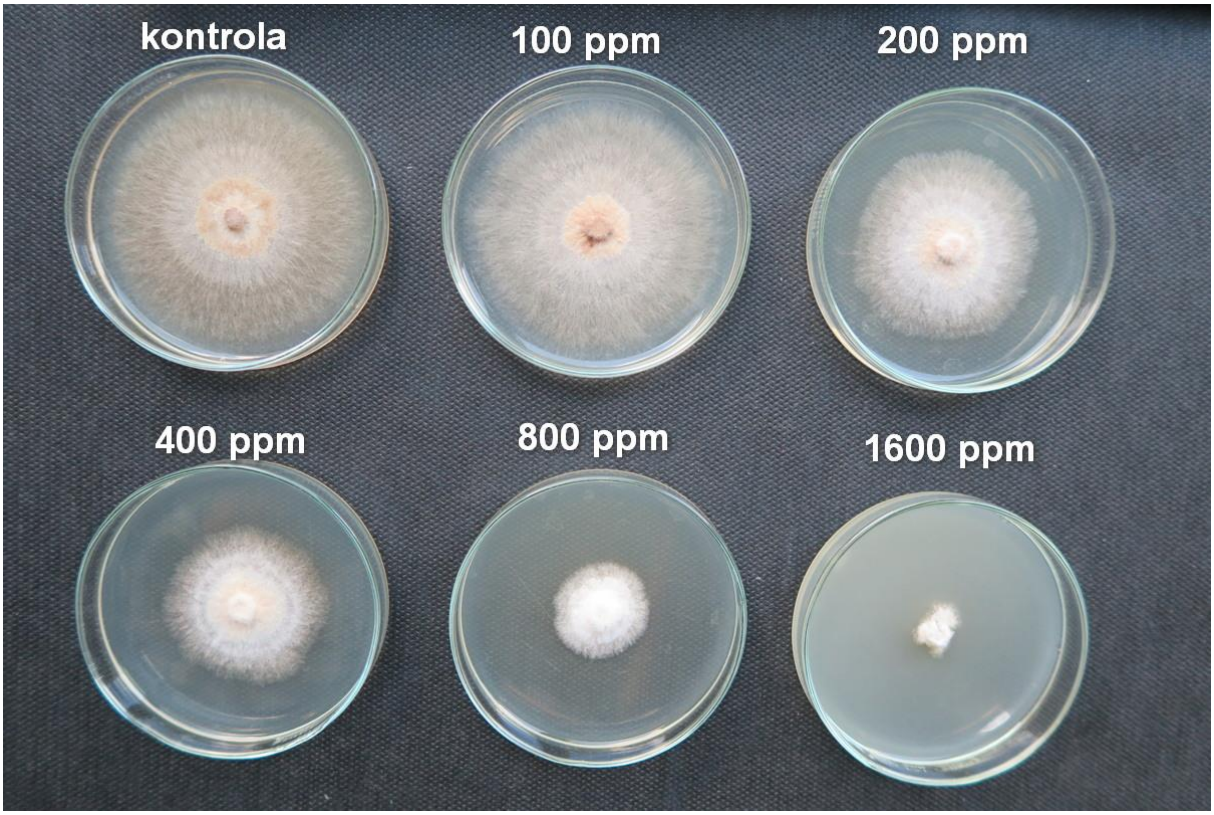
V laboratorních *in vitro* experimentech byl testován vliv vybraných rostlinných esenciálních olejů při různých koncentrací na inhibici růstu mycelia *R. solani*. Z výsledků vyhodnocení pokusů vyplývá, že všechny hodnocené silice měly antifungální aktivitu (obr. 1). Mezi kontrolou a jednotlivými koncentracemi silic byly zjištěny významné rozdíly. Antifungální aktivita jednotlivých EO se však významně lišila. Nejvyšší antifungální aktivita byla zaznamenána u carvacrolu a cinamaldehydu (obr. 2), které způsobily již při koncentraci 100 ppm inhibici růstu mycelia *R. solani* 100 %, respektive 59,0 %. Carvacrol měl 100% účinnost při všech koncentracích. Výsledky se shodují s prácemi jiných autorů. Dobrou antifungální aktivitu carvacrolu publikoval Sempere *et al*. (2021). Carvacrol je monoterpenoidní fenol s výraznou antifungální aktivitou, který byl izolovaný například z oregana (*Origanum vulgare*), majoránky (*Origanum majorana*) a tymiánu (*Thymus* sp.) [Vincenzi *et al*., 2004]. Antimykotickou aktivitu cinamaldehydu proti *R. solani* popsal (Xie *et al*., 2017). Vynikající inhibiční účinek cinamaldehydu na *R. solani* a *Fusarium solani* publikoval (Lee *et al*., 2005). Podle Shreaz *et al*. (2016) cinnamaldehyd inhibuje bakterie, kvasinky a vláknité houby prostřednictvím inhibice ATPáz, biosyntézy buněčné stěny a změny struktury a integrity membrány. Cinnamaldehyd je viskózní organická fenolická sloučenina poskytující charakteristickou chuť a vůni skořice. Nachází se v kůře skořicového stromu a dalších druhů rodu *Cinnamomum*. Skořicový olej EO může obsahovat až 90 % cinnamaldehydu (Guzman, 2014). Účinnost L-linaloolu a D-carvonu byla oproti carvacrolu a cinamaldehydu nižší. Nejnižší antifungální aktivita byla zaznamenána u α-pinenu (obr. 3), kdy při koncentraci 1600 ppm byla zjištěna pouze 76,1% inhibice. Kromě α-pinenu měly všechny hodnocené silice 100% účinek již při 400 ppm.

Obr. 1 Průměrná inhibice růstu mycelia *R. solani* při aplikaci EO o koncentraci 0–1600 ppm





Obr. 2 Inhibice růstu mycelia *R. solani* při aplikaci cinamaldehydu o koncentraci 0–1600 ppm



Obr. 3 Inhibice růstu mycelia *R. solani* při aplikaci α-pinenu o koncentraci 0–1600 ppm

Závěr

Pro zjištění vlivu vybraných rostlinných silic (cinamaldehyd, carvacrol, D-carvone, α-pinene a L-linalool) na růst mycelia *R. solani* byly provedeny laboratorní *in vitro* pokusy a byla vyhodnocena inhibice růstu mycelia při různých koncentracích (0, 100, 200, 400, 800 a 1600 ppm v kultivačním médiu). Mezi kontrolou a jednotlivými koncentracemi silic byly zjištěny statisticky významné rozdíly. Všechny hodnocené silice měly vliv na inhibici růstu mycelia *R. solani*. Antifungální aktivita jednotlivých EO se však významně lišila. Nejsilnější antifungální aktivitu prokázal carvacrol a cinamaldehyd. Účinnost L-linaloolu a D-carvonu byla oproti carvacrolu a cinamaldehydu nižší. Nejnižší antifungální aktivita byla zaznamenána u α-pinenu. Účinnost testovaných EO je nutné ještě ověřit v poloprovozních a provozních podmínkách, kde by mohly být aplikovány před výsadbou brambor pro snížení infekce rostlin houbou *R. solani* během vegetačního období (klíčení a vzcházení). V případě dostatečné účinnosti na infekci by bylo možné rostlinné silice využít v ekologické produkci brambor pro moderní ochranu proti *R. solani*, která je šetrná k životnímu prostředí, udržitelná a bezpečná pro člověka.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován s podporou projektu NAZV QK21010083 „Ekologická ochrana konzumních brambor jako zdravé zeleniny proti vybraným půdou a sadbou přenášeným patogenům“.

Použitá literatura

Albuquerque De C. C., Camara T. R., Mariano R. D. L. R., Willadino L., Júnior C. M., Ulisses C., 2006. Antimicrobial action of the essential oil of *Lippia* gracilis Schauer. Braz. Arch. Biol. Technol., 49, 527–535.

Anguiz R, Martin C, 1989. Anastomosis groups, pathogenicity and other characteristics of *Rhizoctonia solani* isolated from potato in Peru. Plant Disease, 73, 199–201.

Arcury T. A., Quandt S. A., 2003. Pesticides at work and at home: exposure of migrant farmworkers. Lancet, 362, 9400, p. 2021.

Bahrami R., Kocheili F., Ziaee M., 2016. Fumigant toxicity and persistence of essential oils from asafetida, geranium, and walnut on adults of *Rhyzopertha dominica* (Col.: Bostrichidae). Toxin Rev., 35, 63–68.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008. Biological efects of essential oils-A review. Food Chem. Toxicol., 46, 446–475.

Balali G. R, Neate S. M, Scott E. S, Whisson D. L, Wicks T. J, 1995. Anastomosis group and pathogenicity of isolates of *Rhizoctonia solani* from potato crops in South Australia. Plant Pathology, 44, 6, 1050-1057.

Banville G. J., 1989. Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn. American Potato Journal, 66, 821–34.

Bergman M. E., Davis, B.; Phillips M. A., 2019. Medically useful plant terpenoids: Biosynthesis, occurrence, and mechanism of action. Molecules, 24, 3961.

Busquet M., Calsamiglia S., Ferret A., Cardozo P., Kamel C., 2005. J. Dairy Sci., 88, 2508. Hide G. A., Horrocks J. K., 1994. Influence of stem tanker (*Rhizoctonia solani* Kuhn) on tuber yield, tuber size, reducing sugars and crisp colour in cv. Record. Potato Research, 37, 43–9.

Ebadollahi A., Jalali-Sendi J., 2015. A review on recent research results on bio-efects of plant essential oils against major Coleopteran insect pests. Toxin Rev., 34, 76–91.

Frank J. A., Leach S. S., 1980. Comparison of tuberborne inoculum in the *Rhizoctonia* disease of potato. Phytopathology, 70, 51-53.

Gnanamanickam S. S., 2002. Biological Control of Crop Diseases. Marcel Dekker Inc. New York, USA, 468 pp.

Guzman J. D., 2014. Natural cinnamic acids, synthetic derivatives and hybrids with antimicrobial activity. Molecules, 19, 19292–19349.

Hide G. A, Welham S. J., Read P. J., Ainsley A. E., 1996. The yield of potato plants as affected by stem canker (*Rhizoctonia solani*), blackleg (*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) and by neighbouring plants. Journal of Agricultural Science, 126, 429–40.

Huang X., Zhang N., Yong X., Yang X., Shen Q., 2012. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off disease in cucumber with *Bacillus pumilus* SQR-N43. Microbiological Research, 167, 3, 135-143.

Isman M. B., 2000. Plant essential oils for pestand disease management. Crop Prot. 19, 603-608.

Isman M. B., Miresmailli S., Machial C., 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant Essentials oils in agriculture, industry and consumer products. Phytochem. Rev., 10, 197–204.

Kotba I., Achouri M., Benbouazza A., Touhami A. O., Douira, A., 2018. Morphological, Pathogenic and Molecular Characterisation of *Rhizoctonia solani* strains isolated from Potato. Annual Research & Review in Biology, 1-16.

Lahlali R., Hijri M., 2010. Screening, identification and evaluation of potential biocontrol fungal endophytes against *Rhizoctonia solani* AG3 on potato plants. FEMS microbiology letters, 311, 2, 152-159.

Lee H. Ch., Cheng S. S., Chang S. T., 2005. Antifungal property of the essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum* leaf against tree pathogenic fungi. Journal of the Science of Food and Agriculture., 85, 2047-2053.

Naher L., Ali M. A., Dey T. K., Islam M. M., Ismail, A., 2014. Evolution of disease and potential biocontrol activity of T*richoderma* sp. against *Rhizoctonia solani* on potato. *Bioscience Journal*, *30*, 4, 1108-1117.

Pavela R., Benelli G., 2016. Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. Trends Plant Sci., 21, 1000–1007.

Rajendran S., Sriranjini V., 2008. Plant products as fumigants for stored product insect control. J. Stored Prod. Res., 44, 126–135.

Regnault R. C., Vincent C., Arnason J. T., 2012. Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. Annu. Rev. Entomol., 57, 405–424.

Sempere F. F., Asamar J., Castell V. Roselló J., Santamarina M. P, 2021. Evaluating the Antifungal Potential of Botanical Compounds to Control *Botryotinia fuckeliana* and *Rhizoctonia solani*. Molecules., 26, 9, 2472.

Shreaz S., Wani W., Behbehani J., Raja V., Irshad M., Karched M., Ali I., Siddiqui W., Ting H. L., 2016. Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of antifungal agents. Fitoterapia., 112, 116-131.

Sneh B., Burpee L., Ogoshi A, 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. The APS Press, St. Paul, MN, USA, 133 pp.

Theis N., Lerdau M., 2003. The evolution of function in plant secondary metabolites. Int. J. Plant Sci., 164, 93–102.

Tholl D., 2006. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. Curr. Opin. Plant Biol., 9, 297–304.

Tsror L., 2010. Biology, Epidemiology and Management of *Rhizoctonia solani* on Potato. Journal of Phytopathology, 158. 649 - 658.

Vincenzi De M., Stammati A., Silano M., 2004. Constituents of aromatic plants: Carvacrol. Fitoterapia, 75, 801–804.

Xie Y. J., Huang Q., Wang Z., Cao H., Zhang D., 2017. Structure-activity relationships of cinnamaldehyde and eugenol derivatives against plant pathogenic fungi. Industrial Crops and Products. 97. 388-394.

Zubrod J. P., Bundschuh M., Arts G., Brühl C. A., Imfeld G., Knäbel A., Payraudeau S., Rasmussen J. J., Rohr J., Scharmüller A. *et al*., 2019. Fungicides: an overlooked pesticide class? Environ. Sci. Technol., 53, 3347–3365.

Kontaktní adresa:

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

Citlivosti nosatčíků rodu *Apion* k účinným látkám insekticidů v letech 2018 – 2020

Results of susceptibility of laboratory testing of *Apion* weevils to the a.i. of insecticides in 2018 – 2020

Kolařík P., Kolaříková K.

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

Abstrakt

Byla testována citlivost populací nosatčíků rodu *Apion* z vybraných lokalit České republiky k lambda-cyhalothrinem (8 populací v roce 2018, 4 populace v roce 2019, 5 populací v roce 2020) a tau-fluvalinatem (5 populací v roce 2020) a přípravku Biscaya 240 OD (5 populací v roce 2020) metodou IRAC č. 011 verze 3 a č. 021. Ve všech letech převládaly vysoce citlivé populace. Citlivé populace byly zjištěny u nosatčíků v roce 2018 na 4 lokalitách. Hodnoty LD_{50}, LD_{90} a LD_{95} odhadované pro testované populace se pohybovaly ve všech případech na velmi nízké úrovni v porovnání s registrovanými dávkami u obou testovaných účinných látek.

Klíčová slova: rezistence; hmyzí škůdci; insekticidy; jetel luční; nosatčíci rodu *Apion*

Abstract

Sensitivity of *Apion* weevil populations from selected localities in the Czech Republic has been tested by lambda-cyhalothrin (8 populations in 2018, 4 populations in 2019, 5 population in 2020 in weevils; and tau-fluvalinate (2 populations in 2019, 5 population in 2020) and Biscaya 240 OD (5 population in 2020) using IRAC # 011 version 3 and 021. Highly sensitive populations were predominant in both years of testing. Sensitive populations were found for *Apion* weevils in 2018 at 4 localities. The LD_{50}, LD_{90} and LD_{95} values estimated for the test populations in all years of monitoring were in all cases at a very low level compared to the registered doses for all active substances tested.

Keyword: resistence; insect pests; insecticides; red clover; *Apion* weevils

Úvod

Nosatčíci roku rodu *Apion* a *Protapion* jsou uváděni jako nejvýznamnější škůdci u jetele lučního (Kolařík et al., 2012; Langer et al., 2008). V porostech mohou způsobit výrazné ztráty na výnosu jetelového semene. Jejich larvy vyžírají bazální části jetelových kvítků. Pro ochranu se zde dříve používaly především pouze pyrethroidní přípravky (registrace Karate se Zeon technologií 5 SC, ú.l. lambda-cyhalothrin). U tohoto škůdce se tak významně zvyšuje riziko vyselektování méně citlivé (rezistentní) populace k dané skupině účinných látek.

Rezistence (odolnost) je dle definice Světové zdravotnické organizace (WHO) schopnost členovců přežívat dávky insekticidů, které působí hynutí většiny jedinců normální populace. Je možné kvantifikovat rezistenci populace z poměru hodnot: LD_{50} pro sledovanou rezistentní populaci a LD_{50} pro kontrolní populaci. Jedná se o množství látky, po které uhynulo 50 % testovaných živočichů za 24 hodin po expozici (Hrudová, 2008). Rezistence vůči insekticidům jako projev je obvykle výsledkem kombinace několika mechanizmů rezistence a není jednoduché odlišit obzvláště na fenotypové úrovni (při hodnocení projevu různým dávkám insekticidům) vlivy jednotlivých podílejících se mechanismů v kvantitativním smyslu (Seidenglanz et al., 2009 b). V souvislosti s rezistencí hmyzích škůdců vůči pyrethroidům se považují za důležité především dva mechanismy rezistence – ztráta citlivosti cílového místa a metabolická rezistence (Scott, 1991). Je možné kvantifikovat rezistenci populace z poměru

hodnot: LD_{50} pro sledovanou rezistentní populaci a LD_{50} pro kontrolní populaci. Jedná se o množství látky, po které uhynulo 50 % testovaných živočichů za 24 hodin po expozici. Zkratka je z anglického *Lethal Dose*, 50 % (Hrudová, 2008).
Cílem naší práce bylo shromáždit a laboratorně otestovat populace hmyzích škůdců víceletých pícnin (nosatčíci rodu *Apion*) z různých pěstitelských oblastí České republiky pro zjištění iniciálního (počátečního) stavu citlivostí k vybraným účinným látkám.

Materiál a metody
Laboratorní metodou použitou pro hodnocení citlivosti k insekticidům byl lahvičkový test (Adult vial test) doporučovaný organizací Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). Pro pyrethroidy (lambda-cyhalothrin, tau-fluvalinate) je určena Metoda č. 011 (Met 011, verze 3, pro přípravek Biscaya 240 OD (ú.l. thiacloprid) pak metoda č. 021. Metody jsou detailně popsány na stránkách IRAC: http://www.irac-online.org. Roztoky insekticidů se aplikují do skleněných lahviček se známým vnitřním povrchem (v našem případě: 37,97 cm^2) ve velmi nízkých koncentracích pomocí dávkovacích pipet. Jako rozpouštědlo slouží aceton. Cílem aplikace je dosáhnout rovnoměrného pokrytí vnitřních stěn testovacích lahviček příslušnou dávkou účinné látky: určitá dávka v µg ú.l./cm^2 povrchu lahvičky odpovídá určité hektarové dávce. Mezi testovanými dávkami je zařazena i kontrola (= 0 µg ú.l./ cm^2) a dávka odpovídající dávce registrované. U lambda-cyhalothrinu bylo testováno 6 různých dávek, u tau-fluvalinatu pak 5 různých dávek. Ověřovaná populace, resp. insekticid, byla každá dávka testována ve třech opakováních (= 3 lahvičky od každé dávky).
Příprava lahviček před vlastním testem: do testovací lahvičky byl z příslušného zásobního roztoku přenesen 1 ml tekutiny. Lahvičky s roztokem byly bezprostředně po aplikaci umístěny na otáčející se válečky rolleru. Po odpaření acetonu zůstala na vnitřních stěnách rovnoměrně rozprostřená vrstva konkrétní účinné látky.
Do připravených lahviček se vkládali dospělci (10 imag/lahvičku) odebraní z určité lokality. Reakce brouků na jednotlivé dávky účinné látky byly hodnoceny po 24 hodinách. Na základě charakteru reakcí jsou brouci zařazení do kategorie 1 (živí a aktivní jedinci) či 2 (jedinci postižení a mrtví jedinci)
Pro každou testovací lahvičku (dávka a opakování) je vyjádřen počet brouků v kategorii 1 a počet brouků v kategorii 2. Na základě podílu brouků v kategorii 2 je stanoveno procento mortality pro jednotlivé dávky a opakování. Tyto hodnoty jsou využity pro vyjádření procent účinností a hodnot letálních dávek (LD_{50}, LD_{90} a LD_{95}). Pro jednotlivé sběry (= populace) byly stanoveny hodnoty účinnosti pro jednotlivé testované dávky (dle Abotta; 1925). K vyjádření hodnot letálních dávek (LD_{50-95} v g ú.l./ha) je využit software Polo Plus (LEORA software; metoda probitová regrese). V případě pyrethroidů je na základě zaznamenaných výsledků populacím přiřazen určitý stupeň rezistence (resp. citlivosti) dle kategorizace užívané v IRAC.

Výsledky a diskuze
Odebrané vzorky hmyzu (nosatčíci rodu *Apion*) byly získány smýkáním porostu jetele lučního. Z účinností dosažených 100% a 20% dávkami vyplývá, že se v ČR v rámci screeningového testování k pyrethroidu lambda-cyhalothrin v roce 2018 vyskytovalo 50 % populací nosatčíků vysoce citlivých (stupeň citlivosti 1) a 50 % populací citlivých (stupeň citlivosti 2). V roce 2019 a 2020 pak byly zaznamenány pouze populace vysoce citlivé. Účinnost dosahovaná registrovanou dávkou byla ve většině případů plně dostatečná (100 %), hodnoty LD_{95} jsou pro většinu populací v obou letech sledování hluboko pod úrovní registrované dávky (7.5 g ú.l./ha). Používání lambda-cyhalothrinu v ochraně proti tomuto škůdci v semenných porostech jetele lučního je tak na základě laboratorního testování zcela účinné. Zcela odlišná je situace u jiných

druhů hmyzích škůdců, např. blýskáčků nebo u mandelinky bramborové, kteří jsou k dané účinné látce na území České republiky zcela resistentní (Seidenglanz et al., 2018; Kocourek et al., 2018). Populace evropských blýskáčků pak vykazují vysokou úroveň rezistence proti pyrethroidům již několik let (Zimmer & Nauen 2011, Seidenglanz et al. 2014). Celkem bylo k této látce v roce 2018 otestováno 8 českých populací, v roce 2019 pak 4 české populace a v roce 2020 5 českých populací. Podílové zastoupení populací a LD_{50}, LD_{90} a LD_{95} jsou znázorněny v tabulce 1 (rok 2018), v tabulce 2 (rok 2019) a v tabulce 3 (pro rok 2020).
Pro screeningového testování k pyrethroidu tau-fluvalinate (tabulka 5) vyplývá, že se na území ČR vyskytují populace vysoce citlivé k dané ú.l. Na základě výsledků (tabulka 4) z roku 2020 se pro thiacloprid (Biscaya 240 OD) na území ČR vyskytovala 1 populace citlivá a 4 populace vysoce citlivé k dané ú.l. Hodnoty LD dávek se pro danou účinnou látku drží na velmi nízké úrovni. Naproti tomu u blýskáčků je patrné, že i v případě této látky minimální hodnoty LD (LD_{50}, LD_{90}) v průběhu posledních několika let rostou (Seidenglanz et al., 2014).

Tabulka 1: Výsledky testování citlivosti českých populací nosatčíků (rody Apion) na esterický pyrethroid lambda-cyhalothrin v roce 2018

číslo sběru	kód populace	obec	GPS souřadnice	kontakt. lab. účinnost max. registr. dávky 7,5 g/ha (%)	kontakt. lab. účinnost dávky 1,5 g/ha (%)	st. rezistence dle IRAC	LD_{50} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{90} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{95} (g ú.l./ha)	CI (0,95)
1	1NOS	Němčičky	49.0494069N 16.4983489E	100,00	93,33	2	0,33	0.23-0.47	1,27	0.82-2.64	1,87	1.12-4.48
2	2NOS	Troubsko	49.1715461N 16.5119603E	100,00	90,00	2	0,24	0.15-0.36	1,26	0.77-2.87	2,03	1.13-5.53
3	3NOS	Litostrov	49.2298522N 16.3320908E	100,00	96,67	2	0,21	0.15-0.31	0,88	0.56-1.90	1,32	0.77-3.35
4	4NOS	Březí	48.8108578N 16.5829650E	100,00	100,00	1	0,19	0.13-0.27	0,65	0.42-1.36	0,92	0.56-2.26
5	5NOS	Vikýřovice	49.9771111N 17.0178056E	100,00	100,00	1	0,23	0.16-0.31	0,65	0.44-1.28	0,87	0.56-1.99
6	6NOS	Zábřeh na Moravě	49.8822081N 16.8972533E	100,00	96,67	2	0,23	0.16-0.33	0,86	0.55-1.78	1,25	0.75-3.02
7	7NOS	Náměšť na Hané	49.6086564N 17.0875061E	100,00	100,00	1	0,20	0.14-0.29	0,77	0.49-1.71	1,14	0.67-2.98
8	8NOS	Olomouc Topolany	49.5923169N 17.1865311E	100,00	100,00	1	0,23	0.16-0.33	0,86	0.55-1.85	1,25	0.74-3.14
		průměr		***100,00***	***97,08***		***0,23***		***0,90***		***1,33***	
		median		***100,00***	***97,08***		***0,22***		***0,85***		***1,26***	

Tabulka 2: Výsledky testování citlivosti českých populací nosatčíků (rody Apion) na esterický pyrethroid lambda-cyhalothrin v roce 2019

číslo sběru	kód populace	obec	GPS souřadnice	kontakt. lab. účinnost max. registr. dávky 7,5 g/ha (%)	kontakt. lab. účinnost dávky 1,5 g/ha (%)	st. rezistence dle IRAC	LD_{50} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{90} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{95} (g ú.l./ha)	CI (0,95)
1	1NOS	Němčičky	49.0469025N 16.5149814E	100,00	100,00	1	0,17	0.139-0.183	0,28	0.236-0.365	0,33	0.270-0.452
2	2NOS	Javůrek	49.2513472N 16.3703139E	100,00	100,00	1	0,19	0.160-0.226	0,41	0.316-0.626	0,50	0.376-0.852
3	3NOS	Troubsko	49.1758586N 16.5060336E	100,00	100,00	1	0,16	0.139-0.186	0,30	0.246-0.393	0,35	0.284-0.495
4	4NOS	Tvořihráz	48.9185539N 16.1267206E	100,00	100,00	1	0,15	0.114-0.207	0,75	0.461-1.995	1,17	0.646-4.013
		průměr		***100,00***	***100,00***		***0,17***		***0,43***		***0,59***	
		median		***100,00***	***100,00***		***0,16***		***0,35***		***0,43***	

Tabulka 3: Výsledky testování citlivosti českých populací nosatčíků rodu Apio na esterický pyrethroid lambda-cyhalothrin v roce 2020

číslo sběru	kód populace	obec	GPS souřadnice	kontakt. lab. účinnost max. registr. dávky 7,5 g/ha (%)	kontakt. lab. účinnost dávky 1,5 g/ha (%)	st. rezistence dle IRAC	LD_{50} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{90} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{95} (g ú.l./ha)	CI (0,95)
1	1NOS	Jívoví	49.4021392N, 16.0966947E	100,00	100,00	1	0,25	0,186-0,346	0,65	0,448-1,263	0,84	0,555-1,893
2	2NOS	Březejc	49.3461975N, 16.0937336E	100,00	100,00	1	0,19	0,115-0,303	0,68	0,395-1,979	0,99	0,531-3,560
3	3NOS	Troubsko	49.1596914N, 16.5004114E	100,00	100,00	1	0,25	0,156-0,391	0,71	0,434-2,121	0,96	0,549-3,620
4	4NOS	Tvořihráz	48.9194561N, 16.1288236E	100,00	100,00	1	0,22	0,161-0,287	0,39	0,295-1,388	0,46	0,329-2,317
5	5NOS	Němčičky	49.0469850N, 16.5149911E	100,00	100,00	1	0,17	0,106-0,252	0,39	0,254-0,9400	0,49	0,308-1,439
		průměr		***100,00***	***100,00***		**0,21**		**0,56**		**0,75**	
		median		***100,00***	***100,00***		***0,22***		***0,65***		***0,84***	

Tabulka 4: Výsledky testování citlivosti populací nosatčíků rodu Apion na esterický neonikotinoid thiacloprid (Biscaya 240 OD) v roce 2020

číslo sběru	kód populace	obec	GPS souřadnice	kontakt. lab. účinnost max. registr. dávky 72 g/ha (%)	kontakt. lab. účinnost dávky 14.4 g/ha (%)	st. rezistence dle IRAC	LD_{50} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{90} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{95} (g ú.l./ha)	CI (0,95)
1	1NOS	Jívoví	49.4021392N, 16.0966947E	100,00	100,00	1	7,66	6,681-8,992	11,18	9,393-16,984	12,45	10,175-20,680
2	2NOS	Troubsko	49.1596914N, 16.5004114E	100,00	100,00	1	1,66	1,202-2,300	3,13	2,273-6,713	3,75	2,612-9,478
3	3NOS	Němčičky	49.0469850N, 16.5149911E	100,00	100,00	1	2,91	2,082-4,884	6,60	4,173-22,943	8,32	4,936-36,619
4	4NOS	Tvořihráz	48.9194561N, 16.1288236E	100,00	100,00	1	3,43	2,403-5,802	8,15	5,048-26,291	10,42	6,059-41,490
5	5NOS	Březejc	49.3461975N, 16.0937336E	100,00	93,33	2	1,93	1,057-3,197	8,18	4,553-34,060	12,32	6,191-74,085
		průměr		***100,00***	***98,67***		**3,52**		**7,45**		**9,45**	
		median		***100,00***	***100,00***		***2,91***		***8,15***		***10,42***	

Tabulka 5: Výsledky testování citlivosti českých populací nosatčíků rodu Apion na pyrethroid tau-fluvalinate v roce 2020

číslo sběru	kód populace	obec	GPS souřadnice	kontakt. lab. účinnost max. registr. dávky 48 g/ha (%)	kontakt. lab. účinnost dávky 9.6 g/ha (%)	st. rezistence dle IRAC	LD_{50} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{90} (g ú.l./ha)	CI (0,95)	LD_{95} (g ú.l./ha)	CI (0,95)
1	1NOS	Troubsko	49.1596914N, 16.5004114E	100,00	100,00	1	1,35	0,990-1,940	2,96	2,03,2-9,468	3,70	2,377-15,555
2	2NOS	Jívoví	49.4021392N, 16.0966947E	100,00	100,00	1	1,68	1,297-2,763	3,19	2,201-16,635	3,82	2,478-28,552
3	3NOS	Němčičky	49.0469850N, 16.5149911E	100,00	100,00	1	1,23	0,901-1,638	2,35	1,728-6,000	2,82	1,971-9,139
4	4NOS	Tvořihráz	48.9194561N, 16.1288236E	100,00	100,00	1	1,68	1,297-2,754	3,19	2,202-16,401	3,82	2,479-28,062
5	5NOS	Březejc	49.3461975N, 16.0937336E	100,00	100,00	1	1,52	1,147-2,278	3,59	2,069-12,056	3,59	2,352-20,105
		průměr		***100,00***	***100,00***		**1,49**		**3,06**		**3,55**	
		median		***100,00***	***100,00***		***1,52***		***3,19***		***3,70***	

Závěr

V současnosti lze v rámci chemické ochrany použít proti nosatčíkům rodu *Apion* tyto registrované přípravky: Karate se Zeon technologií 5 CS (úč. l. lambda-cyhalothrin 50 g/l) v dávce 0,2 l/ha a Mospilan 20 SP (úč. l. acetamiprid – 20 %) v dávce 150 g/ha (Anonymus, 2021). Při aplikaci neonikotinoidních přípravků s kontaktním a systémovým účinkem dochází k průkaznému snížení početnosti nosatčíků, jak z hlediska vyskytujících se dospělců, tak následně i s menším výskytem larev v jetelových hlávkách. U pyrethroidních přípravků je nutno pro dosažení co nejefektivnější ochrany dodržovat správné podmínky při vlastní aplikaci, především dbát na skutečnost nižší biologické účinnosti těchto přípravků za vyšších denních teplot a UV záření, které často v období aplikace, tj. konce června a začátku července panují (Ma et al., 2012). Pro využití v ekologickém zemědělství je možné do jetele lučního použít

přípravek Spintor (úč. l. spinosad 240 g/l) v dávce 0,4 l/ha (Anonymus, 2021). Kombinace těchto registrovaných přípravků s odlišnými skupinami účinných látek hraje významnou roli v antirezistentních strategií v ochraně proti danému škůdci. Do roku 2020 nebyly na základě laboratorního testování zaznamenány necitlivé populace nosatčíků rodu *Apion* z porostů jetele lučního na území ČR.

Poděkování

Výsledek byl získán za podpory MZe ČR, institucionální podpora MZE-RO1719 a při řešení výzkumného projektu QK21010332 „Mechanismus rezistence řepkových škůdců proti insekticidům, jejich výchozí citlivost k novým insekticidům a dopad insekticidních aplikací na vývoj larev škůdců a jejich přirozených nepřátel“, který financuje MZe ČR prostřednictvím Národní agentury pro zemědělský výzkum.

Literatura

K dispozici u autora příspěvku

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Kolařík
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.,
Zahradní 1
664 41 Troubsko
kolarik@vupt.cz

Dynamika populace bázlivce kukuřičného (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) na vybraných lokalitách jižní Moravy

Population dynamics of the corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) in selected localities of South Moravia

Kolařík P., Kolaříková K.

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

Abstrakt

Z monitoringu prováděného pomocí feromonových lapáku typu Csalomon Pal v letech 2011 - 2020 byly získány a následně graficky stanoveny křivky průměrné denní početnosti bázlivců na lapák a den v období od konce měsíce června do poloviny měsíce září na vybraných lokalitách jižní Moravy. Dle těchto údajů lze předpokládat vývoj početnosti na daných lokalitách a optimalizovat tak ochranu pro minimalizaci jeho škodlivosti pod stanovené ekonomické prahy.

Klíčová slova: kukuřice setá; monitoring; feromonový lapák; bázlivec kukuřičný (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte)

Abstract

From the monitoring performed using pheromone traps of the Csalomon Pal type in the years 2011 -2020, curves of the average daily abundance of basins per trap and day in the period from the end of June to the middle of September in selected localities of South Moravia were obtained and subsequently graphically determined. According to these data, it is possible to assume the development of abundance in the given localities and thus optimize the protection to minimize its harmfulness below the set economic thresholds.

Key words: maize; monitoring; pheromone trap; corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte)

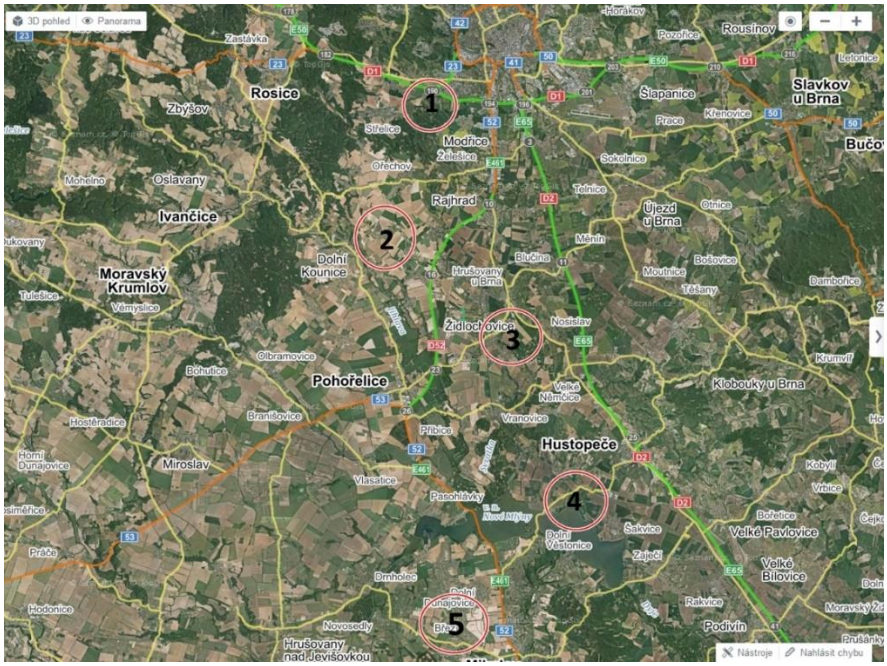
Úvod

Bázlivec kukuřičný (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) je brouk patřící do čeledi Chrysomelidae, je velký 4–7 mm, žlutě zbarvený s černými krovkami. Samičky lze dobře rozeznat od samečků podle kratších tykadel a tří podélných pruhů na krovkách. Hlavním rozlišovacím znakem je však sklerotizovaný útvar na zadečku, který je u samečků menší a zaoblenější, zatímco u samiček je užší a delší, vyčnívající z pod krovek (Kolařík & Rotrekl, 2008). Bázlivec kukuřičný přezimuje jako vajíčko (Meinke et al., 2009). Ta jsou nakladena do hloubky 15 cm, maximálně do 35 cm. Mortalitu vajíček může ovlivnit průběh zimy, kdy se při poklesu teplot na –10 °C a trvání mrazů aspoň týden sníží líhnutí larev až o 50 %. Pokud tyto mrazy trvají dva týdny, zvyšuje se mortalita na 75 %. Při teplotě pod –15 °C je mortalita až 96 % (Maňásek, 2008). Hospodářské škody způsobují jak larvy, tak i dospělci na kukuřici, ale vyskytující se i na některých plevelných rostlinách. Larvy v jarním období migrují ke kořenům rostlin kukuřice, kde způsobují požerky. Při silném napadení dochází k destrukci celého kořenového systému rostliny, což má za následek vyvrácení rostliny či přímo jejich úhyn. Dospělci se živí bliznami a pylem, v pozdějších vývojových fázích může dojít i k napadení palic (mohou způsobit nepravidelnou hluchost klasu) a listů kukuřice, po odkvětu kukuřice se pak živí na jiných rostlinách z čeledi hvězdnicovitých nebo tykvovitých (Tóth, 2005). Vhodnými hostitelskými rostlinami pro larvy jsou také trávy – především různé druhy bérů

(Breitenbach et al., 2009). Pierce & Gray (2007) se zabývali výskytem dospělců na bobovitých, konkrétně sóji ve srovnání s kukuřicí.
Jsou stanoveny ekonomické prahy škodlivosti jak proti larvám, tak i proti dospělcům (Anonymus, 2021). Prahy škodlivosti mohou být ale těžko odhadnutelné a velmi závislé na teplotních a vláhových podmínkách ročníku (Maňásek, 2008).
Uvedený příspěvek uvádí výsledky dlouhodobého monitoringu (sledování) bázlivce kukuřičného na vybraných lokalitách jižní Moravy s následným stanovením průměrné denní početnosti (normálu) získaných z dat sledování v letech 2011 – 2020.

Materiál a Metody
Pro monitoring bázlivce kukuřičného jsme využívali feromonové lapače typu Csalomon PAL (Ústav ochrany rostlin, Maďarská akademie věd). K vlastnímu monitoringu zde slouží feromonový atraktant lákající k zachycení samce bázlivce kukuřičného na lepovou desku. K vlastnímu monitoringu využíváme feromonové lapáky, které bývají pravidelně vyměňovány dle potřeby (většinou z důvodu velkého záchytu jedinců na lepové desce a s tím související ztráta její lepivosti) v časovém intervalu 14-21 dní. Feromonový lapák jsme instalovali na jednotlivé lokality většinou v poslední dekádě měsíce června do porostů kukuřice do 5. až 6. řádku od kraje porostu. V dlouhodobém sledování byl monitoring zahajován na počátku líhnutí dospělců, tj. od konce měsíce června do období konce hospodářských škod, tj. začátku září. Odpočty dospělců na lepových deskách byly prováděny v cca týdenním intervalu.
Na základě údajů z výsledků monitoringu, který jsme prováděli v letech 2011 - 2020 jsme byli schopni sestavit z týdenních odpočtů dlouhodobý průměrný denní výskyt bázlivce na lapák a den na konkrétních sledovaných lokalitách (obr. 1). Mohli jsme tak vyjádřit početnost populace v rámci určitých oblastí pro: 1 - Troubsko; 2 - Žabčice; okolí 3 - Němčiček (data z lokalit Němčičky, Bratčice, Syrovice); 4 - oblast Hustopeče (data z lokalit Uherčice, Strachotín) a 5 - oblast Dolní Dunajovice (data z lokalit Dolní Dunajovice, Březí). U porostů kukuřic nebyla prováděna cílena ochrana proti bázlivcům v průběhu sledovaných let.

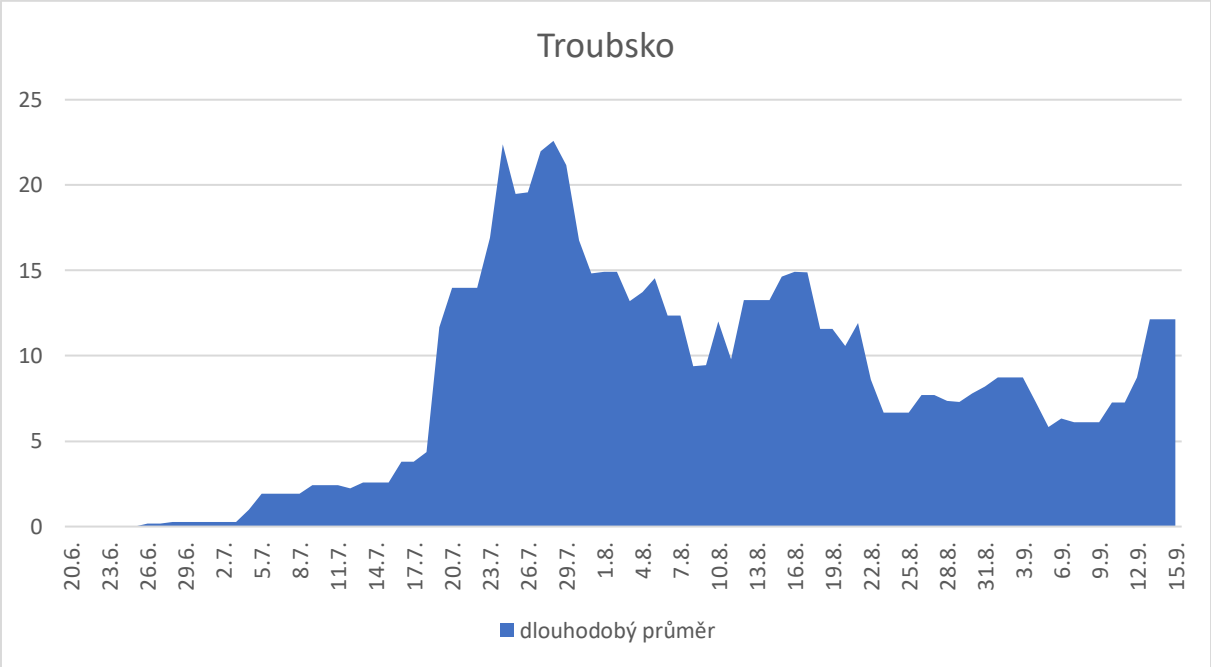
Obr. 1: Lokality monitoringu bázlivce kukuřičného (*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte) v letech 2011 - 2020



Výsledky a Diskuze

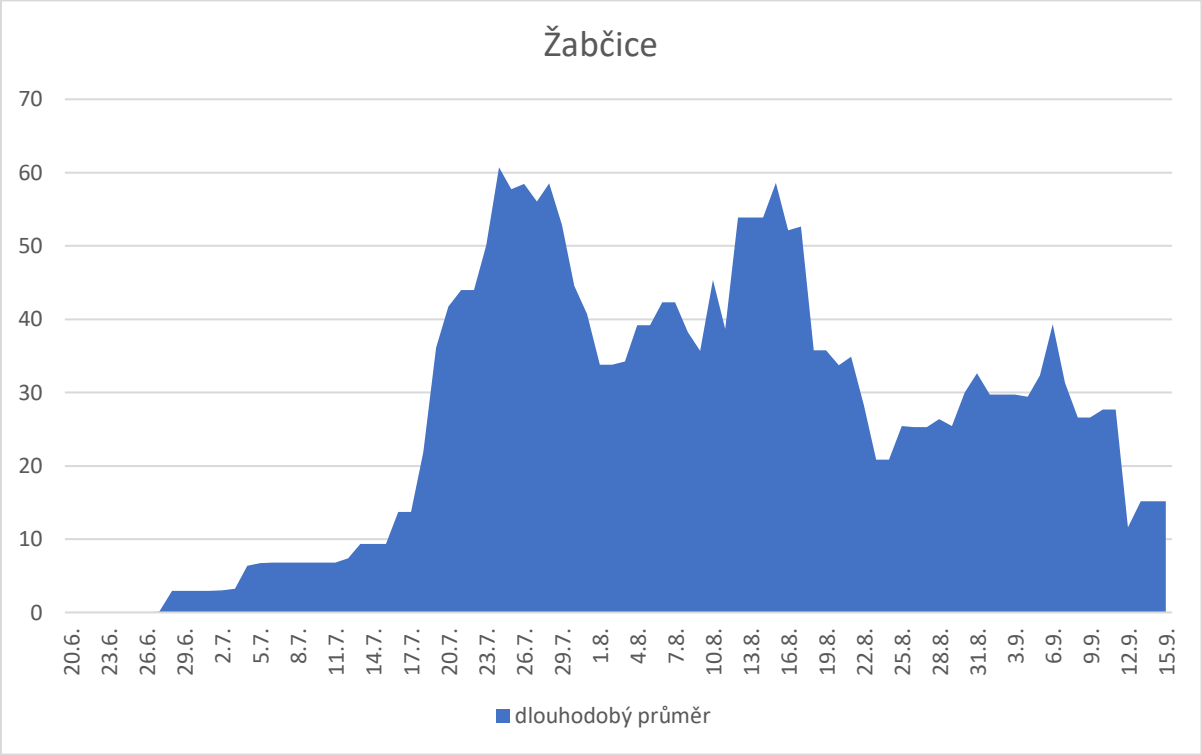
Na lokalitě Troubsko (graf 1), kde se data získávaly z porostu kukuřice pěstované v osevních sledech, se první bázlivci dlouhodobě vyskytují ve větší míře až na počátku měsíce července. V dalších cca 12 dnech sledovaná populace v početnostech stagnuje s tím, že od 19.8. nastává první vrchol náletu, který většinou trvá až do období konce měsíce července. V tomto období jsou překonány prahy škodlivosti pro daného škůdce a může být aplikován insekticid. Po snížení početnosti v měsíci srpnu pak nastává druhý vrchol náletu pohybující se většinou v období 13. – 16.8. V následných termínech je pak populace na nižší úrovni s tím, že nárůst je opětovně zaznamenáván na začátku druhé dekády měsíce září. Tato zvýšená početnost může souviset s migrací bázlivců z okolních ploch kukuřic, které bývající určeny pro sklizeň na siláž. Celková dosažená početnost je pro tuto lokalitu na velmi nízké denní úrovni v porovnání s ostatními.

Graf 1: Průběh výskytu bázlivce kukuřičného v porostu (červen – září) – dlouhodobý normál - pro lokalitu Troubsko

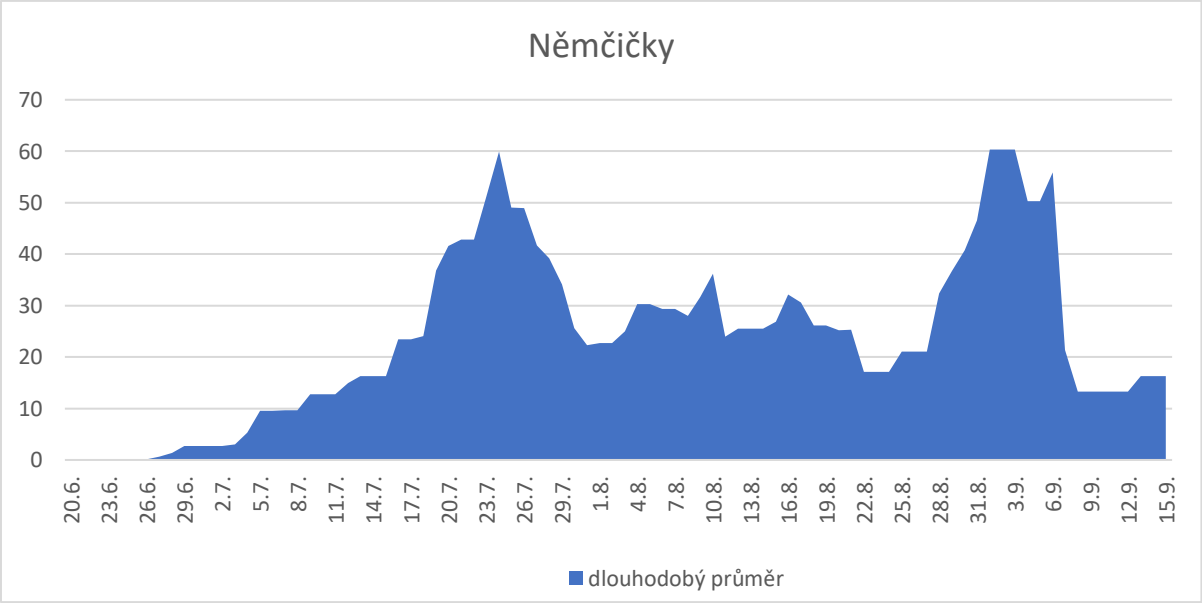


Pro lokalitu Žabčice (graf 2) jsou uvedena data z početnosti bázlivce, která byla zaznamenána z porostu kukuřice pěstované ve víceleté monokultuře (opakovaně stále za sebou). První výskyty tak jsou již pozorovány na konci měsíce června ve velmi nízké početnosti. Ty pak následně velmi razantně vzrůstají, a to od poloviny července. Vrchol náletu je velmi vysoký (od 50 jedinců bázlivců/lapák a den) s tím, že nejvyšší početnosti bývají zjištěny od 23.7. do 29.7. V následujícím období je pozorován výrazný pokles, který opět vzrůstá v termínu od 11.8. Jsou zde tak viditelně zaznamenány dva vrcholy náletu pro tuto oblast sledování. V dalším období je typické snižování početnosti dospělců až do doby ukončení monitoringu v polovině měsíce září.

Graf 2: Průběh výskytu bázlivce kukuřičného v porostu (červen – září) – dlouhodobý normál - pro lokalitu Žabčice



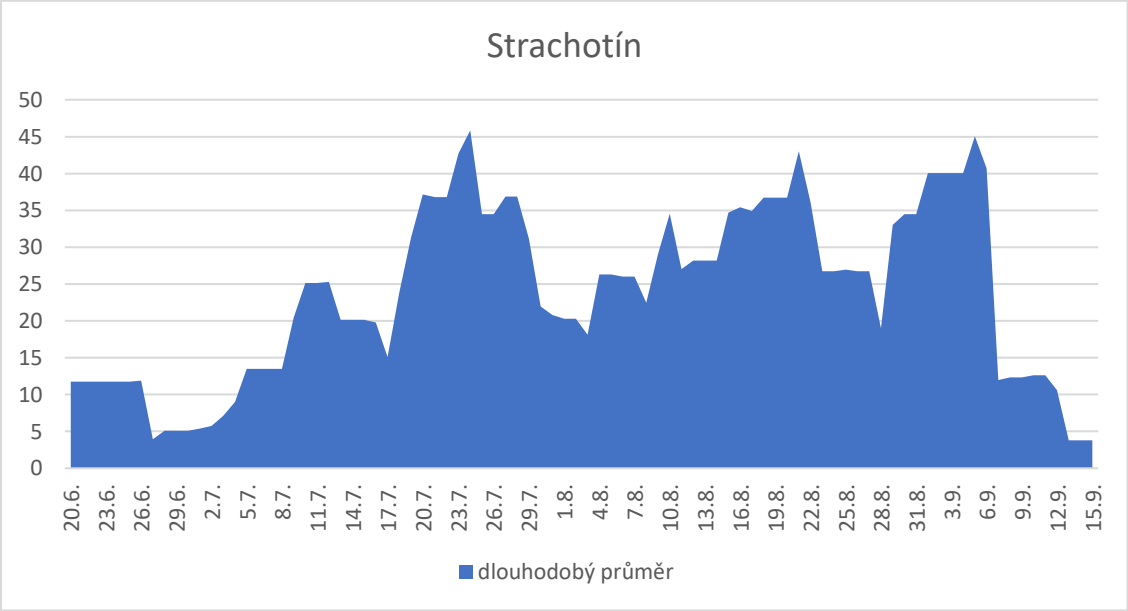
Graf 3: Průběh výskytu bázlivce kukuřičného v porostu (červen – září) – dlouhodobý normál - pro lokalitu Němčičky



Uvedené údaje z lokality Němčičky (graf 3) jsou získané z kukuřice pěstované v obou systémech (monokultura i osevní postup) tak jako i v případě dalších dvou následujících lokalit. Geograficky je tato lokalita podobná s lokalitou Žabčice, a tak i průběh náletu a celkové početnosti v měsíci červenci bývají shodné. Výsledné denní záznamy v měsíci srpnu se pohybují na nižší úrovni s tím, že je potom sledován významný nárůst na přelomu měsíců srpna

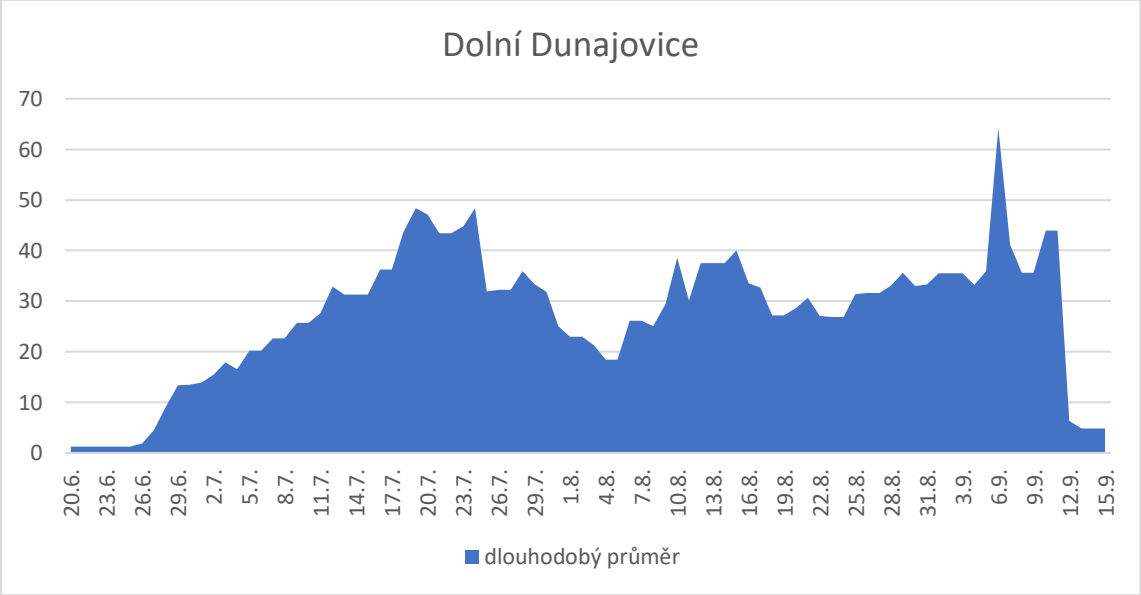
a září. Vrcholy náletu jsou tak u této lokality porovnání s ostatními od sebe velmi vzdálené a vysoké (v průměru 60 bázlivců na lapák a den).

Graf 4: Průběh výskytu bázlivce kukuřičného v porostu (červen – září) – dlouhodobý normál - pro lokalitu Strachotín



Na lokalitě Strachotín (graf 4) bývá zjištěn počátek výskytu dospělců bázlivce velmi brzy a z výsledků náletů je pak následně patrný trvalý nárůst až do zaznamenaného 1. vrcholu v období kolem 27.7. Po krátkodobém snížení jsou pak zřetelné další 2 vrcholy náletu, a to v období kolem 20.8. a 6.9. s následným razantním snížením početnosti. Podobný průběh je pak zřetelný i pro lokalitu Dolní Dunajovice s nepatrně vyššími záchyty na feromonovém lapáku (graf 5) v jednotlivých termínech sledování.

Graf 5: Průběh výskytu bázlivce kukuřičného v porostu (červen – září) – dlouhodobý normál - pro lokalitu Dolní Dunajovice



Na začátku monitoringu bylo naším cílem především potvrdit si přítomnost bázlivce kukuřičného v provozních polích kukuřice na vybraných lokalitách jižní Moravy. Od počátečních velmi malých záchytů došlo k velmi výraznému nárůstu početnosti (Kolařík & Rotrekl, 2008). Dalším cílem bylo zjistit, kdy se dospělci bázlivce objevují ve zvýšené míře. V porovnání se Slovenskem či Maďarskem (Cagáň, 2006; Maňásek, 2008) se bázlivci objevují relativně později, a to až v první dekádě měsíce července. Meinke et al. (2009) uvádí první výskyty dospělců ve střední a východní Evropě koncem června a počátkem července což potvrzuje i naše zjištění u monokulturně pěstovaných kukuřic, kde jsou bázlivci zaznamenáni mnohem dříve než u kukuřic pěstovaných v osevních sledech. První výskyty ovlivňuje více faktorů, především povětrnostní podmínky v jednotlivých letech (teplota a množství srážek), ale i další faktory. Na základě dlouhodobých výsledků (monitoringu) z náletu prováděných v letech 2011-2020 pak byly sestaveny grafy náletu pro celkem 5 oblastí jižní Moravy.
Zaměřili jsme se také na zjištění vrcholu náletů samců na feromonové lapáky. Z výsledků vyplývá, že vrcholů na daných lokalitách je hned několik. První bývá ve druhé dekádě měsíce července, druhý v polovině měsíce srpna a třetí pak v měsíci září. Meinke et al. (2009) uvádí jako vrchol náletu měsíc červenec. V rámci dvou odlišných technologií pěstování kukuřice (monokultura a osevní postup) jsou pak potvrzeny rozdíly v početnosti tak, jak uvádí Lemić & Bažok, (2010).

Závěr

Ze získaných dat monitoringu bázlivce kukuřičného prováděného v letech 2011 – 2020 lze pro vybrané lokality jižní Moravy stanovit optimální termín ochrany pro minimalizaci jeho početnosti.

Poděkování

Výsledek byl získán za podpory MZe ČR, institucionální podpora MZE-RO1718

Literatura

K dispozici u autora příspěvku

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Kolařík
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.,
Zahradní 1
664 41 Troubsko
kolarik@vupt.cz

Screening genotypů hrachu na odolnost k virům PEMV a PSbMV

Screening of pea genotypes for resistance to PMV and PSbMV viruses

Macková H., Horáček J., Ludvíková M., Dostálová R.

Agritec Plant Research, s.r.o.

Abstrakt

K jedné z nejvýznamnějších virových chorob vyskytujících se v pěstitelských oblastech hrachu patří virus mozaiky hrachu přenosný semenem - Pea Seed-Borne Mosaic Virus – PSbMV. Spolu s PSbMV se velmi často vyskytuje výrůstková mozaika hrachu – Pea Enation Mosaic Virus - PEMV. Obě virózy mohou způsobovat významné výnosové ztráty převyšující i 50-60 %. Naším cílem bylo zmonitorovat převážnou většinu dostupných odrůd a linií hrachu pomocí fenotypu, ELISA testů a PCR analýz na senzitivitu/rezistenci vůči těmto chorobám.
Klíčová slova: ELISA testy, PCR analýza, fenotyp, senzitivita, rezistence

Abstract

One of the most important viral diseases occurring in pea growing areas is the Pea Seed-Borne Mosaic Virus - PSbMV. Along with PSbMV, a growth mosaic of – Pea enation mosaic virus - PEMV peas is very common. Both viruses can cause significant yield losses in excess of 50-60%. Our goal was to monitor the vast majority of available pea varieties and lines using phenotype, ELISA tests and PCR analyzes for susceptibility / resistance to these diseases.
Keywords: ELISA tests, PCR analysis, phenotype, sensitivity, resistance

Úvod

Jednou z velmi významných chorob hrachu je v současné době virus mozaiky hrachu přenosný semenem Pea seed-borne mosaic virus - PSbMV (Hampton a Mink 1975, Piáková *et al.* 2006). Jedná se o typického zástupce rodu *Potyvirus* (čeleď Potyviridae). Chorobu poprvé popsal v bývalém Československu Musil (1966), o rok později v Japonsku Inouye (1967), o dva roky později byl zaznamenán v USA (Stewenson a Hagedorn, 1969). Typickými příznaky infekce hrachu tímto virem je svinutka listů, zkrácení internodií, různý stupeň zakrslosti infikovaných rostlin, dále deformace květů a vývoj malých deformovaných lusků. Příčinou snadného šíření je přenos semeny, který byl popsán u tak celosvětově významných plodin jako je hrách, čočka nebo bob. U vnímavých kultivarů hrachu se uvádí přenos semeny až do 30 %, ale byly zaznamenány případy, kdy 90 % komerčního osiva bylo infikováno. Virus je přirozeně přenosný vektory, a to mšicemi nepersistentním způsobem, např. *Mysus persicae, Aphis craccivora, A. fabae* (Kvíčala a Musil, 1973). V současnosti se rozlišují čtyři patotypy PSbMV označované P1, P2, P3 a P4, ze kterých se v Evropě běžně vyskytuje patotyp P1 a v minulém roce byl potvrzen výskyt patotypu P4 (Alconero *et al.* 1986, Ali a Randles 1997, Hjulsager *et al.* 2002, Johansen *et al.* 1991, Provvidenti a Alconero 1988, Šafářová *et al.* 2008). Rezistence ke standardním výše uvedeným patotypům PSbMV je založena recesivně geny sbm-1, sbm-2, sbm-3 a sbm-4, které odpovídají zmíněným patotypům PSbMV. Nejlépe je charakterizován gen sbm-1, který je lokalizován na chromozómu 6. Spolu s PSbMV se velmi často vyskytuje výrůstková mozaika hrachu PEMV – Pea enation mosaic virus, obě virózy mohou způsobovat významné výnosové ztráty převyšující i 50 – 60 %. Výrůstková mozaika hrachu se projevuje napadením listů, deformací úponků, tvorbou průsvitných chlorotických skvrn, na nichž se

později vytváří na spodní straně listové čepele výrůstky (enace). Virulentnější izoláty mohou způsobovat deformaci lusků, zkrácení internodií a zakrslost vegetačního vrcholu. Virus výrůskové mozaiky hrachu je v přírodě rozšiřován perzistentně mšicemi, zejména druhy *Myzus persicae, Acyrthosiphon pisum, Macrosiphum euphorbiae, Megoura viciae, Aphis gossypii, Myzus portulacea, Macrosiphum avenae, Myzus circumfelxus, Aulacorthum solani, Rhopalosiphum padi* a *Schizaphis graminum.* Virus je snadno přenosný mechanicky a pravděpodobně i osivem.

Materiál a metody

V polních podmínkách byl v letech 2019–2021 založen pokus s odrůdami a liniemi hrachu. Celkem bylo hodnoceno 282 položek, které zahrnovaly registrované odrůdy ze seznamu SDO, šlechtitelské linie, zdroje rezistence k virovým a houbovým patogenům s deklarovanými vlastnostmi.
Hodnocení fenotypu bylo provedeno u celého souboru, stejně tak analýzy ELISA testů. U vybraných 65 genotypů bylo provedeno testování pomocí PCR testů. U jednotlivých položek byla molekulárními metodami prokazována rezistence či senzitivita ke spektru chorob. Použity byly molekulární markery pro detekci rezistence/senzitivity k oběma virózám: PSbMV patotypu 1 (Smýkal *et al.,* 2011) a PEMV, kde je pomocí metody PCR 98,7% spolehlivost predikce (Jain *et al.,* 2013).
Metoda ELISA - Detekce PEMV a PSbMV
Detekce obou rostlinných virů byla provedena metodou DAS-ELISA (Double Antibody Sandwich Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). Pro tento účel byly využity komerční soupravy PSbMV Complete Kit (Loewe, Německo) a PEMV Complete Kit (Loewe, Německo). Soupravy obsahovaly mikrotitrační destičky, roztoky specifických protilátek i veškeré chemikálie pro přípravu pufrů. Detekce probíhala ve formátu 96 jamkových mikrotitračních destiček. V prvním kroku byla na povrch jamek imobilizována specifická protilátka, inkubace s roztokem protilátky probíhala po dobu 4 hod při 37 °C. Mezitím byly připraveny vzorky. Odebrané vzorky listů byly ručně homogenizovány ve vzorkovém pufru v 1,5 ml mikrozkumavkách pomocí jednorázových plastových homogenizátorů. Druhým krokem po promytí mikrotitrační desky promývacím pufrem byla inkubace se vzorky, která probíhala přes noc při 4 °C. Ve třetím kroku byly jamky inkubovány roztokem konjugátu specifické protilátky a alkalické fosfatázy po dobu 5 hod při 37 °C. V případě přítomnosti antigenu (částice viru) došlo navázání konjugátu na antigen a k vytvoření sendviče. Ve čtvrtém kroku byl do jamek přidán chromogenní substrát (4-nitrofenyl fosfát), který byl alkalickou fosfatázou přeměněn na žlutý 4-nitrofenol. Žluté zbarvení bylo změřeno spektrofotometricky při 405 nm pomocí ELISA readeru VersaMax (Molecular Devices, USA). Všechny promývací kroky byly provedeny na promývačce Dynawash (Dynex, CZ). Pozitivní a negativní kontrolní vzorek byly součástí soupravy.

IZOLACE DNA
Listy rostlin byly homogenizovány v kapalném dusíku a pomocí Isolate II Genomic DNA Kit (Bioline Meridian Bioscience) z nich byla izolována genomová DNA dle protokolu výrobce. DNA získaná z přibližně 100 mg materiálu byla rozpuštěna ve 200 µl elučního pufru a zamražena.

PCR
PCR probíhala v termálním cykleru Mastercykler Gradient (Eppendorf, Německo) v objemu 15 µl v 0,2ml zkumavkách (TreffLab, Švýcarsko).

Složení reakční směsi bylo: 20–50 ng DNA, 1x Dream Taq PCR buffer, 100 µM každého nukleotidu, 0,4 µM každého primeru a 1 U Dream Taq polymerázy (Fermentas, Litva).
Produkty PCR reakce byly rozděleny na 1,5% agarózovém gelu (Serva, Německo) barveném ethidium bromidem, nasvíceny UV světlem a nasnímány.

Výsledky a diskuze

Přirozený infekční tlak viróz je v posledních letech velmi vysoký, přítomnost virů na rostlinách hrachu způsobuje závažná onemocnění. Při hodnocení symptomů, které jsou u PEMV velmi dobře rozpoznatelné, byly provedeny i detekce virů pomocí metody ELISA, kdy byly odebírány listy, na kterých byly typické chlorózy a deformace. Příznaky PSbMV byly méně rozpoznatelné, neboť většina hodnocených odrůd a šlechtitelských linií je semi-leafless a typické příznaky svinování listů nejsou znatelné, jsou viditelné až na semenech sklizeného hrachu. Bylo zjištěno, že při hodnocení fenotypu se potvrdila přítomnost virů PEMV i PSbMV. Pro zpřesnění bylo v letech 2020 a 2021 analyzováno 65 vzorků hrachu metodami ELISA a PCR na senzitivitu/rezistenci vůči virům PEMV a PSbMV. Výsledky polního hodnocení nejsou z nedostatku prostoru v tomto článku uvedeny. Výsledky testů ELISA a PCR jsou uvedeny v tabulkách 1–6. Hodnota 1 znamená, že daný vzorek vykazoval při hodnocení ELISA pozitivní reakci. Vzorek byl napaden virem PEMV respektive PSbMV. Hodnota 0 znamená, že daný vzorek nevykazoval při hodnocení ELISA pozitivní reakci. Testy ELISA proběhly ve dvou letech ve dvou opakováních, první opakování je značeno IA, druhé opakování je značeno IB. Vzorky na analýzu byly odebrány vždy z totožné rostliny v časovém rozmezí 14 dnů. Označení S při hodnocení metodou PCR znamená, že vzorek je k chorobám PEMV a PSbMV senzitivní, R je k chorobám PEMV a PSbMV rezistentní. Z dizajnu pokusu vyplývá, že pokud se na dané lokalitě vyskytlo virové onemocnění, což bylo zřejmé nejen z polního hodnocení, ale i z výsledků ELISA testů, je jasné, že choroba se šířila po celém porostu (viz výše – způsob přenosu choroby).

Tab. 1 Výsledky testů ELISA a PCR u sledovaných vzorků v letech 2020 a 2021 v případě senzitivity u PCR a negativní reakce u testů ELISA pro virus PEMV

PEMV		ELISA	2021	ELISA	2020	2021
vzorek	odrůda/linie	IA	IB	IA	IB	PCR PEMV
1	AGT 213.13	0	0	0	0	S
2	AGT 211.4	0	0	0	0	S
3	AGT 205.21	0	0	0	0	S
4	1 LWT	0	0	0	0	S
5	1 LM	0	0	0	0	S
6	3 LM	0	0	0	0	S
7	Raport	0	0	0	0	S
8	AGT 2018.27	0	0	0	0	S
9	AGT 2018.37	0	0	0	0	S
10	AGT 2018.32	0	0	0	0	S
11	AGT 2018.14	0	0	0	0	S
12	AGT 209.1	0	0	0	0	S
13	AGT 209.27	0	0	0	0	S
14	STRATAGEM	0	0	0	0	S

15	46	0	0	0	0	S
16	6957	0	0	0	0	S
17	7647	0	0	0	0	S
18	8044	0	0	0	0	S

Z výše uvedených výsledků je patrné, že pro virové onemocnění PEMV se u 18 odrůd/linií nepotvrdila korelace mezi PCR testy a analýzou pomocí ELISA testů. Tyto odrůdy/linie nevykazovaly v polních podmínkách žádné známky napadení virózami, i přesto, že jsou dle hodnocení PCR testů k virovým chorobám senzitivní viz tab. 1.

Ve 35 případech vyšla PCR analýza u senzitivních rostlin v souladu s výsledky ELISA testů. U testovaných odrůd/linií bylo ELISA testy hodnoceno silně pozitivně 20 vzorků, u odrůd/linií 7446, 7446 skl., 7395, Highlight, Saxon, 3 LWT, Cracker Jack, Natura, Terno, Lasso, Prophet, Boxer, Astronaut, Gambit a Audit bylo ELISA testy hodnoceno pozitivně pouze jedno opakování.

Tab. 2 Výsledky testů ELISA a PCR u sledovaných vzorků v letech 2020 a 2021 v případě rezistence u PCR a negativní reakce u testů ELISA pro virus PEMV

PEMV		ELISA	2021	ELISA	2020	2021
vzorek	odrůda/linie	IA	IB	IA	IB	PCR PEMV
1	AGT 2018.26	0	0	0	0	R
2	B 99/100	0	0	0	0	R
3	B 99/103	0	0	0	0	R
4	B 99/104	0	0	0	0	R
5	B 99/108	0	0	0	0	R
6	B 99/112	0	0	0	0	R
7	B 99/116	0	0	0	0	R
8	B 99/118	0	0	0	0	R
9	AGT 206.5	0	0	0	0	R
10	AGT 212.11	0	0	0	0	R

V případě rezistentních linií byla testy ELISA potvrzena 100 % rezistence v 10 analyzovaných vzorcích viz tab. 2.

Tab. 3 Výsledky testů ELISA a PCR u sledovaných vzorků v letech 2020 a 2021 v případě rezistence u PCR a pozitivní reakce u testů ELISA pro virus PEMV

PEMV		ELISA	2021	ELISA	2020	2021
vzorek	odrůda/linie	IA	IB	IA	IB	PCR PEMV
1	AGT 2018.17	1	1	0	1	R
2	AGT 2018.13	1	1	0	0	R

Pouze ve dvou případech se hodnocení napadení rostlin virem PEMV testy PCR a ELISA testy neshodovalo. Jednalo se o linie AGT 2018.17 a AGT 2018.13. Testy PCR prokázaly rezistenci vůči PEMV napadení, ale testy ELISA prokázaly u zmíněných rostlin senzitivní reakce viz tab. 3.

V případě virového napadení PSbMV byla u 29 vzorků prokázána senzitivita k tomuto patogenu. U 12 vzorků bylo napadení rostlin chorobou prokázáno jen slabé – jedno měření z dvouletého pokusu ve dvou opakováních. U zbylých 17 případů korelovalo napadení rostlin hodnocených pomocí ELISA testů se senzitivitou prokázanou PCR testy.

Tab. 4 Výsledky testů ELISA a PCR u sledovaných vzorků v letech 2020 a 2021 v případě senzitivity u PCR a negativní reakce u testů ELISA pro virus PSbMV

PSbMV		ELISA	2021	ELISA	2020	2021
vzorek	odrůda/linie	IA	IB	IA	IB	PCR PSbMV
1	ABARTH	0	0	0	0	S
2	ASTRONAUTE	0	0	0	0	S
3	TERNO	0	0	0	0	S
4	VELVET	0	0	0	0	S
5	CRACKER JACK	0	0	0	0	S
6	1 LWT	0	0	0	0	S
7	3 LWT	0	0	0	0	S
8	SA1ON	0	0	0	0	S
9	AGT 209.27	0	0	0	0	S
10	46	0	0	0	0	S
11	AGT 209.27	0	0	0	0	S

PCR testy prokázaly senzitivitu u 11 odrůd/linií hrachu u kterých se však napadení PSbMV testy ELISA neprokázalo viz tab. 4.

Tab. 5 Výsledky testů ELISA a PCR u sledovaných vzorků v letech 2020 a 2021 v případě rezistence u PCR a pozitivní reakce u testů ELISA pro virus PSbMV

PSbMV		ELISA	2021	ELISA	2020	2021
vzorek	odrůda/linie	IA	IB	IA	IB	PCR PSbMV
1	BOXER	0	0	0	1	R
2	Highlight	1	1	1	0	R

Naopak u dvou vzorků – Boxer, Hightlight bylo napadení PSbMV prokázáno i přesto, že dané linie by měly být vůči PSbMV dle zjištění PCR testů rezistentní viz tab. 5.

Tab. 6 Výsledky testů ELISA a PCR u sledovaných vzorků v letech 2020 a 2021 v případě rezistence u PCR a negativní reakce u testů ELISA pro virus PSbMV

PSbMV		ELISA	2021	ELISA	2020	2021
vzorek	odrůda/linie	IA	IB	IA	IB	PCR PSbMV
1	AVANTGARDE	0	0	0	0	R
2	AGT 213.13	0	0	0	0	R
3	AGT 211.4	0	0	0	0	R
4	AGT 205.21	0	0	0	0	S/R
5	AGT 208.4	0	0	0	0	R
6	AGT 2018.27	0	0	0	0	R
7	AGT 2018.37	0	0	0	0	R
8	AGT 2018.32	0	0	0	0	R
9	AGT 2018.17	0	0	0	0	R
10	AGT 2018.23	0	0	0	0	R
11	AGT 2018.13	0	0	0	0	R
12	AGT 2018.26	0	0	0	0	R
13	AGT 2018.14	0	0	0	0	R
14	B 99/100	0	0	0	0	R
15	B 99/103	0	0	0	0	R
16	B 99/104	0	0	0	0	R
17	B 99/108	0	0	0	0	R
18	B 99/112	0	0	0	0	R
19	B 99/116	0	0	0	0	R
20	B 99/118	0	0	0	0	R
21	AGT 206.5	0	0	0	0	R
22	AGT 209.1	0	0	0	0	R
23	AGT 212.11	0	0	0	0	R

Rezistence prokázaná pomocí PCR testů byla potvrzena u jedné odrůdy a 22 linií hrachu. To korespondovalo s výsledky ELISA testů viz tab. 6.

Tab. 7 Výsledky testů ELISA a PCR u sledovaných vzorků v letech 2020 a 2021 v případě rezistence u PCR a negativní reakce u testů ELISA pro viry PEMV a PSbMV

PEMV	PSbMV	ELISA	2021	ELISA	2020	2021	2021
vzorek	odrůda/linie	IA	IB	IA	IB	PCR PEMV	PCR PSBMV
1	AGT 2018.26	0	0	0	0	R	R
2	B 99/100	0	0	0	0	R	R
3	B 99/103	0	0	0	0	R	R
4	B 99/104	0	0	0	0	R	R
5	B 99/108	0	0	0	0	R	R
6	B 99/112	0	0	0	0	R	R
7	B 99/116	0	0	0	0	R	R
8	B 99/118	0	0	0	0	R	R
9	AGT 206.5	0	0	0	0	R	R
10	AGT 212.11	0	0	0	0	R	R

U 10 linií byla PCR testováním prokázána rezistence k virovým onemocněním PEMV a PSbMV. Tyto linie současně nevykazovaly žádné symptomy nakažení ověřené ELISA testy viz tab. 7.

Závěr

V průběhu let 2020 a 2021 byly provedeny vstupní screeningové PCR a ELISA testy na zjištění senzitivity/rezistence odrůd/linií hrachu k virovým chorobám PEMV a PSbMV u 65 genotypů. ELISA testy byly provedeny u 282 položek. Z našich výsledků je zřejmé, že u 10 linií byla PCR testováním prokázána rezistence k virovým onemocněním PEMV a PSbMV a zkoumané linie současně nevykazovaly žádné symptomy nakažení ověřené ELISA testy. Tyto informace budou využity ve šlechtění nových odrůd na rezistenci proti virovým onemocněním PEMV a PSbMV.

V následujících letech bude probíhat navazující screening odrůd a linií hrachu, jak těch, které jsou běžně komerčně dostupné tj. odrůd ze Seznamu doporučených odrůd (SDO) polního hrachu, zdrojů rezistence s deklarovanými vlastnostmi, tak odrůd nekomerčních např. uchovávaných v depozitu genové banky, až po nové šlechtitelské linie, které mohou mít značný potenciál v následném komerčním využití zejména pro své prvotřídní vlastnosti týkající se odolnosti proti virovým chorobám.

Poděkování

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

Literatura

Alconero R., Provvidenti R., Gonsalves D. (1986): Three pea seedborne mosaic virus pathotypes from pea and lentil germ plasm. Plant Dis. 70, 783–786

Ali A., Randles J.W. (1997): Early season survey of pea viruses in Pakistan and the detection of two new pathotypes of pea seed-borne mosaic virus. Plant Dis. 81, 343–347

Hampton R.O., Mink G. I. (1975): Pea seed-borne mosaic virus. CMI/AAB Descr. Pl. Viruses No. 146

Hjulsager C.K. , Lund O.S., Johansen E. (2002): A new pathotype of pea seed-borne mosaic virus explained by properties if the P3-6k1 and viral genome linked protein (VPg)-coding regions. Mol. Plant-Microbe Interact. 15: 169–171

Jain S., Weeden N. F., Porter L. D., Eigenbrode S. D., Mc Phee K. (2013): Finding linked markers to En for efficient selection of pea enation mosaic virus resistance in pea, Crop Science, vol. 53, 2392 – 2399.

Johansen E., Rasmussen O.F., Heide M., Borkhardt B. (1991): The complete nucleotide sequence of pea seed-borne mosaic virus RNA. J. Gen. Virol. 72: 2625–2632.

Kvíčala B. 1974 Poznatky o šlechtěné na rezistenci proti některým virům hrachu. Ochrana rostlin 10:239 –243

Piáková Z., Pokorný R., Dostálová R. (2006): Výskyt virových patogenů hrachu na území ČR. Úroda, 2: 10-11

Provvidenti R., Alconero R. (1988): Inheritance of resistance to a third pathotype of pea seed-borne mosaic virus in Pisum sativum. J. Hered. 79, 76–77

Stewenson W.R., Hagedorn D.J. (1969) A new seed-borne virus of pea. Phytopathology 59: 1051-1052

Šafářová D., Navrátil M., Petrusová J., Pokorný R., Piáková Z. (2008): Genetic and biological diversity of the pea seed-borne mosaic virus isolates occurring in Czech Republic. Acta Virol. 52: 53-57

Jain S., Weeden N. F., Porter L. D., Eigenbrode S. D., Mcphee K. (2013): Finding linked markers to En for efficient selection of pea enation mosaic virus resistance in pea, Crop Science, vol. 53, 2392 – 2399.

Kontaktní adresa:

RNDr. Macková Hana
Agritec Plant Research, s.r.o.
Zemědělská 16 787 01 Šumperk
tel: 583 382 135
mackova@agritec.cz

Dynamika hospodářsky významných výskytů mandelinky bramborové (*Leptinotarsa decemlineata*) v bramboru v České republice v letech 1945–2020

Dynamics of economically significant occurrences Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) in potatoes in the Czech republic in the years 1945–2020

Rožnovský J.[1,2], Muška A.[3], Muška F.[3], Mušková A.[3]

[1]Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta, Lednice
[2]Český hydrometeorologický ústav, pobočka Brno
[3]Muška Brno, Táborská 21, 615 00 Brno

Abstrakt

Mandelinka bramborová (Leptinotarsa decemlineata) je nejvýznamnějším žravým škůdcem brambor v České republice. Poprvé se vyskytla v okolí Chebu v roce 1945. Následně se přibližně během 15 let rozšířila na celé její území. V příspěvku je sledována dynamika hospodářsky významných výskytů v letech 1945-2020. Současně jsou také uvedeny možnosti dynamiky rozvoje hospodářsky významných výskytů vzhledem k podmínkám pěstování v závislosti na klimatických změnách.

Klíčová slova: oblasti pěstování, teplota vzduchu, škůdci brambor, hospodářské škody

Abstract

The potato beetle (Leptinotarsa decemlineata) is the most important carnivorous pest of potatoes in the Czech Republic. It first appeared around Cheb in 1945. Subsequently, it spread over its entire territory in about 15 years. The paper examines the dynamics of economically significant occurrences in the years 1945-2020. It also includes the possibilities of the dynamics of the development of economically significant occurrences with respect to growing conditions depending on climate change.

Keywords: growing areas, air temperature, potato pests, economic damage

Úvod

Mandelinka bramborová (Leptinotarsa decemlineata) je hospodářsky nejvýznamnějším žravým škůdcem bramboru v České republice. Škody žírem listů, stonků, někdy také hlíz vyčnívajících z brázd způsobují dospělci a také všechny larvální stadia. Při kalamitním výskytu může způsobit holožír a následné významné snížení výnosu. Larva mandelinky spotřebuje během celého vývoje 40 cm^2 a dalších 10 cm^2 listové plochy denně spotřebuje dospělec (HAUSVATER, DOLEŽAL, 2014; RASOCHA et al. 2004; VOKÁL et al., 2013). V České republice způsobuje hospodářsky významné škody zejména v teplejších rano bramborářských oblastech na jižní a jihovýchodní Moravě a v Polabí, kde má i dvě úplné generace. Její výskyt je závislý na příznivých podmínkách pro přezimování. Toto je podmíněno dostatkem potravy na podzim a průběhem zimy. Nejlépe přezimuje v písčitých půdách a méně proměnlivých teplotních a vlhkostních podmínkách. Výskyt dále záleží na koncentraci brambor v rámci osevního postupu (RASOCHA et al. 2008; VOKÁL et al., 2013). Dospělec přezimuje v hloubce 0,1-0,4 m. Brouci vylézají ze země většinou v polovině května. To je období plného květu

smetánky lékařské (Taraxacum officinale). Po vzestupu teploty v půdě na 14 °C. Následně vyhledávají potravu a páří se. K oplodnění samiček však může dojít již na podzim. Samičky kladou vajíčka na spodní stranu listu ve skupinách přibližně 30-35 kusů. Samice se vyznačuje vysokou plodností a jedna může během svého vývoje naklást 300 až 800 vajec. Při teplotě 20 °C se larvy líhnou v průměru za 10 dní. Tyto larvy mají čtyři vývojová stadia. Dospělé larvy zalézají do země většinou ve hloubce 5-12 cm. Přibližně za 14 dní se líhnou dospělci (letní brouci), kteří v příznivých podmínkách mohou být základem druhé generace. První generace se objevuje v červnu a červenci a druhá v srpnu a září. Ve vyšších polohách má jednu generaci nebo druhá neukončuje svůj vývoj (HAUSVATER, DOLEŽAL, 2014; RUBEŠ, MALEČEK 1962; VOKÁL et al., 2013). DIRLBEK et al. (1979) uvádí pro mandelinku bramborovou následující teplotní hodnoty pro její vývoj.

Tab. 1 Teplotní limity pro mandelinku bramborovou

Vývojový cyklus vývojové stadium	Prahová teplota vývoje (°C)	Suma efektivních teplot (°C)	Zdroj
vajíčka	11,5	80,0	LARČENKO (1958)
larvy		180,0	
kukly		100,0	
vývojový cyklus		360,0	
vývojový cyklus		334,5	ALFARO (1945)
vývojový cyklus		225,0-355,0	SIKURA (1963)
vývojový cyklus		372,5	POPOV et al. (1975)

Rozšíření ve světě

Mandelinka bramborová pravděpodobně pochází z vysočiny jihozápadní části Severní Ameriky, a to zejména Mexika. Její rozšíření před jejím proniknutím do pásma pěstování kulturního bramboru je těsně spjato s rozšířením Solanum rostratum, jehož pichlavé plody se šířily divokými živočichy, zejména bizony. V letech 1842–1844 začali do státu Colorado pronikat kolonisté, kteří na západu USA začali pěstovat kulturní brambor. Přesný údaj, kde a kdy mandelinka přešla na kulturní brambor, neznáme. Postupně se šířila na většinu území USA. Uvádí se, že za 16 let ze západu na východ urazila téměř 3 000 km. V průměru to bylo 185 km za rok. Následně první brouci dosáhli Atlantického oceánu v roce 1874 (BOGDANOV-KAŤKOV, 1949; STARÝ et al., 1949). Již v roce 1871 se v USA uvádělo, že Atlantický oceán nebude pro ni překážkou. To se potvrdilo následně, kdy byla nalezena v roce 1876 (Německo-Brémy); 1877 (Velká Británie Liverpool; Nizozemí – Rotterdam) a na řadě dalších míst. Následovalo velmi rychlé rozšíření na produkční porosty brambor. V roce 1877 byla nalezena na ploše 4-5 ha v Mühlheimu na Rýně (Německo). V roce 1922 byla poprvé objevena ve Francii u Bordeaux, kde se vyskytla na ploše 25 000 ha. V roce 1935 byla zjištěna v Belgii (BOGDANOV-KAŤKOV, 1949; STARÝ et al., 1949). Mandelinka bramborová postupně pronikala na západ Německa. V roce 1938 byl hlášen výskyt přibližně v 2 510 obcích a 14 128 ohnisek. Důležité je, že v tomto roce byly hlášeny výskyty z Bavorska. Postupně se přibližovala k hranicím Československa. K jejímu rozšíření došlo zejména v období první a druhé světové války. V současnosti je rozšířena prakticky ve všech světadílech včetně všech evropských států. (BOGDANOV-KAŤKOV, 1949; RYBÁČEK et al., 1988).

Materiál a metody

Informace o škodách, způsobených mandelinkou bramborovou v České republice, byly čerpány z dostupné odborné literatury za sledované období 1945–2020. V letech 1961–2011 byly čerpány převážně z Přehledů výskytu některých škodlivých organismů a poruch rostlin na území Československa (České republiky). Tyto přehledy byly vydávány do roku 1989 ÚKZÚZ Brno a ÚKSÚP Bratislava pro celé území bývalého Československa. Od roku 1990 jsou vydávány ÚKZÚZ Brno (SRS Praha) pouze pro území České republiky. Z let 2012–2017 jsme čerpali ze Souhrnných zpráv jednotlivých oblastních odborů ÚKZÚZ Brno (SRS Praha). Pro období 2018–2020 jsme čerpali z rostlinolékařského portálu ÚKZÚZ Brno. Výše uvedené má samozřejmě informativní charakter a nemůže pokrýt všechny výskyty v uvedených letech.

Výsledky

Rozšíření v České republice v letech 1945–1960

Již na začátku druhé světové války se předpokládalo, že se může vyskytnout na našem území, a to téměř jistě vzhledem k přesunu nacistických vojsk přes naše území do Polska a SSSR. Byly pořádány tzv. hledací dny. Byly prováděny za pomocí 39 000 dětí. Byly kontrolovány zejména bramborová pole v blízkosti hlavního železničního tahu od Chebu na Prahu a Českou Třebovou. Dále z Podmokel přes Prahu a na jih. Také na hlavních železničních trasách na Moravě (STARÝ, 1948; STARÝ et al., 1949). V průběhu druhé světové války nebyla mandelinka bramborová u nás nalezena, ale již v červenci 1945 byla objevena na Chebsku tři ohniska v blízkosti německých hranic. Také další nálezy byly v blízkosti Německa v roce 1947 a to na Lounsku, Chomutovsku a na několika místech Pošumaví a jižních Čech. Jednalo se o přelety z Bavorska a Saska (STARÝ, 1948; STARÝ et al., 1949). Následně se velmi rychle šířila. V roce 1953 byla již na celém území České republiky (DIRLBEK, 1991). Některé prameny uvádí, že se na celé území rozšířila do roku 1958 (HAUSVATER, DOLEŽAL, 2014).

Rozšíření v České republice v letech 1961–2020

Četnost hospodářsky významných výskytů mandelinky bramborové v jednotlivých okresech České republiky za období 1961–2020 je uvedena v mapě (Obr. č. 2). Nejvyšší intenzita výskytu byla v okresech, kde se pěstují rané brambory. V nejpočetnější kategorii v rozsahu 40-52 let se jedná o okresy: Znojmo, Břeclav, Uherské Hradiště, Olomouc, Kutná Hora, Nymburk atd. V kategorii 30-39 let jsou zde nejen okresy z ranobramborářských oblastí (například okresy Hodonín, Brno-venkov, Pardubice, Hradec Králové, Louny atd.), ale také okresy z Kraje Vysočina, kde se brambory pěstují nejvíce (okresy Třebíč a Pelhřimov) a z dalších okresů, kde je více soustředěno pěstování brambor (například okresy Klatovy a Domažlice atd.). Dále následuje kategorie s výskytem 20-29 let, kde jsou zejména okresy s vyšší nadmořskou výškou Jihlava, Žďár nad Sázavou, Havlíčkův Brod, Ústí nad Orlicí, Tachov, Prachatice atd. V kategorii 10-19 let se jedná o okresy s nižší intenzitou pěstování brambor: Ostrava, Trutnov, Kladno, Beroun atd. V kategorii 2 a 4 let jsou okresy Sokolov a Praha-město. Následně jsou uvedeny příklady výskytu z některých let. V roce 1965 se potvrdilo, že mandelinka bramborová je prakticky rozšířena na celém území České republiky, kdy se uváděl výskyt v 68 okresech z celkového počtu 75 okresů. V tomto roce byly nejsilnější výskyty v jižních Čechách, v okresech České Budějovice, Jindřichův Hradec, Rokycany, Klatovy atd. Dále v ranobramborářských oblastech Polabí v Středních Čechách a v okresech Pardubice, Brno-venkov, Břeclav atd. (RICHTER et al. 1966). V roce 1972 byl sledován silný výskyt larev v červnu a červenci například v Polabí, jižních Čechách, na jižní a střední Moravě. Dále na Opavsku a Ostravsku (ZÁBRANSKÝ, SATKO et al. 1973). V roce 1992 všeobecně silnější výskyt byl sledován u soukromých pěstitelů v celé České republice. Následovalo zvyšování

intenzity u velkopěstitelů (Anonym, 1997). V roce 2006 se uváděla intenzita výskytu jako střední až silná jako v předchozích letech s výjimkou roku 2004, kdy byl výskyt velmi silný (HOLMANOVÁ et al. 2007). První výskyt imag mandelinky bramborové (Leptinotarsa decemlineata) v roce 2012 byl na rostlinách zaznamenán na okresech Uherské Hradiště (Polešovice, 9. 5.), Zlín (Oldřichovice, 28. 5.), Znojmo (Bohutice, 9. 5.). (KOPŘIVOVÁ 2013). Ohnisek larev byl pozorován v roce 2017 v okrese Třebíč (Ocmanice, 11. 6.), Tábor (Domamyšl, 14. 6.), Pelhřimov (Kojčice, 15. 6.), Písek (Lučkovice,15. 6.), Strakonice (Katovice, 15. 6.). Silný výskyt ohnisek larev byl pozorován v okrese Pelhřimov (Buřenice, 4. 7., Útěchovičky, 19. 7.), střední výskyt ohnisek larev byl pozorován v okrese Pelhřimov (Lipice, 3. 7.), Třebíč (Ocmanice, 10. 7.), slabý výskyt v okresech Jindřichův Hradec (Pluhův Žďár, 26. 6), Písek (Lučkovice, 12. 7.), Jindřichův Hradec (Pluhův Žďár, 10. 7.), Strakonice (Katovice, 7. 7.), Prachatice (Velký Bor u Strunkovic, 3. 7.). Silný výskyt dospělců druhé generace byl pozorován v okrese Pelhřimov (Buřenice, 24. 8.), slabý výskyt okrese Třebíč (Ocmanice, 21. 8.), Strakonice (Katovice, 21. 8.), Prachatice (Velký Bor u Strunkovic, 23. 8.). (FIALOVÁ et al., 2018).

Diskuze

Získaná data potvrdila tvrzení, že mandelinka bramborová je nejvýznamnějším žravým škůdcem brambor a největší škody způsobuje v ranobramborářských oblastech, jak uvádí HAUSVATER, DOLEŽAL (2014); RASOCHA et al. (2004); RASOCHA et al. (2008); VOKÁL et al. (2013). Stejný význam má také na Slovensku (CAGÁŇ et al. 2010). Také na Slovensku v roce 1965 byly silné výskyty, a to v celém Západoslovenském kraji a v jižních částech Středoslovenského a Východoslovenského kraje (RICHTER et al. 1966). V roce 1972 byl na Slovensku opět silný výskyt například v Podunajské nížině, okresech Senica, Trnava, Považská Bystrica, Prievidza, Rimavská Sobota, Bardejov, Svidník, Humenné, Východoslovenské nížině atd. (ZÁBRANSKÝ, SATKO et al. 1973). Uvedená střední intenzita výskytu škůdce v roce 2006, byla potvrzena také Situační a výhledová zpráva brambory z roku 2006, která uvádí, že byly lokální problémy s výskytem mandelinky bramborové, která dobře přezimovala (ŽIŽKA, 2006). MZe ČR Praha uvádělo, že v roce 2008: Byl výskyt mandelinky bramborové v tomto roce podle lokalit rozdílný, většinou však vyšší, v závislosti na podmínkách přezimování dospělců (ŽIŽKA, 2009), to potvrzuje také naše zjištění, kdy jsme zjistili hospodářsky významné= škody v 35 okresech.

Dle informací MZe ČR Praha roce 2017 mandelinka bramborová díky relativně stabilním zimním podmínkám velmi dobře přezimovala a její výskyt byl neobvykle vysoký (ŽIŽKA, 2018).

V roce 2018 jsme zjistili 46 okresů s hospodářsky významným výskytem sledovaného škůdce. Stejnou charakteristiku daného roku uvádí také Situační a výhledová zpráva pro rok 2019: Mandelinka bramborová díky rychlému vzejití porostů měla dostatek potravy a příznivé teploty pro rychlý vývoj (ŽIŽKA, 2019).

Závěr

Na základě výše uvedených zjištění lze konstatovat:

- První výskyt mandelinky bramborové na území České republiky byl v roce 1945
- Do konce 50tých let 20. století se rozšířila na celé území České republiky
- Mandelinka bramborová je nejvýznamnější žravý škůdce brambor
- Na území České republiky každoroční hospodářsky způsobuje významné škody
- Vzhledem k prokazatelnému oteplování může docházet k častějšímu a silnějšímu výskytu

Poděkování

Článek je součástí výstupů z řešení projektu Národní agentury pro zemědělský výzkum, QK1920280 „Inovace bonitačního systému zemědělských půd (BPEJ) pro potřeby státní správy“.

Literatura

Anonym, 1997: Přehled výskytu některých škodlivých činitelů na území ČR v roce 1992. SRS Praha, 80 str.

Bogdanov-Kaťkov N. N., 1949: Mandelinka bramborová. Ministerstvo zemědělství ČSR, Časové spisky svazek 121, 220 str.

Cagáň Ľ. et al., 2015: Choroby a škodcovia poľných plodin. SPU Nitra, ISBN 978-80-552-0354-9, 894 str.

Dirlbek J. et al., 1979: Teplotní hodnoty limitující škůdce a choroby zemědělských plodin. ÚVIZ Praha, 103 str.

Dirlbek J., 1991: Prognóza a signalizace v ochraně rostlin. VŠZ Praha, ISBN 80-213-0102-3, 90 str.

Fialová P. et al., 2018: Souhrnná zpráva oddělení rostlinolékařské inspekce PLANÁ NAD LUŽNICÍ o výskytu škodlivých organismů a poruch za rok 2018. ÚKZÚZ Brno, Oddělení rostlinolékařské inspekce Planá nad Lužnicí, 24 str.

Hausvater E., Doležal P., 2014: Metodika integrované ochrany brambor proti mandelince bramborové (Leptinotarsa decemlineata). VÚB Havlíčkův Brod, Poradenský svaz „Bramborářský kroužek“, ISBN 978-80-86940-59-5, 19 str.

Holmanová J. et al., 2007: Přehled výskytu některých škodlivých organismů a poruch území ČR v roce 2006. SRS Praha, 101 str.

Kopřivová E., 2013: Souhrnná zpráva oblastního odboru BRNO o výskytu škodlivých organismů a poruch v roce 2012. SRS Praha, Oblastní odbor SRS Brno, 27 str.

Rasocha V. et al., 2004: Choroby a škůdci a abionozy Bramboru. VÚB Havlíčkův Brod, 74 str.

Rasocha V. et al., 2008: Ochrana brambor proti mandelince bramborové. VÚB Havlíčkův Brod, Číslo 22, třetí vydání, ISBN 978-80-86940-16-8, 7 str.

Rubeš L., Maleček J., 1962: Ochrana rostlin. SZN Praha, 187 str.

Richter F. et al., 1966: Přehled výskytu některých škodlivých činitelů na území ČSSR v roce 1965. ÚKZÚZ Praha, 99 str.

Rybáček V. et al., 1988: Brambory. SZN Praha, 358 str.

Starý B., 1948: Moderní ochrana rostlin ušetří státu miliardy. Jos. R. Vilímek Praha, 238 str.

Starý B. et al., 1949: Mandelinka bramborová a ochranná opatření proti ní. Ministerstvo zemědělství ČSR, Časové spisky svazek 108, 45 str.

Vokál B. et al., 2013: Brambory. Profi press Praha, ISBN 978-80-86726-54-0, 160 str.

Zábranský S., Satko J. et al., 1973: Přehled výskytu některých škodlivých činitelů na území ČSSR v roce 1972. ÚKZÚZ Praha, ÚKSÚP Bratislava, 223 str.

Žižka J., 2006: Situační a výhledová zpráva brambory 2006. MZe ČR Praha, ISBN 80-7084-530-9, 43 str.

Žižka J., 2009: Situační a výhledová zpráva brambory 2009. MZe ČR Praha, ISBN 978-80-7084-820-3, 47 str.

Žižka J., 2018: Situační a výhledová zpráva brambory 2018. MZe ČR Praha, ISBN 978-80-7434-210-3, 39 str.

Žižka J., 2019: Situační a výhledová zpráva brambory 2019. MZe ČR Praha, ISBN 978-80-7434-516-6, 41 str.

Kontaktní adresa:

RNDr. Ing. Jaroslav Rožnovský, CSc.
Ústav šlechtění a množení zahradnických rostlin
Zahradnická fakulta Mendelovy univerzity v Brně
Valtická 337
691 44 Lednice
mobil: 724 185 617
email: roznov@mendelu.cz

Ing. František Muška, Ph. D.
mobil: 607 187 895
email: muska34@email.cz

Emise co_2 a ztráty vody z půdy po různém zpracování před setím ozimů

CO_2 emissions and soil water loss after various treatment before winter crops sowing

Růžek P., Kusá H., Mühlbachová G., Vavera R.

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

Abstrakt

V polních pokusech na stanovišti v Praze-Ruzyni byl v letech 2020 a 2021 sledován vliv mělké a hluboké podmítky, mulčování a ponechaného strniště po sklizni ozimé pšenice a hrachu na půdní vlhkost a emise CO_2 z půdy během teplého letního období před setím řepky ozimé. Varianty pokusu byly následující: hluboká podmítka (do 10-12 cm), mělká podmítka (do 5-6 cm), mulč a strniště s ponechanou rozdrcenou slámou. Emise CO_2 měřené v různých termínech po hluboké podmítce provedené v letním počasí byly v teplých dnech až dvojnásobné oproti ostatním způsobům zpracování půdy a managementu posklizňových zbytků. Půda po hlubší podmítce také vykazovala nižší vlhkost, vyšší teplotu a větší denní výkyvy teplot. Strniště a mulč, které zůstávají na neporušeném povrchu půdy, snižují emise CO_2, zvyšují sekvestraci uhlíku a vody v půdě a omezují její přehřívání v letním období.

Klíčová slova: Zpracování půdy, emise CO_2, sekvestrace vody a C v půdě

Abstract

The effect of deep and shallow chiselling, straw mulch and intact stubble after wheat and pea on soil moisture and CO_2 emissions during warm summer period before winter rape sowing was studied in field experiments in Prague in 2020-21. The following treatments were compared: deep chiselling up to 12 cm, shallow chiselling (6-8 cm depth), straw mulch and intact stubble with a straw. Deep chiselling in hot summer weather caused even twice CO_2 emissions from soils in comparison with other soil tillage and straw management practices. The soils under deep chiselling showed also higher soil temperature and greater temperature fluctuation during a day and a lower soil moisture. Straw mulch and stubble remaining on the intact soil surface increased water and carbon sequestration in soil, decreased CO_2 emissions from soils and prevented soil overheating in warm summer period.

Keywords: soil tillage, CO_2 emissions, water and C sequestration in soil

Úvod

Předpokládané změny klimatu s častějšími obdobími sucha, nepravidelnými srážkami a rostoucími teplotami přinášejí nové požadavky na šetrné zpracování půdy, zadržení vody, uhlíku a živin v půdě a stabilizaci výnosů pěstovaných plodin i v sušších letech. Obsah organických látek a vody v půdě je ovlivněn různými druhy pěstovaných plodin a meziplodin, způsobem hospodaření, klimatickými a půdními podmínkami. V souvislosti se změnou klimatu je zásadní prozkoumat dlouhodobé účinky těchto environmentálních faktorů a zemědělských činností na dynamiku uhlíku a vody (Chi et al., 2017).

Změny v postupech zpracování půdy orientované na nižší intenzitu jsou již v zemědělské praxi běžně akceptovány. Hlubší zpracování podporuje ztrátu organické hmoty v půdě, což vede k dalším problémům, jako je narušení agregátů nebo zvýšená eroze půdy (Melero et al., 2009).

Značné množství CO_2 se uvolňuje do atmosféry ze zemědělských půd po mineralizaci půdní organické hmoty (asi 50 Gt C/rok). Vhodnější způsoby zpracování půdy ale mohou zásoby C v zemědělské půdě obnovit a pomoci tak zmírnit emise CO_2 (Paustian et al. 2000). Použitím posklizňových zbytků jako mulče je možné zlepšit obsah organického uhlíku v půdě. Povětrnostní podmínky mohou hrát důležitou roli při zachování organické hmoty v půdě. Například nedostatek srážek negativně ovlivňuje postupný rozklad posklizňových zbytků (Lopez-Sangil et al., 2018). Emise CO_2 z půdy závisí na různých faktorech jako je způsob zpracování půdy, její teplota a vlhkost, vzájemné interakce mezi těmito faktory a samozřejmě závisí i na dostupnosti organických látek zapravovaných do půdy (Paustian et al., 2000; Dong et al., 2017). Curtin et al. (1998, 2000) ukázali, že sláma ponechaná na povrchu půdy snížila emise CO_2 přibližně 5krát v porovnání se zapravením slámy orbou.

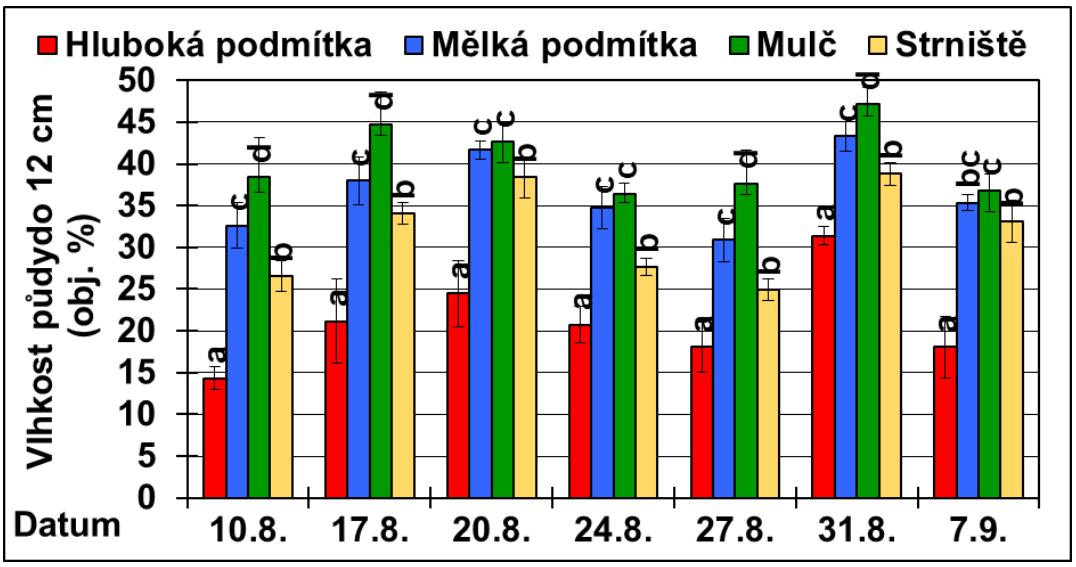
Materiál a metody

Polní pokusy s různým managementem posklizňových zbytků včetně slámy a strniště po sklizni ozimé pšenice (2020) a hrachu (2021) byly provedeny na hnědozemi v Praze- Ruzyni. Jejich cílem bylo porovnat šetrnější agrotechnické postupy před setím řepky (mělká a hlubší podmítka, mulčování, ponechané strniště) pro lepší zadržení vody a uhlíku v půdě během teplého letního období. Byly porovnávány následující postupy: hluboká podmítka (do 10-12 cm), mělká podmítka (do 5-6 cm), mulč s rozdrcenou slámou na povrchu a strniště s rozdrcenou slámou. Vlhkost a teplota půdy a emise CO_2 byly měřeny v 3-7 denních intervalech v teplém letním období 10.8. až 7.9. v roce 2020 a 6.8. až 14.9. v roce 2021. Emise CO_2 byly stanoveny pomocí automatického systému na měření CO_2 z půdy LI-COR 8100 v systému s Multiplexerem 8150 a měřícími komorami LI-8100-104 (USA) pracujícími v režimu postupně se zavírajících a otevírajících komor. Objemová vlhkost byla stanovena v půdním profilu do hloubky 12 cm pomocí FieldScout TDR Soil Moisture Meter (Spectrum Technologies, Inc., United Kingdom).

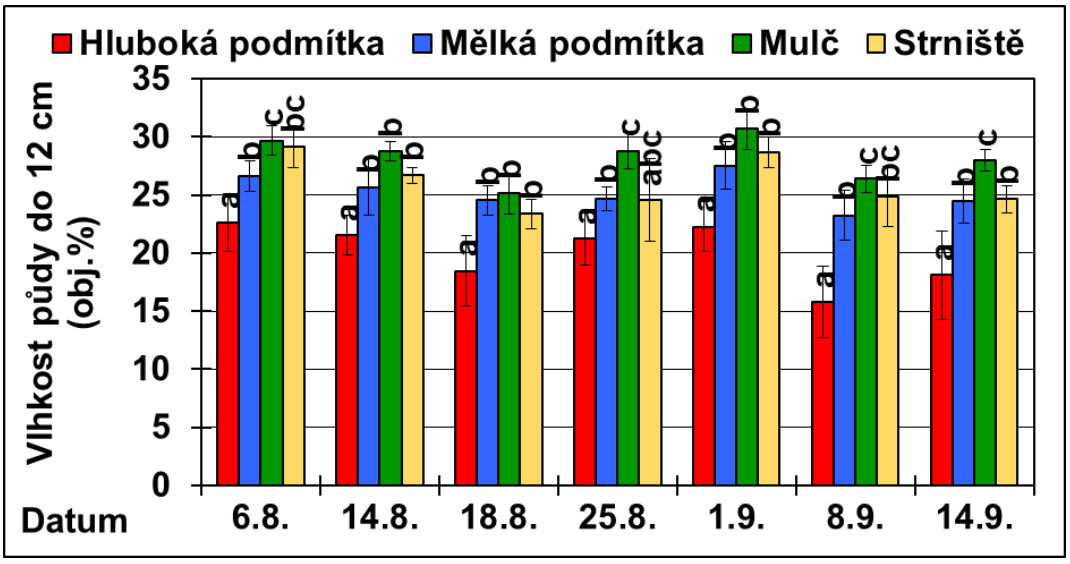
Výsledky a diskuse

Polní pokus po sklizni ozimé pšenice (od 7.8. - provedena podmítka a mulčování slámy do 7. 9. 2020) lze charakterizovat průměrnými denními teplotami vzduchu od 11,5 do 26,0 °C a úhrnem srážek 40,7 mm. Teplota půdy v hloubce 5 cm byla ovlivněna způsobem zpracování půdy a managementem posklizňových zbytků. Nejvyšší rozdíly v teplotě během dne vykazovala půda po hluboké podmítce, které během 24 hodin činily až 20 °C. Půda po mělké podmítce, mulčování a strništi se během dne méně prohřívala a maximální rozdíl dosahoval přibližně 10 °C. Nejvyšší odpolední teploty byly po hluboké podmítce vyšší až o 5-8 °C. Celodenní průměrné teploty byly nejvyšší v půdě po hluboké podmítce a klesaly v pořadí: hluboká podmítka >> mělká podmítka > strniště ≥ mulč. Naopak vlhkost půdy do hloubky 12 cm byla nejvyšší u mulče a nejnižší u hluboké podmítky (Graf 1). Obdobné výsledky ve vlhkosti půdy byly zjištěny také v roce 2021 po sklizni hrachu, kdy byly podmítka a mulčování provedeny 30. 7. a pokus probíhal do 14. 9. (Graf 2).

Graf 1: Objemová vlhkost různě zpracované půdy po sklizni ozimé pšenice



Graf 2: Objemová vlhkost různě zpracované půdy po sklizni hrachu

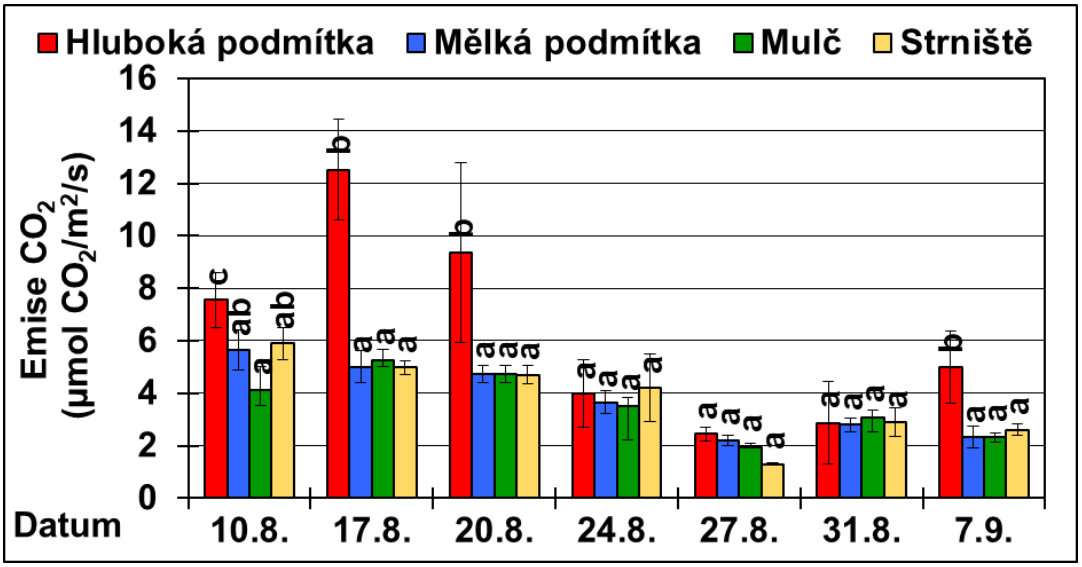


Po hlubší podmítce byly v roce 2020 po ozimé pšenici ve většině termínů měření zjištěny také nejvyšší emise CO_2. Rozdíly v emisích CO_2 mezi hlubokou podmítkou a ostatními variantami pokusu byly statisticky průkazné (Graf 3). Teplota půdy přitom představovala jeden z významných faktorů, které emise CO_2 z půdy ovlivnily. Nejvyšší emise CO2 byly zjištěny po dešti na suchý a teplý povrch půdy na hluboké podmítce ve dnech 17. 8. a 20 .8. V těchto dnech, podobně jako dne 7.9., kdy teplé zářijové dny zvýšily teplotu půdy, byly emise CO_2 dvojnásobné oproti mělčí podmítce, mulčování a ponechanému strništi. Posklizňové zbytky ponechané na povrchu půdy snižovaly nadměrné prohřívání půdy, ztrátu půdní vlhkosti a

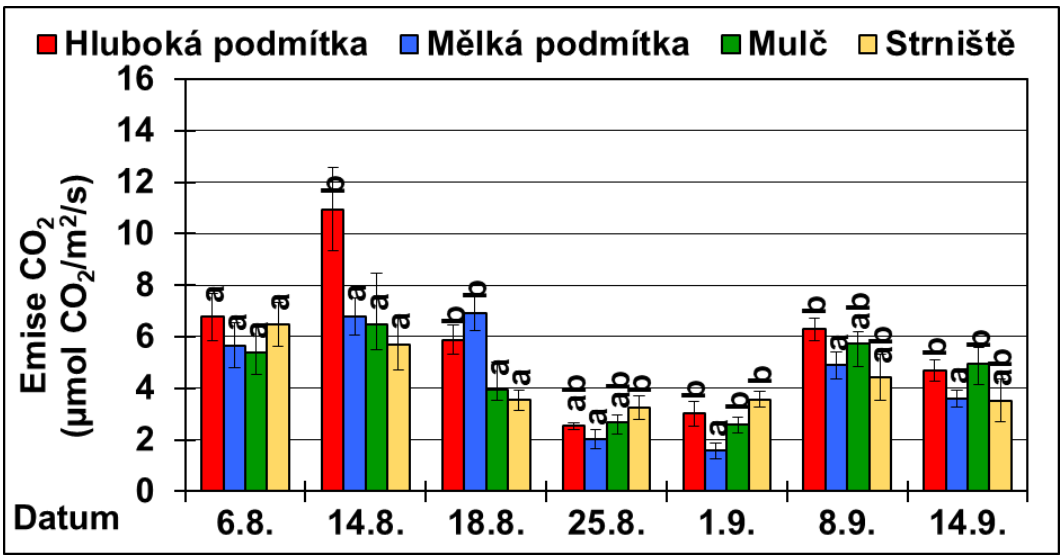
mineralizaci půdní organické hmoty. Podle některých autorů (např. Curtin et al, 1998, 2000) orba může zvýšit emise CO_2 z půdy až 5 x. Podmítka do 10-12 cm v našem polním pokusu pak zvýšila emise CO_2 v teplých dnech zhruba dvakrát. Dong et al. (2017) uvádějí, že emise CO_2 z půdy závisí na různých faktorech jako je způsob zpracování půdy, její teplota a vlhkost a vzájemné interakci mezi těmito faktory. K těmto faktorům patří dle našich výsledků také aerace půdy. V roce 2021 přišly bezprostředně po zpracování půdy 1. srpna intenzivní srážky (22 mm), což způsobilo u podmítnuté půdy rozplavení její povrchové vrstvy a následně pak zhoršení její aerace. To se projevilo mimo jiné menšími rozdíly v emisích CO_2 mezi zpracovanou a nezpracovanou půdou (Graf 4). Dá se předpokládat, že při častějších srážkách a větší vlhkosti půdy jsou emise oxidu uhličitého nižší.

Mineralizace půdní organické hmoty po zpracování půdy neznamená jen ztrátu uhlíku ve formě emisí CO_2, ale také uvolňování dostupných živin včetně dusičnanů (Zhu et al., 2016). Dusičnany jsou snadno pohyblivé v půdě, proto se po silných letních srážkách mohou snadno vyplavit do hlubších vrstev půdy. Dosažené výsledky upozorňují na souvislosti mezi teplotou půdy, její vlhkostí, aerací a emisemi CO_2 z půdy. Pokud po sklizni polních plodin v letním období nenásleduje ozimá řepka lze doporučit v teplém letním období omezit ztráty uhlíku (popř. i nitrátů) snížením prohřívání a aerace půdy ponecháním strniště nebo jeho zmulčováním. Také při pěstování řepky existují inovační konzervativní technologie (např. strip till, no-till), které omezují rozklad organických látek v půdě, ale při jejich používání je většinou třeba podpořit růst rostlin dodáním živin již při setí.

Graf 3: Emise CO_2 z různě zpracované půdy po sklizni ozimé pšenice



Graf 4: Emise CO_2 z různě zpracované půdy po sklizni hrachu



Závěr

Mulčování slámy, případně ponechání strniště a pozdější zpracování půdy by mělo být v příštích letech více uplatňováno z následujících důvodů: i) Půda bez zpracování s mulčem na povrchu se zahřívá v teplém letním období méně a lépe zadržuje vodu; ii) Zpracování půdy, které ovlivňuje rozklad půdní organické hmoty, se provádí později při nižších teplotách a způsobuje nižší ztráty (emise) CO_2 v porovnání se zpracováním půdy bezprostředně po sklizni za vysokých teplot; iii) Při pozdějším zpracování půdy dochází k nižší mineralizaci organických látek v půdě a tím i k nižší tvorbě nitrátů a rizika jejich ztrát zejména vyplavením na promyvných půdách po intenzivních letních srážkách. Často v praxi používané hlubší a intenzivnější zpracování půdy v teplém letním období před setím ozimé řepky může významně zvýšit jak emise CO_2, tak i ztráty vody z půdy. Dosažené výsledky potvrdily, že emise oxidu uhličitého závisí kromě intenzity a hloubky zpracování půdy na její teplotě, vlhkosti a aeraci.

Dedikace

Publikované výsledky byly získány za finanční podpory MZe ČR v rámci institucionální podpory RO0418.

Literatura

Curtin, D., Selles, F., Wang, H., Biederbeck, V.O., Campbell, C.A. 1998, Carbon Dioxide Emissions and Transformation of Soil Carbon and Nitrogen during Wheat Straw Decomposition. Soil Science Society of America Journal, 62, 1035-1041.

Curtin, D., Wang, H., Selles, F., McConkey, B.G., Campbell, C.A. 2000. Tillage Effects on Carbon Fluxes in Continuous Wheat and Fallow–Wheat Rotations. Soil Science Academy America Journal, 64, 2080-2086.

Dong, W., Liu, E., Wang, J., Yan, C., Li, J., Zhang, Y. 2017. Impact of tillage management on the short- and long-term soil carbon dioxide emissions in the dryland of Loess Plateau in China. Geoderma, 307, 38-45

Chi, J., Waldo, S., Pressley, S. N., Russell, E. S., O'Keeffe, P. T., Pan, W. L., Lamb, B. K. 2017. Effects of climatic conditions and management practices on agricultural carbon and water budgets in the inland Pacific Northwest USA. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 122, 3142–3160. https:// doi.org/10.1002/2017JG004148

Lopez-Sangil, L.; Hartley, I.P.; Rovira, P.; Casals, P.; Sayer, E.J. 2018. Drying and rewetting conditions differentially affect the mineralization of fresh plant litter and extant soil organic matter. Soil Biol. Biochem., 124, 81–89.

Melero, S., López-Garrido, R., Murillo, J.M., Moreno, F. 2009. Conservation tillage: Short- and long-term effects on soil carbon fractions and enzymatic activities under Mediterranean conditions. Soil Till. Res., 104, 292-298

Zhu, X.Y., Chang, L.,Liu, J., Zhou, M.H., Li, J.J., Gao, B., Wu, D.H. 2016. Exploring the relationships between soil fauna, different tillage regimes and CO_2 and N_2O emissions from black soil in China. Soil Biol & Biochem, 103, 106-116 10.1016/j.soilbio.2016.08.019

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Růžek, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6
ruzek@vurv.cz

Rozdíly v meziodrůdové citlivosti hořčice bílé k napadení semen houbovými patogeny

Differences in the sensitivity of varieties white mustard to attack of seeds by mushrooms pathogens

Rychlá A.[1], Plachká E.[2], Gališová V. [2]

[1]OSEVA PRO s.r.o., o.z.VÚO Opava

[2]OSEVA vývoj a výzkum s.r.o.

Abstrakt

Významným faktorem, který snižuje kvalitu produkce semen hořčice bílé, je jejich napadení houbovými patogeny. Rozvoj chorob je úzce spjatý s průběhem počasí v době dozrávání semen. Významnou roli hraje ale také genotyp. Testováním velkého počtu genových zdrojů jsme potvrdili domněnku, že existují genotypy s různou citlivostí k napadení. Odolné materiály mohou být velmi perspektivní pro šlechtitelské programy.
Klíčová slova: hořčice bílá, šedosemennost, odolnost, genový zdroj

Abstract

An important factor that reduces the quality of white mustard seed production is their attack by fungal pathogens. The development of diseases is closely linked to the course of weather at the time of seed ripening. However, genotype also plays an important role. By testing a large number of gene sources, we confirmed the hypothesis that there are genotypes with different susceptibilities to attack. Resistant materials can be very promising for breeding programs.
Keywords: white mustard, gray seeds, resistence, gene source

Úvod

V poslední době je kladen zvýšený důraz na kvalitu produkce semenných plodin a to především v souvislosti se zdravotními dopady na zdraví lidí, hospodářských zvířat i užitnou hodnotu produkovaného osiva. Kvalita rostlinných produktů je znakem, který spolu s výší výnosu ovlivňuje přímý zisk producentů a výrazně zlepšuje uplatnění produkce na trhu. I široká laická veřejnost vnímá toto téma jako velmi aktuální a spotřebitelé často volí výrobky ne podle ceny, ale podle kvality. Zemědělec stojí před nelehkým úkolem vypěstovat produkci s maximálním výnosem, a zároveň v co možná nejlepší kvalitě. K dosažení tohoto cíle vedou dvě cesty. Podpora dobrého zdravotního stavu rostlin použitím cílené fungicidní ochrany a využitím přirozených vlastností registrovaných odrůd – odolnosti k vybraným patogenům. Uvědomíme-li si, že jakýkoliv vstup fungicidní ochrany přináší zemědělci zvýšení nákladů, potřebnost kompenzace vyšším výnosem, a zároveň nutnost vnímat riziko spojené s použitím chemické ochrany (rezidua chemických látek), pak se jako velmi žádoucí jeví cesta výběru vhodných genotypů a cílené šlechtění materiálů s odolností k patogenům.

Hořčice bílá je plodinou s dlouhou historií. O jejím využívání jsou zmínky již v Bibli, byla používána Římany i jinými tradičními národy pro svoji charakteristickou pálivou chuť. Na našem území se s jistotou využívala již v 16. století, jak dosvědčují zmínky v Matthioliho herbáři (BARANYK, 2010).

Hořčice bílá patří mezi brukvovité olejniny, i když se využívá nejen k produkci semen, ale také k zelenému hnojení a jako meziplodina. Její charakteristickou chuť způsobuje přítomnost

glukosinolátů, které po navlhčení uvolňují hořčičné silice. Hlavním glukosinolátem je sinalbin 12-18 (p-hydroxybenzylglukosinolát) (PRUGAR, 2008).
Nejzávažnějším kvalitativním problémem u hořčice bílé je šedosemennost semen. Ta je způsobena napadením povrchu dozrávajících semen různými houbovými patogeny, které se projevuje zešednutím povrchové vrstvy osemení až deformacemi zrajících semen. Jako nejvýznamnější patogen byla vyhodnocena *Alternaria alternata*, která tvořila až 60,9 % patogenů přítomných na povrchu semen (MAJCHRZAK et al., 2003). Kromě vizuálního zhoršení přináší šedosemennost mnohem závažnější dopady, jako je obsah mykotoxinů, především ochratoxinu a aflatoxinu B (ZUKALOVÁ et al., 1990). Podle ČSN 46 2300-4 může použitelná produkce obsahovat maximálně 5% povrchově zašedlých semen. Z důvodu eliminace tohoto nežádoucího parametru byl vytvořen šlechtitelský směr tvorby tzv. semenných odrůd, tedy genotypů určených k produkci semen pro potravinářské využití, s vyšší odolností k šedosemennosti (PRUGAR, 2008).
V České republice je v současnosti registrováno pouze 8 odrůd, z toho 6 pochází z domácího šlechtění. Současně pouze dvě jsou určeny k využití pro pícní účely nebo jako meziplodiny (ÚKZÚZ, on line). Zároveň je u nás ale také pěstováno a množeno velké množství odrůd z Evropského katalogu. Patří mezi ně např. Albatros, Gisilba, Santa Fe, Asta, Semper, Torpedo, Emergo, Litember, Silenda, Polka, Signal, Ultra, Achiles, Condor, Metex. Jde o odrůdy semenného typu. Pro účely pěstování nadzemní biomasy jsou využívány zahraniční odrůdy Ascot, Sito, Salvo. Co se týče dosahovaných výnosů semen, jsou naše semenné odrůdy na vyšší úrovni, než zahraniční materiály. Kromě silné vazby šedosemennosti a genotypu lze negativní výskyt poškození omezit správně zvolenou technologií, včasnou sklizní a snížením posklizňové vlhkosti pod 10% (VAŠÁK, 2005)
Šedosemennost je z velké části ovlivněna průběhem počasí ve vegetačním roce, především v období dozrávání. Obecně je vyšší ve vlhkých, chladných letech a také v porostech polehlých, či jinak oslabených. Šedosemennost je parametrem, který je hodnocen i v rámci uznávacího řízení ve státních odrůdových zkouškách, neboť je významným faktorem v pěstování potravinářské hořčice (ZEHNÁLEK, 2021).
Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity (NP) se zaměřuje na uchovávání primárně domácích odrůd, ale také světových zdrojů, krajových odrůd nebo šlechtitelského materiálu, nesoucího významné vlastnosti. Položky v kolekcích jsou opakovaně testovány v polních maloparcelních pokusech s cílem popisu jejich vlastností, včetně odolnosti k vybraným patogenům. Výsledky z víceletých hodnocení jsou zveřejňovány v informačním systému GRIN Czech, který je volně přístupný všem uživatelům na webových stránkách.

Materiál a Metody

Pracoviště společnosti OSEVA PRO s.r.o., o.z.VÚO v Opavě je řešitelem NP, konkrétně kolekce olejnin. Její součástí jsou i genové zdroje (GZ) hořčice bílé. V současné době spravuje 138 GZ v rámci řádné kolekce NP a 46 GZ z kolekce pracovní. Každoročně jsou všechny tyto položky v jarních měsících vysévány do maloparcelních pokusů o velikosti parcel 1,25 x 3 m. Během vegetace je plocha standardně ošetřována herbicidy a v případě potřeby insekticidy (pilatka, dřepčíci, blýskáček, mšice). Fungicidní ochrana se nepoužívá z důvodu realizace hodnocení. Kromě běžného základního hodnocení morfologických znaků je hodnocena odolnost k poléhání, základní fenologická data (začátek a konec kvetení) a odolnost k vybraným biologickým stresům – foma, hlízenka, černě. Pokusy jsou sklízeny maloparcelní sklízecí mlátičkou pro predikci výnosu semen, současně je odebrán vzorek semen pro laboratorní

analýzy. Součástí rozboru je stanovení HTS, podílu šedých semen a stanovení obsahu oleje a skladby mastných kyselin metodou FT-NIR.
Vlastní šedosemennost je hodnocena na průměrném vzorku 1000 semen. Materiál je umístěn na světlou podložku a za pomocí pinzety jsou odebírána semena se znaky napadení. Celkový počet poškozených semen je stanoven pomocí čítače semen. Poté je vypočten procentuální podíl šedých semen ve vzorku. Po třech letech hodnocení je stanoveno průměrné poškození semen šedosemenností a v případě GZ z NP je porovnána odolnost mezi jednotlivými materiály. K tomuto účelu jsou materiály srovnávány na platný kontrolní kultivar hořčice bílé semenného typu – Severka. Pro potřeby uživatelů bude v příštích letech vytvořen nový deskriptor pro hodnocení odolnosti k šedosemennosti klasifikátoru *Sinapis alba* L. Data o stupni odolnosti budou převedena na hodnotu deskriptoru a umístěna do IS GRIN Czech.

Výsledky a diskuze

Pokusy pro stanovení odolnosti GZ hořčice bílé k šedosemennosti byly realizovány v letech 2018-2020. V Tab. 1 uvádíme počty hodnocených GZ z kolekce řádné, pracovní a celkový počet materiálů s ukončeným víceletým hodnocením.
Tab. 1 Počet hodnocených genových zdrojů (ks)

Rok hodnocení	Počet GZ řádné kolekce	Počet GZ pracovní kolekce	Celkový počet hodnocených GZ
2018	119	30	149
2019	121	38	159
2020	119	40	159
Počet materiálů s ukončeným 3 - letým hodnocením	119	21	140

Mezi materiály existovaly velmi výrazné rozdíly v napadení a to díky vlastnostem genotypu, tak jako důsledek průběhu počasí v závěru vegetace. Ze získaných výsledku je patrné, že sílu napadení významně ovlivňuje průběh počasí daného vegetačního roku. V následující tabulce (Tab. 2) uvádíme přehled charakteristik počasí v rozhodujících měsících – červnu až srpnu pokusného roku. Rok 2018 byl extrémně suchý a teplý, genotypy nebyly šedosemenností výrazněji zasaženy. V roce 2019 sice také převažoval podobný průběh počasí, srpen už byl ale vlhčí, dozrávající semena byla více poškozena. Rok 2020 byl z uvedených let nejchladnější a nejvlhčí. To se projevilo i silným rozvojem houbových chorob s dopadem na šedosemennost, jak je patrné z přehledné tabulky průměrných výsledků z pokusů (Tab. 3).

Tab. 2 Měsíční data teplot a srážek v nejcitlivějším období tvorby a dozrávání semen

Kalendářní měsíc sledovaného období	Odchylka průměrné teploty od dlouhodobého průměru [°C]			Množství srážek v porovnání k dlouhodobému průměru [%]		
	2018	2019	2020	2018	2019	2020
Červen	1,3	4,5	0,6	97,2	42,3	220,0
Červenec	2,1	0,5	-0,4	27,3	56,3	96,8
Srpen	3,1	2,2	1,3	34,1	144,6	200,2

Tab. 3 Zjištěná šedosemennost a extrémní hodnoty za celý pokus [%]

Šedosemennost	Pokusný rok 2018	Pokusný rok 2019	Pokusný rok 2020	Průměr, maxima a minima za období 2018-2020
Průměr pokusu	6,24	11,19	20,39	**12,61**
Maximální napadení za pokus	17,90	29,80	28,90	**29,80**
Minimální napadení pokusu	2,10	3,20	4,50	**2,10**

V důsledku variabilního průběhu počasí v závěru vegetace došlo k odlišnému rozvoji šedosemennosti u testovaných materiálů. Nejvyšší napadení bylo pozorováno v roce 2020, kdy byl závěr vegetace chladný a vlhký. Naopak suchý průběh počasí v roce 2018 výrazně omezil rozvoj houbových patogenů. Zjištění se shoduje s tím, co uvádí Zehnálek (2021), že pro produkci potravinářské hořčice je vhodné využívat sušší a teplejší polohy. Přes výrazný vliv počasí byly mezi materiály v rámci ročníku významné rozdíly. I v chladném a vlhkém roce 2020, kdy byl tlak patogenů nejvyšší, byly některé genotypy napadeny šedosemenností pouze minimálně. V následující tabulce (Tab. 4) uvádíme přehled core kolekce materiálů s hraniční reakcí na tlak houbového patogena. Je zde uveden počet napadených semen ve vzorku a procentuální poměr k napadení kontrolního materiálu (odrůda Severka – semenný typ).

Tab. 4 Počty napadených semen v testovaném vzorku v jednotlivých letech a procento podílu napadení na kontrolní odrůdu Severka

Evidenční číslo národní	Název	Počet napad. semen v roce 2018 [ks]	Procentna kontr. [%]	Počet napad. semen v roce 2019 [ks]	Procentna kontr. [%]	Počet napad. semen v roce 2020 [ks]	Procentna kontr. [%]	Prům. napad. v letech 2018 -2020 porov. na kontr. odr. [%]
15O05	AC Base	27	45,76	36	60,00	129	77,25	61,00
15O0500041	Valiant	31	52,54	59	98,33	118	70,66	73,84
15O0500060	Kramodar	38	64,41	43	71,67	173	103,59	79,89
15O0500098	Tilny	29	49,15	35	58,33	249	149,10	85,53
15O0500097	BRSCHW 55705	52	88,14	42	70,00	175	104,79	87,64
15O0500018	Borowska	138	233,90	154	256,67	239	143,11	211,23
15O05	47-635-YE 13	77	130,51	255	425,00	219	131,14	228,88
15O0500123	Chacha	120	203,39	247	411,67	153	91,62	235,56
15O0500128	Condor	179	303,39	170	283,33	218	130,54	239,09
15O0500070	BGRC 30332	92	155,93	298	496,67	203	121,56	258,05

Materiálem s potencionálně nejvyšší odolností k napadení je zahraniční odrůda AC Base, která dosáhla v průměru o 39 % lepší výsledky, než kontrolní kultivar Severka. Naopak moderní odrůdy jako Chacha nebo Condor mají významně vyšší citlivost a jsou tedy vhodnější k produkci biomasy – na zelené hnojení, jako meziplodina.

Odrůdy semenného typu, povolené Státním odrůdovým úřadem České republiky jsou testovány na odolnost k šedosemennosti v rámci tříletého uznávacího řízení. Na základě těchto výsledků jsou odrůdy Agent, Andromeda, Severka, Veronika a Zlata charakterizovány jako materiály s nízkým výskytem nežádoucích šedých a jinak zbarvených semen. Odrůda Polárka vykazuje nízký až středně vysoký podíl a odrůda Warta (vyšlechtěná pro specifickou skladbu oleje, s nízkým podílem kyseliny erukové) středně vysoký podíl (ZEHNÁLEK, 2021). Napadení šedosemennosti u těchto materiálů v našich pokusech uvádíme v Tab. 5. Odrůdy Zlata, Severka a Veronika byly napadeny šedosemenností pouze v malé míře. Zvýšený podíl šedých semen pozorujeme u odrůd Polárka, Andromeda a Agent. Odrůda Warta byla povolena v roce 2018 a do pracovní kolekce NP byla získána později. Hodnocení této odrůdy proběhlo proto zatím pouze v roce 2021, kdy podíl šedých semen ve vzorku dosáhl 45,10 %. Odrůda v porovnání s výsledky ÚKZÚZ byla v tomto roce šedosemenností významně poškozena. Její náchylnost

může souviset s výraznou změnou kvalitativních parametrů oleje – nízký obsah kyseliny erukové, na který byla vyšlechtěna. Tato odrůda bude testována i v dalších letech, aby byl dokončen víceletý cyklus hodnocení. Jak ve své práci uvádí Pietka (2014), jde o první odrůdu s těmito kvalitativními parametry a bude vhodné šlechtěním vytvořit další materiály a zlepšit jejich odolnost k patogenům.

Tab. 5 Napadení vybraných odrůd hořčice bílé šedosemenností

Evidenční číslo národní	Název	Počet napad. semen v roce 2018 [ks]	Počet napad. semen v roce 2019 [ks]	Počet napad. semen v roce 2020 [ks]	Průměrný počet napadených semen v letech 2018-2020 [ks]	Průměrné napadení šedosemenností [%]
15O0500027	Zlata	52	114	112	92,67	9,27
15O0500099	Severka	59	60	167	95,33	9,53
15O0500101	Polarka	48	58	261	122,33	12,23
15O0500115	Veronika	50	47	207	101,33	10,13
15O0500119	Polka	43	105	266	138,00	13,80
15O0500126	Andromeda	36	109	231	125,33	12,53
15O05	Agent	37	64	229	110,00	11,00
15O0500116	Sito	87	132	202	140,33	14,03
15O0500051	Salvo	59	112	334	168,33	16,83
15O0500052	Ascot	54	102	121	92,33	9,23

V současné době je na území Evropské unie registrováno 170 odrůd hořčice bílé, zdrojem základních dat o materiálech je Evropský katalog (EU Plant variety database, on line). Bohužel u těchto materiálů není specifikován užitný směr. Běžný uživatel pouze s obtížemi tyto informace získá. Jak uvádí Vašák (2005), evropské odrůdy Sito, Salvo a Ascot, které byly na našem území ještě v nedávné době pěstovány a odrůda Ascot v roce 2020 množená (ZEHNÁLEK, 2021), patří mezi odrůdy pícního typu. U těchto materiálů odolnost k šedosemennosti nehraje významnou roli. V Tab. 5 uvádíme výsledky odolnosti pro tyto materiály. Odrůdy Sito a Salvo vykazovaly sníženou odolnost, naopak odrůda Ascot byla k napadení málo citlivá a její výsledky lze srovnat s odolností kvalitních domácích odrůd semenného typu.

U některých materiálů byly pozorovány velké rozdíly v napadení i mezi jednotlivými pokusnými ročníky. Tuto skutečnost lze vysvětlit působením řady jiných faktorů, jako je např. ranost (materiály ranější mohou dozrávat ve zcela jiných podmínkách než materiály velmi pozdní) nebo odolnost k poléhání. Zehnálek (2021) ve své publikaci uvádí, že výskyt šedých semen je závislý na průběhu počasí v období dozrávání a proto doporučuje pěstovat potravinářské hořčice především v suchých a teplých oblastech. Zároveň uvádí, že vlastnosti

registrovaných odrůd to ovlivňují v menší míře. I z výsledků našich pokusů, především s ohledem na širokou diverzitu testované kolekce, shodně vyplývá, že vliv ročníku hraje výraznou roli, současně ale podíl vlivu genotypu není zanedbatelný. Je velmi přínosné do budoucna charakterizovat materiály využívané na našem území dle užitného směru. Tato informace by pomohla jak pěstitelům, tak šlechtitelům při výběru komponent pro oba šlechtitelské směry.

Šedosemennost hořčice bílé lze charakterizovat jako nejzávažnější kvalitativní problém. Právě z tohoto důvodu byly vyšlechtěny odrůdy semenného typu, tedy materiály s vyšší odolností k napadení (PRUGAR, 2008). O významu tohoto parametru svědčí i fakt, že je součástí standardního hodnocení ve státních odrůdových zkouškách. Z výše uvedeného lze předpokládat, že náchylnost k zašednutí semen je vázána na genotyp rostlin a šlechtitelským procesem lze vytvořit materiály s požadovanými vlastnostmi. Je vhodné zmapovat odolnost k napadení u dostupných materiálů (současných i historických odrůd) a výsledky poskytnout koncovému uživateli z řad šlechtitelů, který tím bude schopen realizovat vhodný výběr rodičovských komponentů pro křížení. Pokusy realizované v letech 2018-2020 na 140 GZ kolekce NP potvrdily rozdíly v odolnosti materiálů k napadení. GZ bylo možné mezi sebou porovnat a zpracovat data pro potřeby koncového uživatele. Realizací víceletého pokusu byl zohledněn i vliv rozdílného průběhu počasí a jeho dopadů na projev šedosemennosti.

Závěr

Mezi testovanými GZ kolekcí NP existují významné rozdíly v citlivosti k napadení semen houbovými patogeny. I když je tato citlivost výrazně posílena chladným a vlhkým průběhem počasí daného roku, vliv genotypu může negativní dopady na kvalitu produkce semen zlepšit. Vytipované materiály s vysokou odolností mohou být využity ve šlechtitelských programech firem, a to především při tvorbě semenných odrůd hořčice bílé. Odolnější materiály přirozeně snižují nutnost dalších vstupů v podobě fungicidního ošetření a tím dělají produkci bezpečnější i pro koncového uživatele. Data z realizovaných pokusů budou zpracována a předána do IS GRIN Czech, kde budou volně k dispozici uživatelům i z řad šlechtitelských firem.

Dedikace

Prezentované výsledky byly získány na základě řešení projektů MZe ČR 206553/2011-17253 ”Národní program konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity”, QK1910225 a institucionální podpory MZE-RO1821.

Použitá literatura

Baranyk P. 2010. Olejniny. Praha: Profi Press. p. 63-75

European Commission. 2021. EUPlant variety database. [online]. [cit. 21.10.2021]. Dostupné z: https://ec.europa.eu/food/plant/plant_propagation_material/plant_variety_catalogues_databases/search/public/index.cfm

Majchrzak B., Kurowski T. P., Karpińska Z. 2003. Pathogens present on vegetative organs and seeds of white mustard (Sinapis alba L.) and chinese mustad (Brassica juncea L.) Acta Agrobotanica, Vol. 56, iss. 1-2, p. 87-94

Piętka T. et al., 2014. Double low white mustard (Sinapis alba L., syn. Brassica hirta) is a source of protein and oil. ROŚLINY OLEISTE – OILSEED CROPS. 35: 21-35

Prugar J., 2008. Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí. Praha: Výzkumný ústav pivovarský a sladařský ve spolupráci s Komisí jakosti rostlinných produktů ČAZV, s. 327

Vašák J., Zukalová H., Kebert V. 2005. Pěstování a aktuální problematika hořčice. Řepka, mák, slunečnice a hořčice: 22.-23. února 2005. ČZU Praha, s.137-148

Věstník Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského: Seznam odrůd zapsaných ve Státní odrůdové knize ke dni 15. června 2021. [online] [cit. 21.10.2021]. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/odrudy/informace-o-odrudach/odrudy-registrovane-v-cr/seznam-odrud/

Zehnálek P. 2021. Seznam doporučených odrůd, přehled odrůd. ÚKZÚZ Brno, s. 60-65

Zukalová H. et al., 1990. Kvalita hořčice bílé. Sborník referátů, Systém výroby hořčice, p. 34-40

Kontaktní adresa:

Ing. Andrea Rychlá
OSEVA PRO s.r.o., o.z. VÚO Opava
Purkyňova 10; 764 01 Opava
rychla@oseva.cz, tel.: 776 259 111

Herbicidní ochrana lničky seté

Herbicide protection of *Camelina sativa* (L.) Crantz

Smejkalová H., Kubíková Z.

Zemědělský výzkum, spol. s r. o.

Abstrakt

V letech 2018 až 2021 byla v porostech lničky seté hodnocena fytotoxicita vybraných herbicidních přípravků. Byly zkoušeny preemergentní i postemergentí aplikace, celkem 20 variant. Bylo provedeno hodnocení celkové fytotoxicity přípravků ke lničce a účinnost na nejčastěji zastoupené plevele. V letech 2018 a 2021 byly hodnoceny také výnosy. Přípravky s preemergentní aplikací vykazovaly k lničce dobrou selektivitu, zároveň však relativně nízkou účinnost na plevele. Dobrou selektivitu k lničce měly také postmergentní přípravky – Goltix Top, Goltix Titan, Outlook a Galera Podzim. U ostatních byla zjištěna vysoká fytotoxicita (nad 45 %). V případě přípravku Galera Podzim došlo ke zvýšení fytotoxicity přidáním druhého herbicidu se spektrem účinku na jednoděložné plevele. Došlo také k výraznému snížení výnosu.

Klíčová slova: *Camelina sativa*, plevele, herbicidy, fytotoxicita

Abstract

In the years 2018 to 2021, the phytotoxicity of selected herbicidal preparations was evaluated in the stands of flaxseed. Pre-emergence and post-emergence applications were tested, a total of 20 variants. An evaluation of the overall phytotoxicity of the preparations to flaxseed and the efficacy on the most frequently represented weeds was performed. In 2018 and 2021, the yield was also evaluated. Pre-emergence herbicides showed good selectivity for flaxseed but at the same time relatively low efficacy on weeds. Post-emergent preparations - Goltix Top, Goltix Titan, Outlook, and Galera Podzim also had good selectivity for linseed. In others, high phytotoxicity was found (above 45%). In the case of Galera Podzim, phytotoxicity increased by adding a second herbicide with a spectrum of action on monocotyledonous weeds. There was also a significant reduction in yield.

Key words: *Camelina sativa*, weed, herbicides, phytotoxicity

Úvod

Lnička setá *Camelina sativa* (L.) Crantz je jednoletá olejnina z čeledi brukvovitých. Produkce lničky je zaměřena na zisk oleje (kosmetické využití, komponenty do bionafty, laků a barev), dále ji lze využít jako zdroj potravy pro opylovače nebo jako meziplodinu s výškou biomasy 50 až 100 cm (Pelikán a kol., 2019). Termín setí lničky spadá na konec března až začátek dubna (výsevek 8–12 kg/ha). Vegetační doba je velmi krátká, zpravidla 3 až 3,5 měsíce. K pozitivním vlastnostem lničky patří značná odolnost vůči dřepčíkům (Pelikán a kol., 2016). Z hlediska zaplevelení má poměrně vysokou konkurenční schopnost proti plevelům (Zubr, 1997), při slabém zaplevelení ji lze pěstovat bez herbicidní ochrany (Strašil, 2008). Pěstování lničky u nás není příliš rozšířené. Pěstuje se jako minoritní plodina, a to odráží i množství herbicidních přípravků povolených k ochraně lničky proti plevelům. K 1. 10. 2021 bylo do lničky k regulaci zaplevelení registrováno celkem 5 přípravků: Agil 100 EC, Butisan Max, Butisan Star, Clap a Targa Super 5 EC (Tabulka 1). V této práci byly zkoušeny další herbicidní přípravky a byla vyhodnocena jejich selektivita ke lničce seté a účinnost na nejčastěji zastoupené plevele. V letech 2018 a 2021 byly vyhodnoceny také výnosy semen.

Tabulka 1. Registrované herbicidní přípravky do lničky seté

Přípravek	Účinná látka	Spektrum účinku	Aplikační dávka	Termín aplikace
Agil 100 EC	*propachizafop*	lipnicovité jednoleté + výdrol obilnin	0,4 – 0,8 l/ha	postemergentní
		lipnicovité vytrvalé + pýr plazivý	1,2 – 1,5 l/ha	postemergentní
Butisan Max	*dimethenamid-P, chinmerak, metazachlor*	jednoděložné + dvouděložné jednoleté	2 – 2,5 l/ha	preemergentní
Butisan Star	*chinmerak, metazachlor*	jednoděložné + dvouděložné jednoleté	1,5 – 2 l/ha	preemergentní
Clap	*klopyralid*	dvouděložné	0,4 l/ha	postemergentní
Targa Super 5 EC	*chizalofop-P-ethyl*	výdrol obilnin	0,7 – 1 l/ha	postemergentní
		jednoděložné jednoleté	1 – 1,5 l/ha	postemergentní
		jednoděložné vytrvalé	2 – 2,5 l/ha	postemergentní

Materiál a metody

Za účelem sledování fytotoxicity a účinnosti vybraných zkoušených herbicidů byly v letech 2018 až 2021 zakládány maloparcelkové pokusy. V letech 2018 a 2019 byly pokusy realizovány na lokalitách v okolí obce Troubsko, v roce 2020 byla pokusná plocha v KÚ obce Mělčany a v roce 2021 v KÚ obce Holasice. Výsevek lničky odrůdy Zuzana byl 10 kg/ha a hloubka setí 1 cm. Parcely s plochou 12,5 m^2 byly uspořádány do znáhodněných bloků ve třech opakováních. Průběh počasí v jednotlivých ročnících uvádí Tabulka 2. Vzhledem k vysoké konkurenceschopnosti lničky byly zkoušeny převážně postemergentní herbicidy. Seznam zkoušených variant uvádí Tabulka 3. Postemergentní aplikace probíhala v růstové fázi 2 až 4 pravých listů (BBCH 12–14) u lničky (v této růstové fázi byla i většina plevelů), kdy je nejvyšší účinnost přípravků na plevele. Preemergentní aplikace probíhaly do jednoho dne po zasetí.

Tabulka 2. Sumy srážek a průměrné teploty na pokusných lokalitách

Rok	Měsíc	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.
2018	Průměrné měsíční teploty (°C)	1,9	-2,0	2,1	14,1	18,0	19,6	21,5	22,8	16,0	11,1	5,6	1,5
	Sumy srážek (mm)	33,0	11,0	12,0	11,0	36,0	36,0	40,0	15,0	86,4	14,3	20,9	25,3
2019	Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,9	2,4	6,7	11,1	12,2	22,0	20,3	20,8	14,6	9,9	6,8	2,0
	Sumy srážek (mm)	23,0	17,0	27,0	17,0	78,0	65,0	60,0	56,0	72,6	30,4	40,1	42,9
2020	Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,2	4,6	5,3	9,9	12,6	18,0	19,1	20,7	15,0	10,1	4,5	2,4
	Sumy srážek (mm)	9,0	27,0	26,0	20,0	64,0	87,0	68,0	105,0	81,6	130,1	23,4	36,8
2021	Průměrné měsíční teploty (°C)	-0,1	0,0	3,5	7,1	12,7	20,2	20,8	17,9	15,6	-	-	-
	Sumy srážek (mm)	36,0	31,0	21,0	16,0	58,0	67,0	100,0	130,0	15,0	-	-	-

Fytotoxicita přípravků ke lničce byla při postemergentní aplikaci hodnocena ve 3 termínech (T1=hodnocení po týdnu, T2=hodnocení po dvou týdnech a T3=hodnocení po čtyřech týdnech po ošetření). Při preemergentní aplikaci byla fytotoxicita hodnocena také při vzcházení porostu (termín T0 v BBCH lničky 10 – vzcházení). Další termíny hodnocení u preemergentních

aplikací byly odvozeny od data vzejití lničky (T1=týden po vzejití, T2=dva týdny po vzejití, T3=čtyři týdny po vzejití). Fytotoxicita byla hodnocena vizuálně, testovaná plocha byla srovnávána s neošetřenou kontrolou. Hodnocena byla celková fytotoxicita, tj. celkové poškození rostliny v % (na stupnici 0–100 %). Podle způsobeného poškození byly přípravky rozděleny do 4 kategorií:
Nad 45 % poškození = silná fytotoxicita
31–45 % poškození = zvýšená fytotoxicita
21–30 % poškození = uspokojivá selektivita
0–20 % poškození = dobrá selektivita
U přípravků vyhodnocených jako perspektivní k ochraně lničky uvádíme účinnost na plevele vyskytující se na pokusné ploše. Účinnost je uvedena v % poškození rostliny, kdy 0 % = plevele zcela nepoškozené, 100 % = celkové odumření plevelů.
V letech 2018 a 2021 byla provedena sklizeň osiva jednotlivých parcel maloparcelkovým kombajnem Sampo. Vzorky byly zváženy, dosušeny a přepočteny na výnos při standardní vlhkosti osiva 8 % v kg/ha. Výnosy byly statisticky srovnány pomocí Tukeyho testu při α=0,05. Výnos byl přepočítán na procentuální vyjádření vztažené ke kontrolní neošetřené variantě (100 %).

Tabulka 3. Zkoušené herbicidní přípravky do lničky seté

Rok	Přípravek	Účinná látka	Aplikační dávka na ha	Termín aplikace
2018	Autor	*metazachlor*	1,5 l	pre
2018	Goltix Top	*metamitron*	1,5 l	post
2018	Pulsar 40	*imazamox*	1,25 l	post
2018	Bentan 480 SL	*bentazon*	2 l	post
2018	Pardner	*bromoxynil*	1 l	post
2019	Wing-P + Agil 100 EC	*dimethenamid-P, pendimethalin*	3 l + 1,5 l	pre (+ post)
2019	Dual Gold 960 EC	*s-metolachlor*	1 l	pre
2019	Command 36 CS (+ Agil 100 EC)	*klomazon*	0,25 l + 1,5 l	pre (+ post)
2019	Granstar 50 SX (+ Agil 100 EC)	*tribenuron-methyl*	30 g + 1,5 l	post (+ post)
2020	Brasan	*dimethachlor, klomazon*	2 l	post
2020	Goltix Titan	*chinmerak, metamitron*	1,5 l	post
2020	Outlook	*dimethenamid-P*	1 l	post
2020	Mustang (+ Agil 100 EC)	*florasulam, 2,4-D*	0,8 l + 1,5 l	post (+ post)
2020	Belkar (+ Agil 100 EC)	*halauxifen-methyl, pikloram*	0,25 l + 1,5 l	post (+ post)
2021	Galera Podzim	*aminopyralid, klopyralid, pikloram*	0,35 l	post
2021	Galera Podzim (+ Agil 100 EC)	*aminopyralid, klopyralid, pikloram*	0,35 l + 1,5 l	post (+ post)
2021	Galera Podzim (+ Targa Super 5 EC)	*aminopyralid, klopyralid, pikloram*	0,35 l + 2 l	post (+ post)
2021	Goltix Top	*metamitron*	1,5 l	post
2021	Ally SX	*metsulfuron-methyl*	30 g	post
2021	Granstar 50 SX	*tribenuron-methyl*	30 g	post
2021	Stratos Ultra	*cykloxydim*	4 l	post

Výsledky a diskuze
Lnička s jarním termínem výsevu bývá zaplevelována nejčastěji merlíky, violkou rolní, svízelem přítulou, rdesny, pohankou svlačcovitou nebo penízkem rolním. Na našich pokusných lokalitách se vyskytovaly hlavně merlíky, pohanka a violka, z jednoděložných oves hluchý nebo béry. Spektrum účinku zkoušených herbicidů bylo zaměřeno primárně na dvouděložné

plevele. Celkem bylo testováno 11 herbicidních přípravků s postemergentním datem aplikace, 2 preemergentní přípravky a 7 kombinací přípravků proti dvouděložným plevelům s registrovaným Agilem 100 EC nebo Targou Super 5 EC proti jednoděložným plevelům.

Fytotoxicita preemergentních přípravků: V roce 2018 a 2019 byly do pokusu zahrnuty preemergentní přípravky Autor, Wing-P, Dual Gold 960 EC a Command 36 CS. Přípravky Autor a Dual Gold 960 EC byly aplikovány samostatně, spektrum účinku těchto přípravků zahrnuje plevele dvouděložné i jednoděložné. Přípravky Wing-P a Command 36 CS jsou určeny k ochraně plodin proti dvouděložným plevelům, proto byl na pokusné parcely postemergentně aplikován přípravek Agil 100 EC v dávce 1,5 l/ha při vývojové fázi lničky dvou pravých listů pro potlačení plevelů jednoděložných. Výsledná fytotoxicita byla u přípravků Autor, Wing-P a Dual Gold ve všech čtyřech termínech hodnocení 0 %. U přípravku Command 36 CS bylo v termínu hodnocení T0 při vzejití a T1 poškození 20 %, v termínech T2 a T3 poškození 15 %.
Nejvyšší účinnost na plevele měl přípravek Autor. Poškození merlíku bílého bylo 20 % v T3, violky rolní 23,3 %, svízele přítuly 56,6 % a rdesna blešníku 5 %. U Commandu 36 CS byla účinnost na tolici dětelovou 33,3 % a svízel přítulu 20 %. U přípravků Wing-P byla zaznamenána účinnost pouze na merlík bílý 15 % a přípravek Dual Gold nepoškodil plevele vůbec. Účinnost preemergentních přípravků je vázaná na vlhkost v půdě. Při použití preemergentu v suchých půdních podmínkách může dojít ke snížení jeho účinnosti (Stickler a kol., 1969). V roce 2018 mezi dobou postřiku a počátkem vzcházení napadlo 0,2 mm srážek, v roce 2019 0,3 mm srážek, přípravek byl aplikován též na suchý povrch půdy. Nízká fytotoxicita přípravků a zároveň nízká účinnost na plevele mohla být ovlivněna právě nízkou vlhkostí v půdě. Výsledná fytotoxicita přípravku Dual Gold se shoduje s výsledky práce Jha a Stougaarda (2013). Účinnou látku *s-metolachlor* použili jako preemergent s výslednou fytotoxicitou menší než 20 %. Při ošetření podzimního výsevu lničky Serdyuk a kol. (2021) uvádí, že došlo ke snížení hustoty porostu. Jha a Stougaard dále vyzkoušeli do lničky preemergentně účinnou látku *pendimethalin* obsaženou v přípravku Wing-P. Zde se projevila zvýšená fytotoxicita, ale neprojevila se na výnosových parametrech. Účinnou látku *pendimethalin* zkoušeli v přípravku Stomp Aqua i Scheliga a Petersen (2016) bez viditelného poškození lničky.

Fytotoxicita postemergentních přípravků: Z postemergentních přípravků byly zkoušeny Goltix Top a Goltix Titan, Pulsar 40, Bentan 480 SL, Pardner, Granstar 50 SX, Brasan, Outlook, Mustang, Belkar, Galera Podzim, Ally SX a Stratos Ultra. Kromě přípravku Pulsar 40 jsou přípravky určené primárně k regulaci dvouděložných plevelů. Granstar 50 SX, Mustang, Belkar a Galera Podzim byly zkoušeny v tankmixu s Agilem 100 EC také proti jednoděložným plevelům. U Galery Podzim byla zkoušena i kombinace s dalším přípravkem určeným proti jednoděložným plevelům, a to s Targou Super 5 EC.
Silná fytotoxicita ke lničce (nad 45 % poškození) byla zjištěna u 10 zkoušených variant. Nejvyšší fytotoxicitu měly přípravky Pardner (v T3 98 %), Bentan 480 SL (95 %), Mustang v kombinaci s Agilem 100 EC (99,3 %) a Granstar 50 SX samostatně (83,3 %) nebo v kombinaci s Agilem 100 EC, kdy se fytotoxicita Granstaru zvýšila na 93,3 %. Silnou fytotoxicitu měly také přípravky Pulsar 40 (v T3 81,6 %), Brasan (v T1 71,6 % a T3 53,3 %), Belkar s Agilem 100 EC (75 %), Ally (56,6 %) a Stratos (53,3 %). Fytotoxicita zkoušených přípravků se u lničky projevovala silnými chlorózami, nekrózami a deformacemi. Dále docházelo k omezení růstu a ke zpoždění kvetení lničky.

Dobrou selektivitu (poškození do 20 %) měly přípravky Goltix Top a Titan, Outlook a Galera Podzim. Herbicid Goltix Top byl zkoušen v roce 2018 a 2021. U obou ročníků se projevila jeho dobrá selektivita ke lničce. Při termínu hodnocení T1 byla fytotoxicita v obou zkušebních letech 0 %, v T2 1,6 % (2018) a 0 % (2021) a v T3 6,6 % v roce 2018 a 5 % v roce 2021. Přípravek Galera Podzim při samostatném použití měl v termínu T3 fytotoxicitu 15 %, avšak v kombinaci s přípravky proti jednoděložným plevelům fytotoxicita vzrostla na 28,3 % při kombinaci s Targou Super 5 EC a na 35 % při kombinaci s přípravkem Agil 100 EC. Outlook měl k lničce dobrou selektivitu, poškození lničky v termínu hodnocení T3 bylo 5 %. Poškození lničky ve všech hodnocených termínech uvádí tabulka č. 4.

U přípravku Goltix Top byla účinnost na merlík bílý 51,6 % (2018) a 36,6 % (2021), violku rolní 16,6 % (2018), svízel přítulu 33,3 % (2018) a pohanku 0 % (2018). Goltix Titan účinkoval na pohanku z 16,6 % a na merlík z 31,6 %. Outlook v dávce 1 l měl účinnost na merlík 18,3 % a na pohanku 15 %. Galera Podzim měla účinnost na merlík 85 %.

Nízkou fytotoxicitu účinné látky *dimethenamid-P* (v našem případě přípravek Outlook) uvádějí i Jha a Stougaard (2013). Při použití jako preemergent nepřesáhla fytotoxicita ke lničce 20 %. Účinnou látku *klopyralid* zkoušely Serdyuk a kol. (2021) do ozimé lničky, kde významně ovlivnila hustotu porostu. Fytotoxicitu 10–40 % v závislosti na použité odrůdě uvádí Sobiech a kol. (2020). Přípravek Galera obsahuje účinné látky *klopyralid* a *picloram*. *Picloram* byl použit do lničky v práci Sobiech a kol. (2021) s výslednou fytotoxicitou 20–55 % v závislosti na odrůdě. Vysokou fytotoxicitu Galery uvádí Kubíková a Kolaříková (2017). Galera Podzim obsahující navíc účinnou látku *aminopyralid* v našich pokusech neměla takové vizuální poškození a jevila celkem dobrou selektivitu ke lničce. Přesto se u ní projevilo poměrně velké snížení výnosu (viz Tabulka 5). Použití tohoto přípravku by mělo své opodstatnění pouze v případě silného zaplevelení plevely citlivými k účinným látkám přípravku.

Tabulka 4. Fytotoxicita zkoušených herbicidů k lničce seté

Rok	Přípravek	Výsledná fytotoxicita (%)			
		T0	T1	T2	T3
2018	Autor	0,0	0,0	0,0	0,0
2018	Goltix Top	x	0,0	1,6	6,6
2018	Pulsar 40	x	50,0	73,3	81,6
2018	Bentan 480 SL	x	53,3	81,6	95,0
2018	Pardner	x	70,0	94,3	98,0
2019	Wing-P + Agil	0,0	0,0	0,0	0,0
2019	Dual Gold 960 EC	0,0	0,0	0,0	0,0
2019	Command 36 CS (+ Agil)	20,0	20,0	15,0	15,0
2019	Granstar 50 SX (+ Agil)	x	33,3	91,6	93,3
2020	Brasan	x	71,3	78,3	53,3
2020	Goltix Titan	x	15,0	15,0	13,3
2020	Outlook	x	5,0	3,3	5,0
2020	Mustang (+ Agil)	x	85,0	91,6	99,3
2020	Belkar (+ Agil)	x	56,6	75,0	75,0
2021	Galera Podzim	x	0,0	21,6	15,0
2021	Galera Podzim (+ Agil)	x	28,3	36,6	35,0
2021	Galera Podzim (+ Targa Super)	x	21,6	36,6	28,3
2021	Goltix Top	x	0,0	0,0	5,0
2021	Ally SX	x	18,3	76,6	53,3
2021	Granstar 50 SX	x	31,6	76,6	83,3
2021	Stratos Ultra	x	23,3	68,3	65,0

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

Hodnocení výnosu semen:
Výnos lničky odrůdy Zuzana se udává 1000–1500 kg/ha (VUPT, ZV, 2018). Sklizeň pokusných ploch proběhla v letech 2018 a 2021. V roce 2018 byl přepočtený výnos (kg/ha) na variantě ponechané bez herbicidního ošetření 373 kg/ha, v roce 2021 1667 kg/ha. V roce 2018 vedly suché podmínky (Tabulka 2) a poměrně vysoké zaplevelení ovsahou ke značnému snížení výnosu. U variant ošetřených Goltixem Top (2018 i 2021) a Autorem nebyly zjištěny statisticky průkazné rozdíly oproti neošetřené kontrole (Tabulka 5). K největším ztrátám na výnosu došlo u variant s nejvyšší mírou fytotoxicity. Výnos s více než 50% ztrátou oproti kontrole byl zjištěn u přípravků Granstar 50 SX (66% snížení výnosu), Bentan 480 SL (89% snížení výnosu), Pulsar 40 (92% snížení výnosu) a Pardner (95% snížení výnosu). Statisticky průkazné rozdíly ve výnosech byly zjištěny i u přípravku Galera Podzim, ať už použité samostatně nebo v kombinaci. Ztráta na výnosu činila 49 až 47 %. Přestože vizuální poškození rostlin nebylo tak velké, fytotoxicita se u Galery Podzim projevovala především omezením růstu, a to vedlo k opoždění vývoje rostlin, k pozdějšímu nakvétání a dozrávání semen. Vysoké ztráty byly zjištěny také u varianty ošetřené Ally SX (41% snížení výnosu).

Tabulka 5. Výnos semen (kg/ha)

2018				2021			
Přípravek	**Výnos kg/ha**	**% kontroly**	**Tukey α=0,05**	**Přípravek**	**Výnos kg/ha**	**% kontroly**	**Tukey α=0,05**
bez ošetření	373	100	a	bez ošetření	1667	100	a
Goltix Top	276	74	a	Goltix Top	1956	117	a
Autor	430	115	a	Galera P	861	52	bc
Pulsar 40	30	8	b	Galera P + Agil	877	53	bc
Bentan 480 SL	41	11	b	Galera P + Targa S.	856	51	bc
Pardner	19	5	b	Ally	985	59	bc
-	-	-	-	Granstar	563	34	c
-	-	-	-	Stratos	1408	84	ab

Závěr
Lnička setá má vysokou konkurenční schopnost k plevelům. V letech s dostatkem půdní vláhy je schopná vysokých výnosů i bez použití herbicidní ochrany. Při vysokém zaplevelení pozemku je doporučováno použití herbicidních přípravků. V našich pokusech se jako vhodné k ošetření lničky osvědčily postemergentní přípravky s účinnou látkou *metamitron* (Goltix Top a Goltix Titan v dávce 1,5 l/ha) a *dimethenamid-P* (Outlook). Přípravek Galera Podzim v samostatném použití projevila dobrou selektivitu k lničce, zároveň ale došlo k poklesu výnosu o 48 % vlivem omezení růstu a opožděného dozrávání. Z preemergentních přípravků měly dobrou selektivitu ke lničce (fytotoxicita do 20 %) Autor, Wing-P, Dual Gold 960 EC a Command 36 CS s tím, že u přípravku Command 36 CS dosahovalo průměrné poškození přesně 20 %.

Dedikace
Výsledek byl získán za podpory MZe ČR, institucionální podpora MZE-RO1718

Použitá literatura

Jha P., Stougaard R. 2013. Camelina (Camelina sativa) Tolerance to Selected Preemergence Herbicides. Weed Technology, 27(4), 712-717. doi:10.1614/WT-D-13-00061.1

Jordan L. S. et al. 1968. Factors Affecting Performance of Preemergence Herbicides. Weed Science, vol. 16, no. 4, [Cambridge University Press, Weed Science Society of America], pp. 457–62, http://www.jstor.org/stable/4041573.

Kubíková Z., Kolaříková K., 2017: Zaplevelení a konkurenceschopnost lničky seté. Úroda 12, roč. LXV, vědecká příloha, s. 327-330, ISSN 0139-6013

Pelikán J., Knotová D., Hofbauer J. 2019. Atlas olejnatých rostlin. Olomouc: Agriprint. ISBN 978-80-87091-85-2.

Pelikán J., Knotová D., Hofbauer J. 2016. Méně známé druhy zemědělských plodin. Troubsko: Výzkumný ústav pícninářský, spol. s.r.o. Troubsko. ISBN 978-80-88000-06-8.

Serdyuk O., Trubina V., Gorlova L. 2021. The effect of herbicides on winter false flax (Camelina sativa (L.) Crantz.). III International Scientific and Practical Conference "Problems and Prospects of Scientific and Innovative Support of the Agro-Industrial Complex of the Regions" 4. Dostupné z: doi:02011

Scheliga M., Petersen J. 2016. Selektivität von Herbiziden in Leindotter (Camelina sativa (L.) Crtz.). Tagesband 27. Deutsche Arbeitsbesprechung über Fragen der Unkrautbiologie und -bekämpfung, 23.-25, Braunschweig, Germany. Julius Kühn Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, 2016, 154-162. ISSN 1868-9892. Dostupné z: doi:20163238462

Sobiech L., Grzanka M. Kurasiak-Popowska D., Radzikowska D. 2020. Phytotoxic Effect of Herbicides on Various Camelina [Camelina sativa (L.) Crantz] Genotypes and Plant Chlorophyll Fluorescence. Agriculture. 10. 10.3390/agriculture10050185.

Stiskler R.L., Knake E.L., Hinsley T.D. 1969. Soil moisture and effectiveness of preemergence herbicides. Weed Science, 1969. 17: 257–259.

Strašil Z. 2008. Základy pěstování a možnosti využití lničky seté. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby. ISBN 978-80-87011-75-1.

Výzkumný ústav pícninářský spol. s r. o., Zemědělský výzkum spol. s r. o. 2018. Ročenka 2017 - 2018. Troubsko.

Zubr J. 1997. Oil-seed crop: Camelina sativa. Industrial Crops and Products. Volume 6, Issue 2, Pages 113 – 119

Kontaktní adresa:

Smejkalová Hana, Ing.
Zemědělský výzkum spol. s r. o.
Zahradní 1, Troubsko 66441
smejkalova@vupt.cz

Vlivy snižující účinnost fungicidů vůči bílé hnilobě řepky (*Sclerotinia sclerotiorum*)

The impact of factors reducing the efficacy of fungicides against white mould of rape (*Sclerotinia sclerotiorum*)

Šafář J.[1], Plachká E.[2], Seidenglanz M.[1]

[1]Agritec Plant Research s.r.o., Šumperk
[2]OSEVA PRO s.r.o., OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., odštěpný závod Výzkumný ústav olejnin Opava

Abstrakt
Cílem této práce je snaha o poznání širšího spektra faktorů, které mohou ovlivnit, resp. snížit funkčnost fungicidů na bílou hnilobu řepky. První okruh se týkal načasování aplikace, kdy v podmínkách severní Moravy na klimaticky rozdílných lokalitách bylo potvrzeno, že při rychlejším kvetení řepky je třeba volit časnější termín aplikace a načasování by se nemělo odkládat na plný květ a dokvétání. Dalším zjištěním pomocí hodnocení vybraných fungicidů reprezentující jejich základní skupiny bylo zjištěno, že i poloviční registrované dávky mají spolehlivou účinnost proti bílé hnilobě. Za třetí faktor bylo považováno snížení „fitness“ rostlin díky žíru larev krytonosců a větší rozvoj širokého spektra houbových patogenů vč. bílé hniloby řepky. Pro autory bylo překvapivým zjištěním, že k žíru larev stonkových krytonosců v místech s myceliem *S. sclerotiorum* docházelo ke snížení rozvoje a životaschopnosti bílé hniloby, což se projevilo sníženou tvorbou sklerocií.
Klíčová slova: bílá hniloba řepky, *Sclerotinia sclerotiorum*, fungicidní ošetření

Abstract
The aim of this work is to cover a wider range of factors that can affect, respectively. reduce the functionality of fungicides on white rot rape. The first round concerned the timing of application, when in the conditions of northern Moravia in climatically different localities it was confirmed that with faster flowering of rape it is necessary to choose an earlier date of application and the timing should not be postponed to full bloom and flowering. Another finding using the evaluation of selected fungicides representing their basic groups revealed that even half the registered doses have reliable efficacy against white rot. The third factor was considered to be a reduction in the "fitness" of plants due to the feeding of flowering larvae and greater development of a wide range of fungal pathogens. It was a surprising finding for the authors that the eating of larvae of stem angiosperms in places with S. sclerotiorum mycelium reduced the development and viability of white rot, which was reflected in reduced sclerotia.
Keywords: white mould of rape, *Sclerotinia sclerotiorum*, fungicides

Úvod

Bílá hniloba řepky je onemocnění, jež se v ČR vyskytuje ve všech oblastech pěstování řepky s častými silnými výskyty a patří mezi klíčové choroby (Rimmer a kol. 2007). Je způsobena patogenem *Sclerotinia sclerotiorum*, který parazituje na více než 300 druzích rostlin. Pro infekci řepky tímto patogenem a pro rozvoj choroby je nutné splnění několika kritérií (Kazda et al 2007). Zvýšené riziko napadení rostlin nastává u citlivých odrůd, při hnojení vysokými dávkami dusíku, když je velmi vlhké půdní prostředí, vysoká vzdušná vlhkost i teplotou v porostech řepky (idelání teplota je mezi 20–25 °C), dlouhotrvající rosa v porostu, jemné opakující se krátkodobé deště, přehoustlý porost. Pěstování řepky v osevním postupu kratším

než 4 roky nebo ji ve zmíněném období pěstovat jako následnou plodinu po jiných hostitelích *S. sclerotiorum* (zejména hořčice, mák, slunečnice, luskoviny, jeteloviny, kmín atd.) napadení porostů řepky zhoršuje.
Hlízenka obecná *S. sclerotiorum* je patogen přežívající v půdě v podobě černých sklerocií i přes 10 let (Prokinová 2000). Právě ta jsou zdrojem primární a sekundární infekce řepky olejky ozimé, kdy dochází k infekci kořenů a báze stonků myceliem vyrostlým ze sklerocií (primární infekce) anebo askosporami patogena aktivně uvolňovanými z apotecií vyrostlých ze sklerocií nacházejících se na povrchu či ve vrchní vrstvě půdy (sekundární infekce). V tomto případě jsou příznaky napadení pozorovány na nadzemní části rostliny (stonek, listy, větve i šešule). Pro vyklíčení a růst apotecií ze sklerocií a uvolňování askospor je důležitá teplota a vlhkost půdy. Ve vztahu k řepce olejce ozimé jsou tyto podmínky zpravidla splněny krátce před kvetením a v květu. K zachycení askospory na rostlině, jejímu vyklíčení a vniknutí do rostliny dochází při teplotě mezi 15 až 20 °C a vlhkosti vzduchu v porostu 85 % a více, což musí být provedeno v průběhu životaschopnosti jednotlivých spor, tj. 17 hodin (Systém ScleroPro uvádí 7 až 11 °C, Koch et al 2007). Ke splnění podmínky vyšší vzdušné vlhkosti napomáhají zachycené spadlé petály (květní části řepky) na rostlinách, které jsou současně zdrojem výživy pro klíčící askospory. První viditelné příznaky napadení jsou zaznamenány za 5 až 6 týdnů po infekci. Původce bílé hniloby (*Sclerotinia sclerotiorum*) způsobuje ztráty na výnosech v porostech řepky (s optimálním počtem rostlin 40 až 60 rostlin na 1 m^2) již v případě vyššího napadení, tzn. více než 10 % rostlin. Ztráty se zpravidla pohybují mezi 10 až 20 %, v případě silného napadení až 50 %. Nejvýraznější jsou ztráty, pokud je napadení viditelné v období tvorby šešulí již v první polovině června Plachká et al 2018.

Materiál a Metody

V podmínkách severní Moravy bylo založeno mezi lety 2016–2020 několik pokusů, jejichž smyslem bylo objasnit zásadní faktory limitující funkčnost fungicidů na bílou hnilobu řepky ozimé. V letech 2016–2017 byly zřízeny na lokalitách Šumperk a Opava maloparcelní pokusy o rozloze pokusné parcely 25 m^2, které byly ošetřovány fungicidními sledy v různých fázích kvetení. Vždy byly na každé lokalitě využity odrůdy Sherpa a PX104 a pokusy byly založeny ve čtyřech opakováních s plně znáhodněnými variantami pokusu. V pokusu byly využity registrované fungicidy běžně využívané pro aplikace prováděné v období kvetení řepky. Šlo o přípravky: Amistar (azoxystrobin 250 g/l + cyproconazole 80 g/l), Pictor (boscalid 200 g/l + dimoxystrobin 200 g/l), Propulse (fluopyram 125 g/l + prothioconazole 125 g/l), Symetra (isopyrazam 125 g/l + azoxystrobin 200 g/l), Efilor (boscalid 133 g/l + metconazole 60 g/l), Prosaro 250 EC (prothioconazol 125 g/l + tebuconazol 125 g/l). Termíny aplikací: 1) začátek květu (BBCH 61–63), 2) plné kvetení (BBCH 65–67), 3) konec kvetení (BBCH 69, pouze u přípravků Pictor a Amistar).
Další maloparcelkový pokus (rozhloha parcely 25 m^2) byl založen v Zábřehu na Moravě na Šumpersku dne 6. 5. 2020 (BBCH 65) po období s týden trvajícími trvalejšími srážkami (Σ 18 mm). Jednalo se znovu o plně znáhodněný pokus ve čtyřech opakováních s neošetřenou kontrolou v každém opakování. Smyslem bylo ověřit účinnost vybraných přípravků na ochranu rostlin ve sníženém dávkování, než je registrovaná (bezpečná) dávka. Metodicky byly vybrány produkty jako Amistar 250 EC, v dávce 1 l/ha (250 g/l azoxystrobinu – strobilurin s Qol inhibicí); Propatan – 0,5 kg/ha (boskalid 50 % reprezentující SDHI fungicidy); Pictor – 0,5 l/ha (velice častá kombinace boskalidu se strobilurinem – dimoxystrobinem 200 + 200 g/l) a Proline – 0,7 l/ha (azol – prothiokonazol 250 g/l). Dávkování bylo provedeno ve 25 %, 50 % a 100 % registrované dávky. V pokuse bylo hodnoceno napadení v % na 25ti stoncích na parcelu, což znamená 100 hodnocených rostlin za variantu.

Třetí studie se opírala o sběr sklerocií na 21 lokalitách Šumperska (12.–14.7.2017 a 2.–6.7.2018) ve vývojové fázi porostu mezi BBCH 79–81. Na každé lokalitě bylo náhodně uřezáno 50 rostlin napadených bílou hnilobou, které byly sesbírány v konkrétním porostu řepky úhlopříčně na daný tvar pole. U jednotlivých rostlin bylo hodnoceno procento napadení bílou hnilobou řepky z napadených stonků chorobou, průměrný počet sklerocií v jednotlivých napadených stoncích a průměrnou hmotností sklerocií na lokalitu. Dále bylo provedeno hodnocení, jež vycházelo z procenta poškození stonků žírem larev krytonosců v pletivech stonků poškozených bílou hnilobou. V jednotlivých stoncích byly změřeny prožrané „dráhy" larev stonkových krytonosců v místech s myceliem postiženým bílou hnilobou (délka požerku i délka napadení myceliem byly zaznamenány v cm a nezajímalo nás prožrání larvami mimo místa nepostižených myceliem). Tyto údaje byly za jednotlivé lokality zprůměrovány a dány do korelace s průměrem počtu a váhou odebraných sklerocií z rostlin za lokalitu. Korelační analýzy a jejich grafické znázornění byly vypočteny v programu Statistica 12.

Výsledky a diskuze

V maloparcelních pokusech jsme demonstrovali účinnost vybraných fungicidů při postřiku v různých fázích kvetení na odrůdách PX104 a Sherpa. Z výsledků vyplývá prokazatelný vliv načasování aplikace ve vztahu k délce kvetení řepky v daném roce (Tab. č. 1). Světle hnědě je znázorněn případ, kdy řepka kvetla pouze tři týdny a aplikace v plném květu a později měla nízký dopad na omezení vývoje patogena. V roce 2016 odrůda Sherpa kvetla v Opavě i v Šumperku dokonce pět týdnu, zde se vyplatilo odložit načasování aplikace do plného květu nebo při dokvétání. Při kvetení okolo čtyřech týdnů se vyplácelo nečekat a aplikovat při nakvétání anebo v plném květu (sezóna 2016). Výnosy oproti neošetřené kontrole se v dobře načasovaných aplikacích se zvýšily od 0,5 – 1,33 tuny. Nutno dodat, že výnosový zisk je ovlivněn i jinými faktory: hnojení, průběh počasí, napadení jinými chorobami a škůdci.

Výsledky maloparcelkového pokusu ze Zábřehu n. Moravě (r. 2020), které shrnují hodnocení napadení bílou hnilobou řepky na variantách s různými podíly registrovaných dávek přípravků využívaných vůči bílé hnilobě (reprezentující různé skupiny fungicidů) jsou zobrazeny v obr. 1 a 2. Výsledky z obr. 1 zobrazují výrazný pokles napadení již po aplikaci poloviční registrované dávky přípravků. Mimo hodnocení napadení stonků bílou hnilobou řepky bylo provedeno výnosové hodnocení, které je v obr. 2 (průměry jsou přepočteny na 9% vlhkost). Z křivek ukazující nárůst výnosů po aplikaci fungicidů lze též vyvodit nárůst zisku oproti kontrole, který u nejziskovějšího fungicidního ošetření činí 8277 Kč/ha (při ceně řepky 9300 Kč/t sklizně). Pro eliminaci nouzového dozrávání a rychlým rozvojem chorob (zejména fómového černání stonků a následným rozvojem saprofytických hub), které v posledních letech velice pravděpodobně souvisí s pravidelně silným poškozováním stonků larvami brouků (stonkových krytonosců), byly použity plošné insekticidní aplikace – 3x podzimní, 4x jarní a jednu proti bejlomorce kapustové.

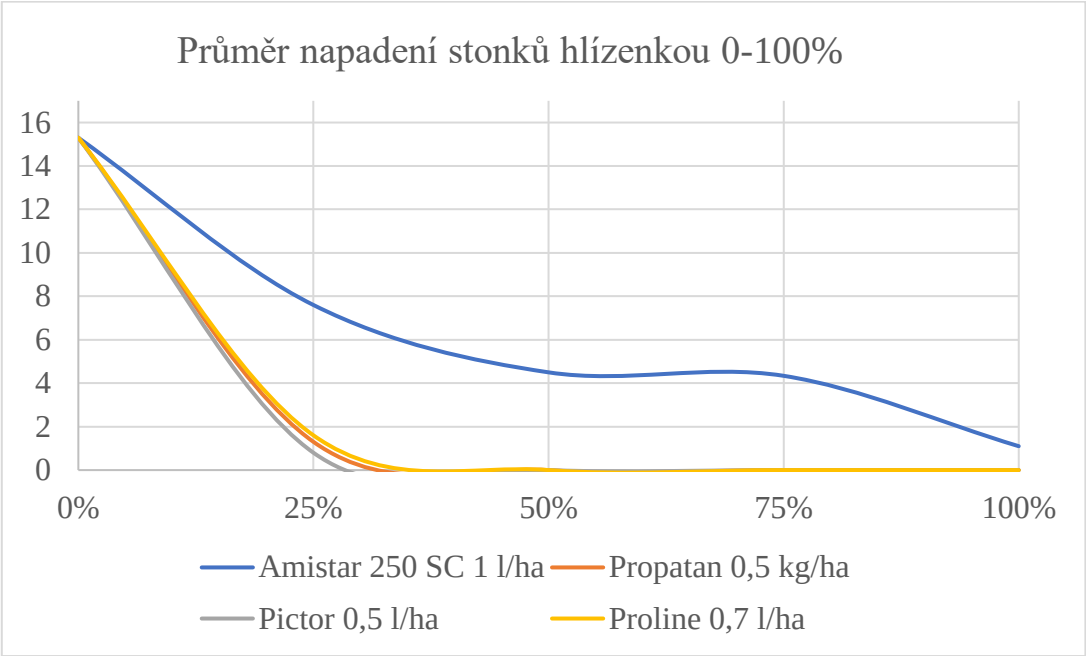
Za další faktor ovlivňující funkčnost fungicidních aplikací byl zvolen žír stonkových krytonosců, kteří vytvářejí v pletivech rostlin vstupní brány pro saprofytické houby a fómové černání stonků. Zde nás nejvíce zajímalo, zdali dochází ke snížení „fitness" rozvoje bílé hniloby díky žíru larev krytonosců v místech stonků, které jsou k dispozici k rozvoji sklerocií sloužící patogenu bílé hniloby k dlouhodobému přežívání v půdě. Z nasbíraných dat **byly vypočteny statisticky významné pozitivní hodnoty korelační analýzy mezi průměrným počtem sklerocií v rostlinách a průměrnou délkou poškození žírem larev** stonkových krytonosců (v procentech) v místech napadených bílou hnilobou ($P < 0,05$; $r = -0,74$), mezi průměrnou hmotností a počtů sklerocií na jednotlivých lokalitách ($P < 0,05$; $r = 0,47$), mezi průměrným poškozením rostlin bílou hnilobou řepky a průměrným počtem sklerocií na jednotlivých

lokalitách (P <0,05; r = 0,49). Korelace mezi průměrným poškození stonků bílou hnilobou a průměrnou hmotností sklerocií nebyla významná na jednotlivých lokalitách. Autoři této práce předpokládali, že mezi žírem larev stonkových krytonosců a růstem mycelií bílé hniloby řepky může existovat konkurenční vztah o pletiva rostlin. Tyto hypotézy byly potvrzeny zejména u vztahů mezi konkurencí žíru larev stonkových krytonosců v místech napadení pletiv bílou hnilobou řepky (obr. 3). Dále bylo prokázáno, že průměrné napadení ochořelých rostlin pozitivně koreluje se zvyšujícím se počtem sklerocií a zvyšující se počet sklerocií opět pozitivně koreluje se zvyšující se váhou sklerocií v rostlinách.

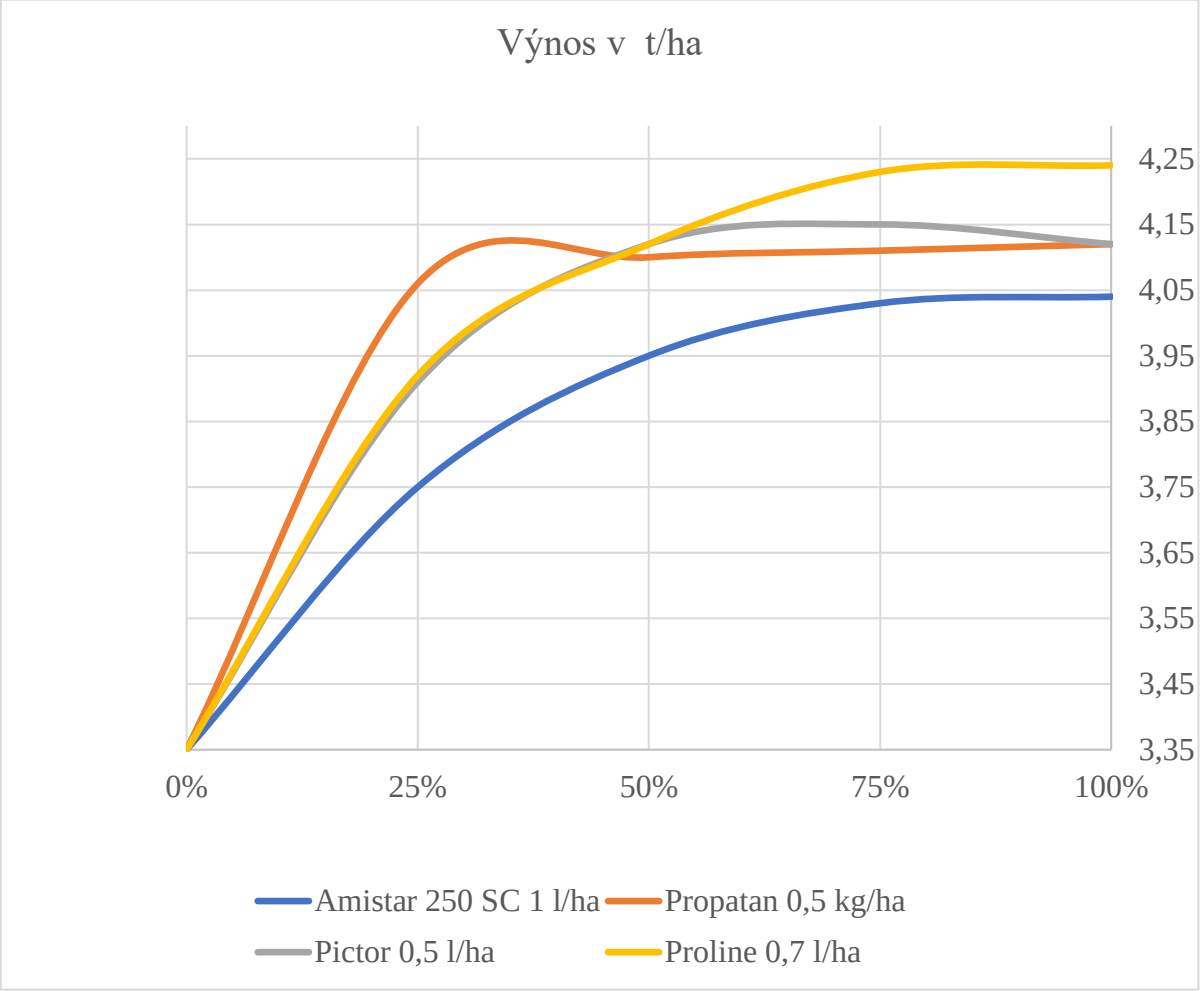
Tab. 1: Průběh kvetení porostů řepky na lokalitách Opava a Šumperk v letech 2016 a 2017

Termíny kvetení řepky	Opava	Šumperk	Opava	Šumperk	Opava	Šumperk	Opava	Šumperk
	2016		2017		2016		2017	
BBCH 61–63	29. 4.	30. 4.	3. 5.	7. 5.	21. 4.	1. 5.	3. 5.	7. 5.
BBCH 65–67	10. 5.	10. 5.	18. 5.	15. 5.	10. 5.	12. 5.	18. 5.	15. 5.
BBCH 69	27. 5.	30. 5.	30. 5.	28. 5.	27. 5.	4. 6.	30. 5.	28. 5.
Týdny kvetení (+/– 2 dny)	4	4	4	3	5	5	4	3
Biologická účinnost %	75	71–72	88	70	87–89	75	88	80
Odrůda	PX104	PX104	Sherpa	PX104	Sherpa	Sherpa	PX104	PX104

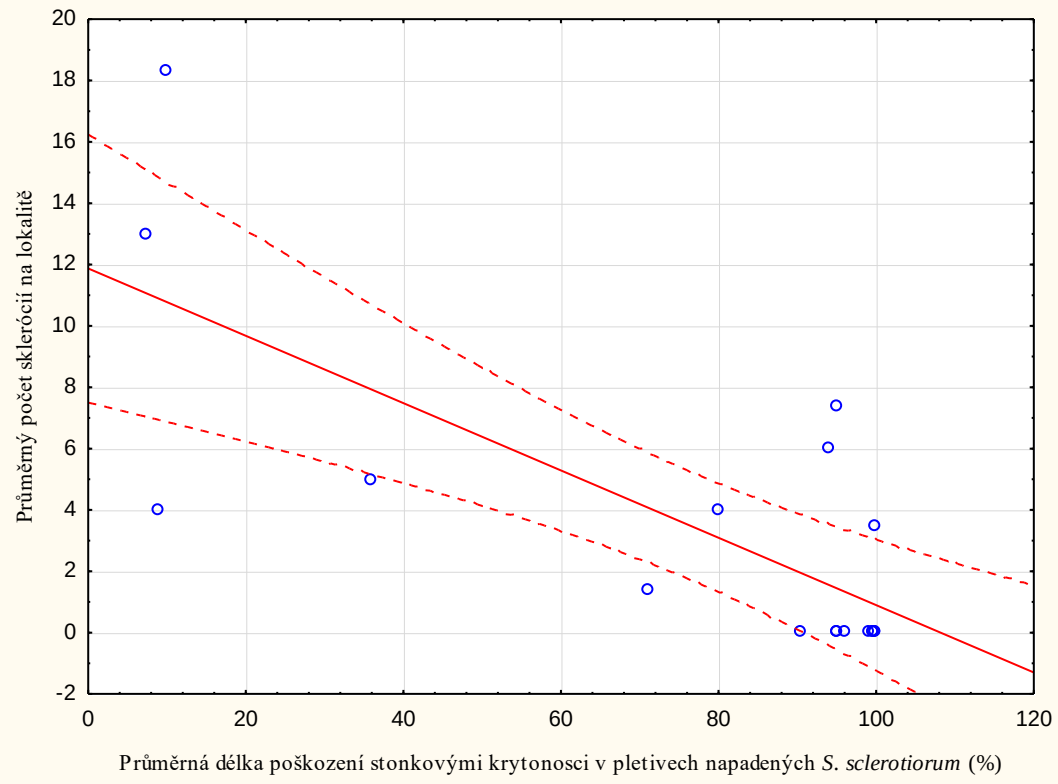
Pozn.: Rozdíly v délce kvetení jsou barevně zvýrazněny společně s termínem kvetení. Tato tabulka zobrazuje všechny případy, kdy byla účinnost alespoň uspokojivá (>70 %).
Biologická účinnost je průměr účinností všech použitých fungicidů vypočtenou metodou Abbott.



Obr. 1: Průměrné napadení stonků bílou hnilobou řepky v % za variantu vybraných přípravků aplikovaný v různých poměrech registrované dávky do řepky (1/2; 2/4; 3/4; 4/4)



Obr. 2: Průměrný výnos za variantu (přepočet na 9% vlhkost) vybraných přípravků aplikovaný v různých poměrech registrované dávky do řepky (1/2; 2/4; 3/4; 4/4)



Obr. 3: Grafické znázornění korelační analýzy mezi žírem larev krytonosců v místě napadení bílou hnilobou a průměrným počtem sklerocií na jednotlivých lokalitách (P <0,05; r = – 0,74)

Závěr

Pracoviště v Šumperku a Opavě se dlouhodobě věnují metodicky přesným maloparcelkovým a poloprovozním pokusům v řepce ozimé. Ošetření proti bílé hnilobě řepky dosud zahrnuje v registru přípravků na ochranu rostlin přes dvacet účinných látek, přesto je ochrana proti této chorobě velice problematická, jestliže-li jsou splněny půdně klimatické podmínky prostředí, což je popsáno v odstavci o životním cyklu choroby. Více než desetiletí je pro signalizaci napadení květů řepky využíváno petál testů, které dovedou určit možné napadení patogenem, které je způsobeno volně poletujícími akosporami z plodnic patogena. Dále bylo zjištěno, že urychlené kvetení, které bylo v posledních letech zapříčiněno vysokými teplotami, přesouvá cílení fungicidního ošetření spíše do počátku až plného kvetení řepky ozimé. Jiným pokusem bylo demonstrováno, že i poloviční registrované dávky fungicidního ošetření mohou být účinné i při průměrném napadení stonků řepek okolo 15 %. Autoři článku za pomoci korelačních analýz vypočítali statisticky významné výsledky potvrzující kompetiční vztah o pletiva rostlin mezi bílou hnilobou a žírem larev stonkových krytonosců v místech výskytu bílé hniloby na stonku, což je mimo jiné vstupní branou pro fómové černání stonků a rychlým rozvojem saprofytických hub. Tento jev byl dosud znám u žíru larev krytonosců, jež je predispozicí k houbovým patogenům, konkrétně k fómovému černání stonků (Broschewitz et al 1993). Tento konkurenční boj, kdy napadení larvami stonkových krytonosců v místě napadení bílou hnilobou vede ke snížení počtu a váhy sklerocií (*Sclerotina sclerotiorum*). Posledním neméně významným faktorem, vzhledem k množství pěstování řepky v ČR (rozloha se pohybuje okolo 350 tis. ha), jsou možnosti technických a lidských zdrojů v deštivějších a vlhčích ročnících kvetení řepky.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován za podpory Ministerstva zemědělství, QK21010332 a institucionální podpora MZE–RO–10/18 a MZE–RO–18/18.

Použitá literatura

Broschewitz H., Ulber B., Bühs W. (1993): Control of cabbage stem weevils (*C. pallidactylus*) in crops. Annual Review of Entomology, 57: 405-424

Kazda J., Baranyk P., Nerad D., Herda G. (2007): Winter oilseed rape protection against pests and diseases in the Czech Republic. W: Abstract 12 International Rapeseed Congress. Science Press USA Inc., WUHAN, China, s. 319.

Koch S., Dunker S., Kleinhenz B., Röhrig M., Tiedemann Av. (2007): A crop loss-related forecasting model for sclerotinia stem rot in winter oilseed rape. Phytopathology, 97(9):1186-94, doi: 10.1094/PHYTO-97-9-1186.

Plachká E., Šafář J., Prokinová E., Odstrčilová L. (2018): Signalizační modely *Leptosphaeria* spp. a *Sclerotinia sclerotiorum*, zhodnocení možnosti jejich využití. Certifikovaná metodika, OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. 1-60.

Prokinová E. (2000): Choroby řepky (223-232). In: VAŠÁK, J. a kol. (2000) Řepka. Agro-spoj, 321 s.

Rimmer S. Roger 2007: Compendium Of Brassica Diseases. Vernon I. Shattuck, and Lone Buchwaldt (Eds.). St. Paul, MN: APS Press, 2007. 136 s.

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Šafář, Ph.D.
Agritec Plant Research, s.r.o.
Zemědělská 16
+420 776 748 289, safar@agritec.cz

Mykoviry hub r. Armillaria jako potencialní biopreparáty?

Armillaria mycoviruses as potential biocontrol agent?

Walterová L.[1], Tonka T.[1], Hejna O.[1], Čurn V.[1]

[1]Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Abstrakt

Václavky rodu *Armillaria* se vyskytují po celém světě a patří mezi nejvýznamnější patogeny lesních a okrasných dřevin. Přesto, že *e*xistují metody ochrany proti škodám způsobeným tímto patogenem, žádná nedokáže úplně zneškodnit mycelium nacházející se v kontaminovaných oblastech. Tato práce se zabývá detekcí mykovirů u hub rodu *Armillaria* jako potenciálních bioagens. Pro detekci mykovirů u populací václavek rodu *Armillaria* pocházejících z celé ČR byla využita metoda RNA – Seq. Analýza odhalila přítomnost dvou kmenů ssRNA ambi-like virů. Byly navrženy primery pro snadnou detekci Ambi-like virů z mycelia václavek a proveden screening přítomnosti Ambi-like virů v populacích *Armillari*a v ČR.

Klíčová slova: václavky, RNA-Seq, houbové viry, patogen

Abstract

Fungi of the genus *Armillaria* are found all over the world and are among the most important pathogens of forest and ornamental trees. There are methods of protection against diseases caused by this pathogen, but none can completely destroy the mycelium located in contaminated areas. Therefore, this work deals with the detection of mycoviruses in fungi of the genus *Armillaria* as potential bioagents. The RNA - Seq method was used for the detection of mycoviruses in *Armillaria* populations originating from all over the Czech Republic. Analysis revealed the presence of two ssRNA strains of Ambi-like viruses. Primers were designed for easy detection of Ambi-like viruses from *Armillaria* isolates and screening for the presence of Ambi-like viruses in *Armillaria* populations in the Czech Republic.

Keywords: RNA-Seq, fungal viruses, pathogen

Úvod

Rod *Armillaria* zahrnuje více než 40 popsaných druhů hub (Coetzee a kol., 2018). Mnohé z nich jsou patogenní a způsobují hnilobu kořenů u široké škály stromů, keřů a některých bylin (Williams a kol., 1989), včetně ekonomicky důležitých jehličnanů (např. *Abies*, *Picea*, *Pinus*) a zemědělských plodin (např. *Citrus*, *Juglans*, *Malus*, *Prunus*, *Vitis*) (Baumgartner a kol., 2011). Smrk ztepilý (*Picea abies*) je významným hostitelem václavek r. *Armillaria* v České republice. V posledních letech ubývá v českých lesích smrku ztepilého (Holuša a kol., 2002; Cienciala a kol. 2017), k čemuž přispívají i patogenní houby jako jsou václavky. Tento úbytek je často způsoben kombinací abiotických a biotických faktorů, které omezují růst stromů a oslabují kořenové systémy. Tyto interakce mohou likvidovat jednotlivé stromy i celé porosty (Garcia, 2009; Van Mantgem a kol., 2009).

V současnosti existují některé metody ochrany proti václavkám, mezi které patří např. výkop kořenového límce nebo chemické pesticidy. Jako účinná ochrana proti *A. ostoyae* se ukázalo také odstranění nakažených pařezů (Cleary a kol., 2013). Žádná ze zavedených metod však nedokáže zcela eliminovat mycelium z kontaminovaného místa (Linnakoski a kol. 2021).

Mykoviry si v poslední době získaly značnou pozornost jako potenciální nástroje biologické kontroly svých přirozených hostitelů. U hub rodu *Armillaria* bylo zatím detekováno pouze

několik virů, mezi které patří i členové nedávno objevené skupiny virů předběžně pojmenované "ambiviry". O jejich genomu, výskytu i variabilitě je zatím známo jen velmi málo (Linnakoski a kol., 2021). Mykoviry mohou ve svých hostitelích vyvolat hypovirulenci, která vede ke snížení schopnosti infekce houbou, čímž by jejich úspěšná aplikace mohla značně přispět v biologické ochraně smrkových porostů proti václavkám.
Cílem této práce byla detekce a identifikace mykovirů u hub rodu *Armillaria* pro následnou analýzu a zhodnocení potenciálního využití v biologické ochraně.

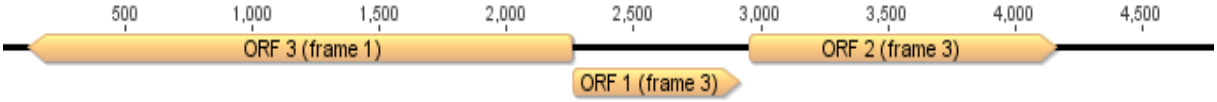
Materiál a metody
Václavky byly sbírány ve smrkových porostech po celé ČR ve formě rhizomorf a plodnic. Nasbírané vzorky václavek byly v laboratoři kultivovány na ME agaru a narostlé mycelium bylo použito na analýzy genomu a transkriptomu (Čurn a kol., 2019). Současně byly analyzovány i vzorky václavek ze sbírky hub Mikrobiologického ústavu AVČR. V současné době je deponováno v biobance ZF JČU přes 100 kmenů václavek z celé ČR.
Z mycelia izolovaných václavek byla fenol - chloroformovou metodou vyizolována celková RNA pomocí činidla Trizol. Takto vyizolovaná celková RNA byla sekvenována metodou NGS v externí laboratoři (Seqme s.r.o., Dobříš, ČR). Výsledná sekvenační data byla následně analyzována bioinformatickou analýzou (Zhang a kol., 2018).

Po vyhodnocení sekvenačních dat byly k virovým sekvencím navrženy primery, detekující bioinformatickou analýzou zjištěné sekvence i v nesekvenovaných vzorcích (Tab.1). Vyizolovaná celková RNA z mycelia václavek byla reverzní transkripcí přepsána do cDNA pomocí ImProm-II™ Reverse Transcription System (Promega, Madison, USA). Byla připravena PCR reakce s ambi-like virus specifickými primery (počáteční denaturace 94°C 2 minuty, 25 cyklů: denaturace 94°C 1 minuta, teplota nasedání dle primerů po dobu 1 minuty (viz Tab. 1), elongace 72°C 2 minuty a závěrečná elongace 72°C 5 minut). Výsledné produkty byly vizualizovány na 1,5% agarózovém gelu pomocí gelové elektroforézy a sekvenováním určena sekvence.

Výsledky

Na základě srovnání sekvenačních dat s BLAST databází NCBI byly u našich vzorků václavek identifikovány virové sekvence. NGS sekvenováním byly získány kompletní sekvence detekovaných virů. Sekvenováním RNA – Seq transkriptomu 50 vzorků byly detekovány sekvence odpovídající dvou kmenům nedávno popsaným ambi-like virů (Linnakoski a kol., 2021). Analýzou sekvenačních dat – srovnáním námi sestavených sekvencí bioinformatickou analýzou s BLAST databází NCBI sekvencí - jsme získali 6 sekvencí podobných Ambi-like viru 3, 2 sekvence podobné Ambi-like viru 2. Navrženými primery pro tyto sekvence (viz Tab 1) jsme otestovali 35 vzorků václavek v biobance ZF, včetně 8 vzorků ze sbírky mikroroganizmů MBU. Sekvence Ambi-like virů v biobance ZF jsme našli u václavky smrkové (*A. ostoyae*) z lokality Harta (okolí Slezské Harty), z lokality Cavisov (Ostrava) a také u v. smrkové (č. CCBAS325 ze sbírky mikroorganizmů, sbírané v roce 1964 u Milevska) a *A. calvescens* (č. CCBAS833 – sbírané v roce 1982 na Velké Nivě u Lenory). Délka sekvencí obou detekovaných kmenů Ambi-like virů je kolem 4 500 bp. Ambi-like virus kmen 2 je tvořen 2 ORF (otevřený čtecí rámec – polypeptidový řetězec vymezený iniciačním a terminačním kodonem; obr.1) a kmen 3 tvoří 3 ORF (obr. 2).

Obrázek 1 Ambi-like virus kmen 2



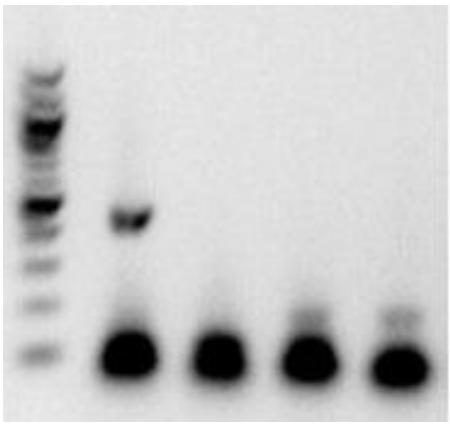
Obrázek 2 Ambi-like virus kmen 3

Na základě sekvencí získaných pomocí RNA – Seq byly navrženy primery pro rychlou detekci Ambi-like virů (Tab. 1) v myceliu václavek..

Tab. 1 Primery pro detekci Ambi – like virů kmene 2 (Ambi 2) a kmene 3 (Ambi 3)

Primery	Sekvence	Tm (°C)
Ambi 2 F	GCTATGGCTGACTCCTCGTC	62,5
Ambi 2 R	ACAGGGCAATCATTGGAGGG	60,5
Ambi 3 F	CTTCTCTCCCCGCGTATGAC	62,5
Ambi 3 R	CGCATGTGCCATATATCGCG	60,5

Pomocí PCR se specifickými primery byly z cDNA amplifikovány sekvence Ambi-like virů. Vzhledem k nízké koncentraci viru v transkriptomu byly pro detekci viru provedeny vždy dvě po sobě jdoucí PCR. Výsledné fragmenty byly vizualizovány na 1,5% agarózevom gelu. Navrženými primery lze rozlišit kmeny Ambi-like virů pomocí gelové elektroforézy. Výsledné fragment kmenu 2 jsou přibližně 450 bp dlouhé (viz. obr. 3) a výsledné fragmenty kmenu 3 jsou cca 600 bp dlouhé. Pro jistotu přesné identifikace byly výsledné produkty následně sekvenovány Sangerovou metodou.



Obr. 3 Detekovaný Ambi-like virus kmen 2 (2. sloupec). První sloupec velikostní marker

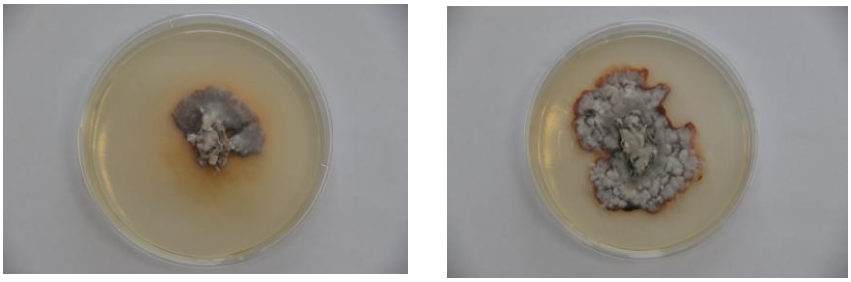
Diskuze

Ambi-like viry jsou nedávno objevenou virovou skupinou dočasně pojmenovanou „Ambiviry“ s ambisense uspořádaným genomem (ORF směřují proti sobě, Obr. 1, 2; Linnakoski a kol. 2021). Představují novou skupinu domnělých virů, které byly nedávno identifikovány HTS v patogenních houbách, např. v *Cryphonectria parasitica* a *Rhizoctonia solani* (Sutela a kol. 2020; Forgia a kol. 2021). Zdá se, že tato skupina virů je mezi asko- a basidiomycety velmi běžná, ale zatím nejsou k dispozici žádné informace o morfologii a biologii virů nebo struktuře virové populace (Linnakoski, R. a kol. 2021).

Mykoviry jsou široce rozšířeny ve všech hlavních taxonech hub s různými životními strategiemi, včetně askomycet a basidiomycet, mikro- a makromycet, stejně jako u linií hub jako jsou Chytridiomycota, Blastocladiomycota, Neocallimastigomycota, Zoopagomycota a Mucoromycota (Ghabrial a kol., 2015; Myers a kol., 2020, Linnakoski a kol. 2021). Charakteristickým rysem mykovirů je chybějící extracelularní fáze, k přenosu dochází výhradně vnitrobuněčnými mechanismy. Hlavní cesty přenosu mykovirů jsou spóry a hyfální anastomóza (Pearson a kol. 2009; Xie a Jiang 2014).

Vzhledem k chybějící extracelulární fázi byly mykoviry považovány za vnitřní genetické prvky svých hostitelů, které způsobují pouze kryptické infekce. Tento názor byl vyvrácen s objevem *Cryphonectria parasitica* hypoviru 1 (CHV1; Heiniger a Rigling 1994). Pomocí CHV1, který způsobuje hypovirulenci v houbovém hostiteli, byla v Evropě redukována plíseň kaštanová (Rigling 2018).

Tento úspěch poskytl impuls pro výzkum využití mykovirů jako potenciálních biopesticidů. Zvláště mykoviry hub interagujících s rostlinami mohou být významné pro ochranu plodin, protože mohou ovlivnit fenotyp svého hostitele (Obr. 4). Zejména mykoviry, které způsobují hypovirulenci u fytopatogenních hub, vzbudily v posledních desetiletích velký zájem o jejich možné použití jako biokontrolních činidel (Pearson a kol. 2009).



Obr. 4 Ambi-like virem infikovaná v. smrková na ME agaru. Vpravo v. smrková virem neinfikovaná

S rozvojem nových technik sekvenování transkriptomu je popisováno stále více mykovirů, které indikují hypovirulenci u celé řady taxonomických skupin (García-Pedrajas a kol. 2019). Rod *Armillaria* a další významné houby způsobující kořenové hniloby, jako jsou např. *Heterobasidion* spp. nebo *Rosellinia necatrix*, tvoří rozsáhlé a odolné klony, které jsou vhodné pro využití mykovirů v biologické ochraně. Genomy obou houbových patogenů byly nedávno sekvenovány a byla objevena celá řada mykovirů, z nichž některé oslabují životní projevy houbových hostitelů (Vainio a kol. 2016; Suzuki 2017; Vainio 2019).

Úspěšná aplikace těchto virů při zvládání chorob závisí na spoustě faktorů, jako jsou např. schopnost šířit se v přirozených populacích hostitelských patogenů, účinnost replikace virů a přežívání v houbových tkáních. Hlavním faktorem ale jsou i buněčné procesy a signální dráhy, které vedou ke vzniku hypovirulence. Detekce Ambi-like virů je tak pouze prvním krokem. Pro zhodnocení potenciálu využití těchto mykovirů jako potenciálních prostředků v biologické ochraně bude třeba ještě rozsáhlého výzkumu.

Závěr

U václavek rodu *Armillaria,* izolovaných v ČR byly idenitfikovány 2 kmeny z nedávno objevené virové skupiny Ambivirů. Tyto mykoviry byly zkoumány na molekulární úrovni a byl proveden screening jejich výskytu u václavek sbíraných na zemí ČR. Na základě předchozích výzkumů účinků mykovirů na hostitele předpokládáme možnost potenciálního využití těchto virů v biologické ochraně smrkových porostů. Pro posouzení vhodnosti Ambi-like virů jako vhodného prostředku v biologické ochraně proti václavkám bude výzkum nadále pokračovat ve fromě poloprovozního pokusu s virem infikovanými václavkami.

Poděkování

Tato práce vznikla za finanční podpory projektu QK1920412 Ministerstva zemědělství ČR.

Literatura:

Baumgartner a kol. (2011). Secrets of the subterranean pathosystem of *Armillaria*. Molecular Plant Pathology 12, 515–534.

Cienciala, E. a kol. (2017). Recent spruce decline with biotic pathogen infestation as a result of interacting climate, deposition and soil variables. European Journal of Forest Research 136, 307-317.

Cleary, M. R. a kol. (2013). Stump removal to control root disease in Canada and Scandinavia: A synthesis of results from long-term trial. Forest Ecology and Management 290, 5–14.

Coetzee, M. a kol. (2018). *Armillaria* root-rot pathogens: Species boundaries and global distribution. Pathogens 7(4), 83.

Čurn V. a kol. (2019). Metodika izolace DNA a analýzy molekulárních markerů u hub. ZF České Budějovice. ISBN: 978-80-7394-781-1

Forgia, M. a kol. (2021) Virome characterization of *Cryphonectria parasitica* isolates from Azerbaijan unveiled a new mymonavirus and a putative new RNA virus unrelated to described viral sequences. Virology 553, 51–61.

Garcia, O. (2009). A simple and effective forest stand mortality model. Mathematical and Computational Forestry & Natural-Resource Sciences 1(1), 1-9.

García-Pedrajas, M. D. a kol. (2019). Mycoviruses in Biological Control: From Basic Research to Field Implementation. Phytopathology 109, 1828-1839.

Ghabrial, S. A. a kol. (2015). 50-plus years of fungal viruses. Virology 479–480, 356–368.

Gonthier, P. a kol. (2010). Further observations on sudden diebacks of Scots pine in the European Alps. Forestry Chronicle 86, 110–117.

Heiniger, U. a kol. (1994). Biological control of chesnut blight in Europe. Annual Review Phytopathology 32, 581-599.

Holuša, J., Liška, J. (2002). Hypotéza chřadnutí a odumírání smrkových porostů ve Slezsku (Česká republika). Zprávy lesnického výzkumu 47, 9-15.

Linnakoski, R. a kol. (2021). *Armillaria* root rot fungi host single-stranded RNA viruses. Scientific reports 11.

Myers, J. M. a kol. (2020). Survey of early-diverging lineages of fungi reveals abundant and diverse mycoviruses. mBio 11.

Pearson, M. N. a kol. (2009). Mycoviruses of filamentous fungi and their relevance to plant pathology. Molecular Plant Pathology 10, 115-128.

Rigling, D. a kol. (2018). *Cryphonectria parasitica*, the causal agent of chestnut blight: Invasion history, population biology and disease control. Molecular Plant Pathology 19, 7-20.

Sutela, S. a kol. (2020). The virome from a collection of endomycorrhizal fungi reveals new viral taxa with unprecedented genome organization. Virus Evolution 6, 76.

Suzuki, N. (2017) N. Frontiers in fungal virology. Journal of General Plant Pathology 83, 419-423.

Vainio, E. J. a kol. (2016). Taxonomy, biogeography and importance of *Heterobasidion* viruses.Virus Research 219, 2-10.

Vainio, E., J. (2019). Mitoviruses in the conifer root rot pathogens *Heterobasidion annosum* and *H. parviporum*. Virus Research 271, 197681.

Van Mantgem, P.J., a kol. (2009). Widespread increase of tree mortality rates in the western United States. Science 323, 521–524.

Williams, R.E. a kol. (1989). Armillaria Root Disease. In Forest Insect and Disease Leaflet 78. USDA Forest Service: Washington, DC, USA.

Xie J. a kol. (2014). New insights into mycoviruses and exploration for the biological control of crop fungal diseases. Annual Review Phytopathology 52, 45–68.

Zhang Y. a kol. (2018). A Computational Protocol to Analyze Metatranscriptomic Data Capturing Fungal - Host Interactions. Wenbo Ma and Thomas Wolpert (eds.), Plant Pathogenic Fungi and Oomycetes: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, 1848.

Kontaktní adresa:

Ing. Lucie Walterová
Katedra genetiky a zemědělských biotechnologií
Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Branišovská 1645/31A, České Budějovice 2,
370 05 České Budějovice
+420 606 521 534
Email: krizol05@jcu.cz

Hodnocení vegetace rekultivované skládky z pohledu rizika vzniku požáru

Evaluation of vegetation of a reclaimed landfill from the perspective of fire risk occurrence

Winkler J.[1], Vaverková M.D.[2], Černý M.[1], Hurajová E.[1], Děkanovský I.[3], Havel L.[1]

[1]*Ústav biologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně*
[2]*Ústav aplikované a krajinné ekologie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně*
[3] *Fakultní nemocnice Brno*

Abstrakt
Skládky odpadu zůstávají široce využívaným způsobem nakládání s tuhým komunálním odpadem. Cílem práce je zhodnotit složení vegetace na skládce z pohledu vzniku požáru. Sledovaná lokalita se skládkou odpadu se nachází v katastrálním území Nětčice (Zlínský kraj). Na základě monitoringu vegetace metodou fytocenologických snímků bylo nalezeno 114 druhů rostlin. Druhy s nejvyšší pokryvností byly *Arrhenatherum elatius, × Festulolium loliaceum, Lathyrus tuberosus, Galium album, Atriplex sagittata, Elytrigia repens*, *Securigera varia* a *Calamagrostis epigejos*. Vegetace rekultivované části skládky vytváří potenciál ke vzniku požáru z důvodu produkce biomasy. Biomasa rostlin je však pouze jedním z faktorů. Kumulace biomasy vegetace společně se suchým průběhem počasí výrazně zvyšuje riziko vzniku požáru na skládkách.
Klíčová slova: flóra, odpad, požár, biomasa

Abstract
Municipal waste landfills remain a widely used method of municipal solid waste management. The work aims to evaluate the composition of vegetation in the landfill from the perspective of fire occurrence. The monitored locality with a municipal waste landfill is located in the cadastral area of Nětčice (Zlín Region). Based on vegetation monitoring by phytocenological images, 114 plant species were found. The species with the highest cover were *Arrhenatherum elatius, × Festulolium loliaceum, Lathyrus tuberosus, Galium album, Atriplex sagittata, Elytrigia repens*, *Securigera varia*, and *Calamagrostis epigejos*. The vegetation of the reclaimed part of the landfill creates the potential for a fire outbreak, thanks to biomass production. However, plant biomass is only one factor. The accumulation of vegetation biomass together with the dry weather significantly increases the risk of fire in landfills.
Keywords: Flora, waste, fire, biomass

Úvod

Skládky odpadu zůstávají široce využívaným způsobem nakládání s tuhým komunálním odpadem (Jagaba et al., 2021; Ma et al., 2021; Pap et al., 2021) i přesto, že je dokladován jejich negativní dopad na lidské zdraví a životní prostředí, a navzdory skutečnosti, že skládkování je nejméně preferovanou možností nakládání s odpady (Sauve a Van Acker, 2020; Wang a kol., 2020a). Environmentální a sociální důsledky, vyplývající z tvorby skládek a skládkování odpadů, jsou zásadní (Vaverková, 2019; Wang et al., 2020b).

V posledních letech roste zájem komunity vědeckých pracovníků o problematiku související s reakcemi živých organismů na znečištění životního prostředí, které je způsobeno činností naší civilizace (Koda et al., 2013; Nannoni et al., 2015; Paoli et al., 2015; Vaverková et al., 2018; Sujetoviene et al., 2019; Uldrijan et al., 2021). Vlastnosti rostlin prokázaly možnost jejich

využití k posouzení závažnosti antrogenního tlaku a znečištění životního prostředí (Szymura et al., 2016; Valjavec et al., 2018; Winkler et al., 2021).
Rostliny nacházejí široké upotřebení i v procesu rekultivace. Během tohoto procesu je nezbytné vrátit místo skládky do stavu vhodného pro jeho navržené využití, přičemž je nutné respektovat ochranu lidského zdraví a životního prostředí (Weng et al., 2015). Obnova ekosystémů na místech skládek vyžaduje citlivý a odborný přístup. V urbanizovaných oblastech mohou takové obnovené lokality sloužit jako místa pro posílení biologické rozmanitosti (Do et al., 2014; He et al., 2019). Při rekultivaci povrchu tělesa skládky je zpravidla využita vegetace, aby se zabránilo vodní nebo větrné erozi jeho svahů. Běžně jsou využívány různé druhy trav, bylin, keřů nebo stromů v závislosti na následném způsobu využití skládky (Cossu et al., 2018; Seshadri et al., 2016). Vegetace na rekultivovaných plochách skládek má řadu výhod – nižší náklady, využití dostupných zdrojů (místních půd a původních rostlin), vysoká ekologická stabilita a potenciální snížení emisí skleníkových plynů (Phillips et al., 2004). Výběr konkrétních rostlinných druhů závisí především na adaptabilitě zvoleného druhu na místní klima a půdní substrát (Salt et al., 2018).
Vedle značných výhod představuje vegetace skládek určité riziko z hlediska vzniku požáru. Přebytečná biomasa, která není pravidelně odstraňována, může být významným rizikem vzniku požáru, zvláště na místech s intenzivní lidskou činností různého typu. Vznik a průběh pozemních požárů jsou mimo jiné ovlivňovány a závislé na úrovni vlhkosti, meteorologických podmínkách, topografii terénu a zejména na typu vegetace (Lazarus et al., 2020). Během hoření biomasy trav teplota obvykle dosahuje 400 °C, nicméně v případě hořících stromů nebo keřů může dosáhnout 600 až 800 °C (Piwnicki et al., 2006).
Při povrchových požárech se spaluje především nadzemní biomasa. Takové požáry významně neovlivňují vlastnosti půdy. Ovšem pokud se nachází vegetace na půdě např. rašelinového původu, je situace odlišná. V takových oblastech dochází k podpovrchovému požáru a nastává vyhoření hořlavých součástí půdy. Požáry pod povrchem výrazně modifikují stanovištní podmínky a zvyšují nebo snižují obsah fosforu, draslíku a dusíku v půdě (Marcisz et al., 2019).
Cílem práce je vyhodnotit druhové složení vegetace na rekultivované části skládky z pohledu produkce biomasy, která je jedním z faktorů vzniku požáru, a porovnat druhové složení vegetace rekultivované skládky s vegetací skládky, na které stále probíhá ukládání různých druhů odpadu.

Materiál a metody

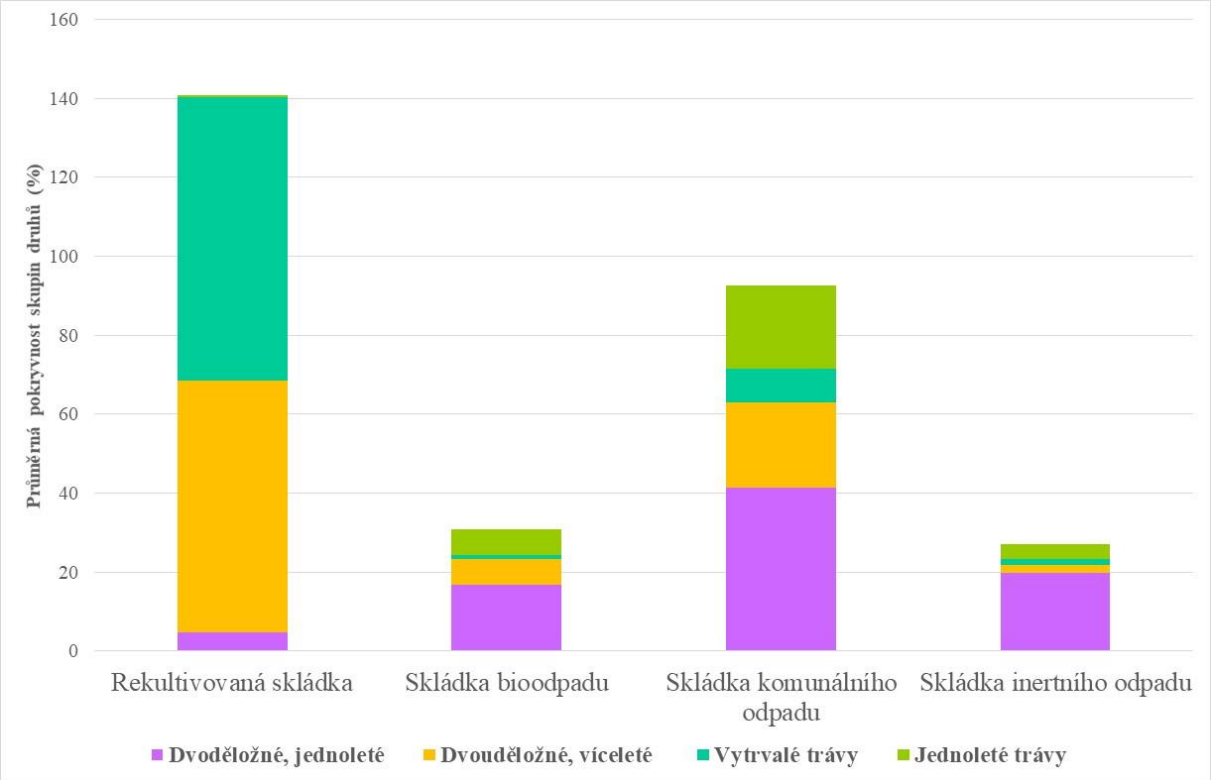
Lokalita, kde bylo provedeno hodnocení vegetace, se nachází v katastrálním území Nětčice (N 49°13.66253', E 17°19.13927'; okr. Kroměříž, Zlínský kraj). V rámci pozemku určeného ke skládkování byla vybrána stanoviště s různými způsoby využívání.
Prvním stanovištěm byla rekultivovaná část skládky. Rekultivace proběhla v roce 2012, kdy zde byla vyseta směs trav. Druhým stanovištěm byla plocha určená pro ukládání směsného komunálního odpadu. Třetím stanovištěm byla plocha určená pro ukládání a manipulaci s biologicky rozložitelným odpadem. Čtvrtým stanovištěm byla plocha určená pro ukládání stavebního a inertního odpadu.
Vyhodnocení vegetace bylo provedeno metodou fytocenologických snímků. Velikost každého fytocenologického snímku byla 20 m^2. Pokryvnost byla odhadována přímo v procentech. Sledování proběhlo v červenci 2019. Na každém stanovišti bylo zapsáno 5 fytocenologických snímků. Druhy rostlin byly rozděleny do skupin podle svých biologických vlastností. Vědecké názvy jednotlivých druhů byly použity podle databáze Pladias (PLADIAS, 2021). Vyhodnocení pokryvností nalezených druhů na vybraných stanovištích s různými typy odpadu bylo provedeno pomocí mnohorozměrných analýz ekologických dat. Použita byla kanonická

korespondenční analýza (CCA). Při testování průkaznosti pomocí testu Monte-Carlo bylo propočítáno 999 permutací. Data byla zpracována počítačovým programem Canoco 5.0 (Ter Braak, Šmilauer, 2012).

Výsledky a diskuse

Na základě monitoringu vegetace metodou fytocenologických snímků bylo nalezeno 114 druhů rostlin. Na rekultivované části skládky bylo nalezeno 56 druhů, na ploše určené pro ukládání komunálního odpadu 51 druhů, na ploše určené pro ukládání biologicky rozložitelného odpadu 29 druhů a na ploše určené pro ukládání inertního odpadu 23 druhů. Na Obr. 1 jsou zobrazeny podíly jednotlivých skupin druhů na pokryvnosti. Druhy s nejvyšší pokryvností byly *Arrhenatherum elatius, × Festulolium loliaceum, Lathyrus tuberosus, Galium album, Atriplex sagittata, Elytrigia repens, Securigera varia* a *Calamagrostis epigejos*.

Pokryvnosti nalezených druhů ve sledovaných částech skládky byly zpracovány analýzou DCA. Délka vypočteného gradientu, zjištěná pomocí DCA, byla 6,73. Na základě tohoto výpočtu byla k dalšímu zpracování zvolena kanonická korespondenční analýza (CCA). Analýza CCA vymezuje prostorové uspořádání jednotlivých druhů rostlin a sledovaných stanovišť na skládce. Vztahy mezi druhy rostlin a stanovišti jsou graficky vyjádřeny pomocí ordinačního diagramu na Obr. 2.



Obr. 1 – Průměrná pokryvnost skupin druhů na jednotlivých stanovištích skládky

Výsledky analýzy CCA, která hodnotila vztah mezi pokryvností druhů rostlin a jednotlivými sledovanými stanovišti, je signifikantní na hladině významnosti $\alpha = 0{,}001$ pro všechny kanonické osy. Na základě analýzy CCA byly druhy rozděleny podle jejich výskytu na jednotlivých stanovištích skládky do 4 skupin a dále do podskupin dvouděložné jednoleté, dvouděložné víceleté, vytrvalé trávy a jednoleté trávy.

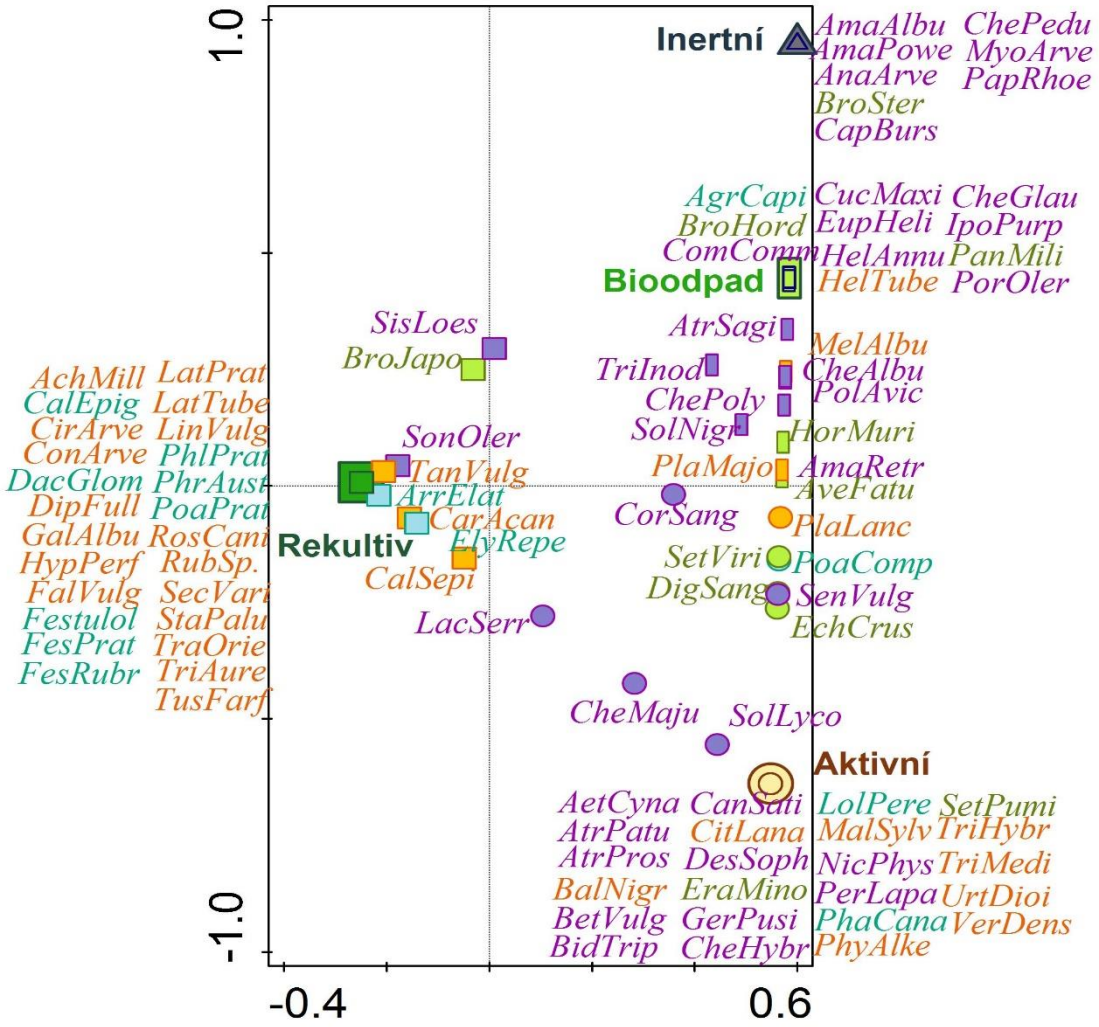
První skupina druhů rostlin se vyskytovala především na rekultivované části skládky. Z podskupiny dvouděložných jednoletých rostlin to byly *Lactuca serriola, Sisymbrium loeselii, Sonchus oleraceus;* z podskupiny dvouděložných víceletých to byly *Achillea millefolium, Calystegia sepium, Carduus acanthoides, Cirsium arvense, Convolvulus arvensis, Daucus carota, Dipsacus fullonum, Euphorbia esula, Falcaria vulgaris, Galium album, Hypericum perforatum, Lathyrus pratensis, Lathyrus tuberosus, Linaria vulgaris, Picris hieracioides, Potentilla anserina, Rosa canina, RubSp. – Rubus sp., SecVari – Securigera varia, Silene latifolia, Silene vulgaris, Stachys palustris, Symphytum officinale, Tanacetum vulgare, Tragopogon orientalis, Trifolium aureum, Tussilago farfara*, z podskupiny vytrvalých trav to byly *Arrhenatherum elatius, Dactylis glomerata, Elytrigia repens, Festuca pratensis, Festuca rubra, × Festulolium loliaceum, Phleum pratense, Phragmites australis, Poa pratensis* a z podskupiny jednoletých trav *Bromus japonicus.*

Druhá skupina druhů se vyskytovala zejména na části skládky určené k ukládání komunálního odpadu. Z podskupiny dvouděložných jednoletých rostlin to byly *Aethusa cynapium, Atriplex patula, Atriplex prostrata, Beta vulgaris, Bidens tripartitus, Cannabis sativa, Descurainia sophia, Geranium pusillum, Chelidonium majus, Chenopodium hybridum, Nicandra physalodes, Papaver rhoeas, Persicaria lapathifolia, Solanum lycopersicum,* z podskupiny dvouděložných víceletých rostlin to byly *Ballota nigra, Citrullus lanatus, Malva sylvestris, Physalis alkekengi, Trifolium hybridum, Trifolium medium, Urtica dioica, Verbascum densiforum,* z podskupiny vytrvalých trav šlo o *Agrostis capillaris, Lolium perenne, Phalaris canariensis* a z podskupiny jednoletých trav to byly *Eragrostis minor* a *Setaria pumila.*

Třetí skupina druhů se vyskytovala především na části skládky určené k ukládání biologicky rozložitelného odpadu. Z dvouděložných jednoletých rostlin se jednalo o *Amaranthus retroflexus, Atriplex sagittata, Commelina communis, Cornus sanguinea, Cucurbita maxima, Euphorbia helioscopia, Helianthus annuus, Chenopodium album, Chenopodium glaucum, Chenopodium polyspermum, Ipomoea purpurea, Persicaria lapathifolia, Polygonum aviculare, Portulaca oleracea, Senecio vulgaris, Solanum nigrum, Tripleurospermum inodorum*, z dvouděložných víceletých rostlin to byly *Helianthus tuberosus, Melilotus albus, Plantago lanceolata, Plantago major,* z podskupiny vytrvalých trav šlo o *Poa compressa* a z jednoletých trav o *Avena fatua, Bromus hordeaceus, Digitaria sanguinalis, Echinochloa crus-galli, Hordeum murinum, Panicum miliaceum* a *Setaria viridis.*

Čtvrtá skupina druhů se vyskytovala zejména na části skládky určené k ukládání inertního odpadu. Šlo o podskupinu dvouděložných jednoletých rostlin *Amaranthus albus, Amaranthus powelli, Anagallis arvensis, Capsella bursa-pastoris, Chenopodium pedunculare, Myosotis arvensis* a *Papaver rhoeas.*

Z výsledků je patrné, že na rekultivované ploše naprosto převažovaly vytrvalé druhy. Jedná se především o rostliny, které mají potenciál kumulovat biomasu. Pokud je biomasa místo odklízení mulčována, je zde výrazná dispozice ke vzniku požáru. Biomasa v kombinaci se suchým průběhem počasí je tedy rizikovým faktorem. Podle Salemme et al. (2021) bylo prokázáno, že vegetace složená především z trav zvyšuje pravděpodobnost a také intenzitu požáru. Naše výsledky ukazují, že, alespoň z pohledu složení vegetace, jsou aktivní části skládky méně náchylné ke vzniku požáru. Převaha jednoletých druhů a nižší pokryvnost toto riziko snižují.



Obr. 2 – Ordinační diagram vyjadřující vztah mezi druhy rostlin a stanovišti sledované skládky (celková vysvětlená variabilita = 22,4 %; F-ratio = 3,4; P-value = 0,001)

Vysvětlivky: Rekultiv – rekultivovaná část skládky; Aktivní – plocha určená pro ukládání komunálního odpadu; Bioodpad – plocha určená pro ukládání biologicky rozložitelného odpadu; Inertní – plocha určená pro ukládání inertního odpadu.
Zkratky druhů ze skupiny dvouděložných jednoletých rostlin: *AetCyna – Aethusa cynapium, AmaAlbu – Amaranthus albus, AmaPowe – Amaranthus powelli, AmaRetr – Amaranthus retroflexus, AnaArve – Anagallis arvensis, AtrPatu – Atriplex patula, AtrPros – Atriplex prostrata, AtrSagi – Atriplex sagittata, BetVulg – Beta vulgaris, BidTrip – Bidens tripartitus, CanSati – Cannabis sativa, CapBurs – Capsella bursa-pastoris, ComComm – Commelina communis, CorSang – Cornus sanguinea, CucMaxi – Cucurbita maxima, DesSoph – Descurainia sophia, EupHeli – Euphorbia helioscopia, GerPusi – Geranium pusillum, HelAnnu – Helianthus annuus, CheMaju – Chelidonium majus, CheAlbu – Chenopodium album, CheGlau – Chenopodium glaucum, CheHybr – Chenopodium hybridum, ChePedu – Chenopodium pedunculare, ChePoly – Chenopodium polyspermum, IpoPurp – Ipomoea purpurea, LacSerr – Lactuca serriola, MyoArve – Myosotis arvensis, NicPhys – Nicandra physalodes, PapRhoe – Papaver rhoeas, PerLapa – Persicaria lapathifolia, PolAvic – Polygonum aviculare, PorOler – Portulaca oleracea, SenVulg – Senecio vulgaris, SisLoes –*

Sisymbrium loeselii, SolLyco – Solanum lycopersicum, SolNigr – Solanum nigrum, SonOler – Sonchus oleraceus, TriInod – Tripleurospermum inodorum.
Zkratky druhů ze skupiny dvouděložných víceletých rostlin: *AchMill – Achillea millefolium, BalNigr – Ballota nigra, CalSepi – Calystegia sepium, CarAcan – Carduus acanthoides, CirArve – Cirsium arvense, CitLana – Citrullus lanatus, ConArve – Convolvulus arvensis, DipFull – Dipsacus fullonum, FalVulg – Falcaria vulgaris, GalAlbu – Galium album, HelTube – Helianthus tuberosus, HypPerf – Hypericum perforatum, LatPrat – Lathyrus pratensis, LatTube – Lathyrus tuberosus, LinVulg – Linaria vulgaris, MalSylv – Malva sylvestris, MelAlbu – Melilotus albus, PhyAlke – Physalis alkekengi, PlaLanc – Plantago lanceolata, PlaMajo – Plantago major, PotAnse – Potentilla anserina, RosCani – Rosa canina, RubSp. – Rubus sp., SecVari – Securigera varia, StaPalu – Stachys palustris, TanVulg – Tanacetum vulgare, TraOrie – Tragopogon orientalis, TriAure – Trifolium aureum, TriHybr – Trifolium hybridum, TriMedi – Trifolium medium, TusFarf – Tussilago farfara, UrtDioi – Urtica dioica, VerDens – Verbascum densiforum,*
Zkratky druhů ze skupiny vytrvalých trav: *ArrElat – Arrhenatherum elatius, CalEpig – Calamagrostis epigejos, DacGlom – Dactylis glomerata, ElyRepe – Elytrigia repens, FesPrat – Festuca pratensis, FesRubr – Festuca rubra, Festulol – × Festulolium loliaceum, LolPere – Lolium perenne, PhaCana – Phalaris canariensis, PhlPrat – Phleum pratense, PhrAust – Phragmites australis, PoaComp – Poa compressa, PoaPrat – Poa pratensis.*
Zkratky druhů ze skupiny jednoletých trav: *AveFatu – Avena fatua, BroHord – Bromus hordeaceus, BroJapo – Bromus japonicus, BroSter – Bromus sterilis, DigSang – Digitaria sanguinalis, EchCrus – Echinochloa crus-galli, EraMino – Eragrostis minor, HorMuri – Hordeum murinum, PanMili – Panicum miliaceum, SetPumi – Setaria pumila, SetViri – Setaria viridis.*

Závěr

V průběhu sledování bylo nalezeno 114 druhů rostlin. Odlišná stanoviště na sledované skládce odpadu se výrazně liší složením vegetace. Vegetace rekultivované části vytváří potenciál ke vzniku požáru z důvodu produkce biomasy a vysoké pokryvnosti. Biomasa rostlin je však pouze jedním z faktorů. Mezi další faktory, zvyšující riziko, patří management vegetace, zejména mulčování. Kumulace biomasy společně se suchým průběhem počasí výrazně zvyšuje riziko vzniku požáru na skládkách.

Poděkování

Tento výzkum byl podpořen programem INTER-EXCELLENCE, podprogram INTER-COST MŠMT ČR, grant č. LTC20001.

Literatura

Cossu, R.; Garbo, F. Landfill Covers: Principles and Design. In Solid Waste Landfilling. Concepts, Processes, Technologies; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2018; pp. 649–676.

Do, Y.; Kim, J.Y.; Kim, G.Y.; Joo, G.J. Importance of closed landfills as green space in space in urbanized areas: Ecological assessment using carabid beetles. Landsc. Ecol. Eng. 2014, 10, 277–284.

He, S.; Qin, T.; Liu, F.; Liu, S.; Dong, B.; Wang, J.; Nie, H. Eects of Slope Ecological Restoration on Runo and Its Response to Climate Change. Int. J. Environ. Res. Public Health 2019, 16, 4017.

Jagaba, A.H., Kutty, S.R.M., Lawal, I.M., Abubakar, S., Hassan, I., Zubairu, I., Umaru, I., Abdurrasheed, A.S., Adam, A.A., Ghaleb, A.A.S., Almahbashi, N.M.Y., Al-dhawi, B.N.S., Noor, A., 2021. Sequencing batch reactor technology for landfill leachate treatment: a state-of-the-art review. J. Environ. Manag. 282, 111946. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.111946.

Koda, E., Pachuta, K., Osinski, P., 2013. Potential of plants application in the initial stage of landfill reclamation process. Pol. J. Env. Stud. 22, 1731–1739.

Lazarus, B. E.; Germino, M. J.; Brabec, M.; Peterson, L.; Walker, R. N.; Moser, A. Post-Fire Management-Scale Trials of Bacterial Soil Amendment MB906 Show Inconsistent Control of Invasive Annual Grasses. Rangel. Ecol. Manag. 2020, 73, 741–748. https://doi.org/10.1016/j.rama.2020.03.005.

Ma, J., Li, Y., Li, Y., 2021. Effects of leachate recirculation quantity and aeration on leachate quality and municipal solid waste stabilization in semi-aerobic landfills. Environ. Technol. Innov. 21, 101353. https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101353.

Marcisz, K.; Lamentowicz, M.; Galka, M.; Colombaroli, D.; Adolf, C.; Tinner, W. Responses of Vegetation and Testate Amoeba Trait Composition to Fire Disturbances in and Around a Bog in Central European Lowlands (northern Poland). Quat. Sci. Rev. 2019, 208, 129–139. https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2019.02.003.

Nannoni, F., Santolini, R., Protano, G., 2015. Heavy element accumulation in Evernia prunastri lichen transplants around a municipal solid waste landfill in Central Italy. Waste Manag. 43 (2015), 353–362. https://doi.org/10.1016/j. wasman.2015.06.013.

Paoli, L., Grassi, A., Vannini, A., Maslaňakova, I., Bil'ova, I., Bačkor, M., Corsini, A., Loppi, S., 2015. Epiphytic lichens as indicators of environmental quality around a municipal solid waste landfill (C Italy). Waste Manag. 42 (2015), 67–73. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2015.04.033.

Pap, S., Boyd, K.G., Taggart, M.A., Sekulic, M.T., 2021. Circular economy based landfill leachate treatment with sulphur-doped microporous biochar. Waste Manag. 124, 160–171. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2021.01.037.

Piwnicki, J.; Szczygieł, R.; Ubysz, B.; Kwiatkowski, M. Economic Analysis of the Functioning of the Forest Fire Protection Systém in Poland. For. Ecol. Manag. 2006, 234, S209. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2006.08.236.

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/.

Salemme, R. K.; Fraterrigo, J. M. Grass Invasion Reduces the Resilience of Tree Regeneration to Fire in the Central Hardwoods Region. For. Ecol. Manag. 2021, 491, 119202. https://doi.org/10.1016/j.foreco.2021.119202.

Salt, M.; Yuen, S.T.S.; Ashwath, N.; Sun, J.; Benaud, P.; Zhu, G.X.; Jaksa, M.B.; Ghadiri, H.; Greenway, M.; Fourie, A.B. Phytocapping of Landfills. In Solid Waste Landfilling: Concepts, Processes, Technologies; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2018; pp. 677–688.

Sauve, G., Van Acker, K., 2020. The environmental impacts of municipal solid waste landfills in Europe: a life cycle assessment of proper reference cases to support decision making. J. Environ. Manag. 261 (2020), 110216. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110216.

Seshadri, B.; Bolan, N.S.; Thangarajan, R.; Jena, U.; Das, K.C.; Wang, H.; Naidu, R. Biomass Energy from Revegetation of Landfill Sites. In Bioremediation and Bioeconomy; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2016; pp. 99–109. Phillips, I.R.; Greenway, M.; Robertson, S. Use of phytocaps in remediation of closed landfills-Correct selection of soil materials. Land Contam. Reclam. 2004, 12, 339–348.

Sujetoviene, G., Smilgaitis, P., Dagiliute, R., Žaltauskaite, J., 2019. Metal accumulation and physiological response of the lichens transplanted near a landfill in Central Lithuania. Waste Manag. 85 (2019), 60–65. https://doi.org/10.1016/j. wasman.2018.12.017.

Szymura, M., Szymura, T.H., Świerszcz, S., 2016. Do landscape structure and socio-economic variables explain the solidago invasion? Folia Geobot. 51, 13–25. https://doi.org/10.1007/s12224-016-9241-4.

Ter Braak C.J.F., Šmilauer P. Canoco Reference Manual and user's Guide: Software for Ordination (version 5.0). Microcomputer Power: Ithaca, NY, USA. 2012.

Uldrijan, D., Kováčiková, M., Jakimiuk, A., Vaverková, M.D., Winkler, J., 2021. Ecological effects of preferential vegetation composition developed on sites with photovoltaic power plants. Ecol. Eng. 168, 106274. https://doi.org/10.1016/j. ecoleng.2021.106274.

Valjavec, M.B., Zorn, M., Čarni, A., 2018. Bioindication of human-induced soil degradation in enclosed karst depressions (dolines) using Ellenberg indicator values (Classical Karst, Slovenia). Sci. Total Environ. 640–641, 117–126. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.294.

Vaverková, M.D., 2019. Impact assessment of the municipal solid landfill on environment: a case study. Acta Sci. Pol. Arch. 18.2, 11–20. https://doi.org/10.22630/ASPA.219.18.2.17.

Vaverková, M.D., Radziemska, M., Bartoň, S., Cerda, A., Koda, E., 2018. The use of Vegetation as a Natural Strategy for Landfill Restoration. Land Degrad. Dev. 29 (10), 3674–3680. https://doi.org/10.1002/ldr.3119.

Wang, D., Tang, Y.T., Long, G., Higgitt, D., He, J., Robinson, D., 2020b. Future improvements on performance of an EU landfill directive driven municipal solid waste management for a city in England. Waste Manag. 102 (2020), 452–463. https://doi.org/10.1016/j.wasman.2019.11.009.

Wang, Y., Li, Y., Zheng, X., 2020a. The microclimatic effects of ecological restoration in brownfield based on remote sensing monitoring: the case studies of landfills in China. Ecol. Eng. 157, 105997. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2020.105997.

Weng, Y.C.; Fujiwara, T.; Houng, H.J.; Sun, C.H.; Li, W.Y.; Kuo, Y.W. Management of landfill reclamation with regard to biodiversity preservation, global warming mitigation and landfill mining: Experiences from the Asia–Pacific region. J. Clean. Prod. 2015, 104, 364–373.

Winkler, J., Koda, E., Skutnik, Y., Černý, M., Adamcová, D., Podlasek, A., Vaverková, M. D., 2021. Trends in the succession of synanthropic vegetation on a reclaimed landfill in Poland. Anthropocene 35, 100299. https://doi.org/10.1016/j. ancene.2021.100299.

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

Inhibiční efekt vybraných alternativních nízkorizikových látek proti *Phytophthora infestans* s dominancí chitosanu

Inhibition effect of selected low risk substances against *Phytophthora infestans* with the dominance of chitosan

Žabka M. [1], Pavela R. [1]

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i. Praha-Ruzyně

Abstrakt

V této práci byl testován přírodní polymer chitosan, jako látka s inhibičním účinkem na testovaného patogena ze skupiny oomycét *P. Infestans* společně s další přírodní antifungální látkou natamycinem. In vitro byly testovány efektivní koncentrace a dose response křivky patogena v závislosti na koncentraci. Obě látky byly porovnány s inhibičním efektem syntetického fungicidu tebukonazolu, který byl v této práci použit jako referenční standard a pozitivní kontrola. V práci byl potvrzen vysoký inhibiční efekt chitosanu a to dokonce i vyšší než u syntetického tebukonazolu. Prakticky minimální inhibiční efekt na P. infestans byl však prokázán u natamycinu, který je jinak u pravých hub vysoce efektivní. Obě přírodní látky jsou díky své nezávadnosti i účinnosti kandidáty na rozšíření skupiny legislativně uznávaných základních látek jako alternativních preparátů na ochranu rostlin.

Klíčová slova: Chitosan, Natamycin, Antifungální aktivita, *Oomycetes, P. infestans.*

Abstract

In this work, the natural polymer chitosan was tested as a substance with an inhibitory effect on the tested pathogen from the group of oomycetes P. Infestans together with another natural antifungal substance natamycin. Effective concentrations and dose-response curves of the pathogen were tested in vitro. Both substances were compared with the inhibitory effect of the synthetic fungicide tebuconazole, which was used in this work as a reference standard and a positive control. The work confirmed the high inhibitory effect of chitosan, even higher than that of synthetic tebuconazole. However, a virtually minimal inhibitory effect on P. infestans has been demonstrated with natamycin, which is otherwise highly effective against true fungi. Due to their safety and effectiveness, both natural substances are candidates for expanding the group of legally recognized basic substances as alternative plant protection products.

Keywords: Chitosan, Natamycin, Antifungal activity, *Oomycetes, P. infestans.*

Úvod

Používání chemických syntetických fungicidních látek v lékařství, kosmetice a jiných oblastech se již dávno stalo nedílnou součástí moderního vyspělého světa. Nicméně, v žádné z uvedených oblastí nerezonuje problém používání fungicidů tak výrazně, jako v oblasti zemědělství, které čím dál častěji naráží na oprávněné či přehnané environmentální bariery. Nadějnou cestou je výzkum antifungálních vlastností mnohých přírodních látek, které mohou zastoupit či snížit spotřebu syntetických pesticidů obecně. V současnosti podléhá používání klasických pesticidů čím dál větším restrikcím z důvodu vzrůstajících tendencí v ochraně životního prostředí (Brauer et al., 2019). Proces registrace a zavádění do praxe nových, byť ekologicky lépe přijatelných preparátů, je složitý a extrémně drahý. Jedna z cest umožňující lepší a rychlejší přístup k ekologicky přátelským možnostem ochrany byl například v EU zavedený status tzv. Basic substances (BSs) jinak také Low risk active substances (LRASs). Podstata těchto látek je legislativně definována (EC) Regulation No. 1107/2009 (Marchand, 2015). Jednou z významných BSs or LRASs je chitosan, povolený pro ochranu rostlin v EU pouze pro bobulové ovoce, obiloviny nebo koření (SANCO 2014). Chitosan představuje plně přírodní polymer s významnými antibakteriálními i antifungálními vlastnostmi (Goy et al., 2009; Zabka and Pavela, 2018). Chitosan má obrovský potenciál i v jiných oblastech a pro svou bezpečnost

je používán v potravinářství nebo biomedicínských aplikacích či farmacii (Morin-Crini et al., 2019). Po chemické stránce jde o poly - [(b-1/4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose] získanou plnou či částečnou deacetilací hojně zastoupené přírodní látky chitinu. Tato studie popisuje překvapivou a velmi významnou dominanci chitosanu nad dalšími potenciálními eco-friendly látkami nebo preparáty v účinnosti proti velmi nebezpečnému, destruktivnímu rostlinnému patogenu *Phytophthora infestans*, způsobující závažné symptomy potato late blight především na bramborách a rajčatech. Význam tohoto patogena je historicky potvrzen například hladomorem v Irsku v letech 1845-1847 (Judelson, 1997). Tato práce, byť cíleně zaměřená na chitosan, dále popisuje dále účinnost další zdravotně bezpečné substance s potenciálem zařazení do základních látek, kterou je natamycin, o kterém jsme psali v jiné práci (Zabka 2018).

Materiál a metody

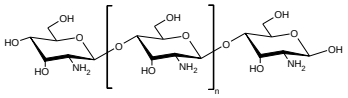
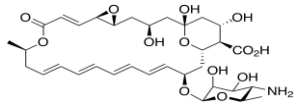
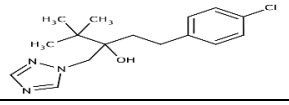
Izolace a udržování kultury P. infestans

Testovaný izolát *P. infestans* byl izolován v roce 2020 pod mikroskopem z infikované hlízy bramboru. Po přečištění (pomocí kultivace na ATB/Chloramphenicol) je kultura udržována v pracovní laboratorní sbírce v nativním stavu v termostatu při teplotě 18°C a pravidelně pasážována na žitném agaru (Rye A agar).

Testování inhibičního efektu látek proti vybranému patogenu

Inhibiční vlastnosti testovaných látek na myceliární růst *P.infestans* byly testovány pomocí diluční metody. Vybrané látky s antifungálním potenciálem byly pořízeny od firmy Sigma-Aldrich, v p.a. stupni chemické čistoty (Tab. 1). Stanovené množství látek bylo rozpuštěno v malém množství rozpouštědla (sterilní destilovaná voda) a důkladně rozmícháno v RAA médiu při teplotě pod 60°C v přesně dané koncentrační řadě. Ta byla zvolena na základě předchozích testů následovně: 0,1; 0,25; 0,5; 1; 1,5 a 2 mg.ml-1 tak, aby maximálně pokrývala předpokládané rozpětí „dose-response" křivek u u jednotlivých látek a testovaného patogenního organismu *P. infestans*. Kontrolní sada byla připravena přidáním ekvivalentního množství stejného rozpouštědla, tedy sterilní destilované vody. Jako pozitivní referenční kontrola byla připravena sada s četně používaným syntetickým fungicidní látkou Tebukonazol, která byla připravena ve stejné koncentrační řadě. Připravené Petriho misky (9 cm) byly sterilně naočkovány pomocí myceliárních disků (0,4 cm) odebraných z okraje čtrnáctidenních povrchových kultur *P.infestans*. Kultivace probíhala po dobu 10 dní, při teplotě 21°C. Světelný režim byl nastaven za použití black light (20 hod tma / 4 hod black light). Následné srovnání průměru kolonií v porovnání s kontrolními sety bylo převedeno na procentuální vyjádření inhibičního potenciálu jednotlivých látek.

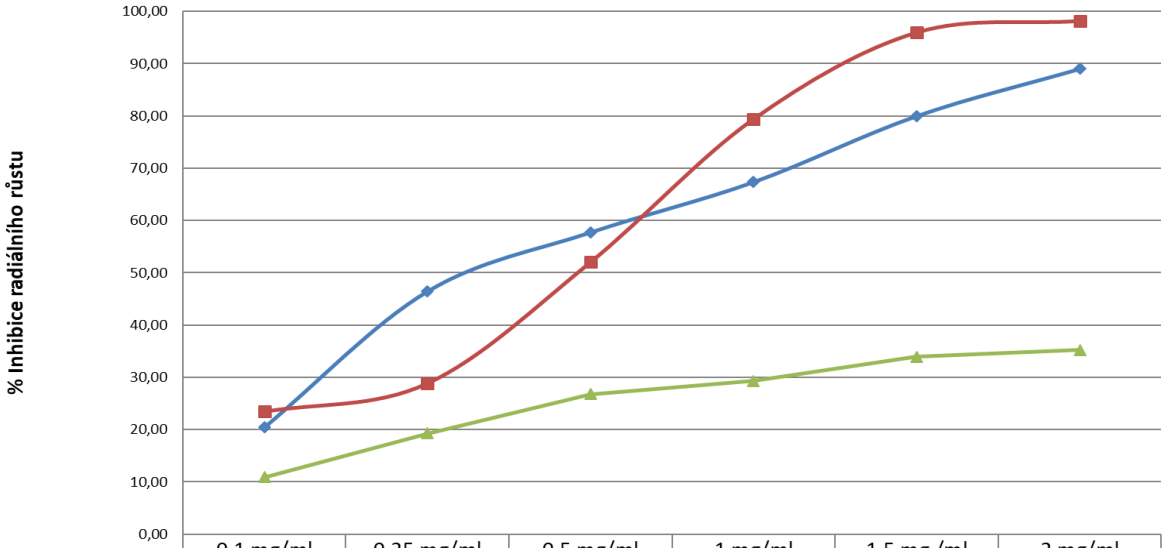
Tab. 1: Vybrané látky použité pro testování antifungálních vlastností

Látka	IUPAC název *popis	Strukturální vzorec
Chitosan	Poly(beta-(1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucose)	
Natamycin	*Amphoterická macrolidová antifungaální látka z	
Tebukonazol	(*RS*)- 1-(4-Chlorophenyl)- 4,4-dimethyl-3-(1*H*, 1,2,4-	

Výsledky a diskuse

Výsledky potvrzují inhibiční účinky na růst *P.infestans* u všech testovaných látek. Chitosan prokázal nejvyšší účinnost na růst *P.infestans* především v koncentracích nad 50% inhibicí, což je stanoveno jako spodní hranice potenciální efektivity. Této hranice bylo u chitosanu dosaženo již v nižších dávkách v koncentraci 0,5 mg/ml. V tomto koncentračním bodě došlo také k překonání účinnosti syntetického fungicidu tebukonazolu, který můžeme v této práci považovat za referenčí kontrolní standard. Od této dávky vykazoval chitosan vyšší efektivitu na růst kolonií *P. infestans*. Chitosan navíc vykázal ve finálních bodech, tedy nejvyšších koncentracích dose response křivky účinnost až 98% oproti pouze 89% u tebukonazolu. Překvapivě nízká účinnost byla prokázána u natamycinu, který u tohoto patogena nedosáhl hranice efektivní účinnosti ani v nejvyšších bodech koncentrační řady. Natamycin byl v našich předchozích výzkumech velmi efektivní látkou u mnoha jiných patogenů a to i při daleko nižších koncentracích. Předpokládáme, že mechanismus účinku natamycinu více zasahuje do vývoje skupiny tzv. pravých hub, ale díky morfologickým i fyziologickým odlišnostem skupiny Oomycet není proti *P.infestans* efektivní (Žabka 2018,). Průběh dose-response křivky u natamycinu zjevně ani v jednom bodě nedosahuje účinnosti chitosanu ani referenčního tebukonazolu (Graf 1.). je to enormně slibná přírodní látka, bez škodlivých environmentálních vlivů. Jedná se o polysacharid, kopolymer glukosaminu a N-acetylglucosaminu (Younes and Rinaudo, 2015). Účinnost chitosanu je způsobena mnoha mechanismy jako jsou elektrostatické interakce kladně nabité molekuly chitosanu s buněčnými membránami, narušení osmotické balance cytosolu či přímou destabilizaci membrán. Díky silné chelační schopnosti chitosanu dochází k blokování důležitých kovových iontů, především Ca2+ (Lee et al. 2016). Některé studie hovoří spíše o nepřímém sekundárním efektu chitosanu aplikovaného na rostliny, jako je zvýšení odolnosti rostlin díky elicitaci obranných mechanismů v pletivech společně s mechanickou barierou chitosanové vrstvy (Amborabé et al. 2008; El Hadrami et al. 2010). Oba způsoby účinku se nevylučují a z praktického hlediska se vhodně doplňují. Prakticky netoxický chitosan (Keen and Thanou 2011) se již testuje v praxi jako alternativní látka pro ochranu rostlin s výhodami environmentální bezpečnosti.

Graf 1. Dose-responses křivky *P. infestans* pro jednotlivé účinné látky



	0,1 mg/ml	0,25 mg/ml	0,5 mg/ml	1 mg/ml	1,5 mg /ml	2 mg/ml
Tebuconazole	20,44	46,44	57,74	67,36	79,98	89,00
Chitosan	23,42	28,83	52,04	79,42	95,99	98,20
Natamycin	10,86	19,25	26,78	29,29	33,95	35,19

Závěr

V této práci jsme v kontrolovaných *in vitro* testech potvrdili vysokou účinnost chitosanu jako inhibitoru růstu závažného patogena ze skupiny oomycét *P. infestans*. Oproti referenčnímu standardu, syntetickému a velmi účinnému fungicidu tebukonazolu, vykázal zdravotně nezávadný a zcela přírodní chitosan dokonce vyšší účinnost. Díky mnoha výzkumy potvrzené nezávadnosti a vysoké degradability v prostředí bude chitosan jistě více pronikat do oblasti ochrany rostlin a především jako specialista na ochranu proti infekci *P.infestans* jako bezpečná a alternativní látka se zařazením do skupiny ekologicky i zdravotně nízkorizikových základních látek.

Dedikace

Tato práce byla financována z následujících zdrojů QK1920214

Seznam použité literatury

Amborabé, B. E., Bonmort, J., Fleurat-Lessard, P., & Roblin, G. (2008). Early events induced by chitosan on plant cells. Journal of experimental botany,59(9), 2317-2324.

Brauer VS, Rezende CP, Pessoni AM, De Paula RG, Rangappa KS, Nayaka SC, Gupta V., Almeida F, (2019). Antifungal Agents in Agriculture: Friends and Foes of Public Health. *Biomolecules* 9, **21**.

El Hadrami, A., Adam, LR., El Hadrami, I. & Daayf, F. (2010). Chitosan in plant protection. Marine drugs, 8(4), 968-987

Goy RC., de Britto D., Assis OBG. (2009). A Review of the Antimicrobial Activity of Chitosan. *Polimeros* **19**, 241-247.

Judelson H.S. (1997). The genetics and biology of Phytophthora infestans: Modern approaches to a historical challenge. *Fungal Genet Biol* **22**, 65-76.

Kean, T., & Thanou, M. (2010). Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. Advanced drug delivery reviews, 62(1), 3-11.

Lee, C. G., Koo, J. C., & Park, J. K. (2016). Antifungal Effect of Chitosan as Ca2+ Channel Blocker. The plant pathology journal, 32(3), 242.

Marchand PA. (2015). Basic substances: an opportunity for approval of low-concern substances under EU pesticide regulation. Pest Manag Sci 71, 1197-1200.

Morin-Crini N., Lichtfouse E., Torri G., Crini G., (2019). Applications of chitosan in food, pharmaceuticals, medicine, cosmetics, agriculture, textiles, pulp and paper, biotechnology, and environmental chemistry. *Environ. Chem Lett* **17**, 1667-1692.

SANCO, 2014. (2014). Review report for the basic substance Chitosan Hydrochloride. SANCO/12388/2013–rev. 2. 20 March European Commission. Health and Consumers Directorate-General.

Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. Marine drugs, 13(3), 1133-1174.

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.

Kontaktní adresa:
Ing. Martin Žabka, Ph.D
e-mail: zabka@vurv.cz;
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, Praha6 –Ruzyně

Změny půdní struktury na svažitých pozemcích

Changes of soil structure on the slopped lands

Badalíková B.[1], Vašinka M.[1], Prudil J.[1,2]

[1]Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko
[2]Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

V letech 2018–2020 byl sledován strukturní stav půdy na svažitých, erozně ohrožených pozemcích. Na svahu byly zvoleny tři varianty pro odběry půdních vzorků, a sice: varianta 1 (eluvium) – půda bez známek transportu v horní části svahu, varianta 2 (eroze) – zerodovaná půda ve střední části svahu a varianta 3 (akumulace) – akumulovaná půda ve spodní části svahu. Během sledovaných let byla zaznamenána převážně nejhorší půdní struktura u varianty eluvium – ve svrchní části svažitého pozemku, kde došlo ke zhoršení fyzikálních vlastností půdy vlivem klimatických podmínek a úbytku humusového horizontu. V období vyšších dešťových srážek byla zhoršená půdní struktura u varianty eroze ve střední části svahu.
Klíčová slova: eroze, struktura půdy, černozem

Abstract

In the years 2018 – 2020, the structural condition of the soil on the sloping, erosion-endangered lands was monitored. Three variants for soil sampling on the slope were selected: variant 1 (eluvium) – soil without signs of transport in the upper part of the slope, variant 2 (erosion) – eroded soil in the middle of the slope and variant 3 (accumulation) – accumulated soil at the bottom of the slope. During the monitored years was recorded the worst soil structural condition on the eluvium variant - in the upper part of the sloping plot, where the soil physical properties deteriorated due to climatic conditions and a decrease in the humus horizon. During the period of higher rainfall, the soil structure was aggravated on the erosion variant in the middle part of the slope.
Key words: erosion, soil structure, chernozem

Úvod

Pěstování širokořádkových plodin, jako je kukuřice, sebou přináší specifická rizika především v důsledku eroze půdy. Ta bývají umocněna především svažitostí pěstebních ploch, nepříznivou strukturou půdy a jinými negativními vlivy. Na mnoha místech ČR se kukuřice pěstuje na nevhodných pozemcích, kde dochází k výrazné degradaci půdy vodní erozí (Janeček a kol. 2012). Při tomto procesu se ztrácí nejúrodnější část ornice a s tím souvisí zhoršování fyzikálních vlastností půdy spojené se snižující se produkční schopnosti. Pěstování plodin a zpracování půdy mění strukturu půdy a tím velikost i distribuci pórů a tvoří žádoucí prostředí pro pohyb vzduchu a vody (Leij a kol., 2002). Změna půdní struktury po zpracování půdy přináší změnu vodivosti a propustnosti pro vodu, teplo a vzduch.

Cílem tohoto příspěvku je zhodnocení strukturního stavu černozemních půd na svažitém pozemku, dlouhodobě poškozovaných vodní erozí.

Materiál a metody

Odběry půdy v roce 2018 proběhly na podzim, v letech 2019 a 2020 pak proběhly odběry půd vždy na začátku a na konci vegetace. V roce 2018 a 2019 byla vytipována lokalita Bošovice a v roce 2020 lokalita Hrušky. Na obou pozemcích byly pěstovány obilniny. Vždy se jednalo o černozemě karbonátové. Odběr půdních vzorků pro stanovení struktury byl proveden ze dvou hloubek, a sice 0-0,15 m a 0,15-0,30 m. Odběrná místa byla vybrána na základě výsledků erozně-akumulačního modelu USPED.

Na pokusu byly určeny tyto varianty:

Varianty pokusu

Varianta 1 (eluvium): půda bez známek transportu v horní části svahu
Varianta 2 (eroze): zerodovaná půda ve střední části svahu
Varianta 3 (akumulace): akumulovaná půda ve spodní části svahu

Klimatické poměry stanoviště

Podle klimatických oblastí náleží pokusné lokality Bošovice, Hrušky do klimatické oblasti T2 (teplá, mírně suchá) s průměrnou roční teplotou vzduchu 8–9°C a průměrem ročních srážek 500–600 mm. Klimatická oblast je typická dlouhým, teplým a suchým létem. Velmi krátké přechodné období s teplým až mírně teplým jarem i podzimem, krátkou, mírně teplou, suchou až velmi suchou zimou, s velmi krátkým trváním sněhové pokrývky.

Metodika půdních analýz

Půdní struktura byla stanovena prosíváním suché zeminy na sítech o průměrných otvorech nad 10 mm; 7,1-10; 5-7,1; 2-5; 1-2; 0,5-1; 0,25-0,5; pod 0,25mm. Vzorky byly odebírány ze dvou hloubek, a sice 0-0,15 a 0,15-0,30 m. Každá strukturní frakce byla samostatně zvážena a přepočtena na procenta. K vlastnímu hodnocení byl vypočítán koeficient strukturnosti, který vyjadřuje vztah mezi agronomicky hodnotnými (0,25-10 mm) a méně hodnotnými strukturními elementy (>10 a <0,25 mm). Půdní struktura se hodnotí podle koeficientu strukturnosti (KS), z čehož se určuje strukturotvornost půdy. Čím je KS 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, Kňákal, 2001).

Výsledky a diskuze

Vzhledem k tomu, že projekt začínal v roce 2018, tak první odběry půd byly uskutečněny až po výběru lokalit, tedy na konci vegetačního období. Na lokalitě Bošovice na podzim roku 2018 (tab. 1) byly zjištěny nejvyšší hodnoty koeficientu strukturnosti (KS) u varianty 2 (eroze). Pravděpodobně zde nedošlo k poruše struktury půdy ve střední části pozemku, i když z horní části pozemku (přechodná var. 1 – eluvium), kde byly hodnoty KS nejnižší, došlo k částečnému smyvu půdy. U varianty 3 (akumulace) byly výsledné hodnoty KS obdobné jako u var. 2. Půdní struktura je důležitá při řešení vodní eroze půdy. Protože je struktura dána uspořádáním a vazbou půdních částic, určuje podíl nekapilárních pórů a stabilitu půdních agregátů. Příznivý vliv struktury se projevuje nejvýrazněji u půd s drobtovitou strukturou, která vykazuje plnou vsakovací schopnost a protierozní odolnost při sklonu půdního povrchu do 17 % (Holý, 1994).

Zlepšení půdní struktury eliminuje erozi, optimalizuje funkci mikrobních společenstev (Paul, 2016).

Tab. 1: Zastoupení strukturních elementů – Bošovice, konec vegetace 2018

varianta	hloubka (m)	Strukturní elementy (% hmot.)								Koeficient strukturnosti
		nad 10	7,1 - 10	5 - 7,1	2 - 5	1 - 2	0,5 - 2	0,25 - 0,5	pod 0,25	
1 eluvium	0,0-0,15	29,55	10,14	9,94	19,92	11,14	7,05	4,26	8,00	1,67
	0,15-0,30	26,77	13,89	13,27	22,86	9,92	5,26	2,82	5,22	2,16
	průměr	28,16	12,01	11,61	21,39	10,53	6,16	3,54	6,61	1,91
2 eroze	0,0-0,15	12,74	9,26	11,59	26,32	15,83	10,18	5,83	8,25	3,82
	0,15-0,30	16,84	13,35	13,25	25,38	12,63	7,00	4,89	6,67	3,29
	průměr	14,79	11,30	12,42	25,85	14,23	8,59	5,36	7,46	3,55
3 akumulace	0,0-0,15	11,51	8,18	9,20	21,49	15,32	11,66	11,94	10,69	3,52
	0,15-0,30	21,21	11,31	12,03	23,71	12,58	7,34	5,25	6,57	2,62
	průměr	16,36	9,75	10,62	22,60	13,95	9,50	8,59	8,63	3,07

V roce 2019 na začátku vegetace je patrné snížení hodnot KS v hloubce 0,15 – 0,30 m u všech variant (tab. 2). Nejvyšší hodnoty v průměru byly naměřeny opět u var. 2 – eroze a nejnižší u var. 1 – eluvium. Obecně byly hodnoty KS vyšší jak na konci vegetace v roce 2018.

Tab. 2: Zastoupení strukturních elementů – Bošovice, začátek vegetace 2019

Varianta	Hloubka (m)	Strukturní elementy (% hmot.)								Koeficient strukturnosti
		nad 10	7,1 - 10	5 - 7,1	2 - 5	1 - 2	0,5 - 2	0,25 - 0,5	pod 0,25	
1 eluvium	0,0-0,15	10,25	12,33	15,96	26,61	15,45	8,17	5,76	5,76	5,86
	0,15-0,30	21,77	12,27	13,36	24,01	10,93	6,60	5,56	4,90	2,92
	průměr	16,01	12,30	14,66	25,31	13,19	7,39	5,66	5,33	4,39
2 eroze	0,0-0,15	2,98	6,06	9,56	28,31	18,63	12,40	11,92	10,14	6,64
	0,15-0,30	8,44	12,31	15,42	28,78	13,28	7,52	7,84	6,40	5,99
	průměr	5,71	9,18	12,49	28,54	15,96	9,96	9,88	8,27	6,31
3 akumulace	0,0-0,15	8,85	12,49	13,93	28,50	15,40	15,40	8,89	5,79	6,22
	0,15-0,30	19,71	13,92	14,48	14,48	24,32	24,32	10,63	6,00	2,78
	průměr	14,28	13,20	14,21	21,49	19,86	19,86	9,76	5,90	4,50

Na konci vegetace 2019 (tab. 3) došlo k poklesu průměrných hodnot KS u všech variant, a to hlavně ve svrchní vrstvě půdy. Nejnižší průměrné hodnoty byly zjištěny u var. 3 akumulace. Mohlo to být způsobeno větším utužením půdy na konci vegetace. U žádné z variant však nedošlo k poklesu KS pod mezní hodnotu 1. Jak zjistil Kroulík a kol. (2018), tak 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 včetně narušení půdní struktury.

Tab. 3: Zastoupení strukturních elementů – Bošovice, konec vegetace 2019

Varianta	Hloubka (m)	Strukturní elementy (% hmot.)								Koeficient strukturnosti
		nad 10	7,1 - 10	5 - 7,1	2 - 5	1 - 2	0,5 - 2	0,25 - 0,5	pod 0,25	
1 eluvium	0,0-0,15	18,41	9,65	9,93	22,82	12,97	8,43	9,99	6,86	2,87
	0,15-0,30	18,09	11,75	12,44	24,46	12,59	7,25	6,43	5,82	3,15
	průměr	18,25	10,70	11,19	23,64	12,78	7,84	8,21	6,34	3,01
2 eroze	0,0-0,15	18,12	8,61	8,64	19,94	13,49	10,22	11,93	9,05	2,73
	0,15-0,30	14,08	9,45	11,19	23,71	15,20	10,44	10,18	5,76	4,11
	průměr	16,10	9,03	9,91	21,83	14,35	10,33	11,06	7,40	3,42
3 akumulace	0,0-0,15	28,29	10,84	8,89	17,18	10,47	10,47	8,27	7,25	1,70
	0,15-0,30	37,53	10,92	9,90	9,90	17,47	17,47	9,19	5,55	1,39
	průměr	32,91	10,88	9,40	13,54	13,97	13,97	8,73	6,40	1,54

V tab. 4 jsou uvedeny hodnoty KS na lokalitě Hrušky na začátku vegetace 2020. Na této lokalitě byla celkově zjištěna horší strukturotvornost u všech variant oproti lokalitě Bošovice. V hlubší vrstvě půdy (0,15-0,30 m) byly zjištěny u všech variant nižší hodnoty KS oproti svrchní vrstvě (0,0-0,15 m). Na této lokalitě byly zjištěny nejvyšší hodnoty KS u var. 3 – akumulace a nejnižší u var. 1 – eluvium. Došlo k opačnému procesu jak na lokalitě Bošovice. Půda v přechodové části eluvia byla smytá do střední a spodní části pozemku a došlo zde k narušení půdní struktury vlivem likvidace humusového horizontu. Dochází tak k degradaci půdy vlivem nesprávného hospodaření (Janeček a kol., 2002).

Tab. 4: Zastoupení strukturních elementů – Hrušky, začátek vegetace 2020

varianta	hloubka (m)	Strukturní elementy (% hmot.)								**Koeficient strukturnosti**
		nad 10	7,1 - 10	5 - 7,1	2 - 5	1 - 2	0,5 - 2	0,25 - 0,5	pod 0,25	
1 eluvium	0,0-0,15	16,47	11,99	12,37	25,80	13,70	8,00	7,02	5,46	3,66
	0,15-0,30	32,95	13,14	10,75	18,75	9,17	5,35	4,68	5,55	1,61
	průměr	24,71	12,57	11,56	22,27	11,44	6,68	5,85	5,50	2,64
2 eroze	0,0-0,15	10,91	7,69	10,10	22,30	14,48	11,20	10,75	12,56	3,36
	0,15-0,30	23,64	9,87	10,44	21,48	11,16	7,42	7,39	8,61	2,14
	průměr	17,27	8,78	10,27	21,89	12,82	9,31	9,07	10,59	2,75
3 akumulace	0,0-0,15	5,14	6,96	11,09	30,43	17,92	17,92	10,64	10,14	6,83
	0,15-0,30	20,01	10,89	11,26	11,26	23,53	23,53	12,67	7,95	2,93
	průměr	12,58	8,93	11,18	20,85	20,73	20,73	11,65	9,05	4,88

Na konci vegetace 2020 byla zjištěna nejnižší hodnota KS u var. 1 – eluvium, nižší o 32 % oproti začátku vegetace (tab. 5). Je tedy patrné, že v roce 2020 během vegetace došlo k markantnímu zhoršení fyzikálních vlastností půdy vlivem hospodaření, klimatických podmínek a úbytku humusového horizontu. Podle autorů Jirků a kol. (2013) se struktura půdy a hydraulické vlastnosti orné půdy během roku značně liší v důsledku pravidelného zpracování půdy, hnojení, růstu rostlin a kořenů, vlivu klimatu atd. Horší půdní struktura má za následek, že dochází k postupné degradaci půdy. Pokud je půdní struktura zhoršená, vyskytuje se nižší procento meziagregátových pórů, až u nestrukturních půd je jejich hodnota nulová (Kutílek, 2012). Je důležité, aby byla půdní struktura drobtovité konzistence. Drobtovitá půdní struktura umožňuje infiltraci vody do hlubších vrstev, kdy následně dochází k lepšímu využívání vody z půdy (Šindelková, 2020).

Tab. 5: Zastoupení strukturních elementů – Hrušky, konec vegetace 2020

varianta	hloubka (m)	Strukturní elementy (% hmot.)								Koeficient strukturnosti
		nad 10	7,1 - 10	5 - 7,1	2 - 5	1 - 2	0,5 - 2	0,25 - 0,5	pod 0,25	
1 eluvium	0,0-0,15	45,69	12,12	8,49	14,91	7,35	4,09	3,08	4,15	1,02
	0,15-0,30	25,37	13,43	11,86	25,00	11,36	5,54	4,41	2,92	2,57
	průměr	35,53	12,77	10,18	19,95	9,36	4,81	3,74	3,53	1,79
2 eroze	0,0-0,15	26,05	11,53	11,00	19,85	10,52	7,32	6,68	7,05	2,04
	0,15-0,30	13,83	7,80	7,80	18,79	13,26	11,69	17,83	9,00	3,43
	průměr	19,94	9,66	9,40	19,32	11,89	9,51	12,26	8,03	2,74
3 akumulace	0,0-0,15	17,57	8,57	16,12	22,17	13,60	13,60	8,50	8,11	3,43
	0,15-0,30	7,65	9,44	12,84	12,84	30,23	30,23	17,21	10,48	6,86
	průměr	12,61	9,00	14,48	17,50	21,91	21,91	12,85	9,30	5,15

Závěr

Ze získaných výsledků hodnocení půdní struktury u černozemí na různých stanovištích vyplývá, že strukturotvornost byla ovlivněna klimatickými podmínkami a způsobem hospodaření. V podmínkách s vyšším výskytem dešťových srážek (rok 2020) byla zaznamenána lepší struktura půdy u varianty akumulační a v sušších podmínkách (rok 2018, 2019) byla zjištěna lepší půdní struktura u varianty eroze. Převážně nejhorší strukturní stav byl zaznamenán u varianty eluvium – přechodné ve svrchní části svažitého pozemku. Zde se jedná o půdy poškozené, odváté nebo smyté a tedy s vysokým stupněm poruchy strukturotvornosti.

Dedikace

Výsledky jsou součástí projektu NAZV Země, č. QK 1810233, financovaného MZe ČR a v rámci řešení DKRVO, reg. č. MZE-RO1721, financovaného Ministerstvem zemědělství ČR.

Použitá literatura

Badalíková B., Kňákal Z. 2001. Vliv zpracování půdy na půdní strukturu. Úroda [Online]. Dostupné z: http://uroda.cz/vliv-zpracovani-pudy-na-pudni-strukturu

Holý, M., 1994: Eroze a životní prostředí. Praha, ČVUT Praha, 383 s.

Janeček, M. a kol., 2012: Ochrana zemědělské půdy před erozí, metodika. 1. vyd., Praha, Powerprint, 113 s.

Jirků V., Kodešová R., Mühlhanselová M., Nikodem A., Žigová A., 2013: Temporal variability of structure and hydraulic properties of topsoil of three soil types. Geoderma, Volumes 204–205, pp 43–58.

Kroulík M., Zábranský P., Brant V., Petrtýl 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

Leij F.L. et. al., 2002: Modeling the dynamics of the soil pore-size distribution Soil and Tillage Research, Volume 64, Issues 1–2, Pages 61-78 ISSN: 0167-1987

Paul N., 2016: Mais und Bohnen im Duett, dlz agrarmagazin, s.74–77.

Šindelková I., 2020: Biostimulace půdy ve vztahu k managementu zásoby půdní vláhy. Úroda 12, roč. LXVIII, 2020, vědecká příloha, s. 483–490.

Kontaktní adresa:

Ing. Barbora Badalíková
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko
tel.: 547138 821
e-mail: badalikova@vupt.cz

Obr. 1: Lokalita Bošovice – var. eluvium (přechodná)

Obr. 2: Lokalita Bošovice – var. eroze (šipka) a dolní část var. akumulace

Změny vybraných půdních vlastností po zatravnění a zalesnění orné půdy

Changes of selected soil properties after conversion from arable soil to permanent grassland and forest

Boturová K., Prudil J., Pospíšilová L., Horáková E.

Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin
Mendelova univerzita v Brně

Abstract

Pedokompakce, pórovitost, půdní reakce a obsah a kvalita humusu byly hodnoceny v biokoridoru Uhřice (okres Kroměříž, Česká republika) po přeměně orné půdy na trvalý travní porost. Biokoridory hrají v krajině důležitou roli, protože eliminují erozi půdy a zlepšují životní podmínky zvířat. Změny vlastností půdy po změně způsobu hospodaření nejsou dostatečně studovány a hodnoceny u různých půdních typů. Cílem je ukázat, jak změny ve využívání půdy pozitivním i negativním způsobem ovlivňují základní vlastnosti hnědozemí. Obecně jsou považovány za půdy střední bonity. Studována byla hnědozem modální (orná půda), která měla původně tyto vlastnosti dobrou pórovitost, hlinitou texturou, střední obsah a kvalitu humusu, slabě kyselou reakci a vysoký obsah živin. Pět let po přechodu na trvalý travní porost je dokumentováno zvýšení celkového obsahu humusu, což znamená, že se zvýšil potenciál pro akumulaci organického uhlíku. Na druhou stranu existují některé negativní důsledky, jako je zvýšení pedokompakce, snížení pórovitosti a pokles půdní reakce.
Klíčová slova: vlastnosti půdy, hnědozem modální, změna využití půdy

Abstract

Pedocompaction, porosity, soil reaction and soil organic matter content and quality were evaluated in bio-corridor Uhřice (region Kroměříž, Czech Republic) after conversion from arable soil to permanent grassland. Bio-corridors play an important role in the landscape, because of elimination of soil erosion and improving life condition for animals. Changes of soil properties after conversion are not well studied and evaluated. The aim is to show how land-use changes in both positive and negative ways affect basic soil properties of Haplic Luvisols. Studied arable soil was assessed as a middle productive and loamy textured agriculture soil with good porosity, medium humus content and quality, weakly acid reaction, and high nutrients content. Five years of permanent grassland showed increasing of amount of soil organic matter, which means potential for organic carbon accumulation increased. On the other hand, there are some negative consequences such as increasing of soil acidity and pedocompation. and decreasing of porosity.
Key Words: soil properties, Haplic Luvisol, land-use change

Úvod

Půda hraje významnou roli v zadržování vody v krajině. Ovšem při narušení jejich základních vlastností nevhodným hospodařením dochází k omezení této schopnosti a důsledkem je eroze, ztráta půdy a pokles půdní úrodnosti. Dále dochází k utužení půdy, které je zapříčiněno např. nevhodnými pojezdy těžké zemědělské techniky při vyšší vlhkosti půdy, ztrátou organické hmoty a snížením aktivity půdní bioty (Błońska, Lasota, Gruba, 2017). I při mírných deštích voda odteče z povrchu, protože do utužené půdy se voda nedokáže vsáknout. Pokud je navíc

zvolen špatný osevní postup, voda se nezachytí ani v porostu a bez užitku odteče pryč. Při tom odnáší nejúrodnější část půdy, ornici, dochází k obnažování spodních horizontů půdy, přičemž ornice se usazuje v údolí, v korytech řek a vodních nádrží, a zanáší je, čímž se zvyšuje riziko povodní (Pospíšilová, 2016).
Jako významný prvek v ochraně půdy před erozí, se doporučuje rozdělit velké plochy na menší a budovat remízky anebo obnovovat původní místa zeleně v krajině. Takovým prvkům se říká územní systém ekologické stability, mezi něž patří i biokoridory. Mají zabránit rozrušování půdy vodní či větrnou erozí, ale zároveň poskytovat úkryt pro faunu a zlepšují její životní podmínky. Pro biokoridory je charakteristická druhová skladba rostlinstva, která je zde uměle vysazována a měla by odpovídat druhové skladbě dané lokality v krajině (Karabcová, 2009). Sledovaný biokoridor a druhové složení rostlin jsou podrobně popsány v další kapitole.
Cílem výzkumu bylo sledovat změny fyzikálních a chemických vlastností půdy na zatravněném a zalesněném segmentu a na orné půdě. Byly vybrány tyto vlastnosti utužení, pórovitost, objemová hmotnost, půdní reakce, obsah organického uhlíku, obsah a kvalita humusových látek.

Materiál a Metody

Řešené území se nachází v k. ú. Uhřice (okr. Kroměříž, Zlínský kraj), asi 20 km od města Kroměříž. Biokoridor byl zde vybudován v roce 2014. Průměrná roční teplota vzduchu se pohybuje kolem 8,5 °C, přičemž nejchladnějším měsícem je leden, nejteplejším červenec. Průměrná roční relativní vlhkost vzduchu se pohybuje kolem 77 %, přičemž nejvyšších hodnot dosahuje v prosinci, nejnižších v dubnu. Průměrné roční úhrny srážek se pohybují mezi 550–600 mm a na vegetační období připadá 400–450 mm. Nejvíce srážek spadne v červenci a srpnu, nejméně v únoru. Výběr vhodných druhů dřevin se provádí na základě podkladů, jež tvoří skupiny typů geobiocenů (STG), které vyplývají z biogeografického členění dané oblasti. Tyto byly dále ověřeny a přiřazeny k příslušným BPEJ. Navrženy byly druhy dřevin, které se v jednotlivých segmentech opakují v různém zastoupeni (Arvita P, 2013). STROMY – dub zimní (*Quercus petraea*), habr obecný (*Carpinus betulus*), hrušeň polnička (*Pyrus pyraster*), javor babyka (*Acer campestre*), javor mléč (*Acer platanoides*), jeřáb břek (*Sorbus torminalis*), jilm vaz (*Ulmus laevis*), lípa srdčitá (*Tilia cordata*), olše lepkavá (*Alnus glutinosa*), střemcha obecná (*Padus racemosa*), třešeň ptačí (*Prunus avium*). KEŘE – brslen bradavičnatý (*Euonymus verrucosus*), dřín obecný (*Cornus mas*), hloh jednosemenný (*Crataegus monogyna*), líska obecná (*Corylus avellana*), svída krvavá (*Cornus sanguinea*). Průměrné vzorky byly odebírány vpichy půdní sondirkou z každého segmentu (OP=orná půda, TTP=trvalý travní porost L= les) vždy na jaro a na podzim v průběhu let 2014–2018. dvakrát ročně, a to do hloubky 0–0,30 m. Průměrný vzorek se skládá přibližně z 30 vpichů u každého segmentu (OP, TTP, L). Následně byly vysušeny a prosety přes 2 mm síto. Pro účely stanovení základních fyzikálních vlastností byly odebrány neporušené vzorky do fyzikálních válečků. Dále bylo stanoveno zrnitostní složení půdy, půdní reakce, vodivost půdního výluhu, obsahu organického uhlíku, frakcionace humusových látek, UV-VIS spektra humusových látek, obsah živin, penetrometrický odpor. Z neporušeného půdního vzorku byla stanovována pórovitost, měrná hmotnost (hustota) půdy (ρS), objemová hmotnost redukovaná (ρd,). Podrobný postup stanovení jednotlivých půdních parametrů uvádějí Zbíral a kol. (2016) a Pospíšilová a kol. (2016). Ke statistickému zpracování dat byla použita jednofaktorová analýza ANOVA.

Výsledky a diskuze

Hnědozem modální dle zrnitostního rozboru představuje půdu střední, hlinitou s obsahem jílnatých částic do 45 %. Aktivní půdní reakce v orné půdě klesla ze slabě alkalické na kyselou

reakci. Zalesněná a zatravněná plocha vykazovaly slabě kyselou až kyselou aktivní reakci. Podobný efekt nebyl zjištěn u výměnné půdní reakce. Obecně byla výměnná reakce neutrální až slabě kyselá. Nejvyšší hodnoty pH/KCl = 6,20 byly dosaženy na zatravněné ploše a orná půda a les měly slabě kyselou reakci – viz obr. 1. Rozdíly u výměnné půdní reakce byly statisticky významné (P = 0,05). Podkyselování půdy označujeme jako negativní jev, který je typický pro hnědozemě. Tyto půdy vyžadují organické hnojení a vápnění. Kolísání pH je rovněž ovlivněno změnou vlhkosti, heterogenitou půdy a ročníkovou variabilitou.

Všechny sledované segmenty (OP, TTP, L) měly střední (1,43 %) až nízký (1,03 až 1,14 %) obsah humusu. Dle Sotákové (1982) se jedná dokonce o velmi nízké hodnoty pro hnědozemě. Stanovené hodnoty celkového obsahu uhlíku se pohybovaly v intervalu od 1,39 % (OP) do 1,54 % (TTP a L) – viz obr. 2a. Vstupy uhlíku se po změně způsobu hospodaření zvýšili a půda má vyšší potenciál pro sekvestraci uhlíku (Seremesic S., 2017). Obsah humusových látek (C-HL) na sledovaných plochách je uvedena na obr. 2b. Z výsledků je patrná vyšší akumulace humusových látek při TTP a v lese v porovnání s OP. Rozdíly u obsahu Cox nejsou statisticky průkazné. Rozdíly u obsahu C-HL nejsou statisticky průkazné (Sáňka M., Vácha R., Poláková Š., Fiala P., 2018).. Kvalita humusových látek hodnocená poměrem HK/FK dosahovala hodnoty >1 byla pouze na OP. Značí to vyrovnaný obsah HK a FK, anebo převahu HK. Postupně tak dochází nárůstu obsahu FK a poklesu poměru HK/FK < 1. I když, jak je uvedeno výše, rozdíly u obsahu C-HL nejsou statisticky průkazné, v průběhu let dochází ke snižování kvality humusových látek a nárůstu obsahu fulvokyselin, které odpovídají za podkyselování půdy – viz obr. 3. Tento jev může být umocněn místními specifickými podmínkami, klimatickými podmínkami, a proto se doporučuje OP vápnit a hnojit organickými hnojivy (Walkley A., Black T. A., 1934)

Dále byla kvalita humusových látek hodnocena dle absorbance v UV-VIS oblasti spektra – viz obr 4. Z grafu je patrné, že absorbance je vyšší na OP. Tuto skutečnost potvrzují i výsledky frakčního složení a vyšší obsah C-HL. Nižší hodnoty absorbance značí pokles kvality humusových látek.

Kritické hodnoty penetrometrického odporu půdy (3,5 MPa) nebyly překročeny. Obecně lze říct, že zalesněná plocha měla vyšší sklon k utužení v porovnání se zatravněnou plochou a ornou půdou.

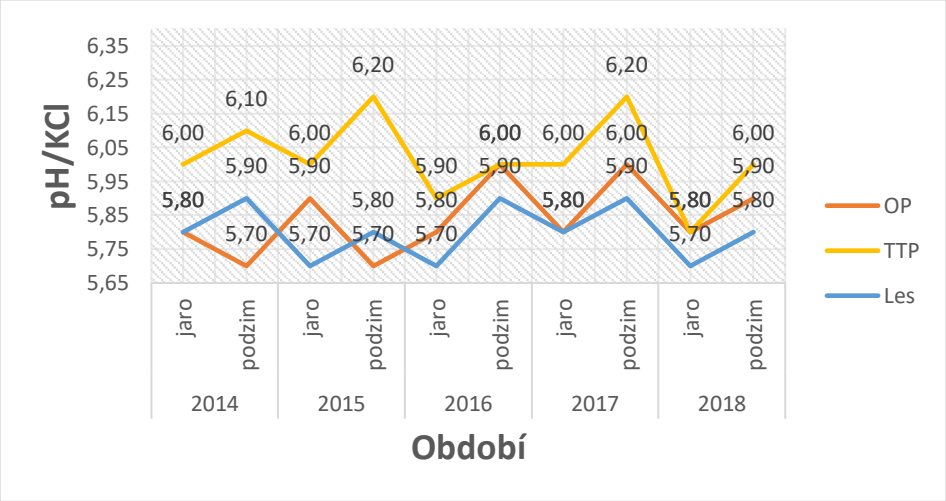
Z výpočtu hydrofyzikálních vlastností půdy jsme zjistili, že pórovitost překročila kritickou mez (45 %) jen u zalesněné části. Orná půdy ani TTP utužené nebyly. Utužení v zalesněné části lze vysvětlit tím, že před výsadbou byla použita na svažitém pozemku nevhodná skladba plodin a mechanizace při zpracování půdy a sklizni.

Výsledky byly dosazeny do korelační analýzy, která ukázala, že obsah organického uhlíku koreluje s obsahem HL, HK a FK (Tab. 1). Obsah HL koreluje s obsahem HK a FK. (n = 186; $\alpha = 0,05$; rkrit = 0,159) (Horáková E., Pospíšilová L., Vlček V., Menšík L., 2020)

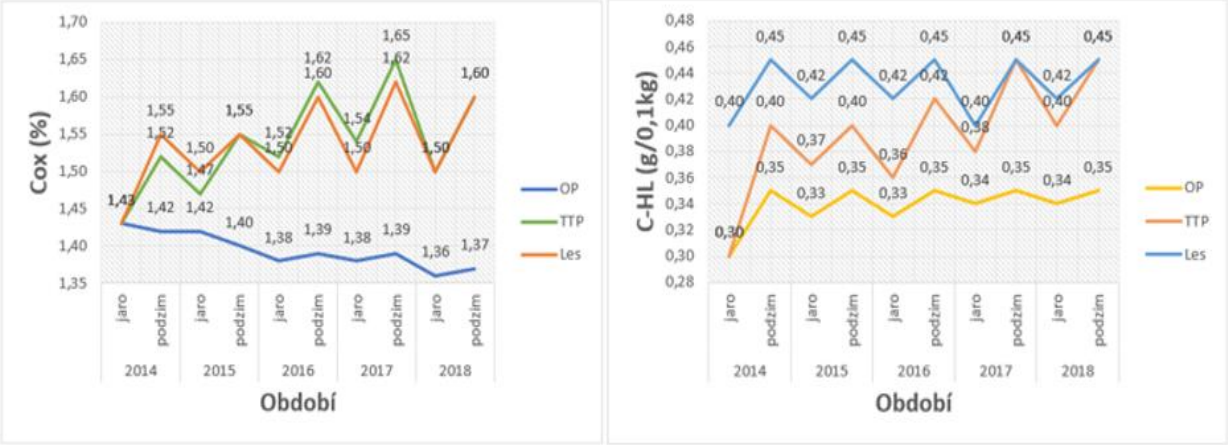
Tab. 1: Výsledky korelační analýzy dat

	C_{org} (g/0,1kg)	HL (g/0,1kg)	HK (g/0,1kg)	FK (g/0,1kg)	HK/FK
C_{org} (g/0,1kg)	1				
HL (g/0,1kg)	**0,289654**	1			
HK (g/0,1kg)	**0,351034**	**0,673355**	1		
FK (g/0,1kg)	**0,160497**	**0,888444**	**0,258902**	1	
HK/FK	**0,126245**	*-0,28628*	**0,493446**	*-0,68036*	1

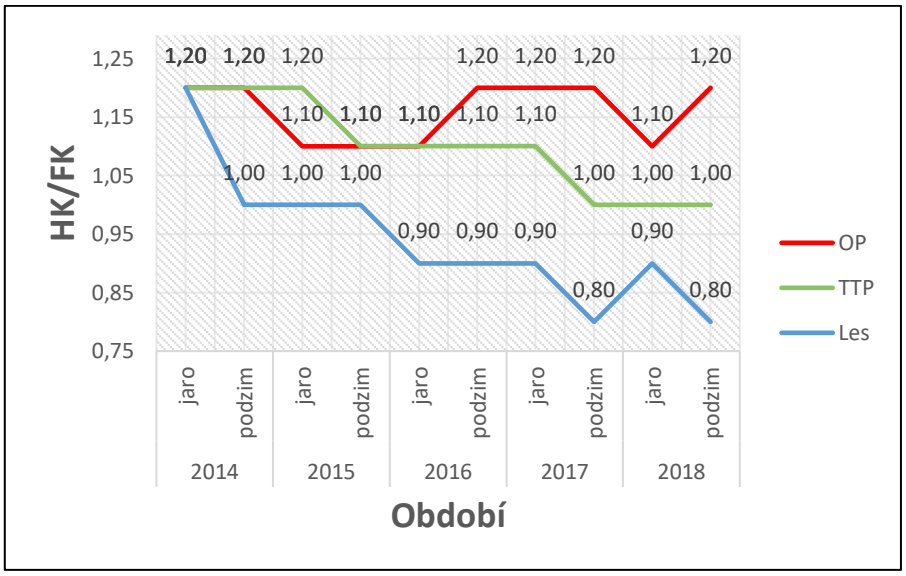
r_{krit} = kritické hodnoty výběrového koeficientu korelace (= tabulková hodnota)



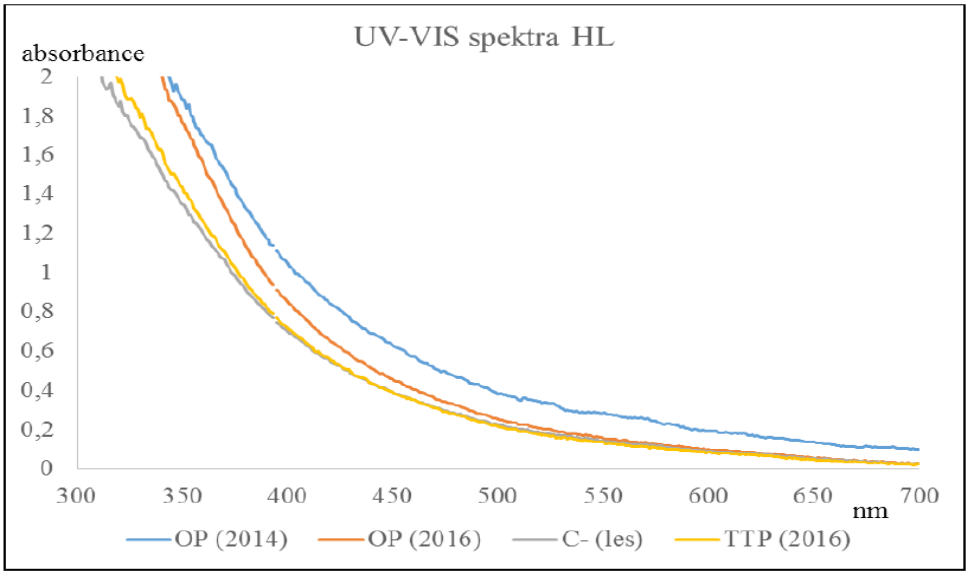
Obr. 1: Výsledky stanovení aktivní a výměnné půdní rekce



Obr. 2 a, b: 2 a – Celkový obsah organického uhlíku (Cox); 2 b – Celkový obsah humusových látek (C-HL)



Obr. 3: Průměrné hodnoty poměru huminových kyselin a fulvokyselin (HK/FK)



Obr. 4: Absorbance humusových látek v UV-VIS oblasti spektra

Závěr

V průběhu monitoringu půdních poměrů v biokoridoru Uhřice u Kroměříže, byly sledovány jak orná půda, tak její zalesněné a zatravněné segmenty. Po vyhodnocení vybraných fyzikálních a chemických vlastností půdy lze konstatovat, že hnědozem modální po zatravnění a zalesnění se postupně okyseluje, což souvisí se změnami ve frakčním složení humusu, ale i klimatickými podmínkami a specifickými podmínkami dané lokality. Dále bylo zjištěno, že obsah organického uhlíku po zatravnění a zalesnění narůstá a půda sekvestruje více uhlíku. Nebyly zjištěny závažnější negativní jevy jako utužení a poruchy vzdušného a vodního režimu půdy. Větší utužení bylo pouze u zalesněné části a lze ho vysvětlit tím, že před výsadbou byla použita těžká technika. Výsadba rostlin i následná péče o biokoridor probíhaly ručně, bez těžké mechanizace. Půda je v dobrém fyzikálním stavu, kyprá a sledované parametry splňují agroekologické limity. V následné péči o vzniklý biokoridor by bylo vhodné zohlednit i další

půdní parametry, především biologické vlastnosti a péči o půdní edafon, který zajišťuje zlepšování půdních vlastností, a který je pro půdu životně nezbytný.

Dedikace

Práce vznikla s podporou projektů NAZV QK 21010124 „Půdní organická hmota – hodnocení indikátorů kvality“ a QK 1810233 – „Kvantifikace dopadů hospodaření na erozi, kvalitu půd a výnosy pěstovaných plodin s návrhem pěstebních technologií šetrných k životnímu prostředí.“

Použitá literatura

Arvita P, 2013: Biokoridor na p. č. 1461, 1480, 1532 Uhřice u Kroměříže, Arvita P spol. s.r.o., Otrokovice, 22 s.

Błońska E., Lasota J., Gruba P. (2017): Enzymatic activity and stabilization of organic matter in soil with different detritus inputs. Soil Science and Plant Nutrition, 63: 242–247.

Horáková E., Pospíšilová L., Vlček V., Menšík L. (2020): Changes in the soil’s biological and chemical properties due to the land use. Soil & Water Res.

Karabcová H., 2009: Metodické postupy a zásady vyhodnocovaní fyzikálních parametrů půd pod trvalými travními porosty, Agrovýzkum Rapotin s.r.o., ISBN 978-80-87144-07-7

Pospišilova L., a kol., 2016: Standardni analyticke metody a kritéria hodnocení fyzikalnich, agrochemickych, biologickych a hygienickych parametrů půd, Mendelova univerzita v Brně, Brno, 122 s. ISBN 978-80-7509-438-4

Sáňka M., Vácha R., Poláková Š., Fiala P. (2018): Kritéria pro hodnocení produkce a ekologických vlastností půdy. Praha, Ministerstvo životního prostředí České republiky.

Seremesic S. (2017): Changes in soil carbon stock under the wheat-based crop system at Vojvodina province of Serbia. Archives of Agronomy and Soil Science, 63: 388–402.

Sotakova S., 1982: *Organická hmota a urodnosť pódy*. Príroda, vydavatelství knih a časopisov, n.p., Bratislava. 234 s.

Walkley A., Black T. A., 1934: An examination of Degtjarev method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Sci. 37: 29–38.

Zbíral J. a kol. (2016): Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ. Analýza půdy I. 4. revidovaná a rozšířená ed. Brno, ÚKZÚZ. (in Czech)

Kontaktní adresa:

Ing. Kateřina Boturová
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1665/1
613 00 Brno
xboturo1@mendelu.cz, +420 732 184 106

Aplikace peletizovaného kompostu ve vinicích

Application of pelletized compost in vineyards

Čížková A*., Burg P., Mašán V., Zemánek P.

Mendelova univerzita v Brně, Zahradnická fakulta Lednice

Abstrakt

Experimentální měření realizované ve vinohradnických podmínkách jižní Moravy, v letech 2020–2021, byla zaměřena na hodnocení účinků peletizovaného kompostu, aplikovaného plošným a hloubkovým způsobem na výnos hroznů. Peletizovaný kompost s přídavkem biouhlu byl aplikován v dávce 3 kg.m^{-2}. Úvodní výsledky realizovaných experimentů naznačují pozitivní vliv aplikovaného peletizovaného kompostu na chemizmus půdy i výnos hroznů. Aplikace peletizovaného kompostu pozitivně přispívá k pozvolnému nárůstu obsahu živin i pozvolnému zvýšení kvality humusu. Z hlediska růstu keřů révy vinné přispívá pravidelné hnojení k vyšším výnosům (u odrůdy Pálava o 15–19%, u odrůdy Tramín červený 3–14%). Z hodnocených variant byla ve většině případů nejlépe hodnocena var. B, s hloubkovou aplikací do oblasti příkmenného pásu. K vytvoření objektivnějších závěrů je nezbytné víceleté sledování.

Klíčová slova: vinice, kompost, aplikace kompostu, výnos hroznů, peleta, peletizace

Abstract

Experimental measurements carried out in the viticultural conditions of South Moravia, in the years 2020–2021, were focused on the evaluation of the effects of pelletized compost, applied superficially and deep form on the yield of grapes. Pelletized compost with the addition of biochar was applied at a dose of 3 kg.m^{-2}. The initial results of the experiments indicate a positive effect of applied pelletized compost on soil chemistry and grape yield. The application of pelletized compost positively contributes to a gradual increase in nutrient content and a gradual increase in humus quality. In terms of the growth of vine bushes, regular fertilization contributes to higher yields (for the Pálava variety by 15–19%, for the Tramín red variety 3–14%). Of the evaluated variants, var. B, with deep application, was the best evaluated in most cases. Multi-annual monitoring is necessary to draw more objective conclusions.

Keywords: vineyard, compost, application of compost, yield of grapes, pellet, pelletizing

Úvod

Z pohledu vinohradnické produkce sehrává výživa révy vinné významnou roli. Optimální výživa je proto nezbytnou součástí uplatňovaných technologických postupů a přispívá tak k dosažení požadovaného výnosu hroznů i jejich kvality (Hlušek et al., 2015). Réva vinná je trvalou kulturou s dlouhodobou životností, což vyžaduje věnovat patřičnou pozornost jak vyhnojení vinice před výsadbou, tak i hnojení plodných výsadeb (Fecenko a Ložek, 2000). Výživový stav půdy ve vinicích ovlivňuje morfologický vývoj keřů a probíhající fyziologické procesy (Pavloušek, 2011). Lampír (2016) uvádí, že je nutné k výživě vinic přistupovat jako ke komplexnímu ekosystému.

Půdy ve vinicích jsou v posledních letech vystavovány ve stále větší míře antropogenní činnosti, což často vede k jejich nevratnému poškození a degradaci. Příčiny tohoto stavu lze vidět hned v několika rovinách. Vinice představují monokulturu, která s ohledem na celkovou délku životnosti neumožňuje obhospodařování tradičním způsobem rotace (střídání) plodin. V posledních dvou desetiletích došlo navíc k výraznému snížení aplikace organických hnojiv

do vinic. Richard *et al.* (1999), uvádí, že organická hnojiva zajišťují především přísun organických látek, pozitivně ovlivňují průběh fyzikálních i chemických procesů v půdě a obsahují potřebné rostlinné živiny. Tradiční metody aplikace jsou zaměřeny zejména na plošnou aplikaci organických hnojiv ve volně ložené formě. V posledních letech se prohlubuje zájem o výrobu tvarovaných hnojiv procesem peletizace (Mieldazys *et al.*, 2014). Tento proces představuje z hlediska udržitelného zemědělství perspektivní způsob úpravy, který přispívá ke zlepšení možnosti jejich přesného dávkování, k významné eliminaci prašnosti, ke snížení nákladů na skladování, manipulaci i dopravu a v neposlední řadě také k pozvolnějšímu uvolňování obsažených živin (Brunerová *et al.*, 2020).

Cílem práce bylo ověření plošné a hloubkové aplikace peletizovaného kompostu v meziřadí vinic na výnos hroznů.

Materiál a metody

Pro potřeby experimentálních měření realizovaných v roce 2020-2021 byla zvolena pokusná vinice Zahradnické fakulty MENDELU.

Klimatické a půdní podmínky

Zájmová lokalita pro realizaci experimentů se nachází ve vinici jihozápadně od obce Lednice (vin. trať Na Valtické). Obec Lednice se nachází v Jihomoravském kraji na území okresu Břeclav. Patří do teplé oblasti T4, velmi teplého okrsku, suchého s mírnou suchou zimou. Průměrná roční teplota 9 °C, dlouhodobé průměrné množství srážek 500 mm za rok. Průměrná relativní vlhkost je kolem 80%.
Převažujícím půdním typem jsou černozemě modální a černozemě karbonátové, matečným substrátem je spraš. Půdní druh je hlinitopísčitý, jedná se o půdy středně těžké bez skeletu, velmi hluboké s převážně příznivým vodním režimem. Hloubka ornice se pohybuje v rozmezí 0,3–0,4 m. Hladina podzemní vody se pohybuje v rozmezí 0,9–1,2 m pod půdním povrchem. Viniční trať se nachází na rovině.

Charakteristika vinice

Vinice ve stáří 14 let je zapěstována na vysokém vedení s jedním tažněm. Do experimentálních měření byly zahrnuty moštové odrůdy révy vinné - Ryzlink rýnský, a Tramín červený. Podnoží použitou u všech odrůd je Kober 5BB. Vinice je zapěstována ve sponu výsadby 2,3 x 0,9 m, technologický postup využívá zatravnění ob jeden řádek. Při zimním řezu bylo ponecháno na každém tažni 8 oček. Opěrná konstrukce s ocelovými sloupky dosahuje výšky 1,8 m.

Pokusné varianty

Založení pokusných variant (var. A – plošná aplikace, var. B – hloubková aplikace, var. C – nehnojená kontrola), ve 3 opakováních, proběhlo dne 2.4.2020 a 31.3.2021. Aplikován byl jednorázově peletizovaný kompost v dávce 3 $kg.m^{-2}$. U varianty s plošnou aplikací pelet, došlo k ručnímu rozhození v požadované dávce na půdní povrch v prostoru meziřadí s následným zavláčením pomocí hřebových bran. U variant s hloubkovou aplikací byly pelety ručně aplikovány do předem odoraných brázd, orientovaných podél řádku vinice, do hloubky 0,25 m s následným přioráním okolní půdy.
Hlavní surovinou pro výrobu pelet byl kompost vyrobený ze směsi zahradnických odpadů se zastoupením (travní hmoty, dřevní štěpky a zbytků zeleniny), který byl vyroben technologií pásových hromad na experimentální kompostárně Zahradnické fakulty v Lednici. Složení kompostu uvádí Tab.1.

Tab.1: Vybrané parametry kompostu

Varianta	K ($mg \cdot kg^{-1}$)	Mg ($mg \cdot kg^{-1}$)	P ($mg \cdot kg^{-1}$)	Sušina (%)	N_C (%)	C_{ox} (%)	pH_{KCL} (-)
Kompost	4801	739	465	68,7	0,85	3,20	7,0

Při výrobě pelet byl ke směsi přidán bioúhel v množství 20 % hm. Výroba pellet byla prováděna pomocí laboratorního peletovacího zařízení BONSAI 100 (Kovo Novák, Czech Republic). K protláčení vstupujícího materiálu využívá lis protlačovací válce s deskovou matricí s otovory o průměru 6 mm. Průměr pelet se pohyboval na úrovni 6,02±0,12 mm, délka pelet na úrovni 18,24±3,10 mm, hmotnost pelet 0,81±0,16 g, vlhkost pelet 17,2±0,07 % a objemová hmotnost 981,02±15,3 $kg.m^{-3}$.

Odběry půdních vzorků

Před zahájením realizovaných experimentů a dále na podzim 2020 a 2021 byly v experimentální vinici odebrány půdní vzorky pro vyhodnocení chemických vlastností půdy spojených s aplikací peletizovaného hnojiva. Chemické vlastnosti půdy byly hodnoceny u vzorků půdy odebírané z pěti různých míst, z hloubky 0,00–0,30 m. Odebrané vzorky půdy byly po homogenizaci analyzovány podle Melicha III na obsah: P, K, Mg, obsah celkového dusíku N_c byl stanoven mineralizací, destilační metodou dle Kjehdahla, výměnná půdní reakce pH byla stanovena z výluhu KCl potenciometricky. Obsah uhlíku C_{ox} byl stanoven oxidimetrickou titrací podle Nelson a Sommers (1982).

Hodnocení výnosu hroznů

Stanovení průměrného počtu hroznů (ks) bylo provedeno výpočtem vycházejícím z celkového počtu hroznů, které byly sečteny vždy u 10 keřů pro každou hodnocenou odrůdu a variantu. Průměrná hmotnost hroznu (g) pro každou z hodnocených odrůd byla stanovena z 10 hroznů náhodně odebraných na keřích hodnocené varianty. Hrozny byly uloženy do sklizňových nádob a převezeny do laboratoře, kde proběhlo jejich vážení pomocí digitální váhy. Ze získaných hodnot byla vypočtena průměrná hmotnost jednoho hroznu. Uvedené údaje byly využity pro výpočet výnosu hroznů.

Hodnocení hmotnosti 150 bobulí (g) probíhalo u každé odrůdy i hodnocené varianty. Náhodným výběrem bylo posbíráno 150 bobulí. Tyto bobule byly posbírány z různých částí řádku, z různých částí keře a z různých částí hroznu. Bobule byly vybrány tak, aby nedošlo ke zkreslení výsledků a výsledek co nejvíce odpovídal realitě. Vážení probíhalo v laboratoři na digitální váze. Získané údaje byly využity pro přepočet výnosu na 1 ha pěstitelské plochy.

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 α=0.05.

Výsledky a diskuze

V Tab.2 až Tab.4 jsou vyhodnoceny chemické vlastnosti půdy ze vzorku půdy odebraného v období realizovaných experimentů. Ze získaných výsledků vyplývá, že s vazbou na aplikovaný peletizovaný kompost dochází meziročně k pozvolnému nárůstu obsahu živin i

pozvolnému zvýšení kvality humusu. Stupeň humifikace byl po dobu realizace pokusu na střední úrovni.

Tab.2: Výsledné průměrné hodnoty obsahu živin v půdě – jaro 2020

Pokusná var.	Hloubka (m)	N_c (%)	P - p (mg/kg)	K - p (mg/kg)	Mg - p (mg/kg)	pH_{KCl}	C_{ox} (%)	humus (%)	HK/FK	Sh (%)
Výchozí stanovení	0,00-0,30	0,10	215,00	360,00	295,50	6,70	0,67	0,84	0,77	16,50

Tab.3: Výsledné průměrné hodnoty obsahu živin v půdě – podzim 2020

Pokusná var.	Hloubka (m)	N_c (%)	P - p (mg/kg)	K - p (mg/kg)	Mg - p (mg/kg)	pH_{KCl}	C_{ox} (%)	humus (%)	HK/FK	Sh (%)
Var.A	0,00-0,30	0,12	275	411	364	6,7	0,99	1,1	1,05	17
Var.B		0,13	291	456	360	6,7	0,92	1,3	1,1	16
Var.C		0,10	230	408	327	6,6	0,74	1,00	0,80	19

Tab.4: Výsledné průměrné hodnoty obsahu živin v půdě – podzim 2021

Pokusná var.	Hloubka (m)	N_c (%)	P - p (mg/kg)	K - p (mg/kg)	Mg - p (mg/kg)	pH_{KCl}	C_{ox} (%)	humus (%)	HK/FK	Sh (%)
Var.A	0,00-0,30	0,14	307	411	425	6,9	1,06	1,32	1,19	19
Var.B		0,17	336	456	461	7	1,13	1,56	1,23	22
Var.C		0,12	219	408	398	6,8	0,86	1,05	0,75	19

V následující Tab.5 jsou uvedeny průměrné hodnoty sledovaných parametrů dle jednotlivých odrůd. Naměřené hodnoty jsou vyjádřeny jako aritmetický průměr a směrodatná odchylka.

Tab.5: Výsledky hodnocení výnosu hroznů

Odrůda	Pokusná varianta	Průměrná hodnota sledovaného znaku			
		Počet hroznů na keř (ks)	Hmotnost hroznu (g)	Výnos hroznů ($g.keř^{-1}$)	Hmotnost 150 bobulí (g)
Pokusný rok	2020 (termín sklizně 24.09.2020)				
Pálava	Var.A	$18,65±0,20^{b}$	$186,61±0,54^{a}$	$3480,28±0,36^{b}$	$233,18±0,28^{b}$
	Var.B	$18,71±0,16^{b}$	$189,12±0,27^{ab}$	$3538,44±0,77^{c}$	$239,46±0,27^{c}$
	Var.C	$16,15±0,86^{a}$	$190,13±0,34^{ab}$	$3070,60±0,45^{a}$	$223,99±0,15^{a}$
Tramín červený	Var.A	$16,76±0,41^{a}$	$174,43±1,97^{a}$	$2923,45±0,75^{a}$	$329,67±0,46^{b}$
	Var.B	$16,85±0,26^{b}$	$179,47±0,55^{b}$	$3024,07±0,64^{b}$	$335,43±0,62^{c}$
	Var.C	$16,72±0,14^{a}$	$175,46±1,41^{a}$	$2933,69±0,76^{a}$	$315,98±0,51^{a}$
Pokusný rok	2021 (termín sklizně 17.09.2021)				
Pálava	Var.A	$17,24±0,20^{b}$	$196,64±0,55^{b}$	$3390,07±0,55^{b}$	$235,67±0,38^{b}$
	Var.B	$18,25±0,16^{c}$	$198,76±0,29^{c}$	$3627,55±0,27^{c}$	$266,16±0,27^{c}$
	Var.C	$15,65±0,22^{a}$	$194,62±0,62^{a}$	$3045,80±0,62^{a}$	$213,77±0,35^{a}$
Tramín červený	Var.A	$17,36±0,01^{c}$	$178,33±0,97^{b}$	$3095,81±0,35^{c}$	$327,67±0,45^{b}$
	Var.B	$16,45±0,09^{b}$	$181,27±0,25^{c}$	$2981,89±0,62^{b}$	$338,83±0,66^{c}$
	Var.C	$15,32±0,02^{a}$	$176,26±1,41^{a}$	$2700,30±0,96^{a}$	$285,28±0,52^{a}$

Pozn.: Hodnoty představují průměry ± směrodatné odchylky, odlišná písmena uvedená u hodnot v jednotlivých sloupcích označují jejich průkaznou odlišnost na P <0,05 (Tukeyův test)

Získané výsledky naznačují pozitivní vliv aplikovaného peletizovaného kompostu na vybrané uvologické charakteristiky. Při porovnání hodnocených variant se zaměřením na způsob aplikace, byly vyšší hodnoty stanoveny při hloubkové aplikaci pelet. Fallahi *et al.* (2005) uvádí, že aplikace hnojiv obsahujících K, Ca a Mg zlepšila rovnováhu mezi množstvím a kvalitou živin i sklizených plodů (Nair, 1998). Nevyvážený obsah živin v hnojivech může vést k nerovnováze vegetativního růstu a produkci ovoce (Smart et al., 1985). Např. Christensen a Bianchi (1994) uvádí, že nadměrná aplikace N může zvýšit vegetativní růst a omezit produkci hroznů. Kromě toho stav půdy a dostupnost minerálů (N) může mít také vliv na velikost a výnos bobulí (Keller *et al.*, 2001).

Závěr

Úvodní výsledky realizovaných experimentů naznačují pozitivní vliv aplikovaného peletizovaného kompostu na chemizmus půdy i výnos hroznů. Aplikace peletizovaného kompostu pozitivně přispívá k pozvolnému nárůstu obsahu živin i pozvolnému zvýšení kvality humusu. Z hlediska růstu keřů révy vinné přispívá pravidelné hnojení k vyšším výnosům i hmotnosti bobulí. Z hodnocených variant byla ve většině případů nejlépe hodnocena var. B s hloubkovou aplikací do oblasti příkmenného pásu. K vytvoření objektivnějších závěrů je nezbytné víceleté sledování.

Dedikace

Příspěvek vychází z řešení projektu OP VVV reg. č. CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_017/0002334 Výzkumná infrastruktura pro mladé vědce.

Použitá literatura

Brunerová, A., Müller, M., Gürdil, G.A.K., Šlegr, V., Brožek, M. 2020: Analysis of the physical-mechanical properties of a pelleted chicken litter organic fertiliser. Res. Agr. Eng., 66: 131–139.

Fecenko, J., Ložek, O. 2000. Výživa a hnojenie poľných plodín. Nitra, SPU: 442.

Keller, M., Kummer, M. and Vasconcelos, M. C. 2001. Reproductive growth of grapevines in response to nitrogen supply and rootstock. *American Journal of Grape and Wine Research*, 7: 12–18.

Lampíř, L. Réva vinná pro malopěstitele. Olomouc: Agriprint s.r.o., 2016, 368 s. ISBN 978-80-87091-65-4.

Hlušek, J. a kol, 2015: *Réva vinná.* Odborná kniha - monografie. Praha: Profi Press. 1.vyd. 151 s. ISBN 978-80-86726-67-0

Christensen, P. and Bianchi, M. 1994. Effect of nitrogen fertilizer timing and rate on inorganic nitrogen status, fruit composition, and yield of grapevines. American Journal of Enology and Viticulture, 45: 377–387.

Mieldazys, R., Stulginskis, A., Jotautiene, E., Jasinskas, A., Aboltins, A. 2014. Evaluation of physical mechanical properties of experimental granulated cattle manure compost fertilizer. 16th International Scientific Conference "Engineering for Rural Development", Jelgava, Latvia, 24 - 26 May 2017 2017 pp.575-580 ref.8

Nair, J. 1998. Studies on grape nutrition in India. Indian Journal of Agronomy, 51: 23–34.

Pavloušek, P., 2011. Pěstování révy vinné. Odborná kniha - monografie. Praha: Grada Publishing, a.s. 1.vyd. 333 s. ISBN 978-80-247-3314-2

Richard, G., Boizard, H., Roger-Estrade, J., Boiffin, J., Guerif, J. 1999. Field study of soil compaction due to traffic in northern France: pore space and morphological analysis of the compacted zones. Soil and Tillage Research, 51 (1–2), pp. 151-160

Smart, R. E. 1985. Principles of grapevine canopy microclimate manipulation with implications for yield and quality: A review. American Journal of Enology and Viticulture, 36: 230–239.

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

Hodnocení vybraných půdních vlastností při pěstování kukuřice seté (*Zea mays* l.) s podsevovými plodinami

Evaluation of selected soil properties under maize stand (*Zea mays* l.) with various inter-seeding cover crops

Dryšlová T., Smutný V., Rábek M.

Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

V příspěvku jsou uvedeny dvouleté výsledky hodnocení vlivu podsevových plodin v kukuřici seté na strukturní stav půdy a vodostálost půdních agregátů. Vyhodnoceny byly varianty jednodruhových podsevů sledované v maloparcelním pokusu vedeném na lokalitě Žabčice. Zjištěné výsledky potvrdily statistickou významnost vlivu variant u hodnot koeficientu strukturnosti, u hodnot parametru vodostálost půdních agregátů byla prokázána statistická významnost vlivu ročníku. Průměrná hodnota koeficientu strukturnosti v průměru všech hodnocených variant obou pokusných let byla 1,21. U vlivu variant podsevových plodin na hodnotu KS téměř u všech variant byla zjištěna tendence k vyšším hodnotám oproti kontrolní variantě. Průměrná hodnota vodostálosti půdních agregátů v průměru všech hodnocených variant obou pokusných let byla 48,82 %. Průměrné hodnoty se statisticky významně lišily v jednotlivých letech. U vlivu variant podsevových plodin nebyla zjištěna statistická významnost, hodnoty se blíží hodnotám zjištěných u kontrolní varianty a jsou jen mírně vyšší.

Klíčová slova: koeficient půdní strukturnosti (KS); vodostálost půdních agregátů (SAS); kukuřice setá (*Zea mays* L.); podsevové plodiny; kukuřičná výrobní oblast

Abstract

The paper presents two-year results of the evaluation of the influence of inter-seeding cover crops in maize stand on the soil structure condition and the water resistance of soil aggregates. Variants of single-species undersowing observed in a small-plot experiment conducted at the Žabčice locality were evaluated. The obtained results confirmed the statistical significance of the influence of variants to the values of soil structure coefficient, for the values of the parameter water resistance of soil aggregates the statistical significance of the influence of the year was proved. The average value of the coefficient of structure in the average of all evaluated variants of both experimental years was 1.21. The influence of inter-seeding cover crops variants on the value of KS in almost all variants was found to tend to higher values compared with the control variant. The average value of water aggregate stability (SAS) in the average of all evaluated variants of both experimental years was 48.82%. The average values differed statistically significantly in individual years. No statistical significance was found for the influence of inter-seeding cover crop variants, the values are close to the value found for the control variant and are only slightly higher.

Keywords: soil structure cofficient (KS); water aggregate stability (SAS); maize (*Zea mays* L.); inter-seeding cover crops; maize growing region

Úvod

Současné systémy hospodaření na orné půdě s sebou nesou aktuální strukturu plodin, kde poměrně významné postavení zaujímá pěstování kukuřice seté. Této plodině jsou přičítány negativní vlivy související s půdní erozí. Projekt, jehož součástí řešení je i hodnocení vybraných půdních vlastností, si klade do cílů inovaci pěstování kukuřice pomocí šetrných systémů, např. s využitím podsevových plodin. Podsevové plodiny jsou pro půdu jednak zdrojem organické hmoty, ale zlepšují i půdní vlastnosti, redukují erozi, poutají vzdušný dusík aj. (Smutný a kol., 2020). Významnou roli ve vztahu k půdní struktuře a vodostálosti půdních agregátů zaujímá také vliv ročníku, resp. průběh povětrnostních podmínek na dané lokalitě. Výsledky hodnocení změn půdní struktury i parametrů vodostálosti byly publikovány v řadě prací, např. Bronick a Lal (2005); Pagliai a kol. (2004); Badalíková a Procházková (2005); Hůla a kol. (2010), aj. Předkládaný příspěvek s vyhodnocením vybraných půdních vlastností s vazbou na strukturní stav a vodostálost agregátů je jedním z výchozích momentů hledání vhodných podsevových plodin, ale možná hlavně jejich směsí a mírou uplatnění v různých stanovištních podmínkách.

Materiál a metody

Pokusy s pěstováním kukuřice s podsevovými plodinami na lokalitě Žabčice jsou v rámci řešení projektu QK1910334 „Inovace šetrných systémů pěstování kukuřice s využitím podsevových plodin k omezení degradace půdy a zlepšení hospodaření s vodou v podmínkách měnícího se klimatu“ letos vedeny třetím rokem, formou maloparcelních polních pokusů. V prvním roce řešení (r. 2019) byly navrženy určité varianty podsevových plodin, které byly optimalizovány pro r. 2020 a r. 2021.

Celkem bylo navrženo 15 variant podsevů, z toho 8 variant jednodruhových a 7 vícedruhových (směsí) a kontrolní varianta bez podsevu: 1 – bez podsevu, 2 – jílek mnohokvětý, 3 – jílek vytrvalý 4n, 4 – žito ozimé, 5 – vikev panonská, 6 – jetel inkarnát, 7 – svazenka vratičolistá, 8 – jetel plazivý, 9 – jetel alexandrijský; 10 – jílek mnohokvětý + vikev panonská, 11 – jílek mnohokvětý + jetel inkarnát, 12 – jetel inkarnát + vikev panonská, 13 – jílek mnnohokvětý + vikev panonská + jetel inkarnát, 14 – jílek vytrvalý + jetel plazivý, 15 – žito + vikev panonská + jetel inkarnát, 16 – jílek vytrvalý 4 n + jetel alexandrijský. Pro vyhodnocení vlivu vyriant na strukturní stav půdy a vodostálost půdních agregátů bylo v uvedených počátečních letech řešení navrženo vyhodnotit vliv jednodruhových variant, tj. *vliv variant 1 až 8* (varianta 9 bohužel nebyla hodnotitelná v obou ročnících). *Varianty podsevových plodin byly vysety* do meziřádku kukuřice seté (meziřádková vzdálenost 0,75 m, výsevek 80 tis. semen/ha) v růstové fázi 3-4 listů kukuřice. U pokusných variant byl v průběhu vegetace sledován vývoj podsevových plodin, opakovaně hodnocena hmotnost biomasy nadzemních i podzemních částí rostlin.

Vybrané půdní vlastnosti byly stanoveny u vzorků zeminy odebraných v hloubce 0-0,30 m v těchto termínech: 23. 9. 2020 a 20. 8. 2021. Vzorky byly odebrány ve třech polních opakováních. Zemina byla bezprostředně po odběru mírně rozmělněna a ponechána na vzduchu k volnému vyschnutí. Tyto vzorky byly následně prosáty na sadě sít (tzv. suchou cestou, Javorský a kol., 1987). Z takto získaných hmotnostních podílů bylo vypočteno procentické zastoupení jednotlivých frakcí agregátů a byl vypočten koeficient strukturnosti (KS), který udává poměr mezi agronomicky cennými agregáty (0,25-10,0 mm) a méně cennými strukturními agregáty (>10 a <0,25 mm); čím je podíl agronomicky hodnotných agregátů vyšší, tím je také vyšší koeficient strukturnosti. Při prosévání agregátů byla získána velikostní frakce 1-2 mm, u které byla následně stanovena vodostálost půdních agregátů (SAS, vyjadřováno v %). Tato schopnost půdních agregátů byla zjištěna pomocí tzv. dispergačního přístroje, modifikovanou metodou. Obě stanovení jsou popsána v práci Hůla, Procházková a kol. (2008).

Zjištěné výsledky byly zpracovány a graficky vyjádřeny pomocí programu MS Excel 2010 a statisticky vyhodnoceny pomocí statistického programu STATISTICA CZ; zde byla vypočtena vícefaktorová analýza variance, s následným testováním dle Tukeye s pravděpodobností 95 %.

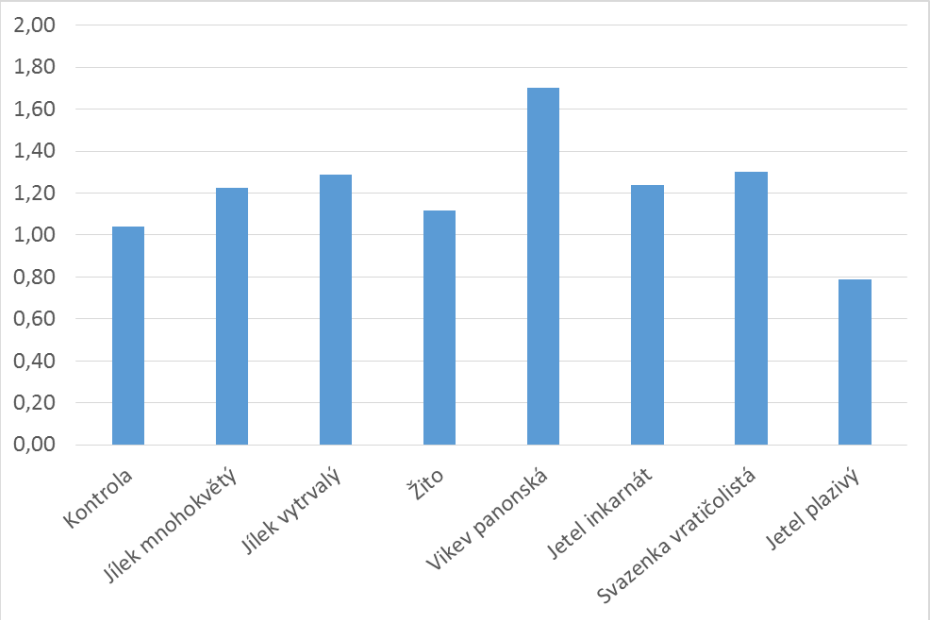
Výsledky a diskuze

V příspěvku jsou uvedeny dvouleté výsledky hodnocení vlivu podsevových plodin v kukuřici seté na ***strukturní stav půdy (KS)*** a na ***vodostálost půdních agregátů (SAS, vyjádřeno v %)***. Zjištěné výsledky potvrdily statistickou významnost vlivu variant u hodnot koeficientu strukturnosti, u hodnot parametru vodostálost půdních agregátů byla prokázána statistická významnost vlivu ročníku. Výsledky jsou graficky vyjádřeny (Graf 1 a 2), statisticky vyhodnoceny v základních tabulkách analýzy variance (Tab. 1 a 3) a rozdíly středních hodnot úrovní pokusných faktorů jsou uvedeny v Tab. 2 a 4.

Hodnocení vlivu pokusných faktorů na strukturní stav půdy (KS)

V průměru všech hodnocených variant obou pokusných let byla zjištěna průměrná hodnota koeficientu strukturnosti 1,21. Tato hodnota byla téměř totožná v obou pokusných letech (hodnota 1,21 v r. 2020 a 1,22 v r. 2021). U vlivu variant podsevových plodin byla zjištěna statisticky významně vyšší hodnota koeficientu strukturnosti u druhu vikev panonská, a to 1,70, oproti hodnotě 1,04 u kontrolní varianty bez podsevu a hodnotě 0,79 u jetele plazivého (Graf 1). U všech dalších variant byla zjištěna tendence k vyšším hodnotám koeficientu strukturnosti oproti kontrolní variantě.

Graf 1: Vliv variant podsevových plodin na hodnotu koeficientu strukturnosti (KS)
Žabčice, r. 2020-2021 (osa x: varianta podsevu; osa y: hodnoty KS)



Tabulka 1: Statistické vyhodnocení vlivu pokusných faktorů na koeficient strukturnosti (KS) v obou pokusných letech

Zdroj variability	*Součet čtverců*	*Stupně volnosti*	*Průměrný čtverec*	*F-hodnota*	*Hladina významnosti*
Rok (A)	0,0005	1	0,0005	0,01	0,9345
Varianta podsevu (B)	2,8142	7	0,4020	5,89	0,0002
Interakce					
A . B	1,9740	7	0,2820	4,13	0,0024
Residuum (chyba)	2,1833	32	0,0682		
Celkem	6,9719	47			

Tabulka 2: Průměrné hodnoty KS - rozdíly středních hodnot úrovní pokusných faktorů

Rok	*KS*	*Varianta podsevu*	*KS*
2020	1,21 [a]	Kontrola	1,04[ab]
2021	1,22[a]	Jílek mnohokvětý	1,22[ac]
		Jílek vytrvalý	1,29[ac]
		Žito	1,12[ab]
		Vikev panonská	1,70[b]
		Jetel inkarnát	1,24[ac]
		Svazenka vratičolistá	1,31[ac]
		Jetel plazivý	0,79[bc]

Rozdílná písmena (a, b, c) značí statisticky významný rozdíl při hladině významnosti 0,05

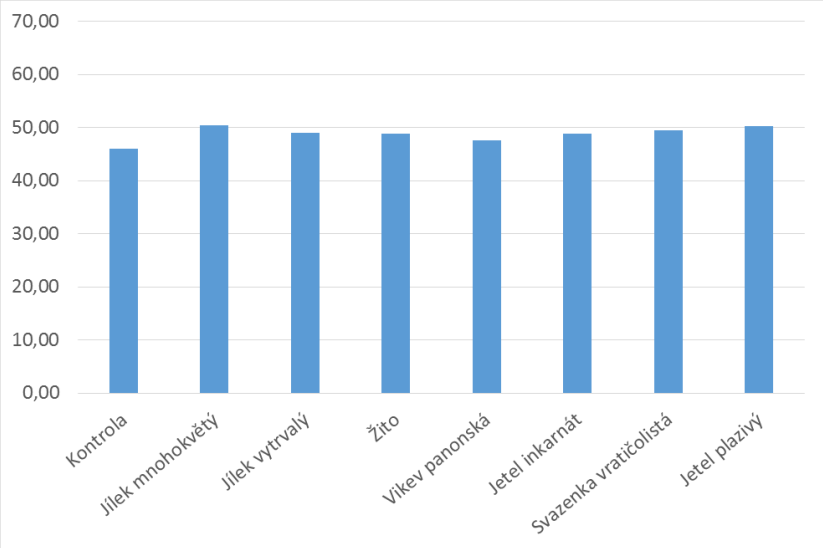
Hodnocení vlivu pokusných faktorů na vodostálost půdních agregátů (SAS, v %)

V průměru všech hodnocených variant obou pokusných let byla zjištěna průměrná hodnota SAS 48,82 %. Průměrné hodnoty se statisticky významně lišily v jednotlivých letech (v r. 2020 byla dosažena hodnota SAS 58,67 %; v r. 2021 pak hodnoty poměrně nižší, a to 38,98 %). Hodnoty v jednotlivých letech byly sice zjištěny odlišné, ale rovněž bez statisticky významných rozdílů oproti kontrolní variantě. U vlivu variant podsevových plodin nebyla zjištěna statistická významnost, hodnoty se blíží hodnotám zjištěných u kontrolní varianty, jsou jen mírně vyšší (Graf 2).

Tabulka 3: Statistické vyhodnocení vlivu pokusných faktorů na vodostálost půdních agregátů (SAS, v %) v obou pokusných letech

Zdroj variability	*Součet čtverců*	*Stupně volnosti*	*Průměrný čtverec*	*F-hodnota*	*Hladina významnosti*
Rok (A)	4653,14	1	4653,14	492,04	0,0000
Varianta podsevu (B)	86,2358	7	86,2358	1,30	0,2808
Interakce					
A . B	111,595	7	15,9521	1,69	0,1479
Residuum (chyba)	302,621	32	9,45691		
Celkem	5153,59	47			

Graf 2: Vliv variant podsevových plodin na hodnotu vodostálosti půdních agregátů (SAS, v %) – Žabčice, r. 2020-2021 (osa x: varianta podsevu; osa y: hodnoty SAS v %)



Tabulka 4: Průměrné hodnoty vodostálosti půdních agregátů (SAS, v %) - rozdíly středních hodnot úrovní pokusných faktorů

Rok	*SAS*	*Varianta podsevu*	*SAS*
2020	58,67 [a]	Kontrola	46,06[a]
2021	38,98[b]	Jílek mnohokvětý	50,35[a]
		Jílek vytrvalý	49,03[a]
		Žito	48,91[a]
		Vikev panonská	47,55[a]
		Jetel inkarnát	48,83[a]
		Svazenka vratičolistá	49,55[a]
		Jetel plazivý	50,30[a]

Rozdílná písmena (a, b, c) značí statisticky významný rozdíl při hladině významnosti 0,05

Závěr

Vyhodnocen byl vliv variant jednodruhových podsevů na vybrané půdní vlastnosti. Dvouleté výsledky poukazují na příznivý vliv určitých druhů, např. jílků, vikve, svazenky, ale i dalších, a jak se opakovaně potvrdilo, v závislosti na ročníku - zejména u vodostálosti půdních agregátů. Strukturní stav půdy i vodostálost půdních agregátů jsou významnými prvky půdní úrodnosti a záměrem v dalším pokusném období by mohlo/mělo být na základě těchto výsledků navrhnout, na které vícedruhové podsevy (směsi) se detailněji zaměřit.

Dedikace

Příspěvek vznikl za finanční podpory projektem NAZV č. QK1910334 „Inovace šetrných systémů pěstování kukuřice s využitím podsevových plodin k omezení degradace půdy a zlepšení hospodaření s vodou v podmínkách měnícího se klimatu“.

Použitá literatura

Badalíková B., Procházková B., 2005. Ovlivnění půdní struktury. Farmář, 5: 28-31.

Bronick, CJ., Lal, R., 2005. Soil structure and management: a review. Geoderma, 124, 1: 3-22.

Hůla, J., a kol. Dopad netradičních technologií zpracování půdy na půdní prostředí: uplatněná certifikovaná metodika. Praha: VÚZT. ISBN 978-80-86884-53-0

Hůla J., Procházková, B., a kol., 2008: Minimalizace zpracování půdy. Praha: Profi Press, s.r.o., 248 s.

Pagliai, M., Vignozzi, N., Pellegrini, S., 2004. Soil structure and the effect of management practices. Soil and Tillage Research, 79, 2: 131-143

Smutný V., Neudert L., Rábek M., 2020. Využití podsevových plodin při pěstování kukuřice. Úroda, 12: 51-55.

Kontaktní adresa:

Ing. Tamara Dryšlová, Ph.D.
Ústav agrosystémů a bioklimatologie
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1
613 00 BRNO
E-mail: tamara.dryslova@mendelu.cz; tel. +420 545 133 118

Hodnocení alternativních substrátů pro hydroponické pěstování zeleniny s různou úrovní hnojení

Evaluation of alternative substrates for hydroponic vegetable growing with different fertilization levels

Ferby V., Kopta T.

Mendelova univerzita v Brně, ZF v Lednici, Ústav zelinářství a květinářství

Abstrakt

V rámci hydroponické produkce zahradnických plodin patři mezi nejvíce využívané substráty čedičová vata a kokosové vlákno. Existuje ovšem snaha hledat alternativní materiály, které by vyhovovaly z hlediska udržitelnosti, ekonomiky pěstování a zároveň produkčních vlastností. Tento experiment byl založený na vlivu různých organických a minerálních substrátů ve třech úrovních výživy. Jako kontrolní substráty sloužily Rockwool a kokosové matrace. Alternativní substráty byly perlit, Seramis, kopaný písek, dřevní vlákno a rašelina. Koncentrace živin v roztoku byla stanovena na tři úrovně a to 50% (EC 1,4), 100% (EC 2,1) a 150% (EC 2,6). Hodnocenými parametry pro porovnání vybraných substrátů byly biomasa listů, počet listů, obsah dusičnanů, celkový obsah chlofylu a + *b a* NDVI. Nejvíce biomasy vykazovala rašelina při 100% a 150% úrovni hnojení a to 40 g. Nejméně biomasy, 5-7 g na rostlinu, měly při 50% kokosové matrace a dřevní vlákno.

Klíčová slova: salát, Rockwool, kokosové matrace, dřevní vlákno.

Abstract

Rockwool and coconut fibre are among the most used substrates in the hydroponic production of horticultural crops. However, there is an effort to find alternative materials that would be suitable in terms of sustainability, cultivation economy and at the same time production properties.The experiment was based on the influence of different organic and mineral substrates and three levels of fertilization. Rockwool and coconut mattresses served as control substrates. The verified substrates were perlite, Seramis, dredged sand, wood fiber and peat. The concentration of nutrients in the solution was determined at three levels, namely 50% (EC 1.4), 100% (EC 2.1) and 150% (EC 2.6). Parameters for comparing factors were leaf biomass, number of leaves, nitrate content, total chlorophyll a + b content and NDVI. Peat showed the most biomass at 100% and 150% fertilization levels, namely 40 g. The least biomass, 5-7 g per plant, had coconut mattresses and wood fiber at 50%.

Keywords: lettuce, Rockwool, coconut mattress, wood fibre.

Úvod

Hydroponický způsob pěstování zeleniny je celosvětově velmi rozšířený a s dobou se stále rozvíjí. Při použití uzavřeného systému závlah se dá tato metoda označit za příznivější pro životní prostředí než jiné systémy (Sabat et al., 2018). Nejvíce používaným materiálem v hydroponii je Rockwool. Materiál má sice ideální parametry pro pěstování rostlin, jeho výroba a likvidace po použití jsou neekologické a drahé (Nichols a Savidov, 2009).Vinci a Rapa (2019) se zabývali dopadem hydroponií na životní prostředí a jejich výzkum byl založen na hledání ideálního substrátu ve vztahu k ekonomice a udržitelnosti. Součástí bylo hodnocení uhlíkové stopy daných substrátů včetně výroby, dopravy a likvidace. Cílem tohoto experimentu bylo hledat další možnosti, který by nabízely cestu získávání surovin z obnovitelných zdrojů,

dostupnost v místě pěstování, nebo možnost substrát po použití kompostovat. Další směr, který lze uvažovat je použití odpadů jako uvádí Muro (2005) s odpadem z pily, nebo Kennard (2020) se slupkami mandlí a plastovými částicemi. Cílem tohoto výzkumu bylo nalézt takový substrát, který bude splňovat tyto parametry: dostupnost v místě produkce, původ z obnovitelného zdroje, možnost kompostování po použití a vhodnost pro pěstování zahradnických plodin. Vzhledem k použité modelové plodině, hlávkovému salátu bylo zároveň pohlíženo také na kvalitu výsledného produktu a dodržení hygienických norem ohledně obsahu dusičnanů, které salát kumuluje. Díky dotačnímu Programu rozvoje venkova se v poslední době v Česku staví skleníky zvlášť pro hydroponickou produkci plodové zeleniny. Jen pro pěstování rajčat je v současnosti vyhrazené 90 ha skleníků (eagri, 2020).

Materiál a metody

Pokus proběhl v letním období roku 2021 na Zahradnické fakultě v Lednici. Modelovou plodinou byl hlávkový salát odrůdy 'Adinal', který byl pěstován v sadbovačích ve skleníku. Odrůda byla vybrána pro vysokou odolnost proti vybíhání. Dva použité experimentální faktory byly substrát a úroveň hnojení v zálivce. Ze substrátů byly použity jako kontrola k porovnání čedičová vata (Grodan, ROCKWOOL B.V.) a kokosové matrace (Forteco Profit, van der Knaap). Hodnoceny byly alternativní substráty jako je dřevní vlákno (Agro CS), agroperlit (Agro CS), Seramis – jílový granulát, kopaný písek (ZEPIKO, Žabčice) a odkyselená rašelina s pH 5,5-6,5 (Agro CS). Hnojení bylo prováděno formou hnojivé zálivky ve třech úrovních 50%, 100% a 150%. Přičemž 100% dávka byla stanovena na 1,48 g/l mixu hnojiv Solinure GT 1 a Solinure GT7 (ICL Specialty Fertilizers) v poměru 1:1. Parametry živných roztoků uvádí Tab. 1. Osivo salátu bylo vyseto 29. 6. do perlitu a předpěstováno ve skleníku. Za deset dní, ve fázi děložních lístků, byly rostliny přepíchány do sadbovačů s buňkou o objemu 0,075 l ob jednu buňku do dvojsponu 8,5x8,5 cm, tak aby měly rostliny dostatek prostoru. V sadbovači bylo pěstováno celkem 24 rostlin. Každá experimentální varianta měla tři opakování. Sadbovače byly vloženy zvlášť do podmisek. Substráty byly 24 hodin před použitím vymývány vodou. Živný roztok byl měněn třikrát týdně v množství 2 l na sadbovač. Vyhodnocení pokusu proběhlo po 35 dnech od přepíchání rostlin. Před sklizní byl změřen NDVI (PlantPen, PSI) – index reflektující momentální stav fotosyntetické kapacity. Hodnocena byla biomasa listů pro každou rostlinu zvlášť, počet listů o ploše nad 2 cm^2, obsah dusičnanů z čerstvé biomasy (MPH 171, MONOKRYSTALY) a celkový obsah chlorofylu (Specord 50 PLUS, analytikjena). Výsledky měření byly podrobeny faktorové analýze variance ANOVA v programu Statistika 12. Statistické rozdíly byly vyhodnoceny pomocí LSD testu na hladině významnosti $p<0,05$.

Tab. 1: Parametry živného roztoku [mg/l]

Úroveň hnojení	Hnojivo [g/l]	NH_4	NO_3	PO_4	K	NO_2	Ca	Mg	pH	EC [mS]
50% Θ	0,74	74	121	54	127	<0,5	78	27	7,20	1,42
100% Θ	1,48	147	197	59	237	<0,5	77	34	7,01	2,10
150% Θ	2,22	209	298	37	360	<0,5	68	42	6,96	2,6

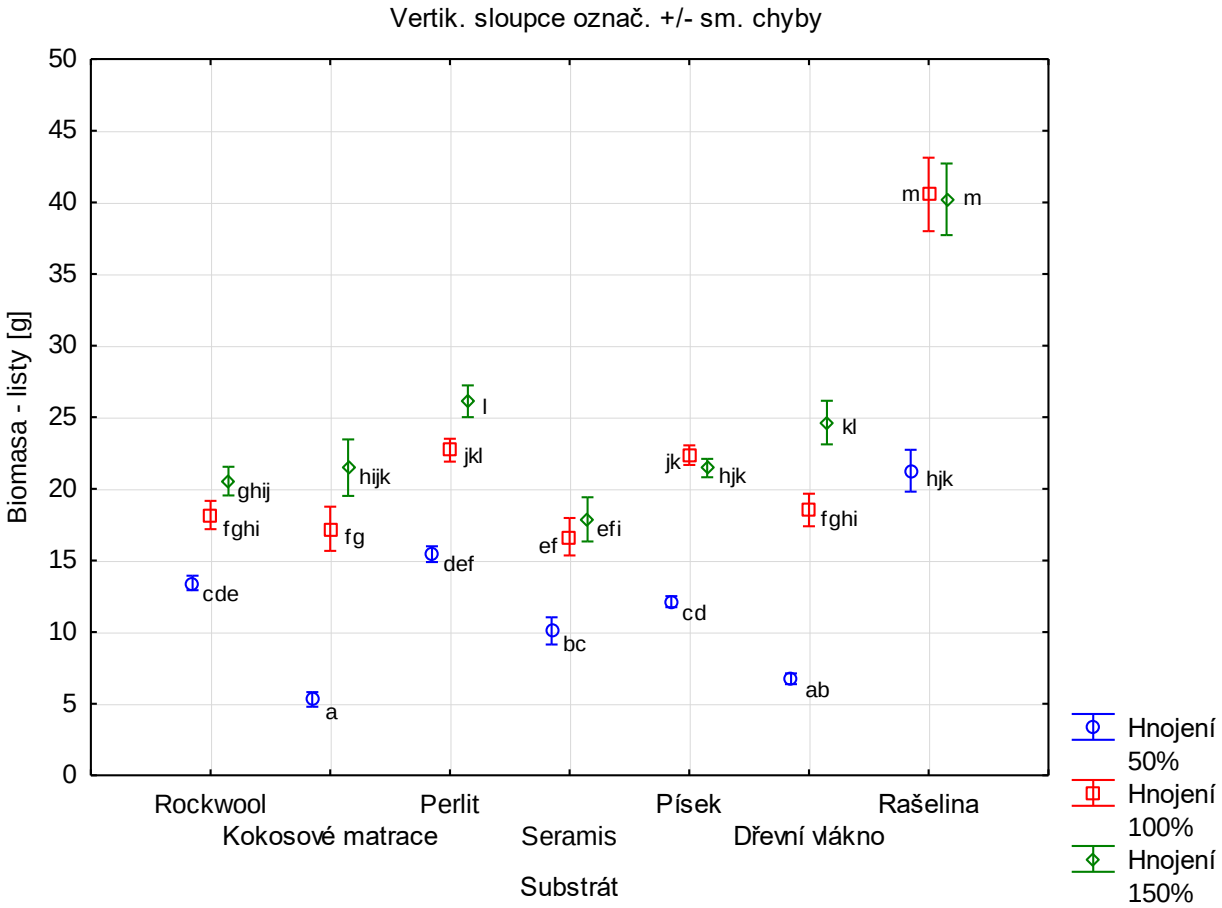
Výsledky

Biomasa

Podle analýzy variance byly zjištěny průkazné rozdíly v tvorbě biomasy listů mezi substráty a úrovněmi výživy. Také byl potvrzen průkazný interakční efekt mezi faktory. Nejnižších výnosů bylo dosaženo u kontrolního substrátu kokosových matrací a dřevního vlákna v 50%

úrovni hnojení. Největší výnos pak byl zjištěn u rašelinového substrátu v úrovních hnojení 100% a 150%, a to přes 40 g. Převážně se množství biomasy listů na jednu rostlinu pohybovalo mezi 10-25 g viz Graf 1. Kontrolní substráty Rockwool a kokosové matrace dosáhly při 100% hnojení hmotnosti biomasy 17-18 g. Perlit měl průkazně více biomasy než kontrolní substráty jak ve 100%, tak ve 150% úrovni hnojení. Seramis se množstvím biomasy vyrovnal jak substrátu Rockwool, tak kokosovým matracím. Písek měl při 100% dávce hnojiva vyšší hodnoty než Rockwool i kokosové matrace, ale na nejvyšší hladině výživy byla hodnota biomasy vyrovnaná. Dřevní vlákno dosáhlo stejné biomasy jako kokosové matrace ve všech úrovních hnojení a v porovnání s rocwoolem mělo vyšší výnos u 150% hnojení. Rašelina jemné frakce měla při 50% dávce hnojení srovnatelný výnos jako většina substrátů při 100% a 150% dávce.

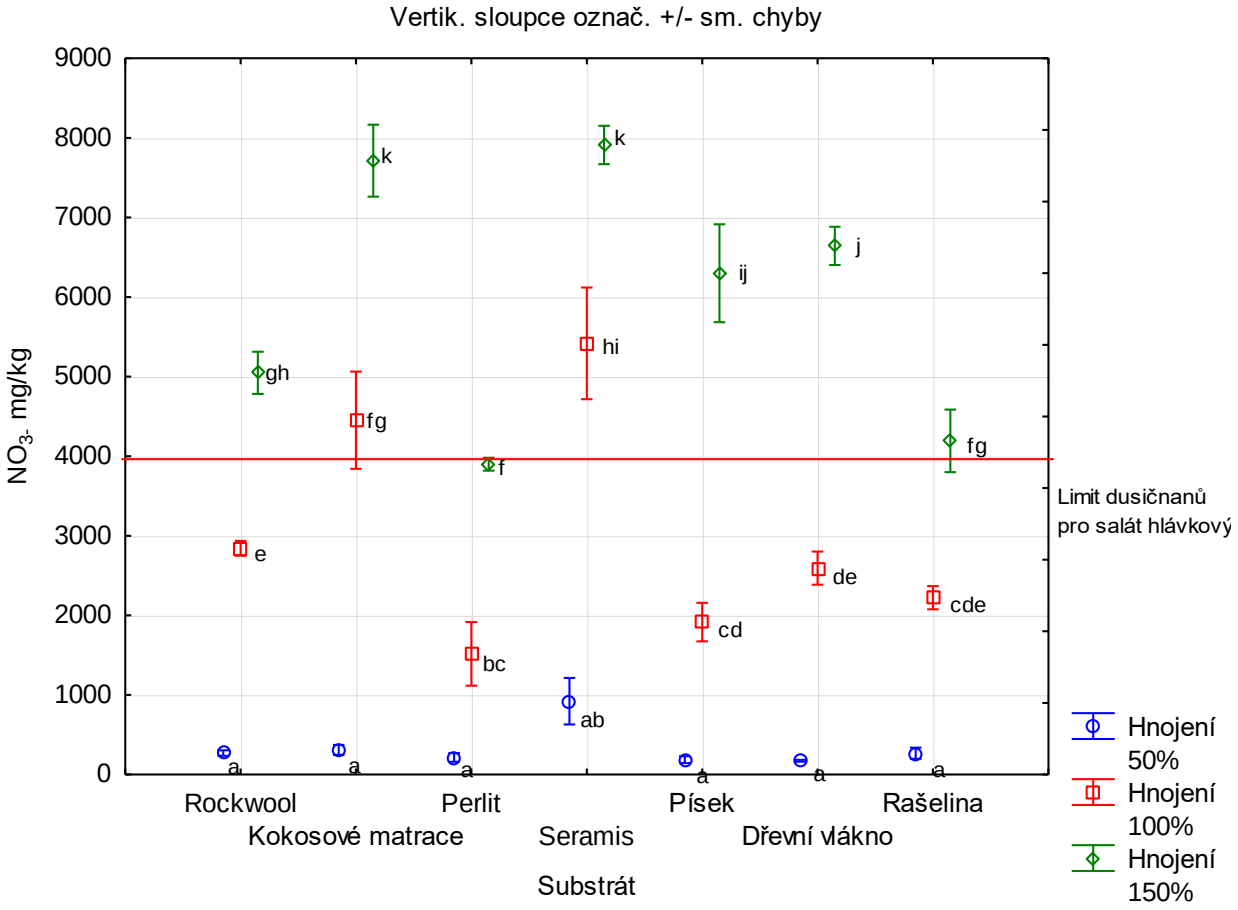
Graf 2: Biomasa listů [g]
Hodnoty doplněny stejnými písmeny nejsou průkazně rozdílné dle LSD testu na hladině významnosti p<0,05.



Dusičnany
Podle analýzy variance a následného testování byly nalezeny průkazné rozdíly v obsahu dusičnanů, které byly ovlivněny substrátem, úrovní výživy i kombinací obou experimentálních faktorů. Obsah NO_3^- v úrovni hnojení 50% byl u všech substrátů statisticky bez rozdílu a to v úrovních 200-300 mg/kg čerstvé biomasy. V úrovni hnojení 100% se hodnoty pohybovaly od 1500 mg/kg čerstvé hmoty do 5500mg/kg. Seramis a kokosové matrace v této úrovni hnojení vykázaly nejvyšší vyšší hodnoty, průměrně 5418 mg/kg respektive 4452 mg/kg. Při 150%

dávce hnojiva se do hygienického limitu obsahu dusičnanů vešly pouze saláty rostlé v perlitu. Nejvyšší hodnoty, konkrétně 7700-7900 mg/kg byly naměřeny u kokosových matrací a Seramisu. Mimo Seramis měly na 100% úrovni hnojení všechny hodnocené substráty nižší obsah NO_{3-} než kokosové matrace. V obsahu dusičnanů u substrátů Rockwool, dřevního vlákna a rašeliny nebyl nalezen statistický rozdíl. Nižší obsah však byl prokázán u perlitu a písku.

Graf 2: Obsah dusičnanů [mg/kg čerstvé hmoty]
Hodnoty doplněny stejnými písmeny nejsou průkazně rozdílné dle LSD testu na hladině významnosti $p<0,05$.



Chlorofyl a + *b*
Celkový obsah chlorofylu v čerstvé biomase byl průkazně ovlivněn oběma uplatněnými faktory i jejich interakcí. Obsah sumy chlorofylu se pohyboval mezi 200-350 mg/kg, viz Graf 3. Nejnižší obsah chlorofylu byl u každého substrátu zaznamenán v 50% variantě hnojení. Perlit, Seramis a dřevní vlákno měly ve 100% hnojení průkazně více chlorofylu jak oproti Rockwool, tak kokosovému substrátu. Písek a rašelina se ve 100% hnojení vyrovnaly pouze kokosové matraci, oproti Rockwoolu měly obsah chlorofylu nižší.

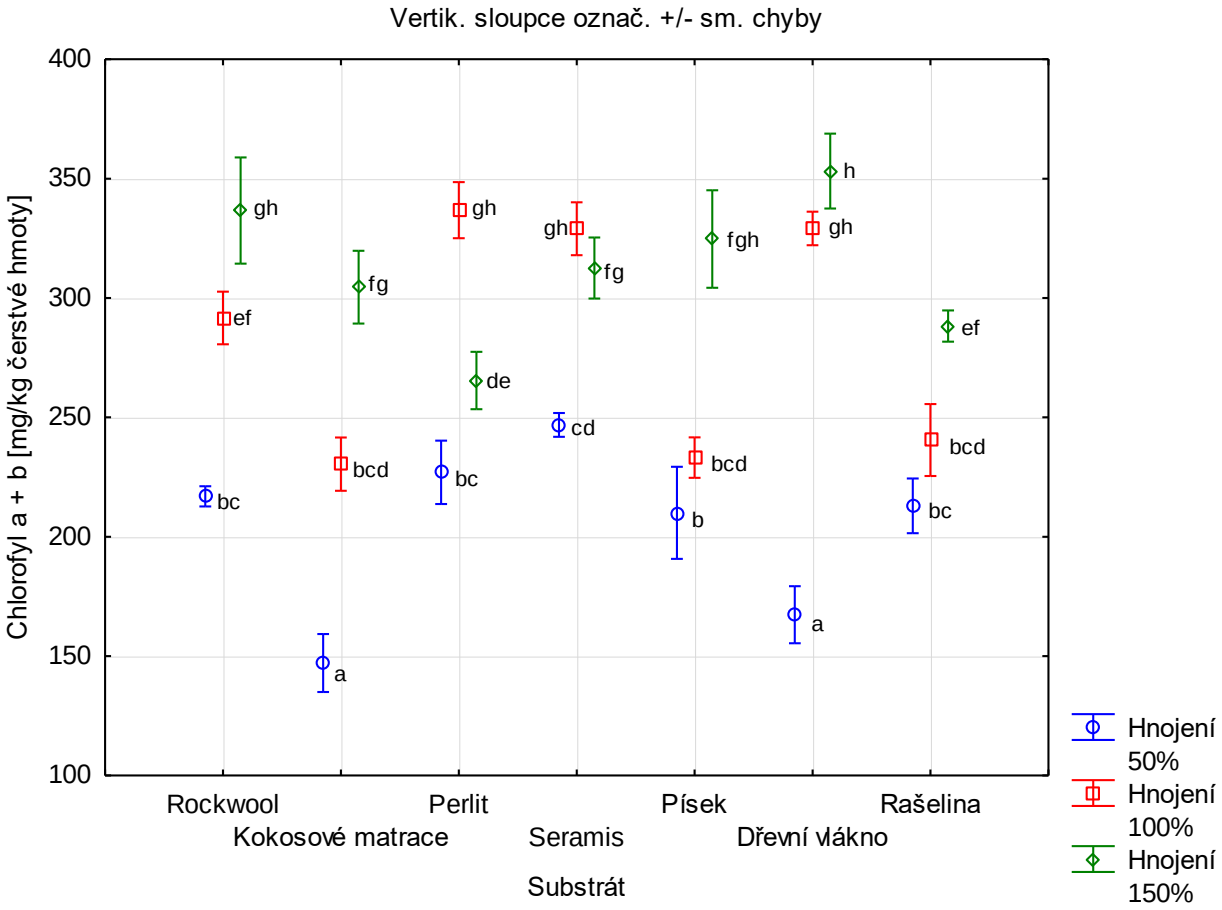
NDVI
Stejně jako u předešlých parametrů i u NDVI byly pomocí statistické analýzy nalezeny průkazné rozdíly mezi substráty, úrovněmi hnojení i při spolupůsobení obou experimentálních faktorů. Nejnižší hodnoty NDVI vykazovaly saláty při hnojení 50% dávkou u všech substrátů

vyjma písku. Nejvyšší naopak při 150% úrovni hnojení. Perlit měl ve 100% variantě hnojení stejné hodnoty jako Rockwool a vyšší než kokosová matrace. Písek, dřevní vlákno i rašelina nevykazovaly při 100% úrovni hnojení statisticky prokazatelný rozdíl ani od jednoho kontrolního substrátu. Mezi hodnotami NDVI při 150 % hnojení u kontrolních substrátů a všech hodnocených substrátů nebyl průkazný rozdíl.

Tabulka 2: NDVI hodnoty doplněny stejnými písmeny nejsou průkazně rozdílné na hladině významnosti p<0,05

Substrát	Hnojení	Průměr	Směrod. Chyba	
Rockwool	50%	0,535373	±0,006226	bc
Rockwool	100%	0,547140	±0,008167	cd
Rockwool	150%	0,569000	±0,007061	efg
Kokosové matrace	50%	0,520633	±0,006325	b
Kokosové matrace	100%	0,533590	±0,005541	bc
Kokosové matrace	150%	0,559870	±0,005466	defg
Perlit	50%	0,537430	±0,005820	bc
Perlit	100%	0,559577	±0,006082	def
Perlit	150%	0,577222	±0,007779	fg
Seramis	50%	0,545064	±0,003006	cd
Seramis	100%	0,558964	±0,008615	def
Seramis	150%	0,560260	±0,010131	defg
Písek	50%	0,553964	±0,005691	cde
Písek	100%	0,545936	±0,007711	cd
Písek	150%	0,580340	±0,008668	g
Dřevní vlákno	50%	0,490864	±0,008744	a
Dřevní vlákno	100%	0,551873	±0,006225	cde
Dřevní vlákno	150%	0,561200	±0,009477	defg
Rašelina	50%	0,548840	±0,005228	cde
Rašelina	100%	0,553555	±0,006897	cde
Rašelina	150%	0,560750	±0,012046	defg

Graf 5: Celkový obsah chlorofylu v čerstvé hmotě [mg/kg čerstvé hmoty]
Hodnoty doplněny stejnými písmeny nejsou průkazně rozdílné na hladině významnosti p<0,05.



Diskuze

Při pohledu na výsledky experimentu z hlediska nárůstu biomasy lze konstatovat, že srovnatelné s kontrolními substráty jsou Seramis a dřevní vlákno. Potenciál lze vidět v substrátech, které měly výnosy biomasy vyšší než Rockwool a kokos což byly perlit, písek a rašelina. Ve světle zjištění, které přinesl Vinci (2019), kde je rašelina hodnocena jako nejdražší substrát, perlit s největším vlivem na životní prostředí a písek jako velmi levný a zároveň s nízkou uhlíkovou stopou, lze potvrdit právě písek jako ideální variantu. Experiment, který prováděl Noguera (2000) ukázal, že kokosové vlákno jako složka substrátu v kombinaci s rašelinou má pozitivní vliv na růst rostlin díky své propustnosti. Výzkum by dále mohl směřovat ke kombinaci dřevního vlákna a kokosových matrací použitých v tomto pokusu, čímž by vznikl substrát plně z obnovitelných zdrojů. Při porovnání variant hnojení 100% a 150% nelze jednoznačně říct, že by vyšší dávka hnojení měla u všech substrátů prokazatelný vliv na zvýšení nárůstu biomasy. Lze tedy vyhodnotit, že zvýšené ekonomické vstupy za vyšší dávky hnojiv by neměly dostatečnou návratnost a pro praxi doporučit běžné dávky hnojiva. Ve snížené 50% úrovni hnojení vykazoval rašelinový substrát a perlit stejné nebo lepší výsledky než oba kontrolní substráty. Zde lze hledat cestu k úsporám za nákup hnojiv pro pěstování. Zdůvodnění vyšších hodnot biomasy u rašeliny lze najít v experimentu (Domeno, 2013), který se týkal imobilizace dusíku v organických substrátech. Rašelina vyšla z pokusu v porovnání s ostatními organickými substráty, kterými byly dřevní vlákno a piliny a kokosové vlákno, jako nejméně ovlivňující množství dostupného dusíku v živném roztoku.

Kde se zvýšené hnojení projevilo mnohem více je obsah dusičnanů. V úrovni hnojení 100% se hodnoty pohybovaly od 1500 mg/kg čerstvé hmoty až k limitu obsažených dusičnanů v hlávkovém salátu tj. 4000 mg/kg (Nařízení EU, 2011), viz Graf 2. Seramis a kokosové matrace v této úrovni hnojení vykázaly vyšší hodnoty, průměrně 5418 mg/kg respektive 4452 mg/kg a tedy nesplňoval zákonný limit. Při 150% dávce hnojiva se do hygienického limitu obsahu dusičnanů vešly pouze saláty rostlé v perlitu. Navzdory výše zmíněným poznatkům o rašelině a perlitu (Vinci, 2019) lze právě tyto dva substráty doporučit pro pěstování salátu z hlediska prevence proti kumulaci NO_3, protože i při 150% úrovní hnojení dosáhly hodnot dusičnanů kolem zákonného limitu. U ostatních sledovaných substrátů, jako jsou Rockwool, kokosové matrace, Seramis, písek a dřevní vlákno, lze doporučit dávkování hnojiva pouze na 100% úrovni, jelikož zvýšenou dávkou hnojiva nejen že nelze dosáhnout vyšších výnosů, ale také se velmi zhorší hygienická kvalita výsledného produktu. Obdobných výsledků při stejné úrovni hnojení (100%) bylo dosaženo ve výzkumu, který provedla Sabat (2018), kdy při EC 2,0 se množství dusičnanů pohybovalo do 3000 mg/kg. Ovšem při pohledu na vliv substrátu v tomtéž experimentu lze vidět rozdíly. Na rozdíl od tohoto experimentu, kdy měly saláty pěstované v kokosové matraci vyšší obsah dusičnanů než rašelina a Rockwool, ve zmíněné studii vykazoval kokosový substrát prokazatelně nižší obsah NO_3. Mimo biomasu a obsah dusičnanů byly dále zjišťovány také parametry fotosyntézy, kdy se měřil celkový obsah chlorofylu (*a* + *b*) a NDVI. Z grafu 3. lze vyčíst, že nejnižší obsah chlorofylu byl zaznamenán u všech substrátů v 50% variantě hnojení, což lze dát do souvislosti s nárůstem biomasy. Zvýšení hnojivé dávky na 150% mělo prokazatelný vliv na obsah chlorofylu u čtyř substrátů, konkrétně Rockwool, kokosové matrace, písku a rašeliny. Toto zvýšení se už ale do výnosu salátů nepromítlo. Zjištěné poznatky o obsahu chlorofylu lze potvrdit naměřenými hodnotami NDVI, kdy index stoupá spolu s vyšší dávkou hnojení. Viz Tab. 2. NDVI kvantifikuje rozdíl mezi absorbovaným a odraženým světlem v určité spektru z čehož lze vyvodit potenciál fotosyntézy. Zjednodušeně je to tedy ukazatel vitality rostlin (Zelený et al., 2021).

Závěr

Ze substrátů, hodnocených v experimentu, se jako vhodné alternativy k tradičně používané čedičové vatě a kokosovým matracím mohou, z pohledu tvorby biomasy, doporučit perlit, písek a rašelina. Pokud by měl substrát splňovat také podmínku udržitelnosti a místní dostupnosti, pak se jako jediná vhodná varianta jeví dřevní vlákno. Pro pěstitelskou praxi lze doporučit použití hnojení ve 100% variantě, s úrovní EC kolem 2,1 mS, které zaručí přiměřené výnosy s dostatečnou hygienickou kvalitou produktu z pohledu obsahu nežádoucích dusičnanů. Pro další fázi testování alternativních substrátů, lze doporučit variantu dřevního vlákna a perlitu ve 100 % úrovni hnojení s cílem dopěstování dospělých rostlin.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projektem IGA-ZF/2021-SI1010 – Ekologizace hydroponického systému pěstování zeleniny.

Literatura

DOMEÑO, I., I. IRIGOYEN a J. MURO. *Determination of nitrogen immobilization index in growing media: effect of incubation time and inoculation with compost. Acta Horticulturae* [online]. 2013, (1013), 81-84 [cit. 2021-10-18]. ISSN 0567-7572. Dostupné z: doi:10.17660/ActaHortic.2013.1013.6

KENNARD, N., R. STIRLING, A. PRASHAR a E. LOPEZ-CAPEL. *Evaluation of Recycled Materials as Hydroponic Growing Media.* Agronomy [online]. 2020, 10(8) [cit. 2021-10-17]. ISSN 2073-4395. Dostupné z: doi:10.3390/agronomy1008109217]. ISSN 2073-4395. Dostupné z: doi:10.3390/agronomy10081092

MURO, J., I. IRIGOYEN, P. SAMITIER, P. MAZUELA, M.C. SALAS, J. SOLER a M. URRESTARAZU. Wood fiver as growing medium in hydroponic crop. Acta Horticulturae [online]. 2005, (697), 179-185 [cit. 2021-10-17]. ISSN 0567-7572. Dostupné z: doi:10.17660/ActaHortic.2005.697.22

NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1258/2011 ze dne 2. prosince 2011, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity dusičnanů v potravinách In: Úřední věstník Evropské unie Dostupné z: https://eurlex.europa.eu/legalcontent/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:32011R1258&from=EN

NICHOLS, M.A. a N.A. SAVIDOV. *Recent advances in coir as a growing medium*. *Acta Horticulturae* [online]. 2009, (843), 333-336 [cit. 2021-10-17]. ISSN 0567-7572. Dostupné z: doi:10.17660/ActaHortic.2009.843.44

NOGUERA, P., M. ABAD, V. NOGUERA, R. PUCHADES a A. MAQUIEIRA. *Coconut coir waste, a new and viable ecologically-friendly peat substitute. Acta Horticulturae* [online]. 2000, (517), 279-286 [cit. 2021-10-17]. ISSN 0567-7572. Dostupné z: doi:10.17660/ActaHortic.2000.517.34

SABAT, T., J. DYŚKO, S. KANISZEWSKI a T. SABAT. *Flood fertigation of leaf lettuce grown in various substrates. Journal of Elementology* [online]. 1970, (1/2019) [cit. 2021-10-16]. ISSN 16442296. Dostupné z: doi:10.5601/jelem.2018.23.2.1607

Situační a výhledová zpráva zelenina. [Praha]: Ministerstvo zemědělství České republiky, [2020]. ISBN isbn978-80-7434-577-7. ISSN 1211-7692.

VINCI, G. a M. RAPA. *Hydroponic cultivation: life cycle assessment of substrate choice*. *British Food Journal*[online]. 2019, 121(8), 1801-1812 [cit. 2021-10-16]. ISSN 0007-070X. Dostupné z: doi:10.1108/BFJ-02-2019-0112

ZELENÝ, J., D. MERCADO-BETTÍN a F. MÜLLER. Towards the evaluation of regional ecosystem integrity using NDVI, brightness temperature and surface heterogeneity. *Science of The Total Environment* [online]. 2021, 796 [cit. 2021-10-18]. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2021.148994

Kontaktní adresa:

Ing. Vojtěch Ferby
Mendelova univerzita v Brně
Zahradnická fakulta v Lednici
Ústav zelinářství a květinářtsví
ÚZK ZF, Valtická 337, 69144 Lednice,
+420 519 367 238, vojtech.ferby@mendelu.cz

Výzkum a využití trav pro energetické účely

Research and use of grasses for energy utilization

Frydrych J.[1], Jezerská L.[2], Bradáčová L.[1], Sassmanová V.[3], Zegzulka J.[2]

[1]OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří
[2]VŠB – Technická univerzita Ostrava, CEET, Centrum ENET, Ostrava
[3]VŠB – Technická univerzita Ostrava, Fakulta strojní, Katedra energetiky, Ostrava

Abstrakt

Trávy jsou významnou součástí obnovitelných zdrojů energie. Možnosti jejich využití jsou stále předmětem výzkumů. Cílem předložené studie je proto ukázat zhodnocení travní hmoty pro energetické účely. Jde o pokračování výzkumu, který probíhal výběrem trav v první etapě, v druhé etapě byl zaměřen na výsledky polních pokusů, třetí etapa odpovídala produkci bioplynu a nyní je popsáno zpracování trav do formy pelet. U vyrobených pelet byly stanoveny jejich mechanické vlastnosti, které byly zhodnoceny také v souvislosti s obsahem ligninu v travách. Jako energeticky nejvhodnější tráva byla vyhodnocena kostřava rákosovitá. Závislost mezi obsahem ligninu a mechanickými vlastnostmi pelet nebyla potvrzena. Výhledem do budoucna se jeví také využití takto vyrobených pelet nejen jako možného hnojiva, ale také jejich úprava pomocí procesu torefikace zvyšujícího výhřevnost pelet.
Klíčová slova: trávy, obnovitelné zdroje energie, výzkum, pelety, lignin

Abstract

Grass is an important part of renewable energy. The possibilities of their use are still the subject of research. The aim of this study is to assess grass matter for energy purposes. It is a continuation of the research that was done by selecting grasses in the first part, focusing on the results of field trials in the second part, the third part corresponding to biogas production and now describing the processing of grasses into the pellets. For grass pellets, their mechanical properties were determined, which were also evaluated in relation to the lignin content of grasses. A tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) was classified as the most energy-efficient grass. However, the dependence between the lignin content and the mechanical properties of the pellets has not been confirmed. Looking ahead, it is also possible to use the pellets so produced not only as a possible fertiliser but also to treat them with a torrefaction process increasing the calorific value of the pellets.
Keywords: grasses, renewable energy sources, research, pellets, lignin

Úvod

Trávy jsou významnou součástí obnovitelných zdrojů energie. Výzkumem a využitím trav pro energetické účely se zabývala OSEVA vývoj a výzkum s.r.o. se sídlem v Zubří ve spolupráci s Vysokou školou báňskou – Technickou univerzitou v Ostravě a Výzkumným ústavem zemědělské techniky, v.v.i. Praha Výzkum trav probíhal se zaměřením na využití trav pro spalování a výrobu bioplynu. V letech 2017–2020 probíhal výzkum spalování ovsíku vyvýšeného, psinečku velikého a kostřavy rákosovité. V České republice je téměř více jak 970 000 hektarů trvalých travních porostů. Jak uvádí Hrabě (2009), ekosystém mimoprodukčního zatravnění zaujímá v České republice 170 899 ha. Produkce travní hmoty u sportovních trávníků se pohybuje na úrovni 6–9 $t.ha^{-1}$ za rok, užitkové trávníky vyprodukují 5,5–14 $t.ha^{-1}$ zelené hmoty ročně. Produkce travní hmoty ze zemědělských i nezemědělských

ploch představuje významný zdroj biomasy, kterou lze vhodným způsobem ekonomicky zhodnotit. Ovsík vyvýšený a psineček veliký jsou trávy pěstované v naší republice pro produkci semene s významným zdrojem travní slámy po vymlácení využitelné pro energetické účely. Frydrych (2020) udává průměrné výnosy sušiny u trav pěstovaných pro energetické účely 8–10 t.ha^{-1} v podmínkách Výzkumné stanice travinářské v Zubří. Psineček veliký 'Rožnovský' (*Agrostis gigantea* Roth.) byl vyšlechtěn v bývalé Zemské výzkumné stanici pícninářské v Rožnově pod Radhoštěm z ekotypů z přirozených lučních porostů Valašska. (Frydrych, 2001). Povolen byl v roce 1940. Ovsík vyvýšený 'Rožnovský' (*Arrhenatherum elatius* (L.) Beauv. ex J. et C. Presl) byl vyšlechtěn výběrem z přirozených porostů Valašska v tehdejší Zemské výzkumné stanici pícninářské v Rožnově pod Radhoštěm (Frydrych, 2021). Povolen byl také v roce 1940. Kostřava rákosovitá 'Kora' (*Festuca arundinacea* Schreb.) vznikla křížením ekotypu kostřavy rákosovité z Bílovce s odrůdami světového sortimentu ('Festal', 'Kenmont', 'Kentucky 31' a 'Kenhy'). Byla vyšlechtěna ve Šlechtitelské stanici Hladké Životice s.r.o. a používána je od roku 1989 v zemědělské praxi.

Hlavními složkami trav jsou fenolická (lignin) a polysacharidická (celulóza, hemicelulóza). Lignin je po celulóze druhou nejčastější organickou sloučeninou na Zemi, tvoří až 25 % rostlinné biomasy. Chemicky je to aromatický prostorový heteropolymer fenylpropanových jednotek. Fenolická polymerní struktura způsobuje těžko biologicky rozložitelnou složku. Obsah ligninu v travinách se různí (Straka, 2006). Poměrové zastoupení jednotlivých složek závisí na povaze biomasy viz tabulka 1 (Wei-Hsin et al., 2021).

Tab. 1: Orientační procentuální zastoupení třech hlavních složek v biomase (Wei-Hsin et al., 2021)

Druh biomasy	**Hemicelulóza [hm. %]**	**Celulóza [hm. %]**	**Lignin [hm. %]**
Tvrdé dřevo	15–36	39–54	17–29
Měkké dřevo	11–27	41–50	27–30
Zemědělská biomasa	22–35	24–50	7–29

V biomase lignin působí jako vazebná látka mezi hemicelulózou a celulózou. Lignin začíná měknout již při teplotách okolo 75–100 °C. Je to důležitá složka travin, protože lignin funguje při peletizaci jako pojivo, což pozitivně ovlivňuje kvalitu vyráběných pelet (Wei-Hsin et al., 2021). Přídavek ligninu zvyšuje pevnost a hustotu pelet. Lignin je hydrofobní a proto pelety s jeho vyšším obsahem vykazují dobrou odolnost proti vlhkosti. Lignin je také možné použít jako pojivo při peletizaci těžko zpracovatelných materiálů (Tomani et al., 2011). Jeho obsah má významný vliv na tření pelet procházejících matricí (Niels, 2009). Cílem studie bylo proto analyzovat obsah ligninu v travách v letech 2019 a 2020 s ohledem na kvalitu travních pelet pro energetické účely. Jako materiál byl použit ovsík vyvýšený 'Rožnovský', psineček veliký 'Rožnovský' a kostřava rákosovitá 'Kora'.

Materiál a metodika

Psineček veliký 'Rožnovský'

Jedná se o víceletou trávu ozimého charakteru s krátkými podzemními výběžky. Trs vzpřímený až polovzpřímený, středně vysoký (80–100 cm), světle zelený. Stéblo hrubší, dobře olistěné, středně poléhavé. List širší, středně dlouhý až dlouhý, většinou převislý. Lata delší, po odkvětu stažená. Semeno velmi drobné, HTS 0,1–0,2 g. Pozdní odrůda středně rychlého jarního růstu. Obrůstání po sečích střední. Náchylnost k houbovým chorobám střední až menší. Výnos zelené

hmoty dobrý, semene velmi dobrý. Uplatňuje se jako doplňkový druh v extenzivních trvalých lučních a pastevních porostech na těžších půdách a vlhčích stanovištích.

Ovsík vyvýšený 'Rožnovský'

Jedná se víceletou volně trsnatou trávu jarního charakteru. Statná, vytrvalá kulturní tráva, trs vzpřímený, středně hustý, vysoký 80–130 cm, světle zelené barvy. Stéblo hrubší, středně poléhavé, olistění střední. List široký, dlouhý, typicky převislý, řídce ochmýřený. Lata delší. Semeno osinaté, HTS 2,8–3,4 g. Středně pozdní odrůda. Obrůstání po sečích střední, nesnáší sešlapávání. Odolnost vůči chorobám střední. Výnos zelené hmoty vysoký, kvalita píce dobrá. Výnos semen velmi dobrý. Ovsík vyvýšený roste hlavně v Evropě. U nás je obecně rozšířeným planě rostoucím druhem v celém státě, zejména v nížinách až podhůří, na loukách, pastvinách, mezích, stráních a jiných travnatých stanovištích. Je značně náročným druhem na stanovištní podmínky, zejména na obsah živin. Dobře mu vyhovují půdy na vápencovém podkladě. Drsnější podmínky vyšších poloh mu nesvědčí. Celkem dobře snáší zastínění. Je hojný zejména na sušších stanovištích.

Kostřava rákosovitá 'Kora'

Kostřava rákosovitá 'Kora' je vzrůstná, krátce výběžkatá tráva s vysokým výnosovým potenciálem. Vyznačuje se vysokou tolerancí k půdním a klimatickým podmínkám, snáší dobře sucho i krátkodobě zamokření, daří se jí dobře na stanovištích s vyšší hladinou podzemní vody. Trs je vzpřímený, tmavě zelené barvy, dosahující výšky 120–150 cm. Listové čepele jsou 250–300 mm dlouhé, široké 5–9 mm, mírně drsné. Květenství tvoří rozložitá lata, mírně převislá. HTS je 2,4–2,8 g. 'Kora' je výrazně ozimého charakteru, proto v roce zásevu ani v užitkových letech po první seči nemetá. Druhá a další seče jsou tvořeny sterilními výhonky s bohatstvím dlouhých listů. Odrůda vyniká časným jarním a podzimním růstem a tím v pastevních směsích prodlužuje délku pastvy o 10–15 dnů. Odrůda je vzdorná vůči vymrzání, vzdornější k houbovým chorobám než kostřava luční. Odolnost k poléhání je dobrá a vypadavost semene je nízká, výrazně nižší než u kostřavy luční, čímž se stává semenářství této odrůdy méně rizikové.

Peletizace

Veškerý vstupní materiál psinečku velikého, ovsíku vyvýšeného a kostřavy rákosovité byl nadrcen v kladívkovém drtiči Green Energy 9FQ. Takto nadrcené vstupní suroviny byly dále sušeny homogenizovány v mixéru ALBA RE 22 po dobu 25 minut s vodou tak, aby konečná vlhkost byla 16 %. Materiál byl peletizován na laboratorním lisu KAHL 14–175 s plochou matricí.

Mechanická odolnost pelet

Mechanickou odolností pelet se rozumí odolnost vůči nárazům, kterým jsou pelety vystaveny v průběhu manipulace s nimi. ČSN EN ISO 1783-1 definuje mechanickou odolnost jako míru odolnosti zhutněného biopaliva (pelety), schopnost zachovat si neporušenost při otěru nebo nárazech během manipulace a přepravy. Mechanická odolnost byla stanovena dle normy.

Pevnost pelet

Pevnost pelet je definována jako síla, která je potřebná k dosažení prasknutí pelety v čase. Pelety s vyšší tvrdostí jsou kvalitnější a mají větší objemovou hmotnost, pelety s nižší tvrdostí ztrácejí na kvalitě. Tvrdost je vyjádřena jako hmotnostní zatížení na danou plochu pelety v kilogramech. Test byl zhotoven za použití testeru pevnosti KAHL ak-14 (Obr. 1).

Obr. 1: Tester pevnosti pelet KAHL ak-14

Odolnost proti vlhkosti

Odolnost proti vlhkosti představuje míru pelet k absorpci vody. Odolnost vůči vlhkosti je rozhodujícím faktorem pro skladování a přepravu pelet. Schopnost pelety vázat vodu ovlivňuje výhřevnost paliva. Vlivem absorbované vlhkosti může dojít až k rozpadu pelet, k bobtnání pelet (Obr. 2). Odolnost byla vyjádřena jako wettability index WI, který představuje procentuálně vyjádření množství absorbované vody peletou po namočení do destilované vody po dobu 30 s (60 s). Pelety, které mají nejnižší hodnoty WI, jsou považovány za nejodolnější.

Obr. 2: Ukázka bobtnajících pelet vyrobených z psinečku velikého

Měrná hustota pelet

Měrná hustota pelet představuje míru densifikace materiálu. Pro stanovení tohoto parametru u vzorku pelet byl použit Density tester Mettler Toledo JEW-DNY-43.

Výsledky a diskuze

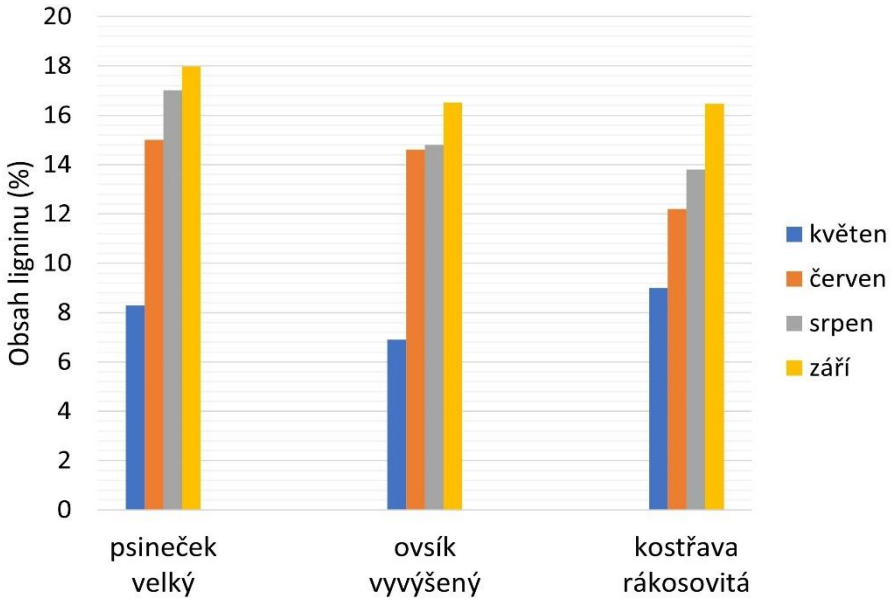
V tabulce 2 jsou uvedeny energetické parametry a elementární prvky jednotlivých vzorků studovaných trav.

Tab. 2: Vlastnosti použitých trav (Zajonc a Frydrych, 2012)

	Spalné teplo ($kJ.kg^{-1}$)	**Výhřevnost ($kJ.kg^{-1}$)**	**Vodík (%)**	**Uhlík (%)**	**Dusík (%)**	**Síra (%)**	**Chlor ($g.kg^{-1}$)**
Psineček veliký	16 925	15 607	6,40	43,90	1,15	<0,001	3,65
Ovsík vyvýšený	17 435	16 139	6,29	44,30	1,00	<0,001	4,28
Kostřava rákosovitá	18 258	16 956	6,32	41,56	1,75	<0,001	3,71

Z tabulky je zřejmé, že všechny tři traviny jsou vhodné jako alternativní fytopalivo.

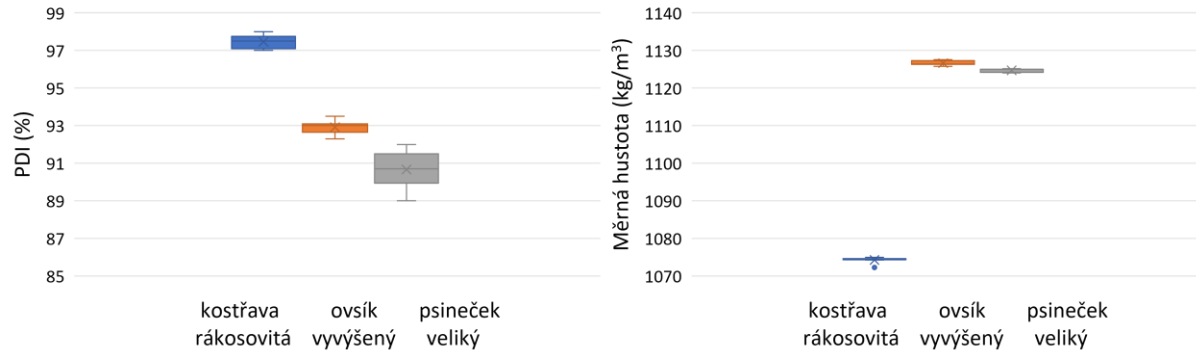
Lignin, mimo jiné, ovlivňuje také příjem vlhkosti rostlinou. Polysacharidy (celulóza, hemicelulóza) jsou hydrofilní naopak lignin je hydrofobní. V případě, že procesní podmínky peletizace jsou optimální, lignin vytvoří povrchovou vrstvu a pelety mají schopnost do jisté míry odpuzovat vodu. Lignin procesem peletizace plastifikuje a působí jako pojivo. Obsah ligninu v travinách se však výrazně liší v průběhu jejich vegetačního období, jak je možné vidět na obr. 3.



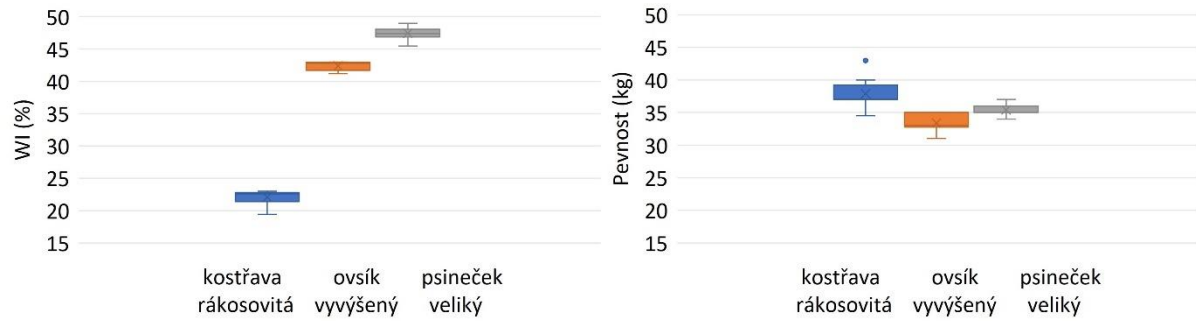
Obr. 3: Obsah ligninu v travinách během různých měsíců

Obsah ligninu v travách se pohyboval v rozmezí 7,0–19,0 %. Pro informativní porovnání, obsah ligninu v dřevní hmotě se pohybuje v rozmezí 25–30 %. Nejvyšší hodnota ligninu byla stanovena u všech trav v měsíci září. Proto byly v dalších testech peletovány vzorky odebrané v září.

Stanovené hodnoty mechanických vlastností pelet pro jednotlivé druhy trav jsou znázorněny pomocí grafů na obr. 4 a 5.



Obr. 4: Mechanické vlastnosti pelet (PDI a měrná hustota) znázorněny s rostoucím obsahem u ligninu



Obr. 5: Mechanické vlastnosti pelet (WI a pevnost) znázorněny s rostoucím obsahem ligninu

S cílem posoudit také vliv obsahu ligninu na mechanické vlastnosti jsou hodnoty PDI, měrná hustota, WI a pevnost pelet uvedeny v pořadí rostoucí hodnoty ligninu. Jediné pelety kostřavy rákosovité měly normativní hodnoty mechanické odolnosti. Pelety z ovsíku ani psinečku neodpovídaly minimální stanovené hodnotě. Je patrné, že i přes vyšší hodnoty obsahu ligninu v případě psinečku velikého, má PDI nejširší rozptyl a vykazuje nejnižší hodnoty. Grafické znázornění hodnot měrné hustoty vypovídá o ukazuje velmi úzký rozptyl naměřených hodnot ve všech případech. Závislost na obsahu ligninu není čitelná ani prokazatelná. Pro informativní srovnání dřevěné pelety mají měrnou hustotu kolem 1200 kg/m^3. U travin je vidět patrný pokles. Hodnoty ovsíku vyvýšeného a psinečku velikého jsou od kostřavy rákosovité odděleny. Všechny hodnoty hustoty jsou vlivem densifikace vyšší než hustota vody. Odolnosti proti vlhkosti (WI) je uvedena pro traviny na obr. 5. Je patrné, že nejvhodnější odolnost opět vykazuje kostřava rákosovitá, nejhorší psineček veliký. Trend s obsahem ligninu je přesně opačný a nesouhlasí s literárními daty. Také pevnost pelet byla u kostřavy rákosovité nejvyšší. Dalo by se očekávat, že mechanická odolnost bude s pevností pelet ve shodě. Ale ani tato hypotéza potvrzena nebyla. Celkově lze konstatovat, že pro ověření závislosti obsahu ligninu

na zpracování travin je zapotřebí většího množství dat. Data jsou proto spoluprací VŠB-TUO, ENET a společností OSEVA stále rozšiřována a doplňována.

Závěr

Z uvedených výsledků je zřejmé, že trávy jsou peletizovatelné a mohou být použity jako palivo nebo přídavná složka paliva. Jsou energeticky využitelné. Z pohledu mechanický vlastností se projevila nejstabilněji kostřava rákosovitá, jejíž mechanická odolnost, odolnost proti vlhkosti, měrná hustota a také pevnost odpovídaly buď normativním hodnotám nebo ve srovnání vycházely nejlépe. Je nutné podotknout také hodnoty spalného tepla a výhřevnosti, které jsou pro kostřavu rákosovitou nejvýraznější.

Výhledem do budoucna se jeví také využití takto vyrobených pelet nejen jako možného hnojiva, ale také jejich úprava pomocí procesu torefikace. Torefikace jako jedna z forem pyrolýzy zvyšuje výhřevnost pelet. Využití pelet jako hnojiva je novou možností pro jejich uplatnění.

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-RO1821 a projektu MŠMT ČR v rámci OP RDE CZ.02.1.01 / 0.0 /0.0 / 16_019 / 0000753 „Výzkumné centrum pro nízkouhlíkové energetické technologie“.

Literatura

Frydrych J., Cagaš B., Macháč J., 2001. Energetické využití některých travních druhů. Praha, ÚZPI 2002. Zemědělské informace, č. 23, 35 s.

Frydrych J., Gerndtová I., Andert D. Volková P., 2020. Výsledky výzkumu energetických trav pro zemědělskou praxi. Pícninářské listy, Zubří: SPTJS, Olomouc: Vydavatelství AGRIPRINT s.r.o., roč. 26, s. 38–42. ISBN 978-80-87091-87-6.

Hrabě, F. et al., 2009. Trávníky pro zahradu, krajinu a sport. Olomouc: Vydavatelství Ing. Petr Baštan, 335 s. ISBN 978-80-87091.

Straka F. a kol., 2006. Bioplyn: příručka pro výuku, projekci a provoz bioplynových systémů. 2. rozš. a dopl. vyd. Praha: GAS, 706 s. ISBN 80-7328-090-6.

Tomani P., Axegård P., Berglin N., Nordgren D., Berghel J., 2011. LignoBoost Kraft Lignin – A New Renewable Fuel and a Valuable Fuel Additive. International Bioenergy & Bioproducts Conference, 14.–16. 3. 2011.
Dostupné z WWW: http://www.tappi.org/content/Events/11BIOPRO/26.1Tomani.pdf

Niels Peter Kjeldsen, 2009. Importance of raw material properties in wood pellet production - Effects of differences in wood properties for the energy requirements of pelletizing and the pellet quality. Industrial PhD thesis. Univesity of Copenhagen, Faculty of Life Sciences, Forest & Landscape Denmark.

Wei-Hsin Chen, Bo-Jhih Lin, Yu-Ying Lin, Yen-Shih Chu, Aristotle T. Ubando, Pau Loke Show, Hwai Chyuan Ong, Jo-Shu Chang, Shih-Hsin Ho, Alvin B. Culaba, Anélie Pétrissans, Mathieu Pétrissans, 2021. Progress in biomass torrefaction: Principles, applications and challenges.
Dostupné z WWW: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360128520300976>.

ČSN EN ISO 1783-1 Tuhá biopaliva – Stanovení mechanické odolnosti pelet a briket – Část 1: Pelety.

Zajonc O., Frydrych J., 2012. Mechanické vlastnosti pelet z energetických travin. [The mechanical properties of pellets from energy grasses] AgritechScience [online], 2012, roč. 6, č. 2, s. 1–4. Dostupné z: http://www.agritech.cz/clanky/2012-2-9.pdf. ISSN 1802-8942.

Kontaktní adresa:

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

Efektivnost využití vody u pšenice ve srážkově odlišných letech 2018–2021

Water use efficiency of wheat in years 2018–2021 with different precipitation

Haberle J., Moulík M., Svoboda P., Raimanová I., Kurešová G.

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

Abstrakt

V polním pokusu byl porovnán výnos a efektivnost využití vody (WUE) pro tvorbu výnosu zrna odrůd ozimé pšenice a pšenice špaldy nebo jednozrnky ve srážkově odlišných letech 2018–2021. V tomto pokusu byl dále sledován vliv doplňkové závlahy a navozeného sucha. Spotřeba vody byla vypočtena jako rozdíl obsahu vody v půdě mezi počátkem jarní regenerace (1. března) a zralostí plus objem vody dodané formou srážek a závlahy. Průměrná hodnota WUE u pšenic v letech 2018–2021 činila 2,17 g, 1,75 g, 2,44 g a 2,30 g zrna/l vody. Vyšší WUE v letech 2020 a 2021 odpovídalo vyšším výnosům ve srovnání se suchými ročníky 2018 a 2019. Závlaha v průměru čtyř let snížila WUE oproti kontrole z 2,17 g/l na 1,67 g/l. Nedostatek vody ve fázi zrání WUE v některých letech zvyšoval, v jiných snižoval (1,36–2,21 g/l) při současném výrazném snížení výnosů. WUE špaldy a jednozrnky bylo výrazně nižší (0,72 g/l) v důsledku nízkých výnosů při podobné spotřebě vody.

Klíčová slova: WUE; bilance vody; srážky; závlaha; stres suchem; výnos zrna

Abstract

The water use efficiency (WUE) of winter wheat and spelt or einkorn cultivars was determined in the years 2018–2021 with different precipitation. The effect of irrigation and induced drought during grain filling was further investigated in the experiment. Water use was calculated from soil water content between the beginning of spring growth (March 1st) and maturity plus the sum of precipitation and irrigation water. The average WUE of wheat reached 2,17 g, 1,75 g, 2,44 g a 2,30 g of grain per litter of evaporated water in years 2018–2019, respectively. The higher WUE in 2020 and 2021 corresponded to higher yields compared to the yields in the drier years 2018–2019. Irrigation and water shortage reduced WUE compared to rain-fed control. Spelt and einkorn wheat had significantly lower WUE (on average 0,72 g/l) than winter wheat due to low yields but similar water consumption.

Keywords: WUE; water balance; precipitation; irrigation; water stress; grain yield

Úvod

Poslední roky názorně ukázaly vysokou variabilitu povětrnostních podmínek v ČR. Přes srážkově bohatší roky 2020 a 2021 budou podle vývoje klimatu v posledních desetiletích a též podle klimatických modelů sušší a teplejší ročníky stále častější, s dopady na plodiny (Duffková et al. 2019, Trnka et al. 2019, 2021). I roky 2020 a 2021 se při vyšších srážkách vyznačovaly v řadě měsíců nadprůměrnými teplotami. Problém sucha je prezentován především z pohledu nízkých srážek a nízkého obsahu dostupné vody v půdě, ale podstatné pro stabilitu produkce je i hospodaření plodin s vodou. O tom vypovídá hodnota efektivnost využití vody (WUE). WUE (polní, integrovaná) je množství biomasy nebo hospodářského výnosu, které porost vytvoří na jednotku spotřebované vody (např. v g sušiny na litr vody). Přitom se sčítá přímá spotřeba vody porostu transpirací a výpar z půdy (evaporace) a z povrchu rostlin. Hodnoty WUE se u plodin pohybují v širokém rozmezí a jsou výsledkem vlastnosti druhu a odrůdy, agrotechniky a

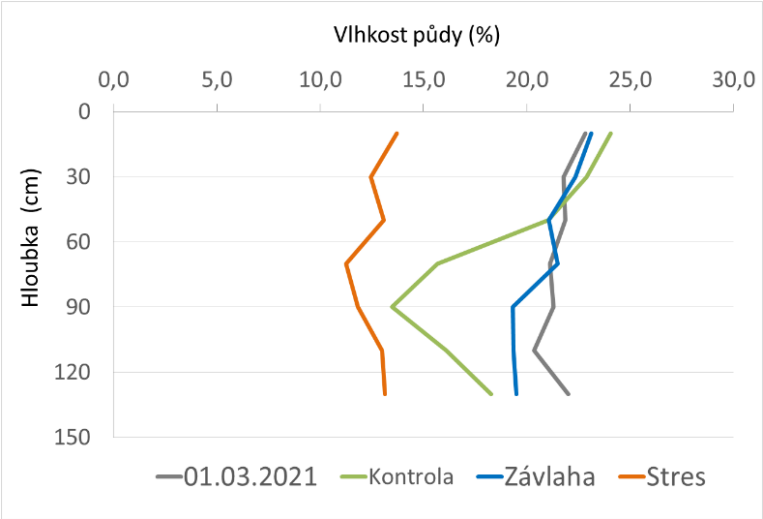
podmínek prostředí. Do budoucna bude cílem pěstitele v podmínkách častého nedostatku vody co nejnižší spotřeba vody bez významné redukce výnosu. Spolehlivý výpočet spotřeby vody je náročný (Zábranský 2016), proto o vlivu různých faktorů na WUE existuje málo údajů.
Cílem práce bylo porovnat efektivnost využití vody odrůd ozimé pšenice v suchých a srážkově bohatších letech.

Materiál a metody

V roce 2019 jsme prezentovali výsledky výpočtu WUE u odrůd ozimé pšenice v suchých letech 2018 a 2019 (Haberle et al. 2019). Následující srážkově bohatší ročníky 2020 a 2021 umožňují porovnat vliv počasí na efektivnost využití vody u pšenice.
Maloparcelkový polní pokus probíhal v letech 2018 až 2021 v Praze Ruzyni (černozem luvická, 340 m n. m., průměrný roční úhrn srážek 477 mm a průměrná teplota 8,5 ^{o}C).
Varianty: Kontrola (R), závislá pouze na srážkách, nedostatek vody (S) a optimální obsah vody v půdě (V). Nedostatek vody byl u dvou odrůd pšenice ozimé (*Triticum aestivum* L.) a jedné odrůdy pšenice špaldy (*Triticum spelta* L.) nebo pšenice jednozrnky (*Triticum monococcum* L.) indukován pomocí zakrývání porostu při dešti, optimální zásoba vody byla zajištěna kapkovou závlahou. Zakrývání a závlaha byly aplikovány tak, aby optimální dostupnost vody a vodní stres působily ve fázi po kvetení, v průběhu nalévání zrna. Pšenice byly v letech 2018–2021 pěstovány na stejné úrovni hnojení dusíkem, 100 kg N/ha. Sledované odrůdy pšenice a špaldy/jednozrnky? jsou uvedeny v tabulce 1.
Objem vody v půdě byl počítán z údajů o vlhkosti půdy (gravimetricky) do hloubky 130 cm a objemové hmotnosti vrstev půdy. Spotřeba vody byla vypočtena z rozdílu obsahu vody v půdě na počátku jara (1. března) a ve zralosti, se započtením vody ve srážkách a závlaze. Efektivnost využití vody (WUE) byla vypočtena jako podíl výnosu a celkové spotřeby vody a vyjádřena v gramech suché hmoty zrna vytvořené na litr spotřebované vody. Na pokusném pozemku nedošlo v průběhu růstu k povrchovému odtoku a průsaku (ztrátě) vody pod kořenovou zónu, jak prokazují i údaje o vlhkosti půdy do hloubky 130 cm v nejvlhčím roce 2021 (obr. 1). Proto lze spotřebu vody za hlavní období růstu bilancovat z objemu vody v kořenové zóně. Závlahové dávky a termíny byly pomocí modelu a odběrů půdy stanoveny tak, aby množství vody ve vrstvě 0–90 cm nepřesáhlo úroveň polní vodní kapacity. Srážky byly měřeny ve stanici vzdálené 50–100 m od pokusu (www.vurv.cz/meteostanice); byly vypočteny denní hodnoty referenční evapotranspirace.

Tab. 1: Odrůdy pšenice zařazené do polního pokusu. Varianty: K-kontrola, V-závlaha, S-stres

Odrůda	Třída	Varianty			
		2018	2019	2020	2021
Premiant	E	K, V	K		
Viriato	A	K, V	K		
Reform	A	K, V	K, V		
Rebell	A	K, V, S	K, V, S		
Ponticus	E	K, V, S	K, V, S	K	K
Butterfly	A			K, V, S	K, V, S
Artix	B-C			K, V, S	K, V, S
Shiron	E			K, V	K, V
Rubiota	špalda	K, V, S	K, V		
Rumona	jednozrnka			K, V, S	R, V, S

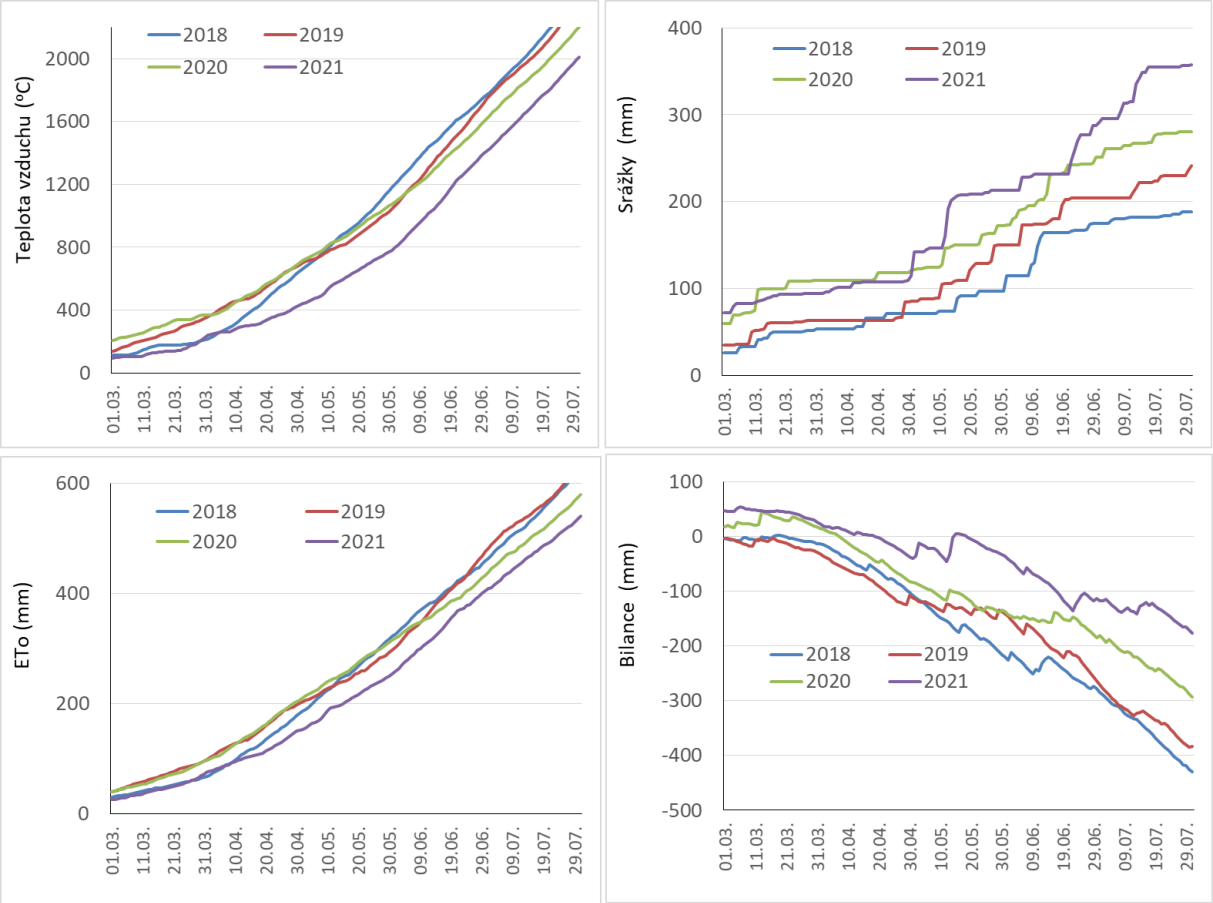


Obr. 1: Vlhkost vrstev půdy do hloubky 130 cm na počátku jarního růstu (1. března) a ve zralosti v roce 2021

Výsledky a diskuse

Klimatické podmínky

Srážky, teploty, potenciální evapotranspirace a bilance vody (obr. 2) ukazují rozdíly mezi ročníky 2018–2019 a 2020–2021. Výrazně se odlišují podmínky roku 2021 s vyššími srážkami, nižšími teplotami a evaporací. Rok 2020 měl vyšší srážky, ale teploty a evapotranspirace byly přibližně do metání pšenice bližší předchozím ročníkům.

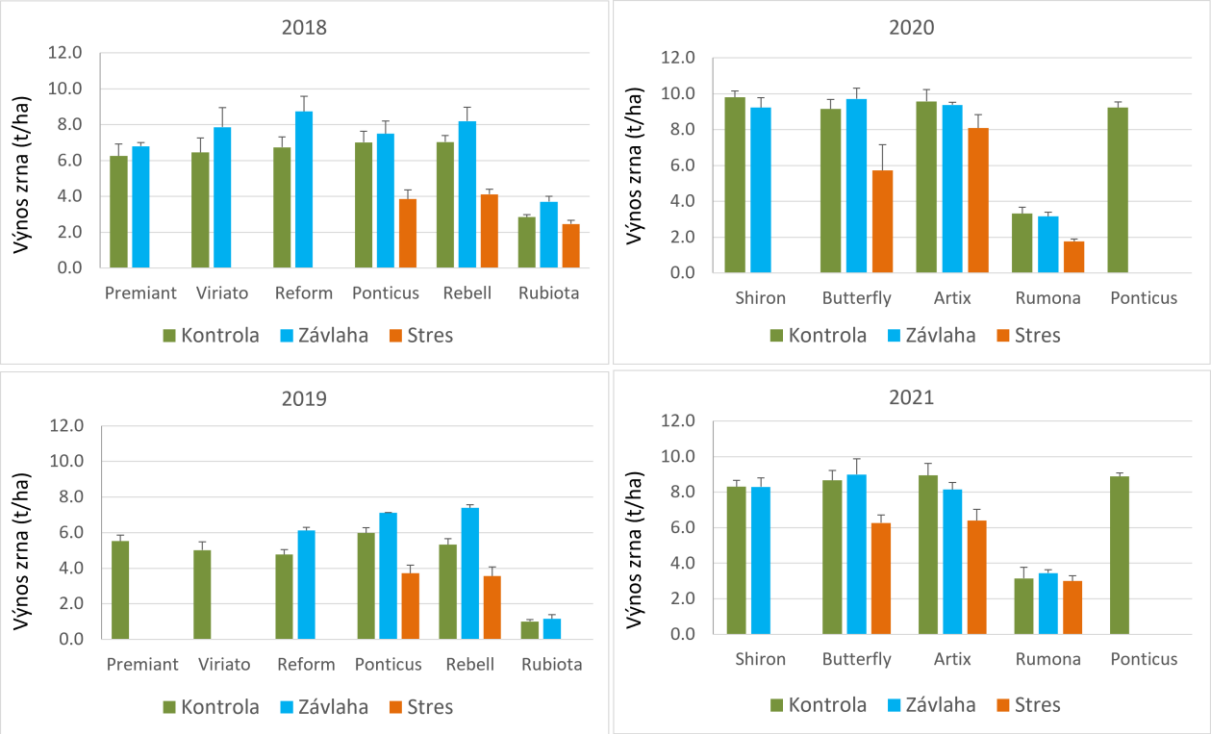


Obr. 2: Teploty, srážky, referenční evapotranspirace (ETo) a bilance vody (srážky-ETo), kumulovaně od 1. ledna daného roku

Vliv sucha a závlahy na výnos zrna

Sucho v době nalévání zrna snížilo v porovnání s kontrolou v letech 2018–2021 výnos zrna odrůd pšenice v průměru o 2,72 t/ha, 1,68 t/ha, 2,53 t/ha a 2,36 t/ha; naopak u špaldy a jednozrnky v průměru let pouze o 0,17 t/ha. V porovnání se stresovaným porostem činilo zvýšení výnosu zrna aplikací závlahy v pokusných letech oproti kontrole 3,84 t/ha, 3,24 t/ha, 2,54 t/ha a 2,14 t/ha; u špaldy a jednozrnky bylo zvýšení v průměru let 0,46 t/ha (obr. 3).

Výnos zrna byl v letech 2018 a 2019 u všech variant nižší než v následujících letech s vyššími srážkami. Rozdíl výnosů pšenice mezi suchým a srážkově bohatším dvouletím činil v průměru 3,1 t/ha (K), 2,8 t/ha (S) a 1,6 t/ha (V) zrna na hektar.



Obr. 3: Vliv diferencované dodávky vody v období tvorby zrna na výnosy pšenice v letech 2018 až 2021

Efektivnost využití vody (WUE)

WUE, výnos zrna na jednotku spotřebované vody, byl u odrůd pšenice (s výjimkou odrůdy Artix v roce 2020) ve všech letech nejvyšší u kontrolní varianty, kde dostupnost vody závisela pouze na srážkách. Podobně tomu bylo u pšenice špaldy a jednozrnky, s výjimkou roku 2018 (obr. 4).

V průměru let dosáhlo WUE u kontrolní varianty hodnoty 2,17 g/l. U stresovaných pšenic bylo v průměru let WUE 1,82 g/l, ale při nižších výnosech (obr. 3). Naopak zavlažované pšenice dosáhly v průměru jen o málo nižší WUE (1,67 g/l) než stresované porosty, ale měly daleko vyšší výnos. Pšenice špalda a jednozrnka zaznamenaly ve všech letech nižší WUE než odrůdy pšenice seté, v průměru na variantách K, S a V to bylo 0, 74 g/l, 0,85 g/l a 0,58 g/l.

Pro představu, například hodnota WUE 2 g/l odpovídá hodnotě 20 kg zrna na 1 mm vody (tj. 10 000 litrů na hektar) ve srážkách. Při této hodnotě WUE spotřebuje pro výnos 8,0 t/ha porost pšenice 400 mm vody. To je 2/3 běžného úhrnu ročních srážek okolo 600 mm. Výnosy nad 10 t/ha by tak vyžadovaly, aby porost využil vyšší podíl z celoročních srážek a/nebo se zvýšila efektivnost využití vody.

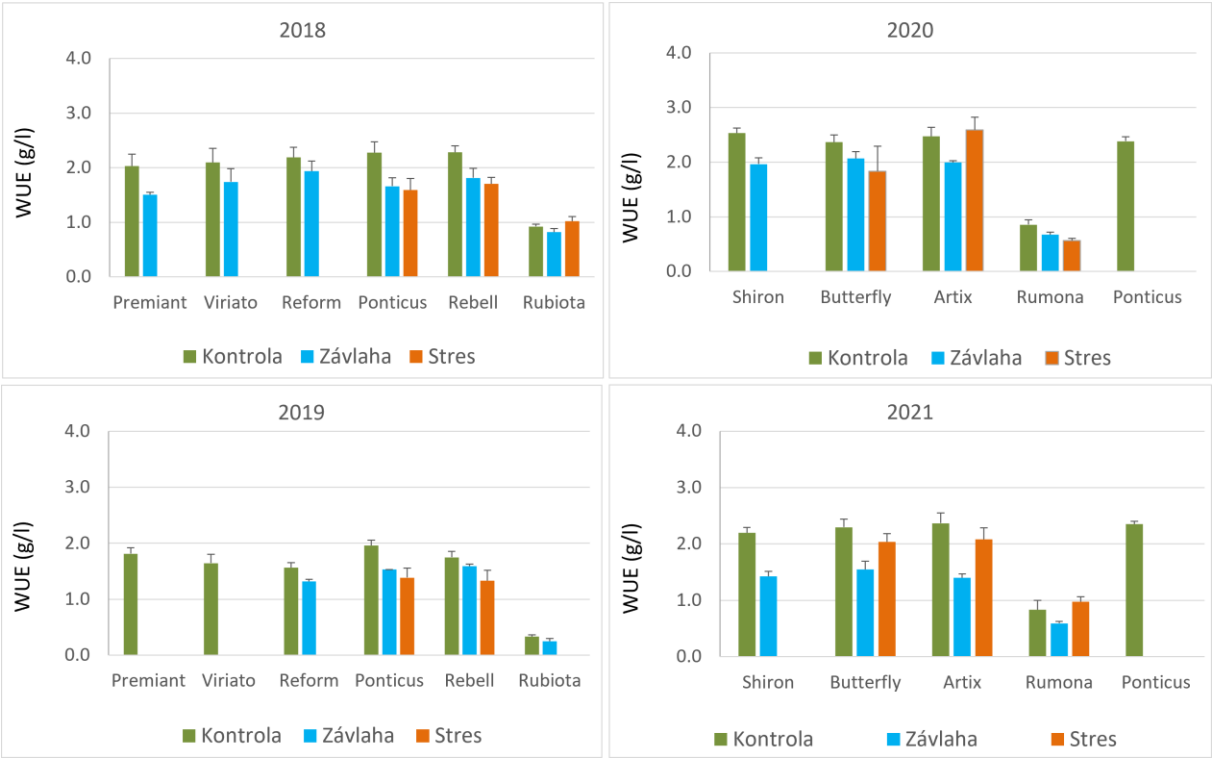
Celková spotřeba vody od 1. března do zralosti se pohybovala od 242 mm u stresované pšenice v roce 2018 až po 582 mm vody u zavlažované varianty v roce 2021.

Je zřejmé, že silný nedostatek i nadbytek vody v době zrání pšenice snižují efektivnost využití vody v podobné míře, ale při diametrálně rozdílných výnosech.

Spotřeba vody byla počítána od 1. března, neboť v tomto období se začínají zvyšovat teploty, začíná regenerace rostlin pšenice a zvyšuje se postupně evaporace z půdy a transpirace. Posun výpočtu od počátku roku by hodnoty WUE významně nezměnil, protože evapotranspirace ve dvou zimních měsících je nízká až nulová. Ovšem v případě, že by výpočet spotřeby vody začínal již od setí (na podzim), by se hodnota WUE snížila v důsledku výparu z půdy a

transpirace, zvláště pokud by porost vytvořil již na podzim větší biomasu (spíše typické pro řepku).

Publikované hodnoty WUE se pohybují v širokém rozmezí. Například Huang et al. (2019) zjistili pro dvanáct genotypů ozimé pšenice hodnoty WUE od 1,51 g/l do 1,92 g/l vody u dvou rozdílně vodou zásobených variant, ale bilance vody byla měřena od setí do sklizně. V případě, že by do výpočtu WUE v prezentovaném pokusu v Ruzyni byla zahrnuta evapotranspirace již od setí, byly by hodnoty WUE nižší. Varga et al. (2013) uvádí hodnoty WUE pšenice v nádobovém pokusu 1,5–2,3 g/l a 1,06–2,0 g/l při optimální a snížené dodávce vody. Sadras a Lawson (2013) uvádějí u pšenic potenciál WUE 2,5 g/l.



Obr. 4.: Vliv diferencované dodávky vody v období tvorby zrna na efektivnost využití vody (WUE) v letech 2018 až 2021

Závěr

Efektivnost využití vody pro tvorbu výnosu zrna byla, i přes větší celkovou spotřebu vody, vyšší ve srážkově příznivějších letech 2020 a 2021 díky vyšším výnosům v porovnání se sušími ročníky 2018 a 2019. Nedostatek vody nebo naopak optimální dostupnost vody zajištěná doplňkovou závlahou v období tvorby zrna snižovaly WUE ve srovnání s kontrolou závislou pouze na srážkách a zásobě vody v kořenové zóně. Vodní stres navozený v období tvorby zrna snižoval výnosy o několik tun, pozitivní vliv závlahy na výnos zrna se projevil především v suchých letech.

Dedikace

Příspěvek byl podpořen projektem MZe ČR č. RO0418 a QK1910041.

Použitá literatura

Duffková R., Holub J., Fučík P., Rožnovský J., Novotný I. 2019. Long-term water balance of selected field crops in different agricultural regions of the Czech Republic using FAO-56 and soil hydrological approaches. Sustainability 11, No. 5243.

Haberle J., Svoboda P., Kurešová G., Henzlová B. 2019. Vliv závlahy a sucha na výnos a efektivnost využití vody odrůd pšenice. In: Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů, Brno. Úroda č. 12/2019 (CD).

Huang G, Zhang X, Wang Y, Feng F, Mei X, Zhong X. 2019. Comparisons of WUE in twelve genotypes of winter wheat and the relationship between δ13C and WUE. PeerJ 7:e6767 https://doi.org/10.7717/peerj. 6767.

Sadras V.O., Lawson C. 2013. Nitrogen and water-use efficiency of Australian wheat varieties released between 1958 and 2007. European Journal of Agronomy 46: 34-41.

Trnka M., Balek J., Brázdil R., Dubrovský M., Eitzinger J., Hlavinka P., Chuchma F., Možný M., Prášil I. et al. 2021. Observed changes in the agroclimatic zones in the Czech Republic between 1961 and 2019. Plant Soil Environ 67: 154–163.

Trnka M., Feng S., Semenov M.A., Olesen J.E., Kersebaum K.C., Rötter R.P., Semerádová D., Klem K., Huang W., Ruiz-Ramos M. et al. 2019. Mitigation efforts will not fully alleviate the increase in water scarcity occurrence probability in wheat-producing areas. Science Advances 5, eaau2406. https://doi.org/10.1126/sciadv.aau2406

Varga B, Varga-László E., Bencze S., Balla K., Veisz O. 2013. Water use of winter cereals under well-watered and drought-stressed conditions. Plant Soil Environ 59: 150–155.

Zábranský P. 2016. Analýza vláhové potřeby polních plodin v oblasti s častým výskytem sucha. Doktorská práce. ČZU Praha. 116 s.

Kontaktní adresa:

Jan Haberle
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6
haberle@vurv.cz

Aplikace různých druhů elementární síry a ovlivnění aktivity půdních mikroorganismů

Application of various types of elemental sulfur and their effect on activity of soil microorganisms

Hammerschmiedt T.[1], Holátko J. [1], Húska D. [2], Škarpa P.[1], Kintl A. [1,3], Brtnický M.[1]

[1]Ústav agrochemie, půdoznalství, mikrobiologie a výživy rostlin, MENDELU Brno
[2]Ústav chemie a biochemie, MENDELU Brno
[3]Zemědělský výzkum, spol. s r.o., Troubsko

Abstrakt
Elementární síru lze využít jako hnojivo s pomalým uvolňováním vodorozpustné formy do půdy, která představuje zdroj tohoto makroelementu přijatelného pro rostliny i mikroorganismy. Primární účinek aplikace elementární síry, která vykazuje částečně biocidní účinky, byl testován v krátkodobém (8 týdnů) nádobovém pokusu s přídavky různých druhů elementární síry do půdy. Testována byla odpadní síra z odsíření bioplynu, mikromletá síra a dva druhy nanosíry. Všechny typy síry způsobily signifikantní pokles pH a enzymatických aktivit (dehydrogenasa, arylsulfatasa, ureasa) v půdě v porovnání se sírou neošetřenou kontrolní půdou. Ze všech typů síry vedla aplikace nanosíry II k nejvyšší enzymatické aktivitě dehydrogenasy a nejnižší aktivitě ureasy. Pozorována byla také vysoká aktivita respirace a nárůst množství bakterií. Nanosíra II pravděpodobně stimulovala nejvyšší míru zpřístupnění elementární síry.
Klíčová slova: nanosíra, půdní pomocné látky, půdní mikroflóra, mikrobiální aktivita, nanočástice

Abstract
Elemental sulphur can be used as a fertiliser with a slow release of the water-soluble form into the soil, which represents a source of this macronutrient acceptable to plants and micro-organisms. The primary effect of the application of elemental sulphur, which shows partially biocidal effects, was tested in a short-term (8 weeks) pot experiment with additions of different types of elemental sulphur to the soil. Waste sulphur from biogas desulphurisation, micro-ground sulphur and two types of nano-sulphur were tested. All types of sulfur caused a significant decrease in pH and enzymatic activities (dehydrogenase, arylsulfatase, urease) in the soil compared to the sulfur untreated control soil. Among all types of sulfur, application of nano-sulfur II resulted in the highest enzymatic activity of dehydrogenase and the lowest activity of urease. High respiration activity and an increase in the abundance of bacteria were also observed. Nano-sulfur II probably stimulated the highest rate of accessibility of elemental sulfur.
Keywords: nano sulphur, soil amendments, soil microflora, microbial activity, nanoparticles

Úvod

Hnojiva na bázi síranů představují pro rostliny rychle přístupný zdroj síry, nicméně jsou náchylné k vyplavování mimo kořenovou zónu v humidních podmínkách nebo při velkých srážkových úhrnech (Eriksen et al. 2000). Navíc mají nízký obsah síry ve srovnání s hnojivy obsahující elementární síru. To vede k aplikaci větších dávek, což je spojeno i s vyššími náklady na dopravu (Degryse et al. 2021). Naproti tomu elementární síra představuje vysokoprocentní zdroj této živiny pro rostliny i mikroorganismy, po jehož aplikaci nedochází k rychlému

vyplavování. Avšak nevýhodou je pomalé uvolňováním do půdy: mikroorganismy, zejména bakterie, musí elementární síru nejprve oxidovat na sulfáty, které jsou rostliny schopny asimilovat (Degryse et al. 2021). Tento proces je závislý na přítomnosti vhodných funkčních skupin půdního mikrobiomu, na přístupnosti hydrofobních částic síry (hydratace, solvatace) a na celkovém inhibičním účinku síry na půdní biologické vlastnosti. Nežádoucí je ale oxidace síry ve svrchní vrstvě půdy, která má tendenci se zvyšovat s pH a obsahem půdní organické hmoty (Zhao et al. 2015). Malé částice oxidují rychleji díky svému velkému povrchu (Germida and Janzen 1993). Velikost a vlastnosti částic elementární síry mají ale také vliv na bohatost, složení a aktivitu mikrobiálního společenství. Vlastnosti půdního mikrobiomu jsou dále určovány podmínkami prostředí např. teplotou půdy, vodním potenciálem a provzdušňováním. (Germida and Janzen 1993). Široká škála mikroorganismů, bakterií i hub, je schopna elementární síru oxidovat (Lawrence and Germida 1988), avšak na některé půdní mikroby, zejména houby, působí elementární síra biocidně (Williams and Cooper 2004; Massalimov et al. 2012). Rozptýlení částic elementární síry do půdy vede ke zrychlené oxidaci a také k možnému inhibujícímu efektu na citlivé funkční skupiny půdního mikrobiálního společenstva. Tento efekt s růstem velikosti částic elementární síry klesá (Watkinson and Blair 1993). Přizpůsobení velikosti částic elementární síry a jejich distribuce v půdě pro dosažení optimální míry a intervalu uvolňování efektivně využitelné síry rostlinami bylo a je předmětem řady studií např. (Germida and Janzen 1993, McLaughlin et al. 2015, Souri and Sayadi 2021).
Cílem této práce bylo posoudit primární krátkodobý účinek aplikace různých druhů elementární síry s variabilní velikostí částic (mletá síra, nanosíra) na pH a biologické vlastnosti půdy (bakteriální biomasu a aktivitu) v nádobovém pokusu. Pracovali jsme s předpokladem, že (ve shodě s předchozími studiemi) budou druhy elementární síry s menší velikostí částic stimulovat zvýšenou oxidační aktivitu půdního mikrobiomu, otestován měl být zejména účinek na dekompoziční mikrobiální aktivity a na celkové množství mikroorganismů v půdě.

Materiál a metody

Testování krátkodobého vlivu různých druhů elementární síry na pH, mikrobiální biomasu a aktivitu v půdě, ovlivňující procesy přeměny živin v půdě, bylo provedeno v nádobovém pokusu. Pokusné nádoby o objemu 0,5 dm^3 obsahovaly 300 g pokusné půdy. Jejím základem byla ornice (0–15 cm) z lokality v blízkosti obce Žabčice. Před použitím byla půda proseta přes síto o velikosti 2,0 mm, agrochemické parametry půdy uvádí Tabulka 1. Bylo připraveno následujících pět variant: (1) kontrola bez přídavku síry – K, (2) odpadní síra (ze zařízení na odsíření bioplynu THIOPAQ, Paques, Holandsko) – OS, (3) mikromletá síra (Zakłady Chemiczne „Siarkopol" Tarnobrzeg sp. z o.o., Polsko) – MS, (4) nanosíra I (47 nm; US Research Nanomaterials, Inc., USA) – NS I, (5) nanosíra II (50 nm; Shanghai Ruizheng Chemical Technology Co., Ltd., Čína) – NS II. Všechny varianty (2)-(5) byly obohaceny příslušným druhem síry v množství 0,64 $g \cdot kg^{-1}$suché hmotnosti půdy. Síra byla pečlivě vmísena do půdy před naplněním květináčů. Nádoby byly pravidelně vlhčeny destilovanou vodou a inkubovány v růstové komoře PlantMaster (CLF, Německo) za definovaných podmínek: dvanáctihodinová fotoperioda, bílé osvětlení, teplota den/noc 20/12 °C. Nádobový pokus probíhal po dobu 8 týdnů. Každá varianta byla sledována ve 3 květináčích.

Tabulka 1: Agrochemické parametry půdy

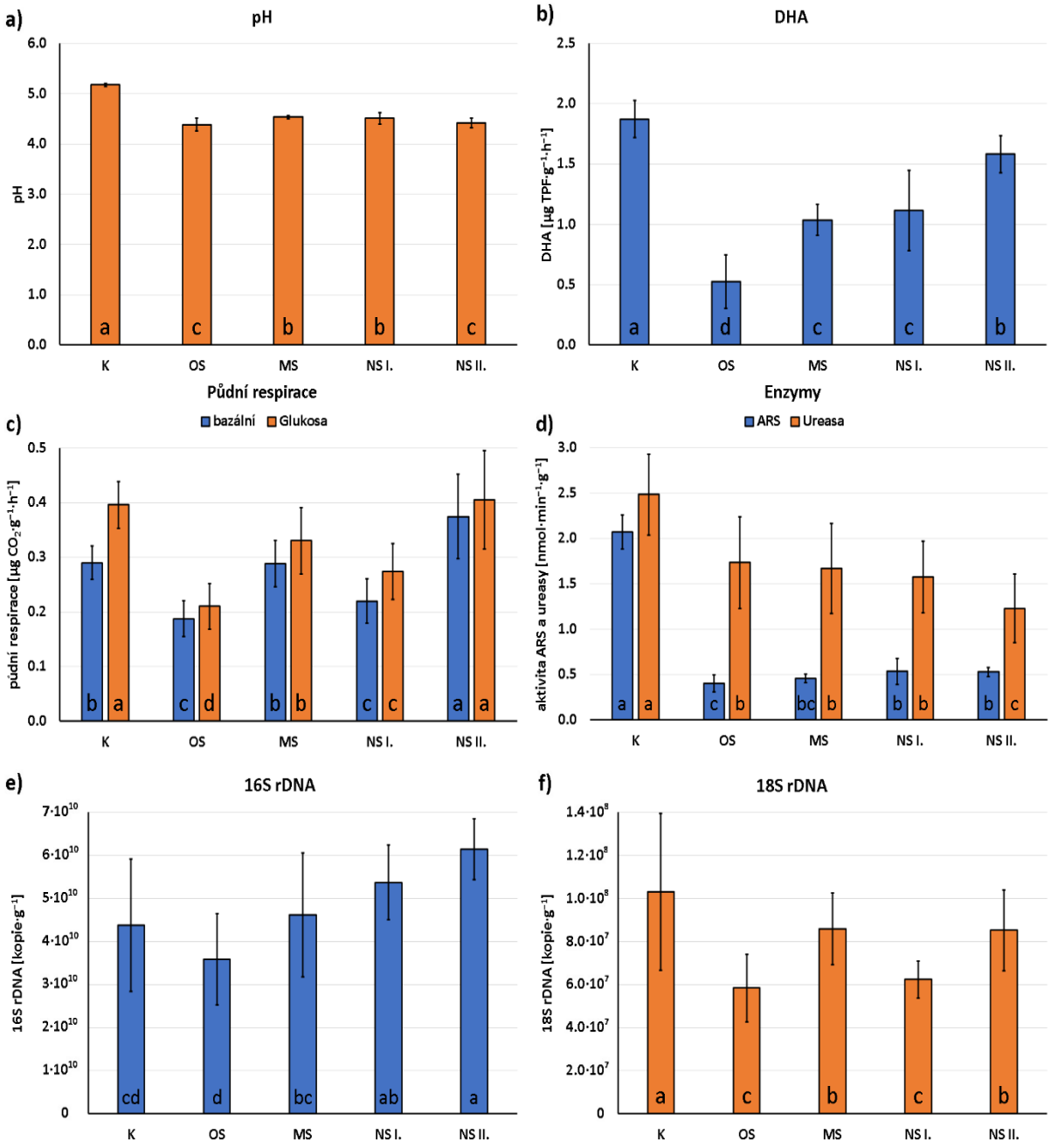
Půdní parametr	Hodnota
pH ($CaCl_2$)	6,09
Cox	0,80 %
N tot	0,19 %
NH_4^+	1,48 mg/kg
NO_3^-	17,2 mg/kg
Přístupný P	36,4 mg/kg
Přístupný K	400 mg/kg
Přístupný Ca	2 720 mg/kg
Přístupný Mg	214 mg/kg

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), dehydrogenasová aktivita podle metody (Voberkova et al. 2017), půdní bazální a substrátem (D-glukosa) indukovaná respirace pomocí metody MicroResp® (Campbell et al. 2003) a enzymové aktivity (arylsulfatasa = ARS a ureasa) podle metody (ISO_20130 2018). Celkové bakterie byly stanoveny kvantifikací parciální 16S rDNA podle (Amann et al. 1995), celkové houby kvantifikací 18S rDNA podle (Vainio a Hantula 2000) postupem popsaným v předchozích publikacích (Brtnicky et al. 2019; Holátko et al. 2020).
Porovnání souborů dat výsledků analýz bylo provedeno jednosměrnou analýzou rozptylu (ANOVA) s post-hoc Tukey HSD testem a hodnota $p \leq 0,05$ byla považována za statisticky významný rozdíl v hodnocených souborech. Korelační analýza byla provedena na hladině spolehlivosti $p \leq 0,05$, hodnoty korelačního koeficientu r byly posouzeny jako mírná ($0,5 \leq r \leq 0,7$), střední ($0,7 \leq r \leq 0,9$) a vysoká ($r \geq 0,9$) korelace (Hinkle et al. 2003). Všechna data byla analyzována s použitím softwarového balíčku Statistica ver. 13.4.0.14.

Výsledky a diskuze

Půdní pH bylo signifikantně nejvyšší u kontrolní varianty, naopak signifikantně nejnižší hodnoty vykazovaly varianty odpadní síra a nanosíra II – Graf 1a). Tyto rozdíly lze vysvětlit tím, že jakkoli je elementární síra nerozpustná ve vodě, může být zdrojem její přijatelné formy pro rostliny i mikroorganismy. Půdní bakterie ji oxidují do rozpustné formy až na sírany, následkem tohoto dochází k poklesu pH (Sierra et al. 2007). Jedná se o velmi pomalý proces uvolňování, jeho rychlost závisí mj. na velikosti částic. Proto bylo výraznější snížení pH zaznamenáno u druhů síry s menší velikostí částic (např. nanosíra II). Závislost acidifikace na oxidaci elementární síry (Tabak et al. 2020), která odráží celkovou dekompoziční mikrobiální aktivitu půdy, dokládá také mírná korelace ($r = 0,62$) mezi pH a aktivitou dehydrogenasy (DHA), jednoho z hlavních indikátorů katabolických procesů v půdě.
Zmíněná DHA byla signifikantně nejvyšší v kontrolní půdě a nejnižší u varianty s odpadní sírou – Graf 1b). Z variant ošetřených elementární sírou byla statisticky nejvyšší hodnota DHA v půdě s nanosírou II. DHA je prokazatelně negativně ovlivňována mírným acidifikačním účinkem elementární síry (Tabak et al. 2020), jejíž zrychlená oxidace u variant s nanosírou (NS II, méně u NS I) zmírňuje tento negativní dopad. Vysokou hodnotu DHA v kontrole také může odrážet vysoký podíl hub v mikrobiální biomase (stanovený jako 18S rDNA), zatímco vysoká aktivita DHA varianty s nanosírou II souvisí pravděpodobně s vysokým zastoupením bakterií (16S rDNA). Aerobní respirace souvisí s dekompozicí organické půdní hmoty testovaných půd významnou měrou, dokladem je mírná korelace DHA s bazální respirací ($r = 0,60$) a střední korelace s respirací indukovanou D-glukosou ($r = 0,71$).

Graf 1: Půdní vlastnosti variant s aplikací různých druhů elementární síry
Chybové úsečky = směrodatná odchylka, písmena značí statistické rozdíly mezi variantami na hladině významnosti $p \leq 0,05$.



Půdní respirace je ukazatelem aerobní mineralizace organického uhlíku, souvisí s aktivitou a celkovou biomasou půdní mikroflóry. Signifikantně sníženou bazální respiraci (v porovnání s kontrolou) vykazovaly pouze varianty OS a NS I, naopak u varianty NS II byla zjištěna bazální respirace signifikantně vyšší než v kontrole – Graf 1c). Tento výsledek pravděpodobně

odráží prokázané snížení aktivity mikrobiální biomasy v půdě přídavkem elementární síry a podmíněným poklesem pH (Visser and Parkinson 1989) i celkový negativní vliv na půdní mikroorganismy (Lupwayi et al. 2001). Tento negativní efekt se zdá být opět zmírněn obsahem biomasy půdního mikrobiomu, který má potenciální vliv především na oxidaci elementární síry. Ukazatelem celkového obsahu aerobních organismů v půdě je mj. glukosou indukovaná respirace, a ta byla u variant kontrola a NS II též signifikantně vyšší než u zbývajících variant – Graf 1c). Ve shodě s prokázaným pozitivním vlivem aplikace elementární síry na podíl hub v půdním společenstvu (Li et al. 2021) jsme zaznamenali nejvyšší respiraci indukovanou glukosou společně s nejvyššími hodnotami 18S rDNA. Respirace bazální (BR) a glukosou indukovaná spolu vysoce korelovaly (r = 0,9).

Poněkud odlišná byla aktivita arylsulfatasy (ARS), enzymu katalyzujícího úvodní krok mineralizace síry: signifikantně nejvyšší byla u kontrolní varianty – Graf 1d). Mezi ostatními variantami nebyl zaznamenán signifikantní rozdíl v ARS. Pozorovaný výrazný rozdíl mezi půdami s přídavky elementární půdy a kontrolou lze objasnit s ohledem na předpoklad, že vysoká aktivita ARS odpovídá vysoké míře mineralizace komplexních sulfosloučenin v půdní organické hmotě, jakožto hlavnímu zdroji síry (Ghosh et al. 2020). Nicméně pravděpodobným důsledkem přídavku elementární síry do půdy bylo zvýšení transformace této živiny, katalyzované jinými enzymy než ARS. Přesto byla zaznamenána vazba aktivity ARS na aplikaci elementární síry do půdy, dokládá ji vysoká korelace s pH (r = 0,94), s DHA (r = 0,69) a s ureasou (r = 0,61).

Ureasa, nitrifikační enzym zúčastněný v metabolismu půdního dusíku, jevil signifikantně nejvyšší aktivitu v kontrolní půdě a signifikantně nejnižší ve variantě NS II – Graf 1d). Přídavek elementární síry vedl v krátkodobém časovém horizontu k inhibici aktivity ureasy a pravděpodobně tedy i k poklesu uvolňování amoniaku, tak jak bylo prokázáno dalšími autory (Abdou 2001; Rezaei et al. 2015). Na míru inhibice ureasové aktivity měla opět vliv velikost částic elementární síry, hodnoty ureasy výrazně poklesly v souvislosti s nejvyšší zjištěnou biomasou a aktivitou mikroorganismů.

Přímým ukazatelem bakteriální biomasy v půdě byly hodnoty 16S rDNA, které byly signifikantně nejnižší ve variantě OS, zatímco varianta NS II ukázala hodnoty signifikantně vyšší než kontrola a obě síry s větší velikostí částic – Obr. 1e). Aplikace elementární nanosíry tedy vedla ke zvýšení obsahu bakterií v půdním mikrobiomu, což popisují už předchozí studie (Lawrence and Germida 1988; Lucheta and Lambais 2012), které prokázaly přímou úměru oxidace elementární síry s uhlíkem mikrobiální biomasy.

Naproti tomu celková houbová biomasa (18S rDNA) byla signifikantně snížena (oproti kontrole) ve všech variantách ošetřených elementární sírou, nejnižší hodnoty byly opět ve variantě OS a také NS I – Graf 1f). Elementární sírou podmíněný pokles v množství hub (i prvoků) v půdě byl pozorován (Haneklaus et al. 2007), souvisí s výrazným fungicidním selektivním účinkem elementární síry na houbové organismy (Williams and Cooper 2004). Referovaný vyšší fungicidní účinek nanosíry v porovnání s elementární sírou s většími částicemi (Massalimov et al. 2012) byl patrný pouze u nanosíry I.

Závěr

Krátkodobý nádobový pokus s aplikací elementární síry s různou velikostí částic prokázal signifikantní primární účinky na pH a půdní biologické parametry. Všechny typy elementární síry způsobily signifikantní pokles pH a enzymatických aktivit (dehydrogenasa, arylsulfatasa, ureasa) v porovnání s neošetřenou kontrolní půdou. Další účinky byly nejvýraznější u odpadní síry a nanosíry II. Aplikace odpadní síry vedla k nejvýraznějšímu poklesu aktivity dehydrogenasy, bazální a glukosou-indukované respirace, arylsulfatasové aktivity a obsahu bakterií a hub v půdním mikrobiomu. Přídavek nanosíry II naopak vedl v porovnání se všemi variantami ošetřenými elementární sírou k nejvyšším hodnotám dehydrogenasy, respirací, nejvyšší biomase bakterií a spolu s variantou MS k vysoké biomase hub, ale také k nejnižší aktivitě ureasy. Z těchto všech ukazatelů usuzujeme, že vlastnosti částic elementární nanosíry II podmínily nejmenší primární negativní účinky na mikrobiální biomasu i aktivitu v ošetřené půdě a také stimulovaly nejvyšší míru sulfurikace tohoto typu elementární síry. Další studie mohou pomoci prokázat význam a prospěšnost vhodné velikosti částic hnojiv na bázi elementární síry na půdní vlastnosti s cílem optimalizovat jejich fertilizační účinek.

Poděkování

Tato práce byla podpořena projekty Technologické agentury České republiky- č. TJ04000519 „Využití nanokompozitních materiálů na bázi síry ve výživě polních plodin“ a č. TH04030142 „Využití odpadu produkovaného při výrobě bioplynu ke zlepšení půdních vlastností a zvýšení obsahu síry v rostlinách“.

Literatura

Abdou, A. S. (2001). Ammonia volatilization as affected by sulfur-coated urea, urease inhibitor and soil salinity. International Symposium on Elemental Sulfur for Agronomic Application and Desert Greening., Abu Dhabi, United Arab Emirates, United Arab Emirates University.

Brtnicky, M., T. Dokulilova, J. Holatko, V. Pecina, A. Kintl, O. Latal, T. Vyhnanek, J. Prichystalova and R. Datta (2019). "Long-Term Effects of Biochar-Based Organic Amendments on Soil Microbial Parameters." *Agronomy* **9**: 747.

Brtnicky, M., T. Hammerschmiedt, J. Elbl, A. Kintl, L. Skulcova, M. Radziemska, O. Latal, T. Baltazar, E. Kobzova and J. Holatko (2021). "The Potential of Biochar Made from Agricultural Residues to Increase Soil Fertility and Microbial Activity: Impacts on Soils with Varying Sand Content." **11**(6): 1174.

Campbell, C. D., S. J. Chapman, C. M. Cameron, M. S. Davidson and 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.

Degryse, F., R. Baird, I. Andelkovic and M. J. McLaughlin (2021). "Long-term fate of fertilizer sulfate- and elemental S in co-granulated fertilizers." *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **120**(1): 31-48.

Eriksen, J., M. J. A. Askegaard, ecosystems and environment (2000). "Sulphate leaching in an organic crop rotation on sandy soil in Denmark." **78**(2): 107-114.

Germida, J. J. and H. H. Janzen (1993). "Factors affecting the oxidation of elemental sulfur in soils." *Fertilizer research* **35**(1): 101-114.

Ghosh, A., A. B. Singh, R. V. Kumar, M. C. Manna, R. Bhattacharyya, M. M. Rahman, P. Sharma, P. S. Rajput and S. Misra (2020). "Soil enzymes and microbial elemental stoichiometry as bio-indicators of soil quality in diverse cropping systems and nutrient management practices of Indian Vertisols." *Applied Soil Ecology* **145**: 103304.

Haneklaus, S., E. Bloem and E. Schnug (2007). "Sulfur in Plants An Ecological Perspective."

Hinkle, D. E., W. Wiersma and S. G. Jurs (2003). Applied statistics for the behavioral sciences. Boston, Mass., Houghton Mifflin.

Holátko, J., T. Hammerschmiedt, A. Kintl, O. Látal and M. Brtnický (2020). "Vliv pomocných půdních látek na množství a složení půdní mikroflóry." *Úroda* **12**.

ISO_10390 (2005). Soil quality - Determination of pH.

ISO_20130 (2018). Soil quality — Measurement of enzyme activity patterns in soil samples using colorimetric substrates in micro-well plates.

Lawrence, J. R. and J. J. Germida (1988). "Relationship Between Microbial Biomass and Elemental Sulfur Oxidation in Agricultural Soils." **52**(3): 672-677.

Li, T., R. Wang, J. Cai, Y. Meng, Z. Wang, X. Feng, H. Liu, R. F. Turco and Y. Jiang (2021). "Enhanced carbon acquisition and use efficiency alleviate microbial carbon relative to nitrogen limitation under soil acidification." *Ecological Processes* **10**(1).

Lucheta, A. R. and M. R. J. R. B. d. C. d. S. Lambais (2012). "Sulfur in agriculture." **36**(5): 1369-1379.

Lupwayi, N. Z., M. A. Monreal, G. W. Clayton, C. A. Grant, A. M. Johnston and W. A. Rice (2001). "Soil microbial biomass and diversity respond to tillage and sulphur fertilizers." *Canadian Journal of Soil Science* **81**(5): 577-589.

Massalimov, I., U. A. Medvedev, R. M. Zaynitdinova, N. A. Mufazalova and A. G. Mustafin (2012). "ASSESSMENT OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF MICRONIZED AND NANOSIZED ELEMENTAL SULFUR." **3**.

McLaughlin, M. J., F. Degryse, R. C. da Silva and R. Baird (2015). "Co-granulated elemental sulfur/sulfate fertilizers and their role in crop nutrition." *Better Crops with Plant Food* **99**: 7-10.

Rezaei, S., K. Khavazi, M. T. Nezami and S. Saadat (2015). "Effects of elemental sulfur and soil compaction on microbial biomass carbon and soil enzyme activities." *International Journal of Biosciences* **6**(3): 7-14.

Sierra, C., A. Lancelloti and I. Vidal (2007). "Elemental sulphur as pH and soil fertility amendment for some Chileans soils of Regions III and IV." *Agricultura Tecnica* **67**(2): 173-181.

Souri, B. and Z. Sayadi (2021). "Efficiency of Sulfur-Bentonite Granules to Improve Uptake of Nutrient Elements by the Crop Plant Cultivated in Calcareous Soil." Communications in Soil Science and Plant Analysis: 17.

Tabak, M., A. Lisowska and B. Filipek-Mazur (2020). "Bioavailability of Sulfur from Waste Obtained during Biogas Desulfurization and the Effect of Sulfur on Soil Acidity and Biological Activity." *Processes* **8**(7).

Visser, S. and D. Parkinson (1989). "Microbial respiration and biomass in soil of a lodgepole pine stand acidified with elemental sulphur." *Canadian Journal of Forest Research* **19**(8): 955-961.

Voberkova, S., M. D. Vaverkova, A. Buresova, D. Adamcova, M. Vrsanska, J. Kynicky, M. Brtnicky and V. Adam (2017). "Effect of inoculation with white-rot fungi and fungal consortium on the composting efficiency of municipal solid waste." *Waste Manag* **61**: 157-164.

Watkinson, J. H. and G. J. Blair (1993). "Modelling the oxidation of elemental sulfur in soils." *Fertilizer Research* **35**: 115-126.

Williams, J. S. and R. M. Cooper (2004). "The oldest fungicide and newest phytoalexin – a reappraisal of the fungitoxicity of elemental sulphur." **53**(3): 263-279.

Zhao, C., F. Degryse, V. Gupta and M. J. McLaughlin (2015). "Elemental Sulfur Oxidation in Australian Cropping Soils." *Soil Science Society of America Journal* **79**(1): 89-96.

Kontaktní adresa:

Ing. Martin Brtnický
Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1
613 00 Brno
Česká republika
e-mail: martin.brtnicky@mendelu.cz

Pěstování pšenice ve směsných kulturách s leguminózami pro zvýšení kvality zrna

Wheat cultivation in mixed cultures with legumes for grain quality enhancement

D. Janovská[1], G. Mühlbahová[1], I. Capouchová[2], R. Vavera[1], P. Hlásná Čepková[1]

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha
[2]Česká zemědělská univerzita v Praze

Abstrakt

V polním pokusu byly v konvenčním a ekologickém systému pěstovány směsi pšenice jarní, hrachu a bobu. Výnos hmoty i zrna pšenice byl v průměru nižší při ekologickém způsobu pěstování, kde byly navíc zjištěny vyšší podíly leguminóz v porovnání s konvenčním pěstováním. Pěstování pšenice ve směsi hrachu a bobu snižovaly v porovnání s pšenicí bez leguminóz výnos zrna pšenice zhruba o 0,7 – 0,8 t/ha. U pšenice a leguminóz pěstovaných samostatně v řádcích byl výnos zrna snížen až o 1,5-1,8 t/ha. Pro případné pěstování pšenice lze na základě dosavadních výsledků doporučit spíše pěstování pšenice ve směsi s leguminózou než v samostatných řádcích. I přes v průměru nižší dosažený výnos pšenice ve směsích, lze určit některé kombinace směsí pšenic, které výnos podstatně nesnížily. Obsah N-látek v sušině zrna dosahoval vysokých hodnot a pohyboval se mezi 12,65 % u konvenčního pěstování, podobně jako v ekologickém pokusu, kde byl obsah N-látek v sušině zrna v rozpětí od 10,87 % do 12,59 %. U variant vysetých způsobem row-by-row mírně vyššího obsahu N-látek a mokrého lepku v sušině zrna i vyšších hodnot Zelenyho testu. Z hodnocení vlivu směsného pěstování pšenice s leguminózami na jakost pšenice lze konstatovat, že efekt použitých druhů leguminóz na jakost pšenice byl nevýrazný. Pro potvrzení zjištěných trendů je nutné další testování pěstování pšenice ve směsných kulturách s leguminózami.

Klíčová slova: bob; hrách; jakost zrna, konvenční a ekologický systém; pšenice jarní

Abstract

In the field experiment, spring wheat was intercropped with peas and beans in a conventional and organic system. The yield of wheat biomass and grain was on average lower in the organic method of cultivation, where, in addition, higher proportions of legumes were found in comparison with conventional cultivation. Growing wheat with peas and beans reduced the wheat grain yield about 0.7 - 0.8 t/ha compared to wheat without legumes. In case of cultivation wheat and legumes separately in rows, the grain yield was reduced by up to 1.5-1.8 t/ha. For the possible cultivation of wheat, based on the results so far, it is possible to recommend the cultivation of wheat with legumes rather than in separate rows. Despite the lower average yield of wheat intercropped with legumes, it is possible to identify some combinations of wheat and legumes that did not significantly reduce the yield. The content of crude protein in the grain was high and ranged between 12.65% in conventional cultivation, similar to the ecological experiment, where the content of crude protein in the grain ranged from 10.87% to 12.59%. For variants sown in a row-by-row manner, a slightly higher content of crude protein and wet gluten in the grain as well as higher values of the Zelenyho test. From the evaluation of the influence of mixed cultivation of wheat with legumes on wheat quality, it can be stated that the effect of the used types of legumes on wheat quality was not significant. To confirm the identified trends, further testing of wheat cultivation in mixed cultures with legumes is necessary.

Keywords: bean; conventional and organic system; pea; quality of grain, spring wheat

Úvod

Pěstování obilnin ve směsné kultuře s luskovinami patří mezi pěstební techniky, které jsou považované za šetrné k půdním a vodním ekosystémům, snižují riziko poškození lidského zdraví používáním syntetických hnojiv a zároveň jsou schopné účinně potlačovat růst plevelů a získat vyšší výnosy (Jensen et al. 2020; Eskandari, 2011; Wasaya et al., 2013).

Pěstování plodin ve směsných kulturách není neznámou věcí. Tento způsob již dávno využívali např. jihoameričtí indiáni a využíván byl i na území Evropy. V poslední době zažívá v Evropě (zejména západní) určitou renesanci, právě s ohledem na současné probíhající klimatické změny a s nimi související rizika, ale i s ohledem na výhody pěstování směsí v porovnání s monokulturou. Pro tento způsob zakládání porostů se používá anglický výraz – intercropping – což je pěstování dvou a více plodin na jednom pozemku v oddělených řádcích, dvouřádcích nebo pásech (Glaze-Corcoran et al., 2020). Jednou z možností intercroppingu je pěstování leguminózy a pšenice ve spolukultuře. U obilovin vedl intercropping ke zvýšení kvality zrna a zvýšení výnosu, kdy rostliny využívaly až o 30 % efektivněji dusík než v monokultuře (Malézieux et al., 2009). Výsledky jsou součástí projektu, kde je cílem ověřit technologii pěstování pšenice jarní ve směsné kultuře s leguminózou a doporučit vhodnou skladbu směsí pro různé agroekologické podmínky pro zvýšení kvality zrna.

Materiál a metody

Do pokusů v roce 2020 byly vybrány 3 odrůdy pšenice jarní a to tak, aby zastupovaly jednotlivé kvalitativní třídy (E, B a C), po kterých je u pěstitelů nejvyšší poptávka. Byly založeny tři různé varianty, kdy byly odrůdy pšenice vysety samostatně, ve směsi odrůd pšenice s leguminózou a jednotlivé odrůdy pšenice v řádcích s leguminózou (Tab. 1). Stejné pokusy byly vysety v konvenčních i ekologických podmínkách. Výsevky odrůd pšenice byly stanoveny tak, aby samostatně nebo ve směsi s leguminózou byl 4 MKS/ha. U směsi dvou odrůd s leguminózou byl výsevek poloviční – každá odrůda ve variantě měla 2 MKS/ha.

V obou typech pokusu byly provedeny stejné agrotechnické zásahy – příprava půdy byla provedena kombinátorem, setí secím strojem Oyjord Wintersteiger, převláčení prutovými branami. V konvenčním typu pokusu bylo před setím aplikováno přihnojení dusíkem 100 kg N/ha ve formě UREAstabil. V ekologické variantě se ručně odstraňovaly plevele. Pokus byl proveden celkem ve třech opakováních. Plocha každé parcely byla 20 m2. Ve fázi kvetení rostlin byl proveden průběžný odběr rostlin ze dvou míst na každé parcele (2 x 0,25 m^2). Ve fázi pšenice BBCH 61 – BBCH 69 byly odebrány vzorky rostlin a to jak pšenice, tak leguminózy. Po sklizni byly odebrány ze všech sledovaných variant vzorky zrna, u kterých byla laboratorně stanovena objemová hmotnost, obsah N-látek a mokrý lepek v sušině zrna, sedimentační index – Zelenyho test a číslo poklesu.

Tab. 1 Kombinace pšenice jarní s leguminózou, Ruzyně, 2020

Způsob pěstování	Pšenice jarní (odrůda)	Leguminóza (odrůda)
Samostatně seté odrůdy	E (Alicia)	
	B (Toccata)	
	C (SG-S1544-15)	
Směsi	E+B (Alicia+Toccata)	hrách (Eso)
	E+C (Alicia+SG-S1544-15)	hrách (Eso)
	E+B (Alicia+Toccata)	bob (Merkur)
	E+C (Alicia+SG-S1544-15)	bob (Merkur)
	B+C (Toccata+SG1544-15)	hrách (Eso)
	B+C (Toccata+SG1544-15)	bob (Merkur)
	E (Alicia)	hrách (Eso)
	B (Toccata)	hrách (Eso)
	C (SG-S1544-15)	hrách (Eso)

Způsob pěstování	Pšenice jarní (odrůda)	Leguminóza (odrůda)
	E (Alicia)	bob (Merkur)
	B (Toccata)	bob (Merkur)
	C (SG-S1544-15)	bob (Merkur)
Řádky	E (Alicia)	hrách (Eso)
	B (Toccata)	hrách (Eso)
	C (SG-S1544-15)	hrách (Eso)
	E (Alicia)	bob (Merkur)
	B (Toccata)	bob (Merkur)
	C (SG-S1544-15)	bob (Merkur)

Výsledky a diskuse

Výnos suché hmoty jarní pšenicí a leguminózami (konvenční a ekologický systém)

Po usušení vzorků rostlin byl vyhodnocen výnos biomasy z jednotlivých variant (Obr. 1). Při konvenčním hospodaření byl výnos suché hmoty pšenice ve směsi s leguminózou srovnatelný (směs dvou odrůd pšenic a bobu) nebo cca o 0,5 t/ha vyšší (samostatné odrůdy pšenice s hrachem a bobem). Pouze při směsi dvou odrůd pšenic a hrachu byl výnos hmoty pšenice nižší cca o 0,5 t/ha. Naopak při pěstování v řádcích se výnos suché hmoty pšenice a hrachu nebo bobu snížil cca – 0,4-0,5 t/ ha. U těchto variant pěstování pšenice byl zaznamenán vyšší výnos suché hmoty leguminóz v porovnání s většinou leguminóz pěstovaných ve směsi. Pokud jde o směsi pšenic, kombinace pšenice kvality E+B dala při konvenčním způsobu pěstování vyšší výnos suché hmoty jak po pěstování s hrachem, tak bobem než kombinace s pšenicí kvality C. Kombinace pšenic kvality B a C pak dala celkově nižší výnos suché hmoty v porovnání s dalšími variantami pěstování pšenice. Pšenice kvality C samotná nebo ve směsi s hrachem nebo bobem dala jedny z nejvyšších výnosů suché hmoty. Pouze při pěstování v oddělených řádcích s leguminózou byl zjištěn u pšenice kvality C nižší výnos suché hmoty.
Pokud jde o pěstování směsí pšenice a leguminóz v ekologickém režimu, byl v této fázi růstu zaznamenán podobný trend, tedy nárůst suché hmoty pšenice v porovnání s variantami bez leguminóz. Vyšší výnos suché hmoty pšenice byl zjištěn při současném pěstování jedné odrůdy a leguminózy. Podobně jako u konvenčního způsobu pěstování, byl i v ekologickém režimu zjištěn nižší výnos suché hmoty pšenice při pěstování pšenice odděleně v řádcích. Na rozdíl od konvenčního způsobu pěstování byl u ekologického způsobu zjištěn nižší podíl leguminóz v porovnání s konvenčním způsobem pěstování.
Při ekologickém způsobu pěstování směsí pšenic byl u kombinace pšenic kvality E s pšenicí kvality B a C ve směsi s hrachem výnos suché hmoty vyšší než u kombinace B+C. U směsi s bobem byl nejvyšší výnos suché hmoty u kombinace pšenice kvality E+B, kombinace s pšenicí kvality C pak dávaly nižší výnos suché hmoty. Pěstování pšenice a leguminóz odděleně v řádcích výnos suché hmoty v průměru snižovalo. Celkově nejednoznačné výsledky byly zjištěny ve výnosech suché hmoty ve směsi kombinací pšenic s hrachem nebo bobem. Vyšší výnos suché hmoty byl zjištěn ve směsi pšenice kvality E a hrachu, C a hrachu a B a bobu. Stabilnější hmotnost suché hmoty byla zjištěna u pšenice kvality E, kde byl dosažen výnos suché hmoty 4,75 t/ha při pěstování s hrachem a 4,23 t/ha při pěstování s bobem. Výsledky budou nadále ověřovány.

Výnos zrna pšenice jarní

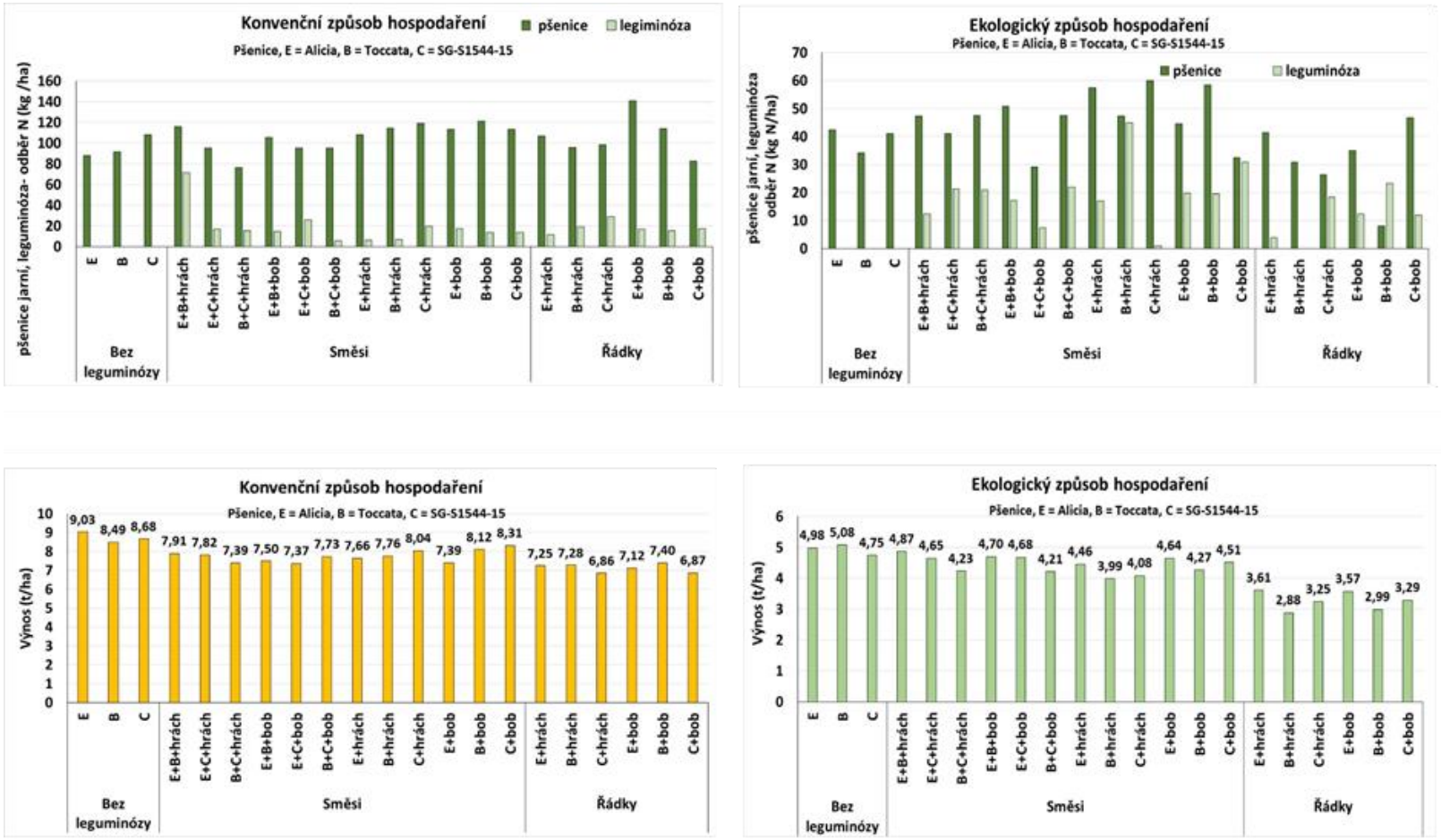
Výnos pšenice při konvenčním způsobu hospodaření s hnojením minerálním N byl vyšší než při ekologickém způsobu hospodaření v průměru o 3,54 t/ha (**Chyba! Nenalezen zdroj o dkazů.**1). Samostatně pěstovaná pšenice ozimá dosáhla jak při konvenčním, tak při ekologickém způsobu pěstování pšenice v průměru vyšší výnos než při pěstování v kombinaci s leguminózami, což je v souladu s výsledky (Hauggaard-Nielsen et al. 2003). Současně byl

zjištěn v průměru vyšší výnos při pěstování pšenice ve směsi než při pěstování pšenice a leguminóz v samostatných řádcích. Vliv vlastní leguminózy není zcela zřejmý, protože při ekologickém způsobu pěstování se výnos pšenic ať již ve směsi dvou pšenic nebo pouze jedné odrůdy ve směsi s hrachem nebo bobem většinou příliš nelišil a nelze ani konstatovat, že by při pěstování s hrachem nebo bobem byl standardně dosažen vyšší či nižší výnos. U konvenčního způsobu pěstování byly dosaženy výnosy mezi 8,49-9,03 t/ha u odrůd pšenice pěstovaných samostatně, 7,37-8,31 t/ha u směsí odrůd pšenice a leguminóz, kde podobně jako u ekologického způsobu pěstování nebyly příliš velké rozdíly mezi odrůdami pšenice ve směsi s hrachem nebo bobem. Nejnižší výnos pšenice byl dosažen při pěstování v oddělených řádcích odrůd pšenice a leguminóz (6,86 – 7,40 t/ha).

Jakostní hodnocení zrna pšenice

Jakostní parametry jarní pšenice z pokusu vedeném v ekologický systém jsou uvedeny v Tab. 2. Objemová hmotnost (OH) se pohybovala v rozmezí od 72,46 kg/hl (Toccata + hrách Eso, row-by-row) po 77,51 kg/hl (nšl. SG-S1544-15 + bob Merkur, směs). Celkově však byly hodnoty OH spíše nižší a min. požadavek pro pšenici potravinářskou (76 kg/hl) by splnily pouze 4 varianty z 21 hodnocených. Obsah N-látek v sušině zrna dosahoval i v ekologickém systému vysokých hodnot a pohyboval se mezi 10,87 % (Toccata, samostatně setá) po 12,59 % (SG-S1544-15 + bob Merkur, row-by-row). Z 21 variant by pouze 2 varianty nesplnily min. požadavek na obsah N-látek v sušině zrna pšenice potravinářské – pekárenské (11,5 %). Obsah mokrého lepku v sušině zrna se pohyboval v rozmezí od 21,48 % (Toccata, samostatně setá) po 27,85 % (Alicia, samostatně setá) a víceméně korespondoval s obsahem N-látek, ale ne vždy. V některých případech bychom očekávali, že vzhledem k vysokým hodnotám obsahu N-látek v sušině zrna by mohly být obsahy mokrého lepku v sušině zrna vyšší. V ekologickém systému se však stává, že obsah mokrého lepku není s obsahem N-látek v sušině zrna v úplném souladu, a to i přesto, že s ohledem na poměrně vysoké hodnoty Zelenyho testu bychom neočekávali žádný problém. Jak již bylo uvedeno, hodnoty Zelenyho testu byly příznivé a pohybovaly se mezi 33 ml (Toccata, samostatně setá) po 44 ml (Alicia + hrách Eso, row-by-row). Minimální požadavek na Zelenyho test pšenice potravinářské – pekárenské (30 ml) by splnily všechny hodnocené varianty. Číslo poklesu dosahovalo u všech variant vysokých hodnot a pohybovalo se mezi 322 – 400 s.

Hodnocení konvenční varianty je uvedeno v Tab. 3. OH se pohybovala v rozmezí od 74,15 kg/hl (Toccata + bob Merkur, row-by-row) po 78,90 kg/hl (Alicia + bob Merkur, směs). Pouze 6 variant z 21 hodnocených by nesplnilo min. požadavek na OH pro pšenici potravinářskou (76 kg/hl). Obsah N-látek v sušině zrna dosahoval vysokých hodnot a pohyboval se mezi 12,65 % (Toccata + bob Merkur, směs) po 13,92 % (SG-S1544-15 + bob Merkur, row-by-row). Všechny hodnocené varianty by splnily min. požadavek na obsah N-látek v sušině zrna pro pšenici potravinářskou – pekárenskou. Obsah mokrého lepku v sušině zrna se pohyboval v rozmezí od 25,11 % (Toccata, samostatně setá) po 34,38 % (Alicia + hrách Eso, směs). Hodnoty Zelenyho testu byly velmi vysoké, výrazně vyšší oproti ekologickému systému a pohybovaly se v rozmezí od 40 ml (Toccata, samostatně setá) po 60 ml (Alicia + hrách Eso, row-by-row). Číslo poklesu dosahovalo u všech variant opět vysokých hodnot a pohybovalo se mezi 302 – 409 s.



Obr. 1: Odběr N jarní pšenice a leguminózy (kg/ha) a výnosy jednotlivých variant pokusu s jarní pšenicí v konvenčním a ekologické m způsobu hospodaření na lokalitě Praha Ruzyně v roce 2020

Tab. 2: Jakostní parametry jarní pšenice (ekologický systém), Ruzyně, 2020

Varianty	Způsob setí	Objemová hmotnost (kg/hl)	Obsah N-látek v sušině zrna (%)	Obsah mokrého lepku v sušině zrna (%)	Zelenyho test (ml)	Číslo poklesu (s)
Alicia + hrách Eso	Row-by-row	74,75	12,38	26,77	44	400
Toccata + hrách Eso	Row-by-row	72,46	12,23	24,80	43	374
SG-S1544-15 + hrách Eso	Row-by-row	74,35	12,56	25,57	43	354
Alicia + bob Merkur	Row-by-row	74,23	12,07	26,75	42	373
Toccata + bob Merkur	Row-by-row	73,15	11,98	26,72	41	377
SG-S1544-15 + bob Merkur	Row-by-row	74,17	12,59	25,66	38	374
Alicia	Samostatně setá	77,15	11,25	27,85	35	353
Toccata	Samostatně setá	73,46	10,87	21,48	33	357
SG-S1544-15	Samostatně setá	75,75	11,89	23,68	36	335
Alicia + Toccata + hrách Eso	Směs	75,55	11,86	25,63	36	363
Alicia + SG-S1544-15 + hrách Eso	Směs	75,42	12,51	27,10	37	359
Alicia + Toccata + bob Merkur	Směs	75,13	11,75	25,32	37	363
Alicia + SG-S1544-15 + bob Merkur	Směs	75,15	12,17	25,03	34	385
Toccata + SG-S1544-15 + hrách Eso	Směs	74,95	12,26	25,54	34	327
Toccata + SG-S1544-15 + bob Merkur	Směs	74,76	12,05	24,74	38	339
Alicia + hrách Eso	Směs	76,43	11,65	23,81	40	383
Toccata + hrách Eso	Směs	72,05	11,87	24,16	38	351
SG-S1544-15 + hrách Eso	Směs	75,35	12,43	25,32	39	322
Alicia + bob Merkur	Směs	77,40	11,91	26,70	38	376
Toccata + bob Merkur	Směs	74,74	11,77	25,43	39	382
SG-S1544-15 + bob Merkur	Směs	77,51	12,33	23,41	41	397

Tab. 3: Jakostní parametry jarní pšenice (konvenční systém), Ruzyně, 2020

Varianty	Způsob setí	Objemová hmotnost (kg/hl)	Obsah N-látek v sušině zrna (%)	Obsah mokrého lepku v sušině zrna (%)	Zelenyho test (ml)	Číslo poklesu (s)
Alicia + hrách Eso	Row-by-row	77,62	13,73	34,03	60	382
Toccata + hrách Eso	Row-by-row	74,35	13,14	29,86	50	349
SG-S1544-15 + hrách Eso	Row-by-row	76,36	13,93	31,80	53	360
Alicia + bob Merkur	Row-by-row	76,45	13,73	34,05	55	365
Toccata + bob Merkur	Row-by-row	74,15	13,50	31,73	52	350
SG-S1544-15 + bob Merkur	Row-by-row	76,45	13,92	32,09	55	315
Alicia	Samostatně setá	79,00	13,07	30,69	51	359
Toccata	Samostatně setá	74,65	11,82	25,11	40	302
SG-S1544-15	Samostatně setá	77,42	13,55	31,15	46	343
Alicia + Toccata + hrách Eso	Směs	77,05	13,47	33,45	54	356
Alicia + SG-S1544-15 + hrách Eso	Směs	77,90	13,57	31,31	54	380
Alicia + Toccata + bob Merkur	Směs	76,45	12,97	31,54	49	357
Alicia + SG-S1544-15 + bob Merkur	Směs	77,50	13,49	31,73	51	348
Toccata + SG-S1544-15 + hrách Eso	Směs	75,86	13,41	30,97	46	361
Toccata + SG-S1544-15 + bob Merkur	Směs	76,34	13,34	30,41	50	367
Alicia + hrách Eso	Směs	78,11	13,81	34,38	58	362
Toccata + hrách Eso	Směs	75,15	12,85	28,56	58	345
SG-S1544-15 + hrách Eso	Směs	76,64	13,55	29,93	59	409
Alicia + bob Merkur	Směs	78,90	13,68	32,66	57	382
Toccata + bob Merkur	Směs	75,05	12,65	28,90	46	364
SG-S1544-15 + bob Merkur	Směs	77,41	13,81	31,92	48	398

Závěr

Ze vzájemného porovnání výsledků obou způsobů pěstování je zřejmé, že hodnocené varianty z ekologického systému se od variant z konvenčního způsobu pěstování zřetelně odlišovaly a dosáhly nižší objemové hmotnosti, obsahu N-látek a mokrého lepku v sušině zrna i hodnot Zelenyho testu. Zřetelný je v obou systémech pěstování i vliv odrůd – Alicia a nšl. SG-S1544-15 dosahovaly zpravidla znatelně lepších výsledků nežli odrůda Toccata. Vliv způsobu výsevu (row-by-row, směs) již tak zřetelný nebyl, nicméně lze pozorovat určitý trend, na základě kterého (především v ekologickém systému) zpravidla dosahovaly hodnocené varianty vyseté způsobem row-by-row mírně vyššího obsahu N-látek a mokrého lepku v sušině zrna i vyšších hodnot Zelenyho testu. Z hodnocení vlivu směsného pěstování pšenice s leguminózami na jakost pšenice lze konstatovat, že efekt použitých druhů leguminóz na jakost pšenice byl nevýrazný a nejednoznačný; u odrůd pšenice pěstovaných samostatně, bez leguminóz, byly sice často zaznamenány nižší hodnoty sledovaných jakostních parametrů, ale rozdíly mezi nimi a „směsnými“ variantami s leguminózami byly zpravidla nepatrné. Co se týče vlastních leguminóz, nelze říci, že by se některá varianta projevovala stabilně lépe než jiná. Pokus byl proto opakován i v roce 2021 k dosažení dalších výsledků a k potvrzení či vyvrácení trendu.

Literatura

Eskandari, H. 2011. Intercropping of wheat (*Triticum aestivum*) and bean (*Vicia faba*): effects of complementarity and competition of intercrop components in resource consumption on dry matter production and weed growth. African Journal of Biotechnology 10:17755-17762.

Hauggaard-Nielsen, H., Ambus, P., Jensen, E.S. (2003). The comparison of nitrogen use and leaching in sole cropped versus intercropped pea and barley. Nutrient Cycling in Agroecosystems 65:289–300.

Hauggaard-Nielsen H, Jørnsgård B, Kinane J, Jensen ES (2008) Grain legume – cereal intercropping: the practical application of diversity, competition and facilitation in arable and organic cropping systems. Renewable Agriculture and Food Systems 23:3–12.

Malézieux E, Crozat Y, Dupraz C et al (2009) Mixing plant species in cropping systems: concepts, tools and models. A review. Agronomy for Sustainable Development 29:43–62.

Jensen, E.S., Carlsson, G., Hauggaard-Nielsen, H. 2020. Intercropping of grain legumes and cereals improves the use of soil N resources and reduces the requirement for synthetic fertilizer N: A global-scale analysis. Agronomy for Sustainable Development 40: 5.

Wasaya, A., Ahmad, R., Hassan, F.U., Ansar, M., Manaf, A., Sher, A. 2013. Enhancing crop productivity through wheat (*Triticum aestivum* L.) – fenugreek intercropping system. Journal of Animal and Plant Sciences, 23: 210-215.

Glaze-Corcoran, S., Hashemi, M., Sadeghpour, A., Jahanzad, E., Afshar, R. K., Liu, X., et al. (2020). Understanding intercropping to improve agricultural resiliency and environmental sustainability. *Adv. Agron*. 162, 199–256. doi: 10.1016/bs.agron.2020.02.004

Poděkování

Tato práce byla finančně podpořena projektem NAZV QK1910046 Národní Agentury pro Zemědělský výzkum MZe ČR.

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

Vyhodnotenie družicového a bezpilotného prieskumu pre plošný monitoring stavu porastov obilnín

Evaluation of satellite and unmanned survey for area monitoring of cereal crops

Horniaček I.[1], Lukas V.[1], Neudert L.[1], Duffková R.[2], Smutný V.[1]

[1]Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Mendelova univerzita v Brně
[2]Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, Praha

Abstrakt

Cieľom štúdie je vyhodnotenie multispektrálnych snímok z bezpilotného zariadenia (UAV) a z voľne dostupných satelitných dát na diagnostiku nutričného stavu ozimnej pšenice formou poľného pokusu uskutočneného v roku 2020 na poliach poľnohospodárskeho podniku ZD Kojčice (Pelhřimov, Česká republika) s výmerou spolu 28,3 ha. Monitorovanie prebiehalo v dvoch vegetačných fázach dôležitých pre aplikáciu dusíkatých hnojív na obilniny (steblovanie-BBCH 31, metanie-BBCH 51). Vzorky rastlín boli odobraté v náhodnej mriežke na stanovenie obsahu dusíka a celkového množstva nadzemnej biomasy. Súčasne sa uskutočňovalo snímkovanie pomocou UAV a z internetu boli prevzaté voľne dostupné bezoblačné satelitné snímky. Štatistické vyhodnotenie korelačnou analýzou ukázalo silný vzťah medzi pozorovanými parametrami plodín a vegetačnými indexmi oboch metód diaľkového snímania. Na odhad odberu dusíka boli najcitlivejšie korelácie dosiahnuté indexmi s red edge spektrom (NDRE, NRERI), na druhej strane najvyššiu citlivosť s množstvom nadzemnej biomasy dosiahli NDVI a SRI index.

Kľúčové slová: diaľkový prieskum Zeme, vegetačné indexy, bezpilotné prostriedky, satelitné monitorovanie, presné poľnohospodárstvo

Abstract

The aim of the study is to evaluate multispectral images from an unmanned aerial vehicle (UAV) and freely available satellite data to diagnose the nutritional status of winter wheat in a field experiment conducted in 2020 in the fields of ZD Kojcice (Pelhrimov, Czech Republic) with a total area of 28.3 ha. Monitoring took place in two vegetation phases important for the application of nitrogen fertilizers to cereals (stem elongation-BBCH 31, heading-BBCH 51). Plant samples were taken in a random grid to determine the nitrogen content and the total amount of aboveground biomass. At the same time, UAV imaging was performed and freely available cloudless satellite images were downloaded from the Internet. Statistical evaluation by correlation analysis showed a strong relationship between the observed crop parameters and vegetation indices of both methods of remote sensing. For the estimation of nitrogen uptake, the most sensitive correlations were achieved by indices with red edge spectrum (NDRE, NRERI), on the other hand, the highest sensitivity with the amount of aboveground biomass was achieved by the NDVI and SRI index.

Keywords: remote sensing, vegetation indices, unmanned aerial vehicles, satellite monitoring, precision agriculture

Úvod

Udržateľné a tým aj hospodárske poľnohospodárstvo si vyžaduje presné prispôsobenie prírodným a ekonomickým podmienkam. Slnečné svetlo, prírodné zásoby vody, vlastnosti pôdy a dopyt na trhu nie sú vôbec rovnomerné. Aj v malých regiónoch alebo v rámci fariem môže

existovať odlišná kvalita pôdy, zásobovanie vodou a ďalšie faktory ovplyvňujúce kvalitu výsledných poľnohospodárskych komodít. Poľnohospodári tomu prispôsobujú svoje postupy už po stáročia (Heege 2013). Tieto postupy okrem iného zahŕňajú manažment plodín špecifický pre danú lokalitu a monitorovanie vegetácie diaľkovým prieskumom zahŕňajúcim satelitné pozorovanie a letecký prieskum bez posádky. Systém diaľkového prieskumu Zeme pozostáva z niekoľkých častí, ako sú: prístrojové vybavenie na diaľkové snímanie, spracovanie a analýza získaných údajov, pravidelné monitorovanie dôležitých aspektov Zeme a konečná interpretácia výsledkov (Dwivedi 2017).

Bezpilotné vzdušné prostriedky (UAV) vybavené špeciálnymi snímačmi sú vhodnými snímacími zariadeniami, ktoré dopĺňajú používané moderné technológie. Účelom týchto senzorov je zachytiť rozsiahle obrázky vo vysokom rozlíšení, ktoré môžu pomôcť monitorovať a hodnotiť rôzne vegetačné charakteristiky. V poľnohospodárskych UAV môžeme použiť niekoľko typov senzorov pre rôzne parametre plodín, ktoré chceme monitorovať. Hlavnými podmienkami, ktoré musia snímače spĺňať sú : malé rozmery, nízka hmotnosť a nízka spotreba energie (Tsouros et al. 2019).

Satelity sa v poľnohospodárstve používajú od začiatku 70. rokov 20. storočia po zavedení programu Landsat 1 (Mulla 2013). Tieto obrázky sa v histórii používali napríklad na mapovanie typov plodín, hodnotenie stavu a odhadovanie oblastí plodín. S dnešnými citlivými satelitnými senzormi však môžeme určiť charakteristiky vegetácie, ako je stres, obsah živín alebo škody spôsobené krupobitím alebo škodcami (Wójtowicz et al. 2016). Údaje v štúdii pochádzajú zo satelitov Sentinel - 2A a Sentinel - 2B, ktoré nesú oba identické senzory skenovaním z viditeľného do krátkovlnného infračerveného žiarenia v 13 spektrálnych pásmach s priestorovým rozlíšením 10, 20 a 60 m na pixel s časovou frekvenciou 4-6 dní v strednej Európe (Segarra et al. 2020).

Cieľom tejto štúdie bolo porovnať použitie bezpilotného leteckého multispektrálneho zobrazovania a satelitného zobrazovania na odhad agronomicky relevantných parametrov plodín obilnín s cieľom zlepšiť účinnosť postupov manažmentu plodín.

Materiál a metódy

Experimentálna oblasť

Údaje pre štúdiu boli zozbierané v roku 2020 na lokalite Kojčice (Pelhřimov, Česká republika, 49,473 N, 15,254 E) na dvoch vybraných poliach so zimnou pšenicou. V roku 2020 sa štúdia uskutočnila na poliach „Makyti“ s rozlohou 12,1 ha s priemernou nadmorskou výškou 487,6 m n.m. So sklonom 3,5 ° a „U Mouček“ s rozlohou 16,2 ha s priemerná nadmorská výška 543,9 m n.m. a sklonom 3,7 °.

Odber vzoriek rastlín

Terénny monitoring pozostáva zo vzorkovania v nepravidelnej mriežke a ich následnej analýzy v laboratóriu. Spracovanie dát v laboratóriu sa zameriava na vyhodnotenie hodnôt koncentrácií nadzemnej porastovej biomasy (suchá) a dusíka v rastlinách. Toto hodnotenie sa robí z hľadiska dvoch dôležitých vegetačných stupňov, a to - steblovanie (BBCH 31) a metanie (BBCH 51). V roku 2020 sa zo zimnej pšenice odobrali vzorky na 41 odberných miestach. Vzorky rastlín boli odobraté z dvoch štvorcov 0,5 m x 0,5 m na miesto odberu. Vzorky rastlín sa analyzovali v laboratóriu, aby sa stanovil obsah dusíka (%) a celkové množstvo nadzemnej suchej biomasy ($t.ha^{-1}$). Tieto dva parametre boli vstupom pre výpočet indexu výživy dusíka (NNI) na základe výpočtu podľa Lemaire. NNI predstavuje stav dusíka rastlín, NNI <1 naznačuje nedostatočné hnojenie N, NNI> 1 nadmerné dusičnaté hnojenie (Lemaire et al. 2008).

Letecký prieskum bez posádky

Súčasne so vzorkovaním rastlín spoločnosť Skymaps s.r.o. (Brno, Česká republika) vykonala multispektrálny letecký prieskum pomocou UAV vybaveného multispektrálnou kamerou MicaSense Altum. Fotoaparát zaznamenáva obrazové údaje vo viditeľnej (RGB), červenej hrane (RE) a blízkej infračervenej (NIR) časti spektra vrátane merania prichádzajúceho žiarenia pomocou DLS na normalizáciu svetelných podmienok. Pred každým letom bola kamera kalibrovaná pomocou odrazového panelu podľa štandardnej rutiny odporúčanej výrobcom kamery. Získané obrázky boli spracované fotogrametrickým softvérom Agisoft Metashape, aby sa získala ortomosaika s priestorovým rozlíšením 18 cm na pixel. Súbor siedmich indexov širokopásmovej vegetácie bol vypočítaný v ESRI ArcGIS; táto štúdia zahŕňa dve z nich: NDVI a NDRE. Vďaka vysokému priestorovému rozlíšeniu obrázkov bola vypočítaná priemerná hodnota všetkých hodnôt pixelov v 2 m nárazníkovej zóne okolo každého vzorkovacieho bodu. Štatistické vyhodnotenie vzťahu medzi parametrami závodu a leteckým prieskumom bolo vykonané korelačnou analýzou a výpočtom regresnej rovnice v softvérovom štatistickom programe Tibco Statistica.

Satelitné diaľkové snímanie pomocou údajov zo Sentinel - 2

Obrázky Sentinel - 2 boli vybrané ako bezoblačné a získané blízko dátumu odberu vzoriek rastlín. Voľne dostupné dátové balíčky boli stiahnuté ako atmosféricky opravené údaje (úroveň L2A) z úložiska scihub ESA, prevzorkované na 10 m priestorové rozlíšenie pomocou nástroja ESA SNAP a sada vegetačných indexov bola neskôr vypočítaná automatizovaným algoritmom v ESRI ArcGIS. Pre každý bod (sieť bodov zo vzorkovania prízemných rastlín) bola získaná hodnota pixelov vegetačných indexov zo Sentinel - 2. Získané údaje boli exportované do Excelu a následne bolo korelačne vykonané štatistické vyhodnotenie vzťahu medzi parametrami rastlín a satelitným prieskumom analýza a regresná rovnica v Tibco Statistica.

Výsledky a diskusia

Popisná štatistika výsledkov laboratórnych analýz vzoriek rastlín pre obe sledované polia „Makyti“, „U Mouček“ a dva fenologické stupne (BBCH 31 a 51) je uvedená v tabuľke 1. Koeficienty variability (CV) ukazujú najvyššiu variabilitu v pole „U Mouček“ (BBCH 31), čo zodpovedá vyššej priestorovej ploche tohto poľa (16,2 ha) v porovnaní s poľom „Makyti“ (12,1 ha). Vyššia variabilita parametrov rastlín bola dosiahnutá vo fáze (BBCH 51), pri všetkých sledovaných parametroch došlo k zvýšeniu variability o 5-10% na poliach so pšenicou ozimnou. Priemerná hodnota indexu NNI bola podobná pre obidve vegetačné rastové stupne na sledovaných lokalitách so pšenicou ozimnou (2020). Nutričný stav indikovaný NNI sa zvýšil v štádiu záhlavia (BBCH 51).

Opisné štatistiky ďalej ukazujú, že priemerné hodnoty suchej biomasy sú v oboch poliach medzi poliami vyvážené. V prípade experimentálnej oblasti „Makyti“ je nárast suchej biomasy v priemere 6,25 $t.ha^{-1}$ a v oblasti „U Mouček“ je o niečo nižší, konkrétne 5,92 $t.ha^{-1}$. Pokiaľ ide o percento dusíka vo vzorkách rastlín, hodnoty medzi experimentálnymi pozemkami a dvoma dátumami odberu vzoriek sú tiež vyrovnané s rozdielom v poklese v čase. V oblasti „Makyti“ došlo k poklesu dusíka v rastlinách o 1,33% a v oblasti „U Mouček“ došlo k poklesu dusíka o 1,25%, čo zodpovedá zrieďovaciemu účinku dusíka rastom obilnín (Lemaire et al. 2008) .

Tabuľka 2: Popisná štatistika sledovaných lokalít

Makyti	BBCH 31				BBCH 51			
	Biomasa ($t.ha^{-1}$)	N (%)	NNI	Nupt ($kg.ha^{-1}$)	Biomasa ($t.ha^{-1}$)	N (%)	NNI	Nupt ($kg.ha^{-1}$)
Počet	20	20	20	20	20	20	20	20
Priemer	1,80	3,00	0,72	54,13	8,05	1,67	0,78	135,78
Medián	1,72	3,00	0,71	50,76	8,19	1,60	0,74	136,35
Minimum	1,11	2,42	0,54	34,08	5,18	1,18	0,52	77,53
Maximum	2,44	3,69	0,89	78,29	12,16	2,37	1,21	230,71
Std	0,39	0,26	0,09	12,64	1,71	0,33	0,19	43,42
CV (%)	21,53	8,61	12,39	23,36	21,19	19,95	24,06	31,98
U Mouček	BBCH 31				BBCH 51			
	Biomasa ($t.ha^{-1}$)	N (%)	NNI	Nupt ($kg.ha^{-1}$)	Biomasa ($t.ha^{-1}$)	N (%)	NNI	Nupt ($kg.ha^{-1}$)
Počet	21	21	21	21	21	21	21	21
Priemer	1,91	3,15	0,78	60,24	7,83	1,90	0,88	150,94
Medián	1,93	3,14	0,77	58,82	7,48	1,98	0,90	148,35
Minimum	1,03	2,60	0,58	35,95	3,80	1,37	0,58	66,90
Maximum	2,86	3,88	1,04	89,58	13,41	2,32	1,25	275,16
Std	0,44	0,33	0,12	15,78	2,16	0,30	0,20	52,77
CV (%)	23,25	10,48	15,09	26,20	27,56	15,55	22,45	34,96

V tabuľke 2 sú uvedené výsledky korelačnej analýzy medzi hodnotami vegetačných indexov z diaľkového prieskumu a biofyzikálnymi parametrami rastlín. Korelácie Sentinelu-2 vegetačné indexy vykazujú vo väčšine prípadov vyššiu citlivosť s indexmi biomasy NDVI a SRI a vyššiu citlivosť na dusík s indexmi obsahujúcimi spektrálne pásy s červeným okrajom. Výsledky z obrázkov UAV ukazujú podobný trend. Citlivosť na množstvo suchej nadzemnej biomasy je vyššia v prípade indexov NDVI a SRI, čo potvrdili aj Boiarskii a Hasegawa (Boiarskii, Hasegawa 2019). Boiarskii a Hasegawa poukazujú aj na korelácie indexu NDRE s obsahom chlorofylu v rastlinách, ktorý udáva obsah dusíka v listoch, čo bolo potvrdené v tejto štúdii, kde indexy NDRE a RENDVI lepšie korelujú s percentuálnym príjmom dusíka a odberom dusíka.

Tabuľka 2: Korelačné koeficienty medzi parametrami plodín a indexmi vegetácie vypočítané z UAV a satelitného prieskumu

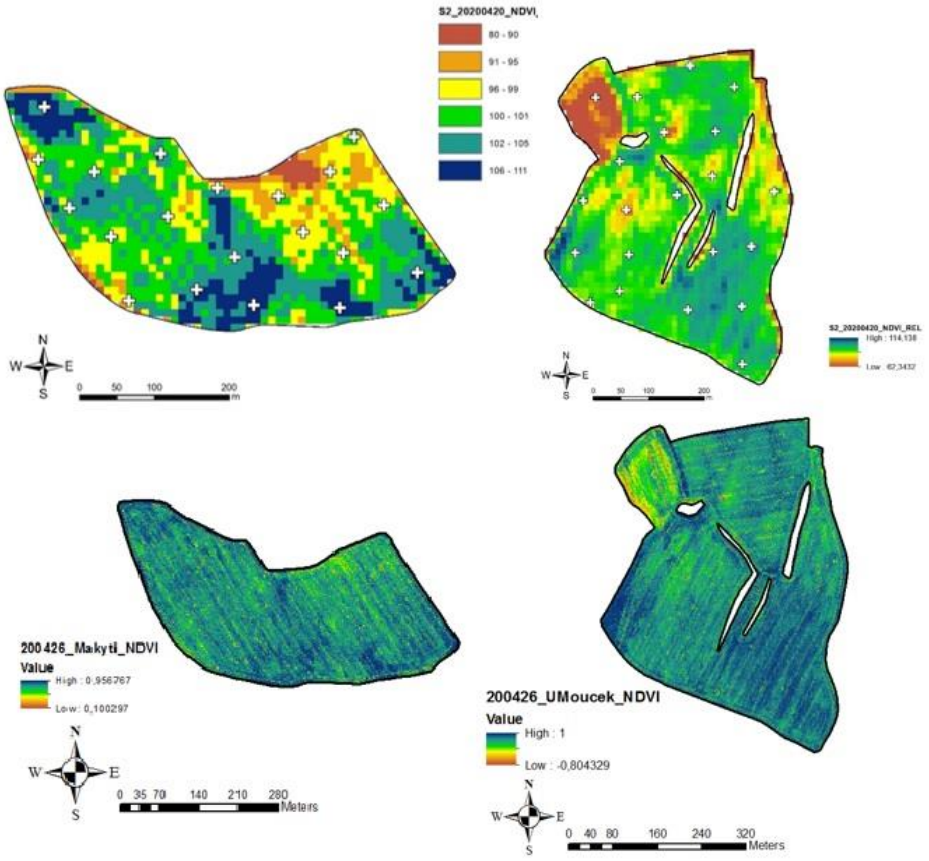
		UAV				SENTINEL — 2			
Miesto	Porastové parametre	NDRE	NDVI	RENDVI	SRI	NDRE	NDVI	RENDVI	SRI
Makyti BBCH 31	Biomasa (t.ha^{-1})	0,78	0,70	0,72	0,77	0,74	0,85	0,64	0,84
	N (%)	-0,02	-0,11	-0,10	0,02	0,11	0,02	-0,18	0,04
	NNI	0,62	0,50	0,52	0,63	0,64	0,69	0,42	0,70
	Nupt (kg.ha^{-1})	0,74	0,64	0,65	0,74	0,73	0,81	0,58	0,82
Makyti BBCH 51	Biomasa (t.ha^{-1})	0,58	0,56	0,62	0,64	0,12	0,08	0,36	0,29
	N (%)	-0,03	-0,07	0,00	0,03	-0,38	-0,51	-0,46	-0,42
	NNI	0,24	0,19	0,27	0,31	-0,29	-0,40	-0,25	-0,23
	Nupt (kg.ha^{-1})	0,40	0,36	0,44	0,48	-0,16	-0,26	-0,03	-0,04
U Mouček BBCH 31	Biomasa (t.ha^{-1})	0,55	0,55	0,55	0,55	0,81	0,74	0,86	0,75
	N (%)	0,17	0,17	0,19	0,19	-0,12	-0,16	0,18	-0,10
	NNI	0,51	0,53	0,54	0,53	0,52	0,46	0,73	0,50
	Nupt (kg.ha^{-1})	0,56	0,57	0,58	0,58	0,70	0,63	0,85	0,66
U Mouček BBCH 51	Biomasa (t.ha^{-1})	0,54	0,58	0,53	0,56	0,64	0,59	0,70	0,64
	N (%)	0,29	0,28	0,23	0,28	0,24	0,27	0,43	0,36
	NNI	0,48	0,51	0,47	0,50	0,52	0,51	0,67	0,60
	Nupt (kg·ha^{-1})	0,53	0,56	0,52	0,55	0,61	0,58	0,73	0,66

Tabuľka 3 uvádza porovnanie vegetačných indexov vypočítaných z oboch metód diaľkového snímania. V tomto prípade môžeme z tabuľky vyčítať nedostatočné hodnoty korelácií medzi danými diaľkovými prieskumami v rámci jednotlivých experimentálnych plôch ale aj v čase. Jednou z príčin odchýlky môže byť priestorové rozlíšenie snímok - veľkosť pixelov satelitných údajov je 10 m (plocha 100 m^2) a zahŕňa oveľa väčšiu heterogenitu oblasti a plodín ako veľkosť pixelov UAV s veľkosťou 18 cm (hoci hodnoty pixelov UAV) boli agregované 2 m nárazníkovou zónou okolo bodu odberu). Svoju úlohu môžu hrať aj rozdiely v jednotlivom spektrálnom pásme a v strede vlnovej dĺžky medzi oboma senzormi spolu s možným vplyvom atmosférického efektu, ktoré neboli odstránené algoritmom sen2cor v údajoch L2A Sentinel – 2

Tabuľka 3: Korelačné koeficienty medzi vegetačnými indexmi vypočítané z leteckého prieskumu bez posádky a prieskumu Sentinel - 2

Miesto/BBCH	NDRE	NDVI	RENDVI	SRI
Makyti BBCH 31	0,73	0,64	0,38	0,83
Makyti BBCH 51	0,42	0,47	0,45	0,65
U Mouček BBCH 31	0,62	0,57	0,71	0,49
U Mouček BBCH51	0,37	0,50	0,59	0,57

Obrázok 1: Mapy experimentálnych polí „Makyti“ (vľavo), „U Mouček“ (vpravo) zozbierané z diaľkového prieskumu Sentinel - 2 (hore) a leteckého bezpilotného prieskumu (dole), biele krížiky predstavujú miesta vzorkovania



Obrázok 1 v hornej časti ukazuje hodnotenie súčasného stavu na základe percentuálneho rozloženia vegetačného indexu NDVI z multispektrálneho obrazu Sentinel - 2 (relatívne hodnoty). Obrázky sú z obdobia BBCH 31 (20.04.2020). V spodnej časti vidíme letecké snímky z bezpilotného prieskumu prepočítaného na vegetačný index NDVI, ktoré dokumentujú nerovnováhu porastov na monitorovaných pozemkoch. Obrázky sú z obdobia BBCH 31 (26.04.2020), pre rok 2020 nasnímané multispektrálnym senzorom MicaSense Altum. Elbl a kol. (Elbl a kol. 2018) ukazujú implementáciu diaľkovo snímaných údajov do postupov hospodárenia s plodinami vo forme aplikácie dusíka s premenlivou rýchlosťou. Na výhodu vysokého priestorového rozlíšenia poukazujú Rodriguez-Moreno a kol. (Rodriguez-Moreno a kol. 2017).

Záver

Monitorovanie vitality pšenice ozimnej počas vegetačného obdobia je rozhodujúce pri obhospodarovaní plodín špecifických pre danú lokalitu, hlavne pre správne povrchové úpravy dusíka. Výsledky tejto štúdie poukazujú na využitie diaľkového snímania vo forme satelitného monitorovania a leteckého prieskumu bez posádky na hodnotenie agronomicky dôležitých parametrov ozimnej pšenice v dvoch fenologických fázach - predĺženie stonky (BBCH 31) a záhlavie (BBCH 51). Vyššia citlivosť na NNI a Nupt bola dosiahnutá z vegetačných indexov Sentinel - 2 dáta potom z UAV snímok. Potvrdil sa aj vplyv celkovej rastlinnej nadzemnej biomasy na nutričný stav rastlín, koncentrácia dusíka v rastlinách nebola z pozorovaných vegetačných indexov väčšinou štatisticky významná.

Korelačná analýza oboch diaľkovo snímaných metód ukázala vyššiu citlivosť indexov satelitnej vegetácie, počítaných hlavne zo spektrálnych pásiem s červeným okrajom (NDRE, RENDVI). Priame porovnanie indexov Sentinel - 2 a UAV nepreukázalo blízky vzťah, pravdepodobne kvôli rozdielom v priestorovom rozlíšení v kombinácii s vyššou heterogenitou porastu plodín, rozdielom v konfigurácii vlnových dĺžok spektrálnych pásiem a/alebo atmosférickým vplyvom.

Dedikácie

Táto štúdia bola podporená Internou grantovou agentúrou Agronomickej fakulty Mendelovej univerzity v Brne ako výskumný projekt AF-IGA2021-IP088.

Použitá literatúra

Boiarskii B., Hasegawa H., Comparison of NDVI and NDRE Indices to Detect Differences in Vegetation and Chlorophyll Content, International Conference on Applied Science, Technology and Engineerin. 2019, pp 20-29.

Dwivedi R.S., Remote Sensing of Soils, Jawaharlal Nehru Technological University, India, 2017, pp 32-36.

Elbl, J., Lukas, V., Kintl, A., Kynický, J., Brtnický, M. Variable – rate nitrogen application in wheat production on the basis of satellite images analysis to increase yield and reduce environmental risks. In. 18th International Multidisciplinary Scientific Geoconference, SGEM 2018, International Multidisciplinary Scientific Geoconference, 2018, p. 725-732.

Heege H.J., Precision in Crop Farming. Site Specific Concepts and Sensing Methods: Applications and Results, University of Kiel, Germany, 2013.

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.

Mulla D.J., Twenty five years of remote sensing in precision agriculture: Key advances and remaining knowledge gaps. Biosystems Engineering. 2013;114:358-371.

Rodriguez-Moreno, F., Kren, J., Zemek, F., Novak, J., Lukas, V., Pikl, M. Advantage of multispectral imaging with sub-centimeter resolution in precision agriculture: generalization of training for supervised classification. Precision Agriculture. 2017, vol. 18, no. 4, pp. 615-634.

Segarra J., Buchaillot M.L., Araus J.L., Kefauver S.C., Remote Sensing for Precision Agriculture : Sentinel-2 Improved Features and Applications, a review. Agronomy, 2020, pp 1-18.

Tsouros D.C., Bibi S., Sarigiannidis P.G., A Review on UAV-Based Applications for Precision Agriculture, a review. Information, 2019, pp 1-26.

Wójtowicz M., Wójtowicz A., Piekarczyk J., Application of remote sensing methods in agriculture. Communications in Biometry and Crop Science, 2016, pp 31–50.

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

Porovnání vybraných znaků kozince cizrnovitého a kozince sladkolistého

Comparison of selected charakters of *Astragalus cicer* and *Astragalus glycyphyllos*

Hutyrová H. [1], Frei I.[1], Pelikán J. [2]

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

Abstrakt
Hodnocení vybraných morfologických znaků podmiňujících výnos semen, může být zdrojem významných informací pro pěstitele. V roce 2020 jsme se zaměřili na sledování a porovnání vybraných znaků u druhu kozinec cizrnovitý (*Astragalus cicer* L.) a kozinec sladkolistý (*Astragalus glycyphyllos* L.). Oba druhy se od sebe odlišují ve znacích počet lusků v květenství, délka lusku, šířka lusku, počet semen v lusku a hmotnost tisíce semen (HTS). U ostatních hodnocených znaků, kterými jsou počet květenství na lodyze, počet květů v květenství, délka květenství a šířka květenství nebyl mezi zkoušenými druhy zjištěn statisticky průkazný rozdíl.
Klíčová slova: *Astragalus*, výnos semen, květenství, hmotnost tisíce semen

Abstract
Evaluation of selected morphological characters determining seed yield can be a source of important information for growers. In 2020, we focused on monitoring and comparing selected traits of the species *Astragalus cicer* L. and *Astragalus glycyphyllos* L. Both species differ from each other in characters of the number of pods in the inflorescence, the length of the pod, the width of the pod, the number of seeds in the pod and thousand-seed weight. For the other evaluated characters, which are the number of inflorescences on the stem, the number of flowers in the inflorescence, the length of the inflorescence and the width of the inflorescence, no statistically significant difference was found between the tested species.
Key words: *Astragalus,* seed yield, inflorescence, thousand-seed weight

Úvod

Od roku 1980 trvá Evropský program pro genetické zdroje zemědělských plodin, jenž koordinuje práce s genetickými zdroji v Evropě. Ke konci 90. let 20. století se Genová banka stala hlavním koordinátorem Národního programu konzervace a využití genofondu rostlin. Nezbytným předpokladem genetických zdrojů pro jejich efektivní a praktické využití je jejich hodnocení (Dotlačil (ed.), 2013). Podrobné hodnocení kolekcí a charakterizace GZR jsou zdrojem cenných informací pro šlechtitele, aplikovaný výzkum a vzdělávání.

Rostlinné druhy kozinec cizrnovitý (*Astragalus cicer*) a kozinec sladkolistý (*Astragalus glycyphyllos*) jsou pícninářsky perspektivní druhy vyskytující se v České republice. Podrobně je popisují Pelikán J., Hýbl M. et al. (2012). Gams (1924) uvádí, že skot i lesní zvěř rostliny s chutí přijímají, především jejich listy. Porovnání kozince cizrnovitého s vojtěškou provedli Gabrielsen a kol (1985), u nás Pelikán (1994). V USA a Kanadě jsou vyšlechtěny odrůdy kozince cizrnovitého, jak uvádějí Johnson a kol. (1975), Townsend (1980, 1990). Také v ČR je právně chráněna odrůda kozince cizrnovitého „Astra“.

Materiál a metody

V roce 2020 byly na k.ú. Troubsko během přípravy klasifikátoru pro popis druhů rodu *Astragalus* v rámci Národního programu konzervace a využití genofondů kulturních rostlin založeny plochy porostu kozince cizrnovitého a kozince sladkolistehé určeného k hodnocení vybraných znaků. Hodnoceny byli některé morfologické, výnosové a kvalitativní deskriptory. U deskriptorů počet květenství na lodyze, počet květů v květenství, délka květenství (v cm), šířka květenství (v cm), počet lusků v květenství, délka a šířka lusku (v mm), počet semen v lusku a hmotnost tisíce semen byly odhadnuty základní statistické charakteristiky sloužící k porovnání obou druhů. Srovnání bylo provedeno pro druhy kozinec cizrnovitý (*Astragalus cicer*) a kozinec sladkolistý (*Astragalus glycyphyllos*).

Výsledky a diskuse

Jak uvádí Nesvadba a Leišová-Svobodová (2019), k základním činnostem při práci s genetickými zdroji rostlin patří jejich hodnocení, které navazuje na jejich získávání, množení a dokumentaci pasportních dat. Základním cílen je získání informací o znacích, které jsou důležité pro uživatele. Cílem je jejich identifikace podle morfologických a jiných znaků. Oba druhy byli sledovány po celé vegetační období..Dosažené výsledky jsou uvedeny v tab. 1.

Tab. 1: Základní statistické charakteristiky některých znaků dvou druhů rodu *Astragalus*

		n	střední hodnota	Min. hodnota	Max. hodnota	Vx (%)	KI ($_{0,05}$) DH	KI ($_{0,05}$) HH
Počet květen-	*Astr. cicer*	15	6,65	2,20	10,60	46,54	5,24	8,06
ství na lodyze	*Astr. glycyphyllos*	12	8,47	2,00	14,40	44,94	6,50	10,44
Počet květů	*Astr. cicer*	12	21,82	15,40	39,80	34,23	17,95	25,69
v květenství	*Astr. glycyphyllos*	6	22,13	5,60	32,40	42,83	14,33	29,93
Délka květen-	*Astr. cicer*	11	3,27	2,28	4,74	21,91	2,88	3,66
ství	*Astr. glycyphyllos*	5	3,15	2,08	4,12	31,51	2,20	4,10
Šířka květen-	*Astr. cicer*	12	2,14	1,54	2,74	18,86	1,93	2,35
ství	*Astr. glycyphyllos*	5	2,35	1,96	2,72	14,76	2,02	2,68
Počet lusků	*Astr. cicer*	13	18,48	9,80	40,00	39,39	14,88	22,08
v květenství	*Astr. glycyphyllos*	11	11,25	8,20	14,60	18,98	10,08	12,42
Délka lusku	*Astr. cicer*	13	13,29	11,00	15,40	12,37	12,48	14,10
	Astr. glycyphyllos	11	33,91	27,00	41,80	10,53	31,96	35,86
Šířka lusku	*Astr. cicer*	13	10,66	9,40	13,60	14,01	9,92	11,40
	Astr. glycyphyllos	11	3,85	3,02	5,00	15,78	3,52	4,18
Počet semen	*Astr. cicer*	12	8,55	4,00	12,20	29,51	7,24	9,86
v lusku	*Astr. glycyphyllos*	10	17,86	14,80	20,60	10,16	16,81	18,91
HTS	*Astr. cicer*	14	3,33	2,89	3,69	6,66	3,22	3,44
	Astr. glycyphyllos	35	4,40	3,49	5,07	7,81	4,30	4,50

Tabulka uvádí následující hodnoty: četnost souboru pro daný znak (n), bodový odhad střední hodnoty souboru (střední hodnota), minimální a maximální hodnotu souboru, variační

koeficient udávající, kolik procent průměru představuje směrodatná odchylka (Vx %) a dále dolní hranici (DH) a horní hranici (HH) intervalového odhadu střední hodnoty (KI) při $P \leq 0,05$.

Oba druhy se od sebe odlišují ve znacích počet lusků v květenství (intervalový odhad střední hodnoty u druhu *A. glycyphyllos* se pohyboval od 10,08 do 12,42 a u druhu *A. cicer* od 14,88 do 22,08), délka lusku (intervalový odhad střední hodnoty u druhu *A. cicer* se pohyboval od 12,48 do 14,10 mm a u druhu *A. glycyphyllos* od 31,96 do 35,86 mm). Ve znaku šířka lusku se intervalový odhad střední hodnoty u druhu *A. cicer* se pohyboval od 9,92 do 11,40 mm a u druhu *A. glycyphyllos* pouze od 3,52 do 4,18 mm. Ve znaku počet semen v lusku se intervalový odhad střední hodnoty u druhu *A. cicer* se pohyboval od *7*,24 do 9,86 a u druhu *A. glycyphyllos* od 16,81 do 18,91. A konečně u znaku hmotnost tisíce semen (HTS), kde u druhu *A. cicer* se intervalový odhad pohyboval od 3,22 do 3,44 g a u druhu *A. glycyphyllos* od 4,30 do 4,50 g. U ostatních hodnocených znaků nebyl mezi zkoušenými druhy zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Jednalo se o znaky: počet květenství na lodyze, počet květů v květenství, délka květenství a šířka květenství. U znaku počet lusků v květenství se intervalový odkad střední hodnoty u druhu *A. glycyphyllos* pohyboval od 10,08 do 12,42 a u druhu *A. cicer* od 14,88 do 22,08.

Nejnižší hodnoty variačního koeficientu (V_x) a tím i nejvyšší vyrovnanost u obou druhů byla zjištěna u znaků délka a šířka lusku. Naopak největší nevyrovnanost u obou druhů byla zjištěna v počtu květů v květenství, v délce květenství, v počtu lusků v květenství a v počtu semen v lusku.

Závěr

Základním rozlišovacím znakem obou druhů je počet párů lístků v listu (*A. cicer* až 20 párů, *A. glycyphyllos* 4-7 párů), počet květů v květenství (*A. cicer* až 40 květů, *A. glycyphyllos* 20 (30) květů) a velikost a tvar lusku (*A. cicer* má lusk vejcovitý až široce elipsoidní, řídce až hustě chlupatý, *A. glycyphyllos* má lusk čárkovitý, srpovitě prohnutý, lysý).

V pokusech provedených v roce 2020 bylo prokázáno, že oba druhy se od sebe vedle habitu odlišují i ve znacích počet lusků v květenství, délka lusku, šířka lusku, počet semen v lusku a hmotnost tisíce semen. U ostatních hodnocených znaků rozdíly mezi druhy zjištěny nebyly. Nejvyšší variabilita u obou druhů byla zjištěna ve znacích počet květenství na lodyze a počet květů v květenství. U druhu *Astragalus cicer* byla dále zjištěna vysoká variabilita ve znacích počet lusků v květenství a počet semen v lusku. U druhu *Astragalus glycyphyllos* pak ve znaku délka květenství.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1721 a Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiversity č. 51834/2017-MZE-17253/6.2.2.

Literatura

Dotlačil L. (ed.).: 20 let Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity. Praha: Ministerstvo zemědělství, 2013. ISBN 978- 80-7434-132-8.

Gabrielson B.C., Smith D.H., Townsend C.E. (1985): Cicer milkveth and alfalfa as influenced by rwo cutting schedules. Agr. J.,77(3): 416-422

Gams H. (1924): Leguminose. In Hegi: Illustrierte Flora von Mitteleuropa. Bd. IV/3., Wien

Johnston A.,Smoliak S., Hanna M.R., Hironaka R. (1975): Cicer milkveth for western Canada. Agric. Can., Publ. 1536, 1-16

Nesvadba Z., Leišová-Svobodová L.: Srovnání vybraných parametrů sladovnické jakosti v genofondu ozimého ječmene, Obilnářské listy, str. 62-67, XXVII, ročník, č. 3-4/2019. Dostupné z www: https://www.vukrom.cz/userfiles/files/obilnarske_listy/2019/2019_3_4/62-67.pdf

Pelikán J., Hýbl M. et al. (2012): Rostliny čeledi *Fabaceae* LINDL. (bobovité) České republiky. 1. vyd., Vydavatelství Ing. Petr Baštan, Olomouc, 230 s., ISBN 978-80-905080-2-6

Pelikán J. (1994): Výnosový potenciál a kvalita kozince cizrnovitého (Astragalus cicer L.). Roč. Genet. zdroje rastlín, VŠP Nitra, 57 – 61 ISBN 80-7137-218-8

Townsend C.E. (1988): Registration of Monarch cicer milkveth (Reg. No. 20). Crop. Sci., 20: 670-671

Townsend C.E. (1990): Registration of four Germplasm lines of cicer milkveth. Crop. Sci. , 30(2), 428-429

Kontaktní adresa:

Mgr. Helena Hutyrová
Zemědělský výzkum spol. s r. o.
Zahradní 1
664 41 Troubsko
hutyrova@vupt.cz

Stanovení pesticidů triazinového a neonikotinoidového typu ve vzorcích archivních a recentních půd metodou uhplc-ms/ms

Determination of triazine and neonicotinoid types of pesticides in archival and recent soil samples by UHPLC-MS/MS method

Jágr M.[1], Dvořáček V.[1], Čermák P.[1], Schilling B.[2], Hangen E.[2]

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha-Ruzyně
[2]Bavarian State Office for the Environment (LfU),
Hans-Högn Straße 12, Hof 950 30, Germany

Abstrakt
Cílem této studie bylo prozkoumat obsahy perzistentních triazinových herbicidů a neonikotinoidových insekticidů ve vzorcích archivních i nových půd z více než 50 lokalit ležících na pomezí Česko-Bavorského pohraničí. K tomuto účelu byla použita extrakce pesticidů z půd metodou QuEChERS následovaná analýzou za pomocí ultravysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s elektrosprejovou ionizací a tandemovou hmotnostní spektrometrií s vysokým rozlišením typu kvadrupól-Orbitrap (UHPLC-Q-Orbitrap). Touto metodou byla detekována škála 15 reziduí výše uvedených pesticidů včetně některých jejich metabolitů. Ukázalo se, že většina vzorků obsahuje vícečetný koktejl pesticidů. Hladiny jednotlivých pesticidů v některých vzorcích půd překročily koncentraci 0,01 µg/g. Nejčastěji detekovanými pesticidy byly triaziny a především jejich transformační produkty. Naopak zjištěné koncentrace neonikotinoidů ve vzorcích byly velmi nízké až nulové.
Klíčová slova: hmotnostní spektrometrie, pesticidy, triaziny, neonikotinoidy

Abstract
The aim of this study was to investigate the contents of persistent triazine herbicides and neonicotinoid insecticides in samples of archival and new soils from more than 50 localities on the Czech-Bavarian border. For this purpose, extraction of pesticides from soils by QuEChERS method followed by analysis by ultra-high performance liquid chromatography in conjunction with electrospray ionization and tandem high-resolution quadrupole-orbitrap mass spectrometry (UHPLC-Q-Orbitrap) was used. This method detected a range of 15 residues of the abovementioned pesticides, including some of their metabolites. Most samples were found to contain multiple cocktails of pesticides. The levels of individual pesticides in some soil samples exceeded the concentration of 0.01 µg/g. The most frequently detected pesticides were triazines and especially their transformation products. In contrast, measured neonicotinoid concentrations were very low.
Keywords: mass spectrometry, pesticides, triazines, neonicotinoids

Úvod

Problematika sledování pesticidů v různých složkách životního prostředí (např. ve vzorcích půd, podzemní vod či potravin) je velmi rozsáhlá. Zvláštní skupinou často sledovaných pesticidů jsou pesticidy triazinového typu a pak také pesticidy neonikotinoidového typu. Triaziny jsou herbicidy hojně užívané proti dvouděložným plevelům, přičemž ve vyšších dávkách se stávají totálním herbicidem. Nejčastěji v minulosti užívaným herbicidem triazinového typu byl atrazin, jehož použití je v zemích EU od roku 2005 zakázáno. Dalším často užívaným triazinovým herbicidem je terbuthylazin a v minulosti i simazin [1]. Vzhledem k perzistentním vlastnostem triazinových pesticidů a jejich metabolitů dochází k pomalému odbourávání těchto látek a jejich hromadění v životním prostředí, např. v podzemních vodách

[2]. Neonikotinoidy jsou široce užívané systémové insekticidy, některé z nich (imidacloprid, thiamethoxam a clothianidin) byly nedávno v EU zakázané pro podezření z podílu na masovém úhynu včelstev a užitečného hmyzu [3]. Dalšími hojně používanými neonikotinoidy jsou acetamiprid a thiacloprid [4].
UHPLC-MS/MS (ultravysokoúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovým hmotnostním spektrometrem) představuje vzhledem ke koncentračním hladinám, ve kterých se sledované látky v analyzovaných matricích (např. vzorky půd) vyskytují, ideální nástroj pro jejich přesné, citlivé a rychlé stanovení [5,6]. Cílem této práce bylo použít rychlou, spolehlivou a citlivou UHPLC-MS/MS metodu k analýze širokého spektra pesticidů triazinového a neonikotinového typu v archivních i nových vzorcích půd z Česko-Bavorského pohraničí. Použitá metoda je jednoduchá, robustní a umožňuje spolehlivou detekci a stanovení vybraných pesticidů na úrovni citlivosti sub 1 ng/g.

Materiál a metody

Chemikálie a půdní materiál

Standardy pesticidů (atrazin, atrazin-2-OH, atrazin-desethyl, atrazin-desisopropyl, metamitron, propazin, simazin, terbuthylazin, terbuthylazin-desethyl, terbuthylazin-2-OH, acetamiprid, acetamiprid-N-desmethyl, clothianidin, dinotefuran, flonicamid, 6-chloronicotinic acid, imidacloprid, imidaclothiz, nitenpyram, thiacloprid, thiamethoxam a 1-methyl-3-nitroguanidine) byly nakoupeny od Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Methanol (LC-MS grade, ≥99,9 %) byl nakoupen od Riedel de Haën (Seelze, Německo). Kyselina mravenčí (LC-MS grade, 99%) byla od VWR (Leuven, Belgie). Ultra-čistá voda byla vyrobena v Milli-Q deionizačním systému (Millipore, Bedford, MA, USA). V březnu, dubnu a květnu 2020, dále pak v září a říjnu 2020 a následně v březnu a dubnu 2021 byly odebrány vzorky zemědělských půd z 55 reprezentativních lokalit v západní části ČR a 5 vybraných lokalit v Bavorsku. Na každé lokalitě, umístěné uprostřed reprezentativně obhospodařované plochy (orná půda, travní porost), byly odebrány vzorky z orničního profilu, (na každé lokalitě směsný vzorek vzniklý smícháním několika dílčích vpichů – vzorků). Půda byla dále homogenizována, vysušena na vzduchu za laboratorní teploty, rozmělněna, přesáta přes 2 mm síto a uchovávána v mrazáku při -18 °C před dalším zpracováním pro UHPLC-MS/MS analýzu. Podobně bylo postupováno i u archivních vzorků půd, které byly na stejných lokalitách odebrány v letech 2008-2009.

Příprava standardů, zpracování vzorků půd a UHPLC-MS/MS analýza

Kalibrační roztoky standardů pesticidů byly připraveny v methanolu v koncentračním rozmezí 1 - 10 000 ng.ml^{-1}. Roztoky byly skladovány v mrazáku (−18°C). Jako vnitřní standard byl užit atrazin-*d5*, simazin-*d10* pro triaziny a clothianidin-*d3*, imidacloprid-*d4* a thiamethoxam-*d3* pro neonikotinoidy, vše v koncentraci 100 ng.ml^{-1}. Pro stanovení obsahu pesticidních látek bylo vzato 5 g vzorku vysušené a prosáté půdy. Vzorky půdy byly extrahovány metodou QuEChERS za pomocí 15 ml extrakčního roztoku (voda a acetonitril v poměru 1:2) s přídavkem vnitřních standardů [7]. Pesticidy byly analyzovány v chromatografickém systému (Dionex UltiMate 3000 UHPLC systém) a k detekci byl použit hmotnostní spektrometr Q Exactive hybrid quadrupole-orbitrap (Thermo Fisher Scientific) s elektrosprejovou ionizací (HESI). Analýza pesticidů byla provedena na koloně Kinetex Polar C18 column (2,1 × 100 mm, 2,6 µm) od výrobce Phenomenex. Mobilní fáze: směs MeOH/voda (95/5) (s přídavkem 10 mM mravenčanu amonného a 0,125% kys. mravenčí) = A a voda (10 mM mravenčan amonný + 0,125% kys. mravenčí). Použitý gradient: 0-0,5 min: 1% A - isokraticky; dále 0,5-11 min: lineární grad z 1% A na 95% A; pak 11-13 min 100% A - isokraticky; následně 13-15 min 1% A - isokraticky. Průtok mobilní fáze byl nastaven na 0,35 ml/min, Injektovaný objem vzorku: 1µl. Látky byly monitorovány v PRM (parallel reaction monitoring) módu. Prekurzorové ionty

sledovaných látek byly fragmentovány v HCD kolizní cele za NCE energií uvedených v tabulce 1. Produkované fragmenty (kvantifikační a konfirmační iont) byly sbírány C-pastí při rozlišení 17 500 FWHM. AGC tagret value byla nastavena na hodnotu 2×10^5 a maximum ion injection time na čas 40 ms. NCE energie byla předem optimalizována pro každou látku zvlášť. Látky byly monitorovány a data byla zpracována za pomocí softwaru Xcalibur. Kvantifikace analytů v extraktu byla dosažena metodou kalibrační křivky s korekcí pomocí vnitřních standardů. Všechny vzorky byly analyzovány třikrát.

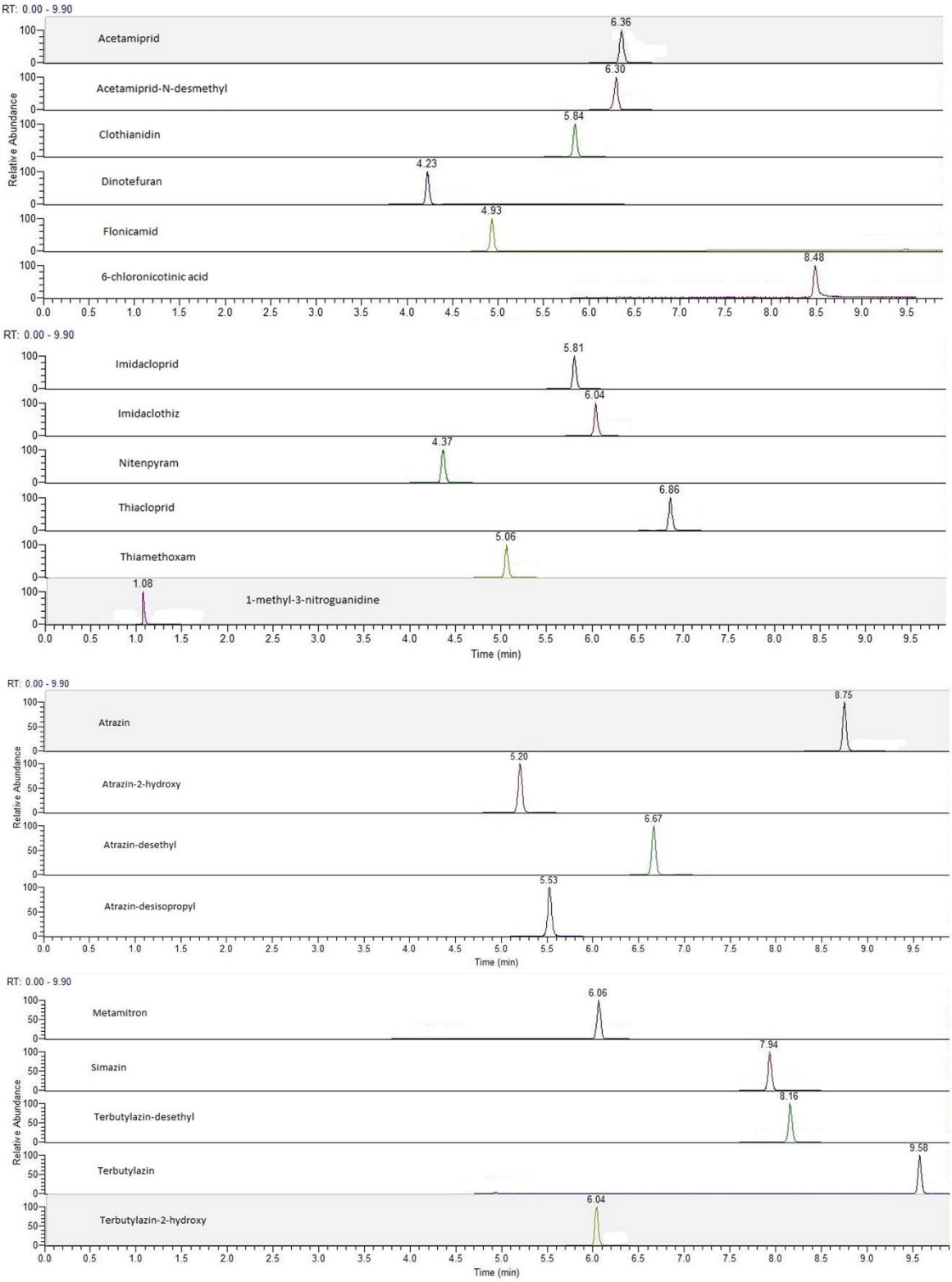
Výsledky a diskuze

Hodnoty a parametry použité pro MS/MS detekci neonikotinových a triazinových pesticidů a jejich metabolitů jsou uvedeny v tabulce1.

Tabulka 1: Přehled analyzovaných pesticidů neonikotinoidového a triazinového typu s informacemi o operačních parametrech: retenční čas (Rt), normalizovaná kolizní energie (NCE) a hodnoty m/z prekurzorových $[M+H]^+$, kvantifikačních a konfirmačních iontů.

Pesticidy-neonikotinoidy	Elem. Složení	Rt (min.)	NCE	Prekurzorový iont $[M+H]^+$	Kvantifikační iont (m/z)	Konfirmační iont (m/z)
Acetamiprid	C10H11ClN4	6,36	30	223,07450	126,01013	56,05012
Acetamiprid-N-desmethyl	C9H9ClN4	6,30	30	209,05885	126,01013	168,03154
Clothianidin	C6H8ClN5O2S	5,85	20	250,01600	169,05344	131,96642
Dinotefuran	C7H14N4O3	4,23	20	203,11387	129,08923	114,10237
Flonicamid	C9H6F3N3O	4,94	25	230,05357	203,04170	174,01535
6-chloronicotinic acid	C6H4ClNO2	8,48	25	158,00033	140,99970	95,04918
Imidacloprid	C9H10ClN5O2	5,81	20	256,05958	209,05779	175,09702
Imidaclothiz	C7H8ClN5O2S	6,04	20	262,01600	181,05319	131,96623
Nitenpyram	C11H15ClN4O2	4,36	15	271,09563	225,10150	196,06255
Thiacloprid	C10H9ClN4S	6,86	30	253,03092	126,01000	186,01297
Thiamethoxam	C8H10ClN5O3S	5,06	20	292,02656	211,06372	131,96642
1-methyl-3-nitroguanidine	C2H6N4O2	1,08	30	119,05635	104,96323	72,93751
Pesticidy-triaziny	**Elem. Složení**	**Rt (min.)**	**NCE**	**Prekurzorový iont $[M+H]^+$**	**Kvantifikační iont (m/z)**	**Konfirmační iont (m/z)**
Atrazin	C8H14ClN5	8,75	40	216,10105	174,05330	96,05568
Atrazin-2-hydroxy	C8H15N5O	5,20	45	198,13494	156,08728	114,06598
Atrazin-desethyl	C6H10ClN5	6,67	45	188,06975	146,02211	79,06110
Atrazin-desisopropyl	C8H8ClN5	5,53	60	174,05410	132,03172	96,05568
Metamitron	C10H10N4O	6,06	50	203,09274	175,09309	104,04939
Propazin	C9H16ClN5	9,40	45	230,11670	188,06950	104,00106
Simazin	C7H12ClN5	7,94	50	202,08540	124,08652	132,03177
Terbutylazin	C9H16ClN5	9,58	35	230,11670	174,05327	96,05573
Terbutylazin-2-hydroxy	C9H17N5O	6,04	30	212,15059	156,08720	86,03502
Terbutylazin-desethyl	C7H12ClN5	8,16	35	202,08540	146,02206	79,00599

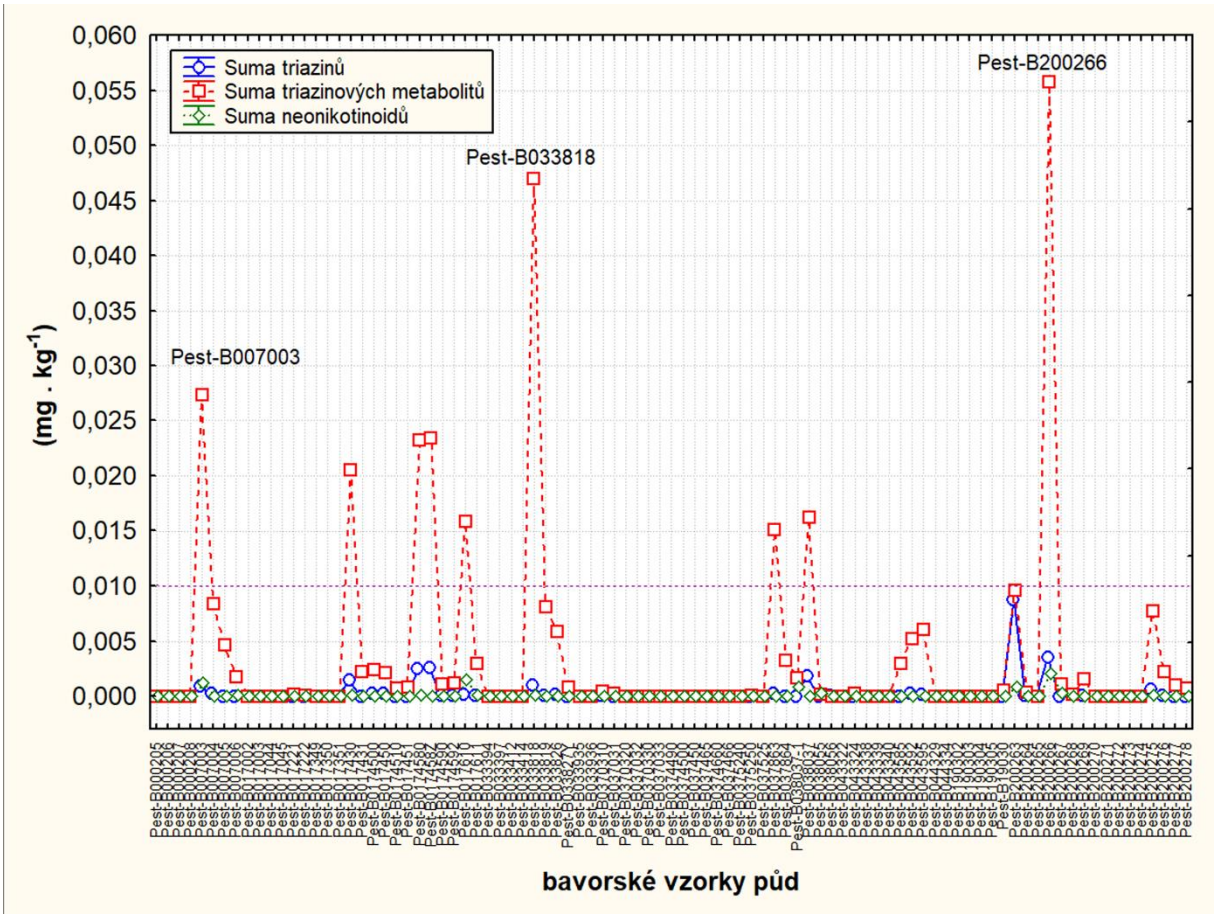
Na obr. 1 je uvedena ukázka chromatogramu UHPLC-MS/MS analýzy směsi standardů pesticidů uvedených v Tab. 1.



Obr. 1: PRM chromatogramy UHPLC-MS/MS analýzy směsi standardů pesticidů. Koncentrace standardů ve směsi: 0,1 µg/ml, dávkovaný objem vzorku: 1 µl

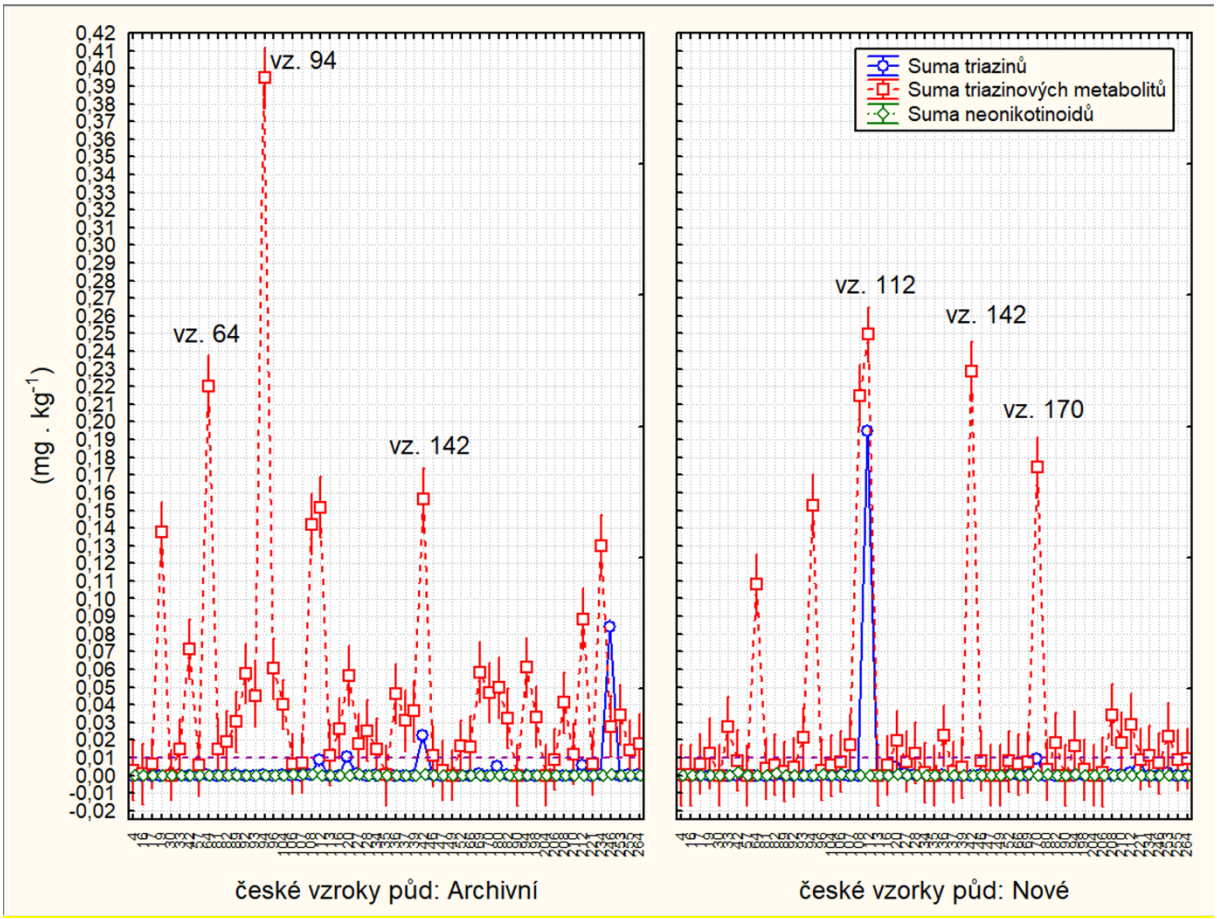
Sumární výsledky stanovení obsahu sledovaných pesticidů (celkem 22 látek) ve vzorcích bavorských půd jsou shrnuty na obr. 2. V těchto vzorcích bylo identifikováno celkem 15

pesticidů a jejich metabolitů (10 pesticidů z triazinové třídy, jmenovitě atrazin, propazin, simazin, terbuthylazin, a jejich metabolity: atrazin-2-OH, atrazin-desethyl, simazin-2-OH, terbuthylazin-2-OH, terbuthylazin-desethyl a terbuthylazin-desethyl-2-OH. Dále jsme ve vzorcích detekovali 5 pesticidů ze skupiny neonikotinoidů, jmenovitě clothianidin, imidacloprid, acetamiprid, thiacloprid a metabolit acetamiprid-N-desmethyl). V devíti vzorcích bavorských půd byla překročena hladina 0,01 mg.kg^{-1} pro sumu metabolitů triazinových pesticidů. Maximální množství triazinových metabolitů v jednom vzorku bavorské půdy dosahovalo hladiny 0,06 mg.kg^{-1}, což je vysoko nad uznávanou hladinou 0,01 mg.kg^{-1} pro jednotlivé pesticidy. Je třeba si ale uvědomit, že zde se jedná o součet všech zjištěných pesticidních látek.



Obr. 2. Suma obsahu triazinů, neonikotinoidů a jejich metabolitů ve všech vzorcích bavorských půd. Hodnoty jsou vyjádřené v mg.kg^{-1}

Stejné pesticidy včetně jejich metabolitů, jako ve vzorcích bavorských půd, se podařilo detekovat i ve vzorcích českých archivních i recentních půd odebraných z 55 lokalit v západních Čechách. Výsledky jsou shrnuty na obr. 3.



Obr. 3. Suma obsahu triazinů, neonikotinoidů a jejich metabolitů ve vzorcích českých archivních půd (vlevo) a českých recentních (nových) půd (vpravo). Hodnoty jsou vyjádřené v mg.kg^{-1}

Porovnáním obr. 2 a 3 můžeme zjistit, že sumární hladiny pesticidů, zejména triazinů a hlavně jejich metabolitů byly v některých českých vzorcích několikanásobně vyšší ve srovnání s bavorskými vzorky. Maximální zjištěná sumární hladina triazinových metabolitů v českých vzorcích činila 0,4 mg.kg^{-1}, což se zdá být již alarmující hodnota. Nejvyšší hladiny pesticidů byly detekovány v některých lokalitách orných půd, a to i opakovaně při porovnání vzorků, které od sebe dělila časová propast 12 let, jedná se např. o lokalitu č. 142, kde byly zjištěny vysoké hladiny triazinových metabolitů ve vzorcích odebraných během roku 2008 i v roce 2020. Některé zkoumané vzorky půd (celkem 12 lokalit) byly odebrány z míst deklarovaných zemědělci jako trvalý travní porost (TTP). A skutečně pozorovaná pesticidní zátěž těchto lokalit byla významně menší či nulová. Kromě jedné TTP lokality, ve které byly nalezeny zbytky triazinových metabolitů. Pravděpodobně se jedná o lokalitu, která byla dříve využívána jako orná půda. Zajímavé je i porovnání překročení sumy triazinových metabolitů ve vzorcích archivních i recentních českých půd. Zatímco hladina 0,01 mg.kg^{-1} byla u archivních vzorků českých půd překročena ve 41 lokalitách (z celkem 55), pak ve vzorcích recentních půd byl tento limit překročen „pouze“ na 20 lokalitách, což zcela jasně indikuje mírně klesající zátěž českých půd perzistentními triazinovými metabolity během posledních 12 let. Nejčastěji detekovanými látkami s nejvyššími pozorovanými hladinami byly hydroxy-triaziny (atrazin-2-OH, atrazin-desethyl, simazin-2-OH, terbuthylazin-2-OH), což je v souladu s jinou podobnou studií [7]. Odpovídá to zřejmě silné sorpci a významné perzistenci těchto látek v půdě. Nižší

pozorovaný výskyt desalkylovaných triazinů korespondoval opět s jejich vlastnostmi, které podmiňují jejich preferenci k vymývání do podzemní vody. Transformační produkty atrazinu a simazinu, které se v EU nepoužívají od zákazu v roce 2005 (tj. cca 15 let před odběry půd v současnosti), byly ve studovaných půdách nacházeny překvapivě často. Atrazin a simazin jsou látky významně toxické pro vodní prostředí, prioritní látky vodní politiky EU, podezřelé karcinogeny a endokrinní disruptory. Navzdory zákazu jsou atrazin a simazin, či jejich transformační produkty obecně často nacházeny jako kontaminanty evropských vod i půd. Přestože se nebezpečnost transformačních produktů může lišit od mateřských molekul, námi hladiny nalezené v českých orných půdách mohou být problematické, protože významně překračovaly dostupné limity: limity US EPA pro ochranu podzemní vody (0,0002 a 0,0003 mg/kg pro atrazin respektive simazin) [7].
Na závěr diskuse lze ještě zmínit pozorované nulové či pouze velmi malé (až stopové) zatížení českých i bavorských půd neonikotinoidy, včetně jejich metabolitů.

Závěr

Naše studie ukázala, že zemědělské půdy Česko-Bavorského pohraničí jsou kontaminovány četnými pesticidy, které se v půdách vyskytují jako vícenásobné směsi a to i v toxikologicky významných koncentracích. Nejvýraznější je výskyt perzistentních triazinových herbicidů a jejich metabolitů, zejména atrazinu-2-OH a terbuthylazinu-2-OH. Vyplývá z toho možnost, že poločas rozpadu těchto látek v půdě je vyšší (několik let) než jsou běžně deklarované hodnoty [8]. Výskyt neonikotinoidů v půdě byl vesměs minimální nebo žádný, což zřejmě souvisí s jejich významně kratším poločasem rozpadu.

Poděkování

Tato studie byla podpořena z projektu č. 220: „*Dopad zemědělské činnosti na kvalitu půdy a znečištění životního prostředí kontaminanty v česko-bavorském pohraničí*“, který je realizován na základě finanční podpory Programu přeshraniční spolupráce Česká republika – Svobodný stát Bavorsko: Cíl - Evropská územní spolupráce 2014-2020“.

Literatura

[1] http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/pripravky-na-or/ucinne-latky-v-por-statistika-spotreba/spotreba-pripravku-na-or/spotreba-v-jednotlivych-letech (Online, citace 30.9.2021)
[2] Mikulka J., Kneifelová M. Rizika kontaminace potravin a pitné vody herbicidy. (Online, citace 30.9.2021) http://www.phytosanitary.org/projekty/2003/vvf-12-03.pdf
[3] Henry M., B´eguin M., Requier F., Rollin O., Odoux J.F., Aupinel P., Aptel J., Tchamitchian S., Decourtye A. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees (2012) Science 336/6079, 348–350.
[4] Commission Directive No. 485/2013/EC(2013) Off. J. Eur. Com. L139, 12–26
[5] Scherr K.E., Bielská L., Kosubová P., Dinisová P., Hvězdová M., Šimek Z., Hofman J. Occurrence of chlortriazine herbicides and their transformation products in arable soils. (2017) Environ. Pollut. 222, 283-293.
[6] Zhou Y., Lu X., Fu X., Yu B., Wang D., Zhao C., Zhang Q., Tan Y., Wang X. Development of a fast and sensitive method for measuring multiple neonicotinoid insecticide residues in soil and the application in parks and residential areas (2018) Anal. Chim. Acta 1016, 19-28.
[7] Hvězdová M., Kosubová P., Košíková M., Scherr K.E., Šimek Z., Brodský L., Šudoma M., Škulcová L., Sáňka M., Svobodová M., Krkošková L., Vašíčková J., Neuwirthová N.,

Bielská L., Hofman J. Currently and recently used pesticides in Central European arable soils (2018) Sci.Total Environ. 613-614, 361-370.

[8] https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb (Online, citace 30.9.2021).

Kontaktní adresa:

RNDr. Michal Jágr, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6-Ruzyně
jagr@vurv.cz, tel. +420 608 860 524

Odhad doby sklizně kukuřice s využitím multispektrální kamery

Estimation of maize harvest time using a multispectral camera

Jambor V.[1], Janoušek J.[2], Marcoň P.[2], Dohnal P.[2], Raichl P.[2], Synková H.[1], Loučka R.[3]

[1]NutriVet, s.r.o. Pohořelice; [2]Vysoké učení technické v Brně, FEKT; [3]Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha Uhříněves

Abstrakt

Cílem výzkumu bylo experimentálně stanovit, zda je možné predikovat optimální dobu sklizně kukuřice. V týdenních intervalech byly z pole odebírány vzorky kukuřice k chemickým analýzám a porost byl skenován s využitím dronu s multispektrální kamerou. Z naměřených hodnot kamerou byly vytvořeny mapy odrazivostí, ze kterých byly počítány vegetační indexy, jejichž pomocí se usuzovalo na fenologickou fázi rostlin a plánovalo zahájení sklizně. Výsledky ukazují, že s využitím dálkového snímání porostu lze optimální dobu sklizně kukuřice predikovat.

Klíčová slova: dron, sušina, škrob, vegetační indexy

Abstract

The aim of the research was to experimentally determine whether it is possible to predict the optimal harvest time of corn. At weekly intervals, maize samples were taken from the field for chemical analysis and the maize crop was scanned using a drone with a multispectral camera. From the values measured by the camera, reflectance maps were created, from which the vegetation indices were calculated, with the help of which the phenological phase of the plants was judged and the start of the harvest was planned. The results show that the optimal harvest time can be predicted using remote sensing of maize crops.

Keywords: drone, dry matter, starch, vegetation indices

Úvod

Novinkou ve stanovení optimální doby sklizně pícnin je použití leteckého snímkování ultralehkým bezpilotním prostředkem s multispektrální kamerou k monitorování porostu. Pořízení snímků porostu z daného pozemku z výšky přináší ve většině případů zajímavé informace a souvislosti, kterých si při obchůzce nebo jednorázového odběru vzorků, byť i z několika míst, jen stěží povšimneme. Podstatou využití multispektrální kamery je skutečnost, že půda a vegetační pokryv odráží s rozdílnou intenzitou (popř. i vyzařuje) elektromagnetické záření. Odrazivost je závislá jak na druhu a stavu rostlin, tak na jejich hmotě. Multispektrální skener umožňuje snímat současně záření u několika vybraných vlnových délek, a to v celém rozsahu od viditelného spektra až po oblast tepelného záření.

Pokud se chtějí zemědělci dozvědět více o stavu svých plodin v průběhu jejich růstu, je běžným způsobem terénní průzkum, při kterém se odebere a analyzuje omezené množství vzorků. Osobní obcházení a ruční analýza plodin je ovšem pracná a časově náročná. Pole pro pěstování plodin ve většině případů nejsou homogenní a nelze tak přesně stanovit rozbory z celé plochy. Z toho důvodu nabízí přechod na dálkové snímání alternativu pro zjišťování stavu nevyrovnanosti plodin na rozsáhlém území za relativně krátký čas. Dálkové snímání poskytuje informaci o prostorových a časových změnách sledovaných veličin. Zemědělci mohou díky monitorování celého obhospodařovaného území snadno zohlednit rozdílné podmínky v rámci jednotlivých částí pozemků, které jsou jinými metodami průzkumu obtížně zachytitelné (Janoušek a kol., 2021).

Spektrální vegetační indexy jsou vypočítané jako poměry z odrazivosti jednotlivých vlnových délek. Na základě stavu porostu, např. jeho obsahu sušiny, se následně připraví aplikační mapa, která např. vymezí plochy, které budou během sklizně ošetřeny vybraným silážním přípravkem. Jsou ale i jiné možnosti využití, např. ve stanovení výšky rostlin, výnosu a zapojení porostu, listovou plochu, obsah chlorofylu v listech, případně informaci o stresových faktorech (žloutnutí listů, výskytu nemocí a škůdců).

Podstata spektrálního sledování povrchů rostlin slouží hlavně k hodnocení variability porostu. Huang a kol. (2021) ve svém příspěvku upozorňují na rizika neodborné interpretace vegetačních indexů. Jsou obecně užitečné, ovšem pokud jsou získány spolehlivými senzory a metodami zpracování dat. Stojí za zmínku, že každý vegetační index má atmosférické a senzorové efekty, a proto má také vysokou variabilitu a nízkou opakovatelnost nebo srovnatelnost.

Cílem výzkumu bylo experimentálně stanovit, zda je možné predikovat optimální dobu sklizně kukuřice a množství sklizené plodiny multispektrální kamerou, umístěnou na dronu.

Materiál a metody

Pokus proběhl v zemědělském podniku Bonagro Blažovice, a.s. na pozemku v nadmořské výšce 260 m. Materiálem pro studio byl porost kukuřice, hybrid LG Apotheos (FAO 500). V týdenních intervalech, se začátkem 12. srpna 2020, byly z pole odebírány vzorky kukuřice k chemickým analýzám. Každý vzorek byl ze tří míst z deseti po sobě jdoucích rostlinách se strništěm ve výšce cca 15 cm. Vzorky byly ihned po odběru na poli odvezeny a následně zpracovány v laboratoři firmy NutriVet s.r.o. v Pohořelicích metodami podle AOAC (2016). Obsah sušiny a obsah organických živin byl stanoven zvlášť pro zelenou hmotu a zvlášť pro palice. Výsledné hodnoty byly vypočítány váženým průměrem. I když bylo analyzováno více krmivářských ukazatelů, v rámci úspory místa pro tento článek je vyhodnocen pouze obsah škrobu, neutrální detergentní vlákniny (NDF) a déle stravitelnost NDF (SNDF) a stravitelnost organické hmoty (SOH).

Ve stejnou dobu jako odběr vzorků pro chemické analýzy byl zároveň porost skenován s využitím multispektrální kamery umístěné na dronu. Pro vytvoření letové trasy dronu byla využita aplikace Pix4D Capture (2021). Celková plocha sledovaného porostu měla tvar obdélníku o rozměrech 401 m x 331 m, tedy přibližně 13,2 ha. Celková dráha letu měla délku 4477 m. Prvotním krokem bylo pořízení dostatečného počtu různorodých dat pomocí multispektrální kamery umístěné na dronu. Pro kompenzaci odrazivosti bylo nutné provést před každým snímáním kalibraci snímačů pořízením snímků šedého kalibračního panelu se známými parametry konkrétního vlnového pásma: modrá 475 nm, zelená 560 nm, červená 668 nm, red-edge 717 nm a near infrared 840 nm. Z naměřených hodnot byly vytvořeny mapy odrazivostí, ze kterých byly počítány vegetační indexy. Odrazivost určuje poměr intenzity odraženého a dopadajícího slunečního záření v určité vlnové délce.

Pro vyhodnocení výsledků byly vybrány 3 vegetační indexy: NDVI (Normalized difference vegetation index), NDRE (Normalized difference red-edge index) a GNDVI (Green normalized difference vegetation index). NDVI zobrazuje hrubý odhad zdravotního stavu, resp. stresu vegetace a umožňuje odhad změn v produkci biomasy v prostoru a čase. NDRE umožňuje na polích s vysokou hustotou vegetace detailněji rozlišit úroveň jednotlivých produkčních zón. Index GNDVI je citlivý na změnu obsahu chlorofylu v plodině. Tyto 3 vegetační indexy jsou v praxi velmi žádané, protože zahrnují pásmo blízké infračervené oblasti (NIR). Největší podíl na přesnosti klasifikace výnosu biomasy kukuřice má NDRE.

Průběhy hodnot snímaných spektrálních pásem vytvoří spektrální křivku odrazivosti, která udává množství odraženého záření po celém pásmu snímaných vlnových délek. Odrazivost $\rho_{(\lambda)}$

určuje poměr intenzity odraženého $M_R\,(\lambda)$ a dopadajícího $M_i\,(\lambda)$ slunečního záření na určité vlnové délce.

$$\rho_{\,(\lambda)} = \frac{M_R\,(\lambda)}{M_i\,(\lambda)} \cdot 100\ [\%],$$

Rovnice pro výpočet normalizovaných vegetačních indexů jsou uvedeny např. v práci Ustuner a kol. (2014). U všech tří poměrových vegetačních indexů NDVI, NDRE a GNDVI probíhá výpočet stejným způsobem:

$$NDVI = \frac{\rho_{NIR} - \rho_{Red}}{\rho_{NIR} + \rho_{Red}},$$
$$NDRE = \frac{\rho_{NIR} - \rho_{RedEdge}}{\rho_{NIR} + \rho_{RedEdge}},$$
$$GNDVI = \frac{\rho_{NIR} - \rho_{Green}}{\rho_{NIR} + \rho_{Green}},$$

Normalizované vegetační indexy pouze obsahují různá spektrální pásma a komplexně tak tvoří průřez snímaných vlnových délek, viz obr. 1.
Za účelem nalezení ideální doby sklizně byly spočítány korelace mezi vegetačními indexy a výsledky chemických analýzy postupně podle fenofáze růstu zkoumaného porostu kukuřice.

Výsledky a diskuze

V tabulce 1 jsou průměrné hodnoty vybraných chemických analýz. Z údajů je patrné, že s postupující fenofází kukuřice se také zvyšuje její sušina. S rostoucím podílem zrna kukuřice se postupně zvyšuje podíl škrobu v celé rostlině. Ten je hlavním zdrojem energie sklízené rostliny. Ve zbylé části rostliny postupně dochází k výraznému poklesu SNDF. Mezi obsahem NDF a SNDF neexistuje korelace. Ideální sklizňové okno bylo z hlediska obsahu sušiny v celých rostlinách (mezi 32 a 35,5 %) v období mezi 4. až 6. odběrem vzorků, tedy zhruba v polovině září.

Tabulka 1: Laboratorní výsledky z provedených odběrů vzorků kukuřice pro jednotlivé fáze odběru

	Pořadí týdnů odběru vzorků kukuřice, začátek 12.8.2020							
Ukazatel	**1.**	**2.**	**3.**	**4.**	**5.**	**6.**	**7.**	**8.**
Sušina [%]	19,7	19,3	22,4	32,0	30,9	35,6	35,9	44,9
N-látky [% v suš.]	11,5	10,3	9,8	9,1	8,8	7,8	7,9	7,7
Škrob [% v suš.]	0,6	2,2	15,4	27,3	32,0	34,4	35,0	39,9
NDF [% v suš.]	68,4	64,0	59,9	40,3	45,2	41,0	43,2	44,8
SNDF [%]	43,6	51,6	55,6	54,3	52,7	58,9	56,2	52,4
SOH [%]	52,3	60,5	58,7	73,3	76,2	76,9	77,1	78,8
Výnos sušiny [t/ha]	13,7	14,3	19,0	27,1	24,5	28,0	28,2	26,2

Kde NDF = neutrální detergentní vláknina, SNDF = stravitelnost NDF, SOH = stravitelnost organické hmoty.

V tabulce 2 jsou hodnoty odrazivosti pro jednotlivá spektra kamery a vypočítané vegetační indexy. V infračervené oblasti spektra prokazuje vegetace pro Red-edge pásma 717 nm a NIR pásma 840 nm výrazně vyšší odrazivost než u viditelného spektra. V těchto spektrech jsou velmi dobře znatelné změny růstu v jednotlivých fázích růstu kukuřice. S postupem vyšší fenofáze rostlin odrazivost v pásmu NIR má rostoucí charakter, při dosažení maximální doby dochází v šestém týdnu odběru ke zlomu, rostliny stárnou (listy žloutnou) a odrazivost v tomto pásmu klesá.

Velmi důležitou informaci pro tento experiment jsou hodnoty vegetačních indexů NDVI, NDRE a GNDVI. Vždy se pohybují mezi 0 a 1, s postupem vegetační doby mají klesající tendenci. Index NDVI vykazoval vyšší hodnoty oproti zbývajícím vegetačním indexům, mají rozsah hodnot odrazivosti od 0,72 po 0,97 s průměrnou hodnotou 0,84. Index NDRE měl rozsah od 0,36 po 0,65, s průměrnou hodnotou 0,52. Index GNDVI měl rozsah od 0,64 po 0,84, s průměrnou hodnotou 0,77. GNDVI vykazoval nejmenší rozlišovací schopnost. Největšího rozptylu hodnot odrazivosti dosahoval NDRE, ze kterého jsou patrné rozdíly na širokém pásmu odrazivostí.

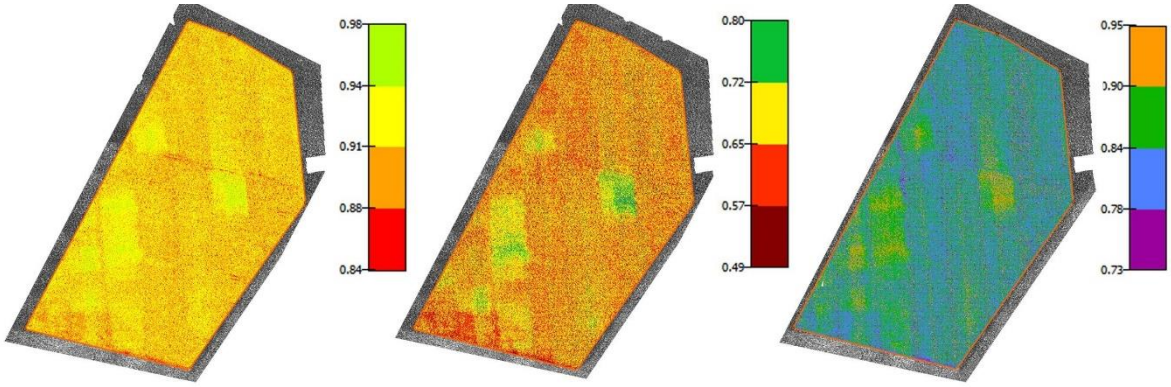
Obdobně Islam a Garcia (2014) prokázali, že relativní data NDVI lze použít k předpovědi výnosu sušiny v různé vegetační fázi rostlin kukuřice, pěstovaných na siláž. Jejich studie ale byla zaměřena hlavně na porovnání vlivu hnojení a zavlažování. Také práce Herrmann a kol. (2020) potvrdila možnost použití NDVI pro predikci výnosu sušiny v různé vegetační fázi rostlin kukuřice, pěstovaných na siláž. Jejich studie ale byla zaměřena hlavně na porovnání vlivu hybridu (testovali 19 hybridů). Zaměřili se ale na výnos zrna kukuřice a hmotnost klasu. Kromě toho, že byly spektrální modely schopny předpovídat výnos, byly schopny rozlišovat mezi různými vývojovými fázemi a zavlažovacími úpravami. I u této jejich studie chybí korelace s chemickými analýzami, i tato studie se zaměřila pouze na NDVI index. Především Ustuner a kol. (2014) doporučují vyhodnocovat kromě NDVI zároveň i NDRE a GNDVI.

Tabulka 2: Spektrální pásmová odrazivost a vegetační indexy

Odrazivost/ Vegetační indexy	Pořadí týdnů odběru vzorků kukuřice, začátek 12.8.2020							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Blue (modrá)	3	3	4	3	4	6	6	6
Green (zelená)	7	6	7	8	11	14	14	13
Red (červená)	1	3	3	4	8	10	9	9
Red-edge	16	14	15	17	29	39	30	26
Near infrared	57	59	60	62	83	88	68	43
NDVI	0,97	0,91	0,9	0,89	0,83	0,83	0,77	0,72
NDRE	0,59	0,65	0,60	0,57	0,50	0,46	0,39	0,36
GNDVI	0,82	0,84	0,79	0,77	0,81	0,76	0,74	0,64

Kde NDVI = Normalized difference vegetation index, NDRE = Normalized difference red-edge index a GNDVI = Green normalized difference vegetation Index

Na obrázku 1 jsou příklady vytvořených map porostu kukuřice ze zkoumaného pole v pátém týdnu snímání. Z obrázků je jasně patrné, že index NDRE nejvýrazněji označil na poli místa se zvýšenou hustotou vegetace.



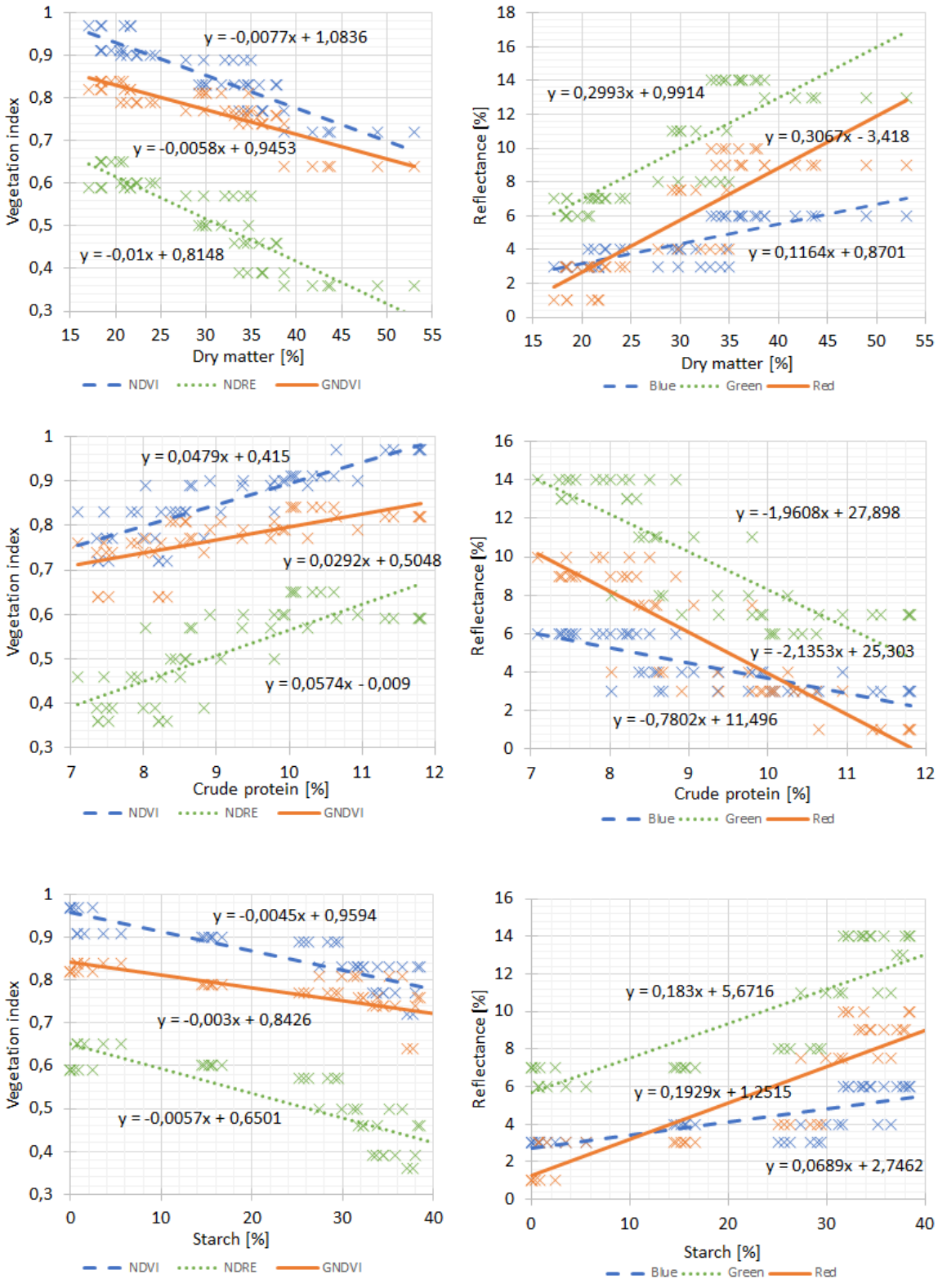
Obr. 1: Vytvořené mapy zkoumaného pole v pátém týdnu snímání. Zleva mapa vážená NDVI, NDRE, GNDVI

Následující grafy na obr. 2 znázorňují klasifikaci vegetačních závislostí, resp. lineární závislosti vybraných hodnot chemických rozborů kukuřice a sledovaných vegetačních indexů odrazivostí nebo vypočtených. Z chemických rozborů byla vybrána sušina, dusíkaté látky a obsah škrobu z důvodu zjištěných vysokých hodnot statistické významnosti v souvislosti se všemi sledovanými hodnotami snímkování a také jako nejvýznamnější organické živiny určující výslednou kvalitu sklízené kukuřice. U těchto hodnot organických živin s nejvýznamnějšími korelačními indexy jsou porovnávány vegetační indexy a významná spektrální pásma červené, zelené a modré.

Pro predikování optimální doby sklizně podle obsahu sušiny lze použít lineární závislost pro index NDRE ($y=-0{,}007 \cdot x+1{,}0836$), zatímco podle obsahu škrobu lineární závislost pro index NDVI ($y=-0{,}0045 \cdot x+0{,}9594$) vyplývá ideální hodnota pro 30 % škrobu hodnota 0,824 NDVI.

Kvalita pěstování kukuřice i její následné silážování má každý rok vysokou variabilitu vlivem povětrnostních podmínek, výběru vhodného hybridu s odpovídajícím číslem FAO (ranost kukuřice), kvality setí a způsobu ošetřování. Během růstu rostliny kukuřice dochází ke zvyšování obsahu sušiny, ale i k lignifikaci vlákniny. Díky nárůstu klasů dochází ke zvýšení obsahu škrobu v rostlině, čímž se ale v rostlině se snižuje obsah cukrů, které jsou přeměněny na škrob v zrnu. Z rostliny lehce silážovatelné se stává rostlina středně těžce silážovatelná. Z tohoto důvodu je potřeba zkrátit délku řezanky, aby vzniklou řezanku bylo možno dobře udusat, a tak z ní vytěsnit vzduch. Všechny tyto změny mají významnou úlohu při stanovení doby sklizně.

V zemědělské velkovýrobě se kukuřice pěstuje na velkých polích, prodlužuje se tak doba sklizně. Kukuřice se pak sklízí předčasně, případně je již přestárlá. Skenováním porostů lze sklizeň naplánovat tak, že je většina kukuřice sklízena v optimálním rozmezí sušiny.



Obr. 2: Lineární závislosti vegetačních indexů a odrazivosti spektrálních pásem u sušiny, dusíkatých látek a škrobu

Závěr

Experiment se zabýval mapováním stavu vegetace kukuřice pomocí leteckého snímkování multispektrální kamerou a porovnáním vypočtených vegetačních indexů s chemickými analýzami vzorků porostu. Ze získaných korelací lze usuzovat, že největší citlivost hodnot odrazivosti dosahoval index NDRE, naopak index GNDVI vykazoval nejmenší rozlišovací schopnost. Bylo potvrzeno, že optimální dobu sklizně lze predikovat s využitím dálkového snímání porostu kukuřice multispektrální kamerou v týdenním intervalu. Takto lze v heterogenních porostech docílit přesnějšího odhadu optimální doby sklizně než pomocí chemické analýzy několika málo vzorků z různých částí pole.

Poděkování

Příspěvek vznikl za podpory projektu QK1810137.

Literatura

AOAC (2016): Official methods of analysis of AOAC international, 20th edition. (https://www.techstreet.com/standards/official-methods-of-analysis-of-aoac-international-20th-edition-2016?product_id=1937367#product)

Herrmann, I., Bdolach, E., Montekyo, Y., Rachmilevitch, S., Townsend, P.A., Karnieli, A. (2020): Assessment of maize yield and phenology by drone-mounted superspectral camera. Precis. Agric. 21, 51–76, (doi:10.1007/s11119-019-09659-5)

Huang, S., Tang, L., Hupy, J.P., Wang, Y., Shao, G. (2021): A commentary review on the use of normalized difference vegetation index (NDVI) in the era of popular remote sensing J. Forestry Res. J. For. Res. 32(1), 1–6. (https://doi.org/10.1007/s11676- 020-01155-1)

Islam, M., Garcia, S. (2014): Prediction of dry matter yield of hybrid forage corn grown for silage. Crop. Sci. 54, 2362–2372, (doi:10.2135/cropsci2013.10.0710)

Janoušek, J., Jambor, V., Marcoň, P., Dohnal, P., Synková, H., Fiala, P. (2021): Using UAV-Based photogrammetry to obtain correlation between the vegetation indices and chemical analysis of agricultural crops. Remote Sens. 13, 1878-1898. (https://doi.org/10.3390/rs13101878)

Ustuner, M., Sanli, F.B., Abdikan, S., Esetlili, M.T. Kurucu, Y. (2014): Crop type classification using vegetation indices of RapidEye imagery. International archives of the photogrammetry, remote sensing and spatial information sciences XL-7, 195–198.

Kontakt:

Ing. Radko Loučka, CSc.

VÚŽV v.v.i., Přátelství 815,

104 00 Praha - Uhříněves

Telefon: 731650836

e-mail: loucka.radko@vuzv.cz

Orba travních porostů – pohroma nebo přínos pro biodiverzitu?

Ploughing of grasslands – disaster or benefit to biodiversity ?

Jiroušek M.[1], Frei I.[2], Winkler J.[1], Fabšičová M.[3], Zdražílková M.[1], Smetanová S. [1], Vymyslický T.[2]

[1]Mendelova univerzita v Brně
[2]Zemědělský výzkum, spol. s r. o., Troubsko
[3]Botanický ústav AV ČR, v.v.i., Brno

Abstrakt

Kosení a pastva jsou běžnou součástí obhospodařování travních porostů, ale také k podpoře diverzity rostlin a živočichů. Orba luk je však v ochraně přírody zatím vnímána spíše negativně. V rámci našeho výzkumu maloplošných alternativních managementových opatření byly na území Národního parku Podyjí rozorány okraje travních porostů s různými půdně-ekologickými podmínkami a odlišnou historií obhospodařování. Z pohledu diverzity rostlin rozorání travinobylinné vegetace vedlo spíše k druhovému ochuzení a k výskytu běžných plevelných druhů, včetně invazních. Některé vzácné a ohrožené druhy rostlin byly orbou naopak podpořeny. Příspěvek navrhuje možnosti využití orby travních porostů pro potřeby ochrany přírody, hodnotí však i možná rizika.
Klíčová slova: invaze, aktivní ochrana přírody, sukcese, vegetace

Abstract

Mowing and grazing are common activities of grassland management, but also to support plant and animal diversity. However, meadow ploughing is perceived rather negatively in nature protection. As part of our research of small-scale alternative management measures, the margins of grasslands with different soil-ecological conditions and different history of management were ploughed in the Podyjí National Park. From the point of view of plant diversity, the ploughing of grassland vegetation led rather to species depletion and the occurrence of common weed species, including invasive ones. On the contrary, some rare and endangered plant species were supported by ploughing. This paper suggests the possibility of ploughing of grasslands for the needs of nature protection and assesses the possible risks.
Keywords: invasions, active nature protection, succession, vegetation

Úvod

Biologická rozmanitost polí a trvalých travních porostů je až na výjimky velmi nízká. Důvodem je především způsob a intenzita využívání půdy pro potřeby zemědělství. Strategie EU v oblasti biologické rozmanitosti (Navrácení přírody do našeho života (2020/0000(INI)) z 31. 5. 2021) poukazuje na důležitou úlohu zejména malých zemědělských podniků s tím, že uplatňují méně intenzivní a mechanizované postupy a používají méně pesticidů a hnojiv. Dále také zdůrazňuje, že tyto malé podniky chrání citlivé venkovské oblasti. Aby strategie byla účinná, je potřebné zajistit environmentální, sociální a ekonomickou udržitelnost. Zároveň zdůrazňuje, že je důležité v zemědělské krajině vytvářet, zachovávat a obnovovat krajinné prvky s vysokou rozmanitostí a zachovat a podporovat zemědělské postupy či produkční prvky přínosné z hlediska biologické rozmanitosti, opylovatelů a přirozené biologické kontroly škůdců (Carvalhais, 2021). Mimo ochranu cenných ploch hraje důležitou roli také obnova (revitalizace) nebo sukcese ekosystémů (Koudelka, 2016). Revitalizace je činnost, která vede k obnovení

poškozené ekologické rovnováhy krajiny. Cílem je navrácení antropogenně ovlivněné krajiny do stavu blízkého přirozenému (Dostál, 2008).
Orba travních porostů je běžnou součástí obnovy vegetace pro zemědělské využití pozemku, kdy je žádoucí maximální produkce sena vysoké pící kvality (např. Kohoutek et al., 2001). Postupy běžné v zemědělské praxi jsou však v ochraně přírody vnímány silně negativně. Rozoráním luk je ukončena dlouhodobá kontinuita vývoje vegetace a mnohdy i výskyt vzácných druhů rostlin. Ve víceletých intervalech jsou takto obnovovány travní porosty, které jsou zakládány z osivových směsí založených na několika málo druzích pícních trav a leguminóz. Velkoplošné rozorávání a vysévání druhově chudých osivových směsí, často nejasné provenience, však vede k drastickým změnám v druhovém složení vegetace, oproti travním porostům s druhovým složením odpovídajícím určitému regionu. Takto zanikla řada druhově pestrých trávníků, které po staletí sloužily především jako sečené louky a pastviny (Prach et al., 2014a, Ridding et al., 2015). Naším cílem je sledovat vliv maloplošné orby travních porostů na diverzitu rostlin a posoudit, za jakých půdních podmínek povede orba k poklesu diverzity a kdy může dojít naopak k jejímu zvýšení. Zaměřujeme se speciálně na druhy ohrožené, kterým by mohla disturbance orbou pomoci ke klíčení z půdní semenné banky. Cílem je zejména podpora výskytu ohrožených a vzácných druhů teplomilných plevelů v oblasti jižní Moravy. Významné je i sledování šíření nežádoucích plevelných a invazních druhů jak na disturbované okolní pozemky. Na změny spojené s druhovým složením vegetace jsou napojeny vazby na bezobratlé živočichy. Pestřejší skladba druhů rostlin, a především přítomnost významných živných druhů, poskytujících potravní nabídku hmyzu, je nezbytným předpokladem pro udržitelnost biodiverzity hmyzu ve velkoplošně obdělávané zemědělské krajině.

Materiál a metody

Na území Národního parku Podyjí bylo vybráno 12 lokalit s travinobylinnou vegetací různého původu (historie obhospodařování) a různých stanovištních podmínek (půdní a vlhkostní poměry). Koncem zimy 2019 byly na okrajích vybraných pozemků zorány plochy o velikosti přibližně 0,1 ha. Polovina těchto ploch pak byla znovu rozorána i v roce 2020. Takto vznikly tři různé varianty pokusu: A) plocha s jednoletou vegetací, B) plocha s dvouletou vegetací a C) sousední travinnobylinný porost s vytrvalou vegetací. V každé variantě byly na třech trvalých plochách o velikosti 16 m^2 zapsány tři fytocenologické snímky. Seznamy druhů z fytocenologických snímků byly posuzovány z hlediska celkového počtu druhů, výskytu ohrožených druhů rostlin (Grulich, 2017; národní kategorie ohrožení C1–C4a), invazních druhů (Pyšek et al., 2012) a druhů významných pro bezobratlé živočichy - druhy hostitelské pro hmyz, nektarodárné, pylodárné, myrmekochorní (Durka, 2002, Konečná et al., 2018, Janovský, 2020).
Na podzim v roce 2019 byly na všech lokalitách na trvalých plochách odebrány půdní vzorky pro chemické rozbory. V laboratoři se následně stanovovalo pH, obsah základních živin (Ca, Mg, K, P, N_{celk})a oxidovatelného půdního uhlíku (Cox). Obsah půdního uhlíku je přímo úměrný vododržnosti půdy, ale přímo nesouvisí s lepší úživností.
Pro prezentaci vztahů mezi jednotlivými lokalitami, druhy rostlin zaznamenaných po rozorání i měřenými půdními živinami byly použity ordinační metody (ter Braak & Šmilauer, 2012, kanonická korespondenční analýza; CCA). Ordinační diagram pro přehlednost zobrazuje pouze 25 nejčastěji zastoupených druhů. Vliv živin na druhové složení vegetace po rozorání (varianta A) byl testován pomocí Monte Carlo permutačního testu (pseudo-F statistika, 999 permutací, $p<0,05$). .

Výsledky

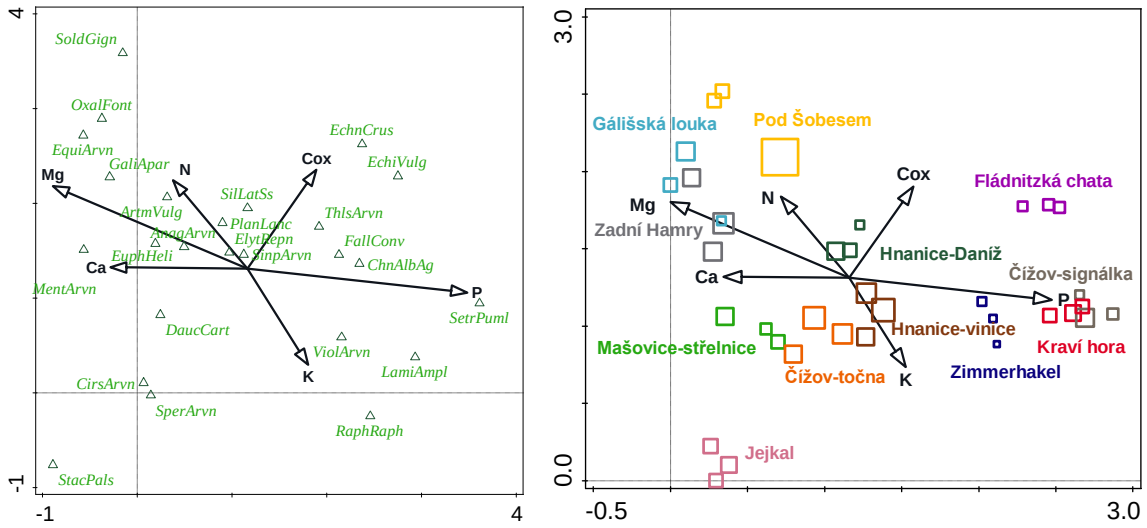
V celém území, na všech experimentálních plochách, bylo zaznamenáno 285 rostlinných druhů. Obecně byly druhově nejbohatší plochy s vytrvalou travinobylinnou vegetací, zatímco orba vedla k druhovému ochuzení. V případě dvouleté vegetace byl pozorován nárůst v počtu druhů oproti vegetaci jednoleté (Tab. 1).

Ohrožené druhy rostlin se vyskytovaly velmi vzácně, a to ve všech variantách. U variant oraných (A, B) byly nalezeny druhy *Anagallis foemina, Filago arvensis, Silene noctiflora, Verbascum phoeniceum, Xanthium strumarium*. Podobně i invazní a expanzivní druhy se vyskytovaly s relativně nízkou frekvencí, a to u všech variant (Tab. 1). V travinobylinné vegetaci to byly např. druhy *Arrhenatherum elatius* nebo *Lupinus polyphyllus,* v oraných variantách se naopak tyto druhy nevyskytovaly. Hojné či s větší pokryvností na některé z lokalit byly druhy *Conyza canadensis, Erigeron annuus* nebo *Solidago gigantea*. V případě, že bychom se zaměřili pouze na druhy poskytující potravní nabídku hmyzu, rozdíly mezi variantami oranými (A, B) a sousední loukou (C) se co do počtu druhů sníží. Stejně tak hlavní dominanty oraných variant tvoří rostliny významné jako potrava bezobratlých živočichů (Tab. 1).

Tab. 1: Počty zjištěných druhů na lokalitách dle jednotlivých variant pokusu (A – jednoletá vegetace, B – dvouletá vegetace, C – vytrvalá luční vegetace).
Počet druhů se vztahuje k ploše 48 m^2. Tučné zbarvení označuje preferovanou variantu na základě všech sledovaných ukazatelů diverzity.

lokalita	Vegetace (2 druhy s nejvyšší pokryvností)	počet druhů	ohrožené	invazní	hmyzu prospěšné
Čížov-signálka - A	*Raph. raphanistrum, Echium vulgare*	28	1	2	15
Čížov-signálka - B	*Apera spica-venti, Bromus hordeaceus*	36	1	1	24
Čížov-signálka - C	*Calamagrostis epigejos, Apera spica-venti*	42	1	2	25
Čížov-točna - A	*Raph. raphanistrum, Persic. lapathifolia*	35	1	1	23
Čížov-točna - B	*Daucus carota, Plantago lanceolata*	52	-	3	35
Čížov-točna - C	*Festuca arundinacea, Achillea millefolium*	44	-	2	26
Fládnitzká chata - A	*Chenopodium album, Setaria pumila*	24	-	1	17
Fládnitzká chata - B	*Rumex acetosella, Echium vulgare*	22	-	-	17
Fládnitzká chata - C	*Arrhenatherum elatius, Festuca rubra*	32	1	1	20
Gálišská louka - A	*Artemisia vulgaris, Equisetum arvense*	28	-	4	20
Gálišská louka - B	*Equisetum arvense, Mentha arvensis*	42	-	2	29
Gálišská louka - C	*Holcus lanatus, Festuca pratensis*	55	-	1	30
Hnanice-Daníž - A	*Sinapis arvensis, Chenopodium album*	28	-	2	20
Hnanice-Daníž - B	*Elytrigia repens, Artemisia vulgaris*	47	-	3	37
Hnanice-Daníž - C	*Arrhenatherum elatius, Centaurea scabiosa*	64	1	2	46
Hnanice-vinice - A	*Rubus fruticosus* agg., *Elytrigia repens*	38	-	2	24

Hnanice-vinice - B	*Elytrigia repens, Artemisia vulgaris*	47	-	4	35
Hnanice-vinice - C	*Poa pratensis, Fragaria viridis*	61	2	3	41
Jejkal - A	*Raph. Raphanistrum, Stachys palustris*	29	-	1	24
Jejkal - B	*Tripleurospermum inod., Daucus carota*	42	-	3	31
Jejkal - C	*Centaurea jacea, Cynosurus cristatus*	58	-	1	32
Kraví hora - A	*Lamium amplexicaule, Erodium cicutarium*	31	-	3	20
Kraví hora - B	*Elytrigia repens, Potentilla argentea*	37	1	1	27
Kraví hora - C	*Poa angustifolia, Arrhenatherum elatius*	47	1	1	30
Mašovice-střelnice - A	*Mentha arvensis, Cirsium arvense*	32	1	1	20
Mašovice-střelnice - B	*Leucanthemum vulgare, Trifolium medium*	39	-	1	34
Mašovice-střelnice - C	*Festuca rubra, Avenula pubescens*	58	-	1	38
Pod Šobesem - A	*Solidago gigantea, Thlaspi arvense*	46	1	1	38
Pod Šobesem - B	*Solidago gigantea, Silene latifolia* ssp. *alba*	62	2	4	48
Pod Šobesem - C	*Festuca rubra, Tanacetum vulgare*	60	1	3	35
Zadní Hamry - A	*Elytrigia repens, Equisetum arvense*	36	-	3	28
Zadní Hamry - B	*Plantago lanceolata, Stellaria graminea*	55	-	3	40
Zadní Hamry - C	*Anthoxanthum odoratum, Trifol. pratense*	45	-	-	31
Zimmerhakel - A	*Chenopodium album, Carduus acanthoides*	24	1	3	14
Zimmerhakel - B	*Elytrigia repens, Carduus acanthoides*	50	2	5	36
Zimmerhakel - C	*Poa pratensis, Festuca rupicola*	33	3	2	24



Obr. 1: Ordinační diagram (CCA) prezentující vliv základních půdních živin na dominanty jednoleté vegetace vzrostlé po provedení orby (diagram vlevo)

Vpravo stejná analýza, kde jsou namísto druhů promítnuty jednotlivé fytocenologické snímky. Velikost čtverců odpovídá počtu druhů na ploše (min. 14, max. 40). Názvy druhů jsou zkráceny na první písmena rodových a druhových názvů (ter Braak & Šmilauer, 2012).
Druhové složení jednoleté vegetace vyrostlé po provedení orby se výrazně lišilo na jednotlivých lokalitách, jak ukazují ordinační diagramy (Obr. 1). Významným faktorem byl i testovaný půdní chemismus (Tab. 2), kde můžeme vysledovat skupinu druhů i lokalit s vazbou na vyšší koncentrace dusíku a bazických kationtů na jedné straně (*Artemisia vulgaris, Solidago gigantea*, lokality Gálišská louka, Pod Šobesem nebo Zadní Hamry) a na druhé straně skupinu spojenou s vyššími hodnotami fosforu, případně draslíku v půdě (*Raphanus raphanistrum, Setaria pumila*, lokality Kraví hora, Čížov-signálka aj.). Půdní oxidovatelný uhlík vykazoval pozitivní korelaci se všemi živinami (0,32–0,65), s výjimkou hořčíku (zde -0.0415).

Tab. 2: Průměrné hodnoty živin zjištěné ve studovaném území, směrodatná odchylka průměru (SD), vysvětlená variabilita v druhovém složení vegetace (VV; viz Obr. 1) a statistika dokumentující průkazný vliv měřených živin v půdě (pseudo-F Monte Carlo permutačního testu; p).

	průměr	SD	VV (%)	pseudo-F	p
N	0,144 %	0,038	5,3	2,1	0,001
P	82,92 mg/g	65,02	9,2	3,5	0,001
Ca	2661 mg/g	1125	4,9	2,3	0,001
Mg	164,1 mg/g	44,2	5,6	2,5	0,001
K	242,2 mg/g	145,6	6,8	2,7	0,001
Cox	160,2 %	39,2	6,3	2,7	0,001

Diskuze

Výsledky našeho výzkumu poukazují na příklady vhodné i nevhodné pro doporučení týkajících se využití v podpoře biodiversity i obecné ochraně přírody. Především u mezických typů travních porostů v aluviu řeky Dyje (Pod Šobesem, Zadní Hamry, Gálišská louka) nebo potoka Daníže (Hnanice-Daníž) vedlo rozorání k uvolnění velkého množství živin, zejména dusíku, což podporuje masivní nárůst ruderálních druhů v raných stadiích sukcese vegetace (Hobbs & Huenneke, 1992). Tato stádia jsou také extrémně citlivá ke kolonizaci a invazím (Catford et al., 2012). V průběhu sukcese pak narůstá počet druhů a vzrůstá význam mezidruhových vazeb, což umožňuje postupné potlačení až eliminaci invazních druhů (Osbornová et al., 1990, Ruprecht, 2005, Prach et al., 2014b, Sojneková & Chytrý, 2015).
Přítomnost konkurenčně silných trav (*Arrhenatherum elatius, Calamagrostis epigejos, Festuca arundinacea*) měla za následek druhově relativně chudé typy travních porostů. V takovém případě mělo rozorání pozitivní efekt na zvýšení celkového počtu druhů, především dvouděložných bylin (např. Čížov-točna). Dále se jako zdařilejší jeví použití orby na méně úživných a vysýchavých půdách, kde je větší prostor pro ohrožené druhy, které bývají zpravidla nižšího vzrůstu a tím konkurenčně slabé.
Nálezy vzácných druhů rostlin po rozorání travního porostu byly velmi vzácné. Vzhledem k možnosti srovnat výsledky z roku 2020 s předchozími obdobími se zdá, že pravděpodobnost nálezu dalších ohrožených druhů postupně klesá (Fabšičová et al., 2016, Jiroušek et al., 2020). Jiných údajů o výskytu vzácných a ohrožených druhů, které se na lokalitách objevily v souvislosti s použitou orbou pro jejich obnovu, není zatím mnoho. Z ČR jsou známé např. zdařilé experimenty s orbou pod vrchem Hády v Brně (Tichý et al., 2012, Veselý, 2014), kde se již řadu let daří obnovovat populace celé řady vzácných jednoletých rostlin (např. *Nigella*

arvensis, Stachys annua). V evropském kontextu se podobnou problematikou zabývali např. Tscharntke et al. (2011). Vliv lokálních podmínek prostředí, okolních biotopů a znalost historie obhospodařování na druhové složení vegetace zdůrazňují Öster et al. (2009), Knappová et al. (2012), Ödman et al. (2012) nebo Simmel et al. (2021).

Závěr

Podpora biodiverzity patří mezi hlavní pilíře ochrany přírody a krajiny. Pro úspěšné začlenění maloplošných úhorů a oraných ploch jako alternativního managementu do praxe je potřeba mít nejen dostatek odborných znalostí, ale také podklady pro zapojení do strategie MZe, do programů MŽP a OPŽP. Neméně důležitá je i spolupráce se zemědělci, myslivci a zastupiteli obcí. Je třeba plně se ztotožnit se smyslem opatření, propagovat dotační tituly pro ochranu půdy i biodiverzity dotčeným subjektům, jednotlivcům, mít motivaci změnit zažitý systém managementů a stereotypní přístup směrem k vyšší úrovni ochrany krajiny. Vhodnými postupy, které přispějí k obohacení naší flóry, mohou být při správné aplikaci i maloplošné úhory a rozorané plochy. Při maloplošném zakládání úhorů, či každoročně oraných ploch, je možné očekávat vyšší střet zájmů z důvodu změny managementu nejen při zvýšeném výskytu invazních druhů, ale i u vzácných a ohrožených druhů.

Proto je v tomto případě vhodné vyhodnotit nejen dlouhodobé využívání dané lokality, ale i obsah živin, pH půdy a okolní vegetaci. U ploch navazujících na zemědělskou půdu by bylo vhodné omezit používání herbicidů kvůli výskytu vzácných a ohrožených druhů. Absencí použití herbicidů se ale může zvýšit rozšiřování nežádoucích či invazních druhů do zemědělských porostů. U ploch navazujících na louky je možností zavedení pastvy, snížení intenzity nebo volba jiného termínu sečení. Vytváření maloplošných úhorů a oraných ploch v druhově chudých lučních porostech může být při vhodném nastavení jedním z možných způsobů managementu pro zvýšení biodiverzity flory i fauny v zemědělské krajině.

Poděkování

Výzkum byl finančně podpořen projektem TAČR TH04030244: „Zvýšení biodiverzity a podpora ekosystémových služeb v zemědělské krajině pomocí alternativních způsobů hospodaření na loukách a pastvinách“. Příspěvek vznikl také s podporou na dlouhodobý koncepční rozvoj Botanického ústavu AV ČR, v. v. i., RVO: 67985939; Zemědělského výzkumu, spol. s r. o.: MZE-RO1721. Poděkování patří také kolegům ze Správy NP Podyjí za podporu výzkumu úhorů a poskytnutí ploch na jejich založení.

Literatura

Carvalhais, I. (2021): Zpráva o strategii EU v oblasti biologické rozmanitosti do roku 2030 – Navrácení přírody do našeho života (2020/0000(INI)): Dokument ze zasedání (A9-0179/2021). Evropský parlament, 31. 5. 2021. Dostupné z: https://www.europarl.europa.eu/doceo/document/A-9-2021-0179_CS.pdf s. 58–77.

Catford, J.A., Daehler, C.C., Murphy, H.T., Sheppard, A.W., Hardesty, B.D., Westcott, D.A., ... & Hulme, P.E. (2012): The intermediate disturbance hypothesis and plant invasions: Implications for species richness and management. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 14: 231–241.

Dostál, T. (2008): Zásady revitalizace drobných vodotečí. České učení vysoké technické, Praha.

Durka, W. (2002): Blüten- und Reproduktionsbiologie. In: Klotz, S., Kühn, I. & Durka, W. (eds): BIOLFLOR – Eine Datenbank mit biologisch-ökologischen Merkmalen zur Flora von Deutschland, Schriftenreihe für Vegetationskunde 38: 133–175.

Fabšičová, M., Vymyslický, T., Horáčková, M. & Kůrová, J. (2016): Mohou být úhory refugii vzácných a ohrožených druhů rostlin? Thayensia 13: 89–102.

Grulich, V. (2017): Červený seznam cévnatých rostlin ČR. Příroda 35: 75–132.

Hobbs, R.J. & Huenneke, L.F. (1992): Disturbance, Diversity, and Invasion: Implications for Conservation. Conservation Biology 6: 324–337.

Janovský, Z. (2020): Opylovači. In: www.pladias.cz.

Jiroušek, M., Fabšicová, M., Winkler, J., Zdražílková, M. & Vymyslický, T. (2020): Patří úhory do moderní zemědělské krajiny? Úroda 68: 62–65.

Knappová, J., Hemrová, L. & Münzbergová, Z. (2012): Colonization of central European abandoned fields by dry grassland species depends on the species richness of the source habitats: a new approach for measuring habitat isolation. Landscape Ecology 27: 97–108.

Kohoutek, A., Odstrčilová, V. & Komárek, P. (2001): Obnova travních porostů. Úroda, online: https://www.uroda.cz/obnova-travnich-porostu/

Konečná, M., Štech, M. & Lepš, J. (2018): Myrmekochorie. In: www.pladias.cz.

Koudelka, T. (2016): Vliv nově zakládaných a obnovovaných vodních ploch na biodiverzitu. Diplomová práce. Univerzita Hradec Králové, Hradec Králové.

Ödman, A.M., Schnoor, T.K., Ripa, J. & Olsson, P. (2012): Soil disturbance as a restoration measure in dry sandy grasslands. Biodiversity and Conservation 21: 1921–1935.

Öster, M., Ask, K., Cousins, S.A. & Eriksson, O. (2009): Dispersal and establishment limitation reduces the potential for successful restoration of semi-natural grassland communities on former arable fields. Journal of Applied Ecology 46: 1266–1274.

Osbornová, J., Kovářová, M., Lepš, J. & Prach, K. (1990): Succession in abandoned fields. Studies in Central Bohemia, Czechoslovakia. Geobotany 15, Springer Publishing, Dordrecht, The Netherlands.

Prach, K., Jongepierová, I., Řehounková, K. & Fajmon, K. (2014a): Restoration of grasslands on ex-arable land using regional and commercial seed mixtures and spontaneous succession: Successional trajectories and changes in species richness. Agriculture, Ecosystems and Environment 182: 131–136.

Prach, K., Řehounková, K., Lencová, K., Jírová, A., Konvalinková, P., Mudrák, O., Študent V., Vaněček Z., Tichý L., Petřík P., Šmilauer P. & Pyšek, P. (2014b). Vegetation succession in restoration of disturbed sites in Central Europe: the direction of succession and species richness across 19 seres. Applied Vegetation Science 17: 193–200.

Pyšek, P., Danihelka, J., Sádlo, J., Chrtek, J. Jr., Chytrý, M., Jarošík, V., Kaplan, Z., Krahulec, F., Moravcová, L., Pergl, J., Štajerová, K. & Tichý, L. (2012): Catalogue of alien plants of the Czech Republic (2nd edition): checklist update, taxonomic diversity and invasion patterns. Preslia 84: 155–255.

Ridding, L.E., Redhead, J.W. & Pywell, R.F. (2015): Fate of semi-natural grassland in England between 1960 and 2013: A test of national conservation policy. Global Ecology and Conservation 4: 516–525.

Ruprecht, E. (2005): Secondary succession in old-fields in the Transylvanian Lowland (Romania). Preslia 77: 145–157.

Simmel, J., Karlík, P. & Poschlod, P. (2021): Land-use history affects vascular plant composition of calcareous grasslands – Does it affect cryptogam composition, too? Ecological Indicators 124: 107408.

Sojneková, M. & Chytrý, M. (2015): From arable land to species-rich semi-natural grasslands: Succession in abandoned fields in a dry region of central Europe. Ecological Engineering 77: 373–381.

ter Braak, C.J.F. & Šmilauer, P. (2012): Canoco Reference Manual and User's Guide: Software of Ordination (version 5.0). Microcomputer Power, Ithaca.

Tichý, L. (2012): Restoration of dry grassland vegetation in the abandoned Hády limestone quarry near Brno. In: Jongepierová, I., Pešout, P., Jnogepier, J.W. & Prach, K.: Ecological restoration in the Czech Republic. Czech Conservation Agency of the Czech Republic, Prague, s. 102–103.

Tscharntke, T., Batáry, P. & Dormann, C.F. (2011): Set-aside management: how do succession, sowing patterns and landscape context affect biodiversity? Agriculture, Ecosystems & Environment 143: 37–44.

Veselý, P. (2014): Inventarizace ohrožených druhů plevelů na opuštěných polích pod Hády a založení genofondové banky semen. Závěrečná zpráva projektu ČSOP.

Kontaktní adresa:

Mgr. Martin Jiroušek, Ph.D.
Ústav biologie rostlin, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně
Zemědělská 1, 613 00 Brno
+420 545 133 039, jirousek@mendelu.cz

Vliv dlouhodobého hnojení digestátem na pícninářské charakteristiky trvalého travního porostu a půdní prostředí

Effect of long-term digestate fertilization on forage characteristics of permanent grassland and soil environment

Kobes[1], M., Jarošová[1], M.

[1]Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

Abstrakt

V letech 2014 – 2019 byl v podhorské oblasti Šumavy (Kaplice – Chuchelec, 660 m n.m.) ověřován vliv dávek digestátu na botanickou skladbu, druhovou pestrost, produkci sušiny a půdní prostředí ve dvousečném trvalém travním porostu. Byly ověřovány dávky digestátu 9,4 $t.ha^{-1}$, 28,3 $t.ha^{-1}$ a 56,6 $t.ha^{-1}$, respektive 50 kg $N.ha^{-1}$, 150 kg $N.ha^{-1}$ a 300 kg $N.ha^{-1}$ při obsahu N v digestátu 0,4 – 0,5 % v sušině. Od 3. roku hnojení se odlišné dávky digestátu projevily jak změnami botanické skladby, tak rozdílnou produkcí sušiny. V agrobotanické skupině trav dominovaly do 50 kg $N.ha^{-1}$ *Agrostis capillaris* a *Festuca rubra*, při hnojení 150 a 300 kg N/ha širokolisté kostřavy. Rozdíly v druhové pestrosti (S) se postupně zvyšovaly od 2. roku aplikace digestátu. Významné rozdíly v produkci sušiny se projevily až po dvou letech aplikace digestátu ($p < 0,01$). Hnojení digestátem zvyšovalo obsah půdní organické hmoty a humusu.

Klíčová slova: Luční porosty; hnojení digestátem; druhová pestrost; produkce biomasy; půdní vlastnosti

Abstract

In the years 2014 - 2019, the effect of digestate doses on botanical composition, species richness, dry matter production and soil environment in grassland was verified in the foothill area of Šumava (Kaplice - Chuchelec, 660 m above sea level). Digestate rates of 9.4 t/ha, 28.3 t/ha and 56.6 t/ha, (50 kg N/ha, 150 kg N/ha and 300 kg N/ha at a digestate N content of 0.4 - 0.5 % in DM), were tested. From the 3rd year of fertilisation onwards, the different digestate rates resulted in changes in botanical composition as well as in different dry matter production. The agrobotanical group of grasses was dominated by *Agrostis capillaris* and *Festuca rubra* to 50 kg N/ha, and broad-leaved fescue at fertilisation rates of 150 and 300 kg N/ha. Differences in species richness (S) and DM production ($p < 0.01$) gradually increased from the 2nd year of digestate application. Digestate fertilization increased soil organic matter and humus content.

Keywords: Meadow stands; digestate fertilization; species diversity; biomass production; soil properties

Úvod

Trvalé travní porosty (TTP) jsou významným zdrojem biomasy ve výrobě objemné píce i jako zdroj biomasy pro bioplynové stanice ve vstupní biomase i v kejdě. Vzhledem k produkčním i mimoprodukčním funkcím travních porostů se jejich výměra v ČR v posledních 25 letech trvale zvyšuje, v roce 2015 přesáhla výměra TTP v ČR milion hektarů. Druhová pestrost a pokryvnost agrobotanických skupin spolu úzce souvisí a jsou v současné době ovlivňovány řadou faktorů, mezi kterými v poslední době zesiluje vliv absence, nebo méně často lokálně nadbytku živin (Klimeš et al. 2008). Na druhé straně v současné době převažující porosty ponechané zcela bez hnojení jsou náchylnější k rozšiřování méně hodnotných trav a nízkých bylin, které poskytují za sucha jen minimum biomasy (Skládanka et al. 2008). Při hnojení se u travních porostů v současné době uplatňují často tekutá organická hnojiva – močůvka a digestát z bioplynových

stanic. Frekvence sečí se někdy u těchto porostů zvyšuje. Vedle porostové skladby pak může digestát přímo i nepřímo ovlivňovat půdní prostředí. Labilní složkám primární organické hmoty je v současné době věnována značná pozornost. Labilní frakce půdního uhlíku jsou považovány za významný indikátor půdní kvality (Haynes 2005, Ghani et al. 2003, Kolář et al., 2003, Kužel et al., 2001).

Materiál a metody

V letech 2014 – 2019 byl v podhorské oblasti Šumavy (Kaplice – Chuchelec, 650 m n.m.) hodnocen vliv stupňovaných dávek digestátu, aplikace minerálního hnojení a absence hnojení na vývoj botanické skladby, druhové pestrosti, produkční schopnosti TTP a půdní vlastnosti. Experimentální TTP se nachází u obce Rejty a je využíván dvěma sečemi, jedná se o polopřirozený porost bez obnovy od roku 1996, na středně vlhkém (mezofytním) a mezotrofním až mezoeutrofním stanovišti (dobrá zásoba živin) na hlubší hlinité půdě (kambizem), vyvinuté na Kaplicko-Rožmberském svoru. Od roku 2014 byl porost hnojen digestátem dávkami 9,4 $t.ha^{-1}$, 28,3 $t.ha^{-1}$ a 56,6 $t.ha^{-1}$, respektive 50 kg $N.ha^{-1}$, 150 kg $N.ha^{-1}$ a 300 kg $N.ha^{-1}$. Nízká dávka digestátu (50 kg N) byla aplikována jednorázově každoročně počátkem dubna, střední a vysoká dávky byly aplikovány děleně (50 resp. 100 kg na jaře, po první seči a na podzim). Dále byl pro srovnání účinků digestátu s běžným hnojením sledován vliv minerálního hnojiva (LAV 27,5 %) v dávce 50 kg $N.ha^{-1}$ aplikované na jaře a nehnojená varianta. Každoročně byla u ověřovaných porostů hodnocena projektivní dominance druhů, druhová pestrost a bazický index (počet druhů 2019/2015 v %). Produkce nadzemní biomasy byla hodnocena v obou sečích na ploše 35 m^2 ve 4 opakováních při výšce strniště 5 cm za použití maloparcelkových žacích strojů. Na konci období hnojení digestátem (2019) byly analyzovány půdní vzorky na obsah půdní organické hmoty, humusu a stupeň humifikace. Byla stanovena rychlostní konstanta oxidace primární půdní organické hmoty (konstanta k) po stanovení reakční kinetiky oxidace půdního organického uhlíku a obsah primární půdní organické hmoty (C_1) a celkový organický uhlík (primární + stabilní - C_2) a obsah humusu $H = C_2 – C_1$ v % (Kolář et al., 2003, Kužel et al., 2001, Kolář et al., 2014).

Výsledky a diskuze

Ve druhém roce aplikace hnojiv (2015) se ještě vliv různých dávek digestátu, resp. minerálního hnojení významně neprojevil ani v botanické skladbě, ani v produkci sušiny. Vývoj druhové pestrosti (počtu druhů vyšších rostlin - S) ověřovaných cenóz v letech 2015 až 2019 při aplikaci různých dávek digestátu a minerálním hnojení uvádí Tab. 1 (navíc je uveden rok 2020 již bez hnojení). Počet nalezených druhů byl v roce 2016 nižší oproti roku 2015 u všech variant. Z hlediska vývoje druhové pestrosti lze příznivě hodnotit vývoj u nehnojeného porostu a u porostu hnojeného dávkou 50 kg $N.ha^{-1}$, jak minerálním hnojivem tak digestátem. Počet druhů (druhová pestrost) po aplikaci vyšších dávek digestátu zpočátku rychle klesal, později se pokles zpomalil až zastavil (ustálení společenstva spíše nitrofilních druhů). Pokles počtu druhů byl zaznamenán i při aplikaci minerálního hnojení. Zajímavým a příznivým zjištěním je rychlý opětovný nárůst počtu druhů po ukončení hnojení (rok 2020) a návrat porostů do stavu před aplikací digestátu.

U porostů s nižší úrovní výživy (do 50 kg $N.ha^{-1}$) převažovaly travní druhy méně náročné na živiny (tab. 2) - kostřava červená (*Festuca rubra*), Psineček tenký (*Agrostis capillaris*) a v porostech se udržely i nepopínavé jeteloviny – jetel luční (*Trifolium repens*) a jetel plazivý (*Trifolium pratense*). U variant hnojených 50 kg N se výskyt kostřavy červené a psinečku tenkého postupně snižuje a je nahrazován kostřavou luční (*Festuca pratensis*), při použití vysoké dávky digestátu i kostřavou rákosovitou (*Festuca arundinacea*). Hrachor luční si udržuje vysokou pokryvnost až do dávky 150 kg N, při použití 300 kg N jeho pokryvnost klesá a v porostu dominuje kostřava rákosovitá. V nehnojených porostech a při použití dávek do 50

kg N.ha^{-1} (v minerálním hnojivu i digestátu) se uplatňují jak nepopínavé jeteloviny jetel luční (*Trifolium pratense*), jetel plazivý (*Trifolium repens*), tak popínavé jeteloviny hrachor luční (*Lathyrus pratensis*), vikev ptačí (*Vicia cracca*). Při aplikaci 150 kg N.ha^{-1} (digestát) již nepopínavé jeteloviny mizí a v porostech se uplatňuje pouze hrachor luční. Při aplikaci 300 kg N.ha^{-1} již všechny jeteloviny mizí a snižuje se i druhová diverzita. Výrazná akcelerace změn porostové skladby nastala při aplikaci dávek nad 150 kg N ve třetím roce hnojení. Hnojení digestátem tedy snižuje pokryvnost kostřavy červené a psinečku tenkého a zvyšuje pokryvnost kostřavy luční a rákosovité, respektive i trav celkem (tab. 2).

Na provozních plochách v bezprostředním okolí pokusu bez výskytu kostřavy rákosovité docházelo ke zvýšení pokryvnosti kostřavy luční, pýru plazivého (*Elytrigia repens*), srhy říznačky (*Dactylis glomerata*), trojštětu žlutavého (*Trisetum flavescens*) nebo psárky luční (*Alopecurus pratensis*). Vyšší podíl trav při organickém hnojení a zvýšení produkce sušiny a rovněž udržení nebo zvýšení pokryvnosti jetelovin zjistili při středních dávkách organických hnojiv odpovídajících zatížení 0,9 – 2,0 DJ/ha Štýbnarová, Pozdíšek (2010). Vyšší pokryvnost jetelovin a bylin u nehnojených porostů, nebo porostů hnojených jen PK se potvrzuje i na dalších stanovištích (Klaudisová et al., 2006, Skládanka et al., 2008, Klimeš et al., 2008).

Tab. 1: Vývoj druhové pestrosti (S - počtu druhů vyšších rostlin) v TTP při různém způsobu a intenzitě hnojení a bazický index 2019/2015 (rok 2020 bez hnojení)

Varianta výživy	Roky						I_b 2019/2015 (%)
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
Nehnojeno	24	22	23	25	22	27	97,7
50 kg N/ha min.	31	28	26	24	24	31	77,4
50 kg N/ha dig.	30	26	27	23	24	28	80,0
150 kg N/ha dig.	28	21	25	22	22	29	78,6
300 kg N/ha dig.	24	20	18	18	18	22	75,0
$\bar{X}$	27,4	23,4	23,8	22,4	22,0	27,4	80,3

I_b – index bazický, min. – minerální hnojení NPK, dig. – digestát

Tab. 2: Pokryvnost dominantních druhů a agrobotanických skupin v různě hnojeném travním porostu po pěti letech aplikace diferencované výživy (rok 2019)

Varianta výživy	Dominantní druhy					Agrobotanické skupiny		
	Kostřava červená	Kostřava luční	Kostřava rákos.	Psineček tenký	Hrachor luční	T[1)]	J[1)]	B[1)]
Nehnojeno	8	10	1	15	18	45	18	37
50 kg N/ha m.	5	8	1	11	27	37	29	34
50 kg N/ha d.	0	24	3	6	20	46	20	34
150 kg N/ha d.	2	18	8	2	12	54	12	30
300 kg N/ha d.	0	6	34	0	2	78	5	17

[1)] T – trávy, J – jeteloviny, B – ostatní byliny; m. – minerální hnojení NPK, d. - digestát

Průměrnou produkci sušiny za obě seče u jednotlivých variant za pět let hnojení souhrnně (průměrné hodnoty produkce sušiny) uvádí graf 1, rozdíly mezi variantami jsou statisticky velmi významné ($p < 0,01$). Mezi variantami hnojení byly zjištěny statisticky významné rozdíly ($p < 0,01$) již od druhého roku hnojení a dále ve všech dalších letech se stupňovaným hnojením (2017 – 2019 vždy $p < 0,01$) přičemž statisticky průkazné rozdíly byly mezi variantami hnojenými dávkou 50, 150 a 300 kg N v digestátu. Rozpětí výnosů během pětiletého období

aplikace odlišné výživy byly bez hnojení 3,5 – 8,5 t/ha sušiny, u varianty hnojené 50 kg N minerálním hnojivem 3,8 – 8,8 t/ha sušiny, u variant 50 kg N digestát 4,5 – 8,6 t/ha, 150 kg N digestát 6,3 – 12 t/ha a 300 kg N digestát 6,5 – 13,9 t/ha sušiny. Produkce sušiny je v porovnání s řadou porostů v oblasti Jihozápadních Čech nadprůměrná, je zde patrný vliv digestátu i jako zálivky a také vliv produktivních druhů (kostřava rákosovitá, kostřava luční, srha říznačka, hrachor luční), které se v menší míře vyskytovaly v porostu již před aplikací hnojiva. Ukazuje se, že aplikace digestátu ovlivňuje podmínky pro tvorbu výnosu TTP až po delší době aplikace (nasycení půdy živinami a změny porostové skladby). Projevují se především vyšší dávky digestátu, kde lze očekávat po delší době aplikace přehnojení porostů. V druhové skladbě porostů budou po delší době aplikace digestátu převládat vzrůstné druhy trav, v 1 seči s vyšším podílem stébel a popínavé jeteloviny (Klimeš et al. 2006, 2008) což klade nároky na včasnou sklizeň porostů. Ačkoli ruderální porosty poskytují vysokou produkci píce, často jejich pozdní sklizeň vede k produkci bezcenné objemné píce s podřadnou kvalitou (Skládanka et al 2008, Kobes et al. 2010). V píci z těchto porostů je často nadbytek draslíku a hrubé vlákniny (Hrabě, Buchgraber, 2002). Nebezpečnější než postupné ochuzování u porostů bez hnojení je přehnojení porostu, vedoucí rychle k prudkému rozvoji trav, nebo i vikvovitých (při přehnojení fosforečnými hnojivy). Ve všech takových případech dochází k brzkému vymizení velké části ostatních druhů (Klaudisová, Sádlo, 2004). Produkce píce je vyšší, kvalita může být již mírně snížena vlivem vyššího obsahu fenolických látek u hrachoru lučního (Scehovic, 2002) a vlákniny (vyšší podíl stébel).

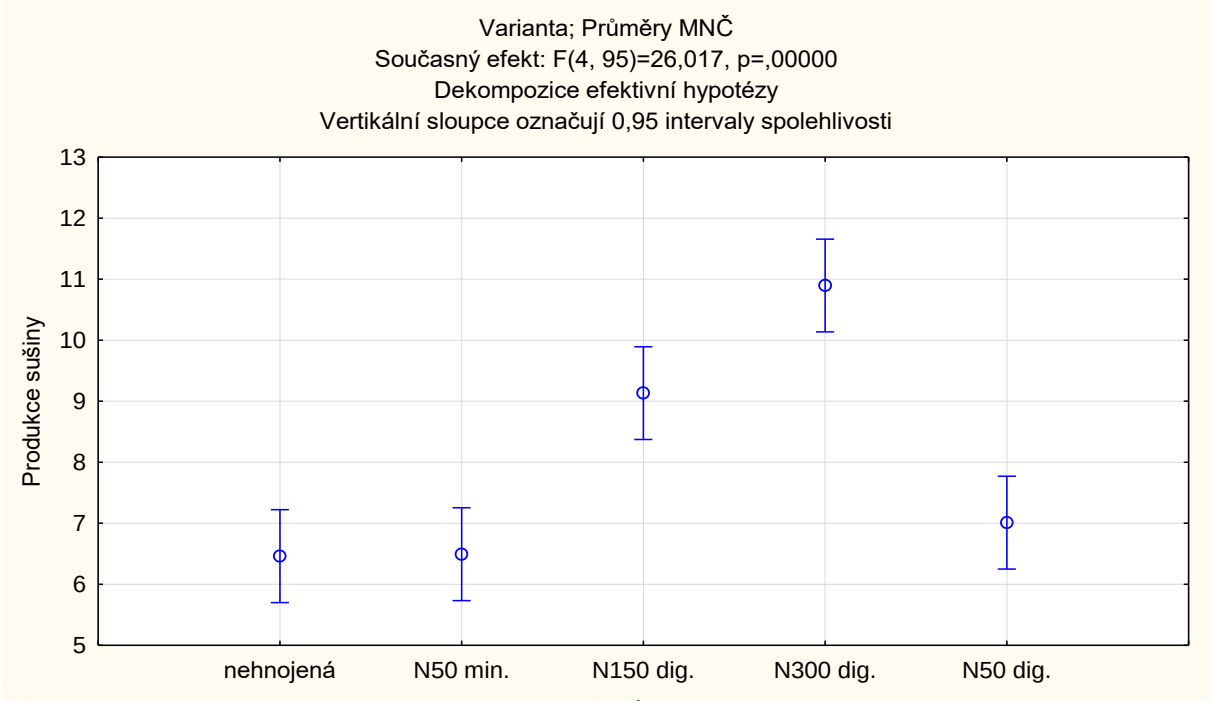
Ukazuje se, že aplikace digestátu ovlivňuje podmínky pro tvorbu výnosu TTP od druhého roku aplikace, výraznější změny druhové skladby pak nastávají od 3. – 4. roku aplikace. Průměrná produkce sušiny ze všech variant je vysoko nad průměrnými výnosy z TTP v ČR (Skládanka et al. 2014).

Tab. 3: Půdní vlastnosti v půdách pod trvalým travním porostem s různou úrovní hnojení po dlouhodobém hnojení (2015 - 2019) v roce 2019 (průměrné hodnoty)

Varianta výživy	Obsah humusu (%)	Stupeň humifikace (%)	C_1 [1)] (%)	C_2 [2)] (%)	Konstanta k
Nehnojeno	0,68	30,03	1,59	2,27	2,44
50 kg N/ha min.	0,92	26,97	2,49	3,41	1,84
50 kg N/ha dig.	0,91	27,03	2,47	3,39	1,61
150 kg N/ha dig.	1,18	27,17	3,15	4,40	0,96
300 kg N/ha dig.	1,24	25,95	3,55	4,79	1,10

[1)] C_1 – primární organická hmota (uhlík), [2)] C_2 – celková organická hmota (uhlík)

Graf 1: Průměrná produkce sušiny (t.ha^{-1}) z TTP při různém způsobu a intenzitě hnojení po pěti letech aplikace digestátu (2015-2019)



Po pěti letech hnojení travního porostu digestátem obsah humusu s rostoucí dávkou digestátu vzrůstal (tab. 3), jednak vlivem dodání organické hmoty digestátem, jednak vlivem většího množství kořenů u vzrůstných trav (kladná korelace nadzemní a podzemní biomasy), případně opadu. Stupeň humifikace však klesal, při vysokých dávkách digestátu je větší množství pomalu rozložitelných kořenů trav, tedy vyšší obsah surové organické hmoty. Ani organická hmota digestátu se rychle netransformuje na humus, neboť v ní chybí lehce rozpustné (pohotové) frakce organické hmoty přeměněné v bioplyn a je v něm vyšší obsah pomalu rozložitelné frakce (lignin). Obsah frakcí C_1 a C_2 s hnojením sice vzrůstal, ale rychlost rozkladu (konstanta k) klesala. Kvalitu primární půdní organické hmoty můžeme určit dle hodnoty rychlostní konstanty k (její oxidace). Čím je hodnota konstanty vyšší, tím je frakce C_1 méně stabilní, snadněji rozložitelná a tedy kvalitnější (Kolář et al., 2014). Hnojení digestátem tedy obsah humusu zvyšuje pozvolna, po delší době aplikace. U častěji sečeného trávníku zjistili Hric et al. (2016) dokonce vyšší obsah celkové organické hmoty u nehnojeného porostu. Při sečení jen 2x ročně může být tvorba podzemní biomasy vyšší při organickém hnojení.

Závěr

Z hlediska plošné stabilizace výnosů a harmonizace produkčních a mimoprodukčních funkcí TTP by bylo vhodné hnojení jen nízkou nebo střední dávkou digestátu (do 150 kg N.ha^{-1}.rok^{-1}), nebo při vyšších dávkách důsledné střídání hnojených ploch (hnojení 1x za 2-3 roky). Aplikace vhodné dávky digestátu (50 – 150 kg N.ha^{-1}, resp. 9,4 t.ha^{-1}, 28,3 t.ha^{-1} digestátu) může přispět ke zvýšení pokryvnosti vyšších trav, hlubšímu prokořenění půdy a k lepšímu hospodaření porostů s vodou a živinami. Aplikace digestátu zvyšuje od 2. roku aplikace produkci sušiny o 50 – 100 %. Po aplikaci digestátu se postupně zvyšuje i obsah půdní organické hmoty a po delší době humifikace i obsah humusu.

Použitá literatura

Ghani, A., Dexter, M., Perrott, K. W. Hot-water extractable carbon in soils; a sensitive measurment for determning impacts of fertilisation, grazing and cultivation. Soil Biology & Biochemistry, 2003, 35 (9), s. 1231-1243

Haynes, R. J. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils. Advances in Agronomy, 2005, 85, s. 221-268

Hrabě, F., Buchgraber, K.: Kvalita píce začíná na louce. In: Úroda, 2002, 50, (8): 36-37.

Hric, P., Jančovič, J., Kovár, P., Vozár, L.: Zhodnotenie obsahu organickej hmoty v půdě po hnojení trávnika různými formami hnojiv. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2016. FAPPZ ČZU Praha, 2016, s. 25 – 29.

Klaudisová, A., Sádlo, J.: Zásady péče o nelesní biotopy v rámci soustavy Natura 2000. Planeta XII, 3/2004 – druhá část, MŽP, Praha, 144 s.

Klaudisová, M., Honsová, D., Mrkvička, J.: Vývoj botanického složení porostu po dlouhodobém hnojení. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2006. FAPPZ ČZU Praha, 2006, s. 45 – 48.

Klimeš, F., Kobes, M., Voženílková, B., Květ, J., Suchý, K.: Influence of management on the representation of legumes in permanent grasslands. *Grassland Science in Europe*, Vol. 11, 2006, p.p. 288 - 290

Klimeš, F., Kobes, M., Suchý, K.: The influence of management and exploitation of grasslands on the differentiation of their typological structure, biodiversity and produktivity. In: *Grassland Science in Europe*, vol. 13, 2008, p. 260 – 262.

Kobes, M., Suchý, K., Voženílková, B., Frelich, J.: The effect of different grazing systems on botanical composition, diversity and productivity of permanent pasture. In: *Grassland Science in Europe*, 15, 2010, p. 702–704. ISBN 978-3-86944-021-7

Kolář L., Klimeš F., Ledvina R., Kužel S.: A method to determine mineralization kinetics of a decomposable part of soil organic matter in the soil. Plant Soil Environ. 2003. 49, s. 8-11

Kolář, L., Moudrý, J. & Kopecký, M. (2014). Humus. Náměšť nad Oslavou: ZERA – Zemědělská a ekologická regionální agentura, o. s., ISBN: 978-80-87226-34- 6.

Kužel S., Kolář L., Ledvina R., Spalevič V.: Transformation soil organic matter in mountain and submountain regions of Šumava in comparison with České Budějovice basin. „Humic substances in ecosystem 4“. Editor Prof. Gonet. Výzkumný ústav pôdoznalectva a ochrany pôdy Bratislava, Slovenská polnohospodárská univerzita Nitra, 2001, s. 79-83

Scehovic, J.: The most important knowledge of last research projects concerning the forage quality from permanent mountain grassland. In: Ekológia trávneho porastu VI – medzinárodná vedecká konferencia. VÚTP Banská Bystrica, 2002, s. 326 – 335.

Skládanka, J., Veselý, P., Hrabě, F.: Druhová diverzita a kvalita travních porostů. Úroda, 56 (6), 2008, s. 75 – 77.

Skládanka, J. a kol.: Pícninářství. MU Brno, 2014, 368 s. ISBN 978-80-7509-111-6.

Štýbnarová, M., Pozdíšek, J.: Botanické složení, produkce sušiny a obsah živin při rozdílné aplikaci organických hnojiv u trvalých travních porostů. Aktuální témata v pícninářství a trávníkářství 2010. FAPPZ ČZU Praha, 2010, s. 96 - 102.

Kontaktní adresa:

Ing. Milan Kobes, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích, Zemědělská fakulta
Na Sádkách 1780
370 05 České Budějovice, e-mail: kobes@zf.jcu.cz tel. 387772918

Vplyv aplikácie pôdneho kondicionéru prp sol na úrody amarantu (A*maranthus sp*. L.) Na ťažkých pôdach

Influence of soil conditioner PRP sol application on amaranth crops *(Amaranthus sp. l.)* on heavy soils

Kováč L., Porvaz P.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum
Výskumný ústav agroekológie Michalovce, SR

Abstrakt

Na ťažkých pôdach Východoslovenskej nížiny na experimentálnom pracovisku NPPC – VÚA Michalovce v Milhostove boli v rokoch 2013 – 2015 zakladané pokusy s láskavcom (Amaranthus sp. L.) na semeno. Pokusy boli zakladané pri konvenčnej technológii s orbou a redukovanou technológiou bez orby pri troch úrovniach výživy, a to kontrola, sólo aplikácia pôdneho kondicionéra PRP sol a aplikácia PRP sol v kombinácii s rastlinnou pomocnou látkou PRP EBV. Na úrody semena láskavca preukazne vplýval pestovateľský ročník s priebehom meteorologických faktorov. V pokusoch sa preukazne vyššie úrody láskavca potvrdili pri jeho pestovaní konvenčnou agrotechnikou. Pri aplikácii pôdneho kondicionéra, ako aj v jeho kombinácii s rastlinnou pomocnou látkou PRP EBV sa úroda zrna láskavca v porovnaní s nehnojenou kontrolou preukazne zvyšovala.

Kľúčové slová: amarant, úrody, obrábanie pôdy, pôdny kondicionér

Abstract

In Milhostov, at Experimental work place of NPPC – Agroecology Research Institute in Michalovce, the field treatments with amaranth (*Amaranthus sp.* L.*)* were carried out between years 2013 and 2015. Amaranth grown for seed. Two tillage technologies, namely conventional tillage with ploughing and reduce tillage without ploughing, were used. Three levels of nutrition, namely control without fertilization, application of soil conditioner PRP sol and application of PRP sol in combination with plant adjuvant PRP EBV, were tested. Meteorological factors of each experimental year had the statistically significant effect on amaranth grain yields. Our results confirmed statistically significant higher of amaranth yield from treatment with conventional tillage. The yields after application of soil conditioner PRP SOL and also its combination with plant adjuvant PRP EBV were significantly higher in compare with control without fertilization.

Key words: amaranth, yields, soil tillage, soil conditioner

Úvod

Predpokladaný rast svetového dopytu po potravinách vyústil do zvýšenej pozornosti voči nedostatočne využívaným plodinám s potenciálom zlepšiť globálnu potravinovú bezpečnosť a schopnosť zmierniť nepriaznivé účinky zmien klímy. Meniaci sa dopyt spotrebiteľov v prospech vyváženejších a ekologicky pestovaných plodín zvýšil záujem o druhy, ako je napríklad amarant. Propagácia spotreby a pestovanie amarantu by mohla byť cenná vzhľadom na jej jedinečné zloženie živín a prirodzenú toleranciu sucha a iných stresových faktorov. V dôsledku súčasných a predpokladaných účinkov zmeny klímy tieto atribúty nadobúdajú čoraz väčší význam (Alemayehu et al., 2014). Bol zhromaždený šľachtiteľský materiál amarantu na zrno, porovnáva sa obsah živín a minerálov v amarante s ich obsahom v pšenici a kukurici a boli začaté pokusy s amarantom v regióne strednej Európy (Wegerle, Zeller, 1995). Na západnom Slovensku sú známe výsledky z pokusov s amarantom, ktoré publikoval Pospíšil

(2011). Pokusy s amarantom boli realizované aj na Východoslovenskej nížine, výsledky ktorého boli zhrnuté v publikácii (Kováč, Jakubová 2017).

Materiál a metódy

Pokusy boli zakladané na experimentálnom pracovisku Výskumného ústavu agroekológie Michalovce v Milhostove v rokoch 2013 až 2015. Pracovisko sa nachádza v centrálnej časti Východoslovenskej nížiny. Pôdy sú tu ťažké fluvizeme glejové. Sú charakterizované ako ťažké, ílovito-hlinité pôdy s priemerným obsahom ílovitých častíc vyšším ako 53 %. Hodnoty základných fyzikálnych vlastností skúmaného pôdneho prostredia sa pohybujú v nasledujúcom rozmedzí: merná hmotnosť 2600 – 2650 kg.m^{-3}, objemová hmotnosť 1330 – 1650 kg.m^{-3} a pórovitosť 45,8 – 37,5 %. Hydrofyzikálne charakteristiky pôdneho prostredia sú v súlade s fyzikálnymi vlastnosťami. Hodnoty poľnej vodnej kapacity, vyjadrenej ako maximálna kapilárna vodná kapacita sa v pôdnom profile pohybujú v rozpätí 34,0 – 44,2 % a hodnoty využiteľnej vodnej kapacity 12,6 – 22,8 %.

Základné chemické vlastnosti ornice pokusného stanovišťa sú nasledovné: vyhovujúca zásoba prístupného fosforu (priemerne 62 mg.kg^{-1}) a prístupného draslíka (priemerne 255 mg.kg^{-1}), vysoká zásoba vápnika (priemerne 4950 mg.kg^{-1}) a horčíka (priemerne 365 mg.kg^{-1}), výmenná pôdna reakcia (pH/KCl) je slabo kyslá (6,3 – 6,5), obsah humusu v strednej až dobrej zásobe (2,4 – 3,4 %), typ humusu je humátovo-fulvátový ažfulváto-humátový so vzájomným pomerom humínových kyselín k fulvokyselinám 0,8 – 1,4.

Celé územie VSN patrí do samostatného agroklimatického regiónu 03, ktorý je charakterizovaný ako – teplý, veľmi suchý, nížinný, kontinentálny. Za špecifické znaky VSN sa považujú: suma teplôt vzduchu nad 10 °C = 2 800 – 3 160 °C, počet dní s teplotou vzduchu nad 5 °C = 232 (na Podunajskej rovine 242), priemerné teploty vzduchu v januári = -3 až -4 °C (na Podunajskej rovine -1 až -2 °C). VSN je nížinná intramontánna oblasť mierneho pásma s najväčšou kontinentalitou podnebia na Slovensku. Pre VSN je príznačná nerovnomernosť rozdelenia zrážok v priebehu roka. Zrážky prívalovej povahy s vysokou intenzitou striedajú dlhotrvajúce obdobia sucha. Vo vegetačnom období pri vysokých teplotách je zároveň aj veľký výpar, čo v niektorých rokoch spôsobuje nedostatok vlahy pre vegetáciu. Nedostatok vlahy v priebehu roka je asi 100 - 180 mm a počas teplého polroka od 220 do 270 mm. Veľmi rozdielne sú aj úhrny zrážok v jednotlivých rokoch.

Amarant bol zaradený do osevného postupu, ktorý pozostával zo štyroch teplomilných plodín:

1. Cirok zrnový *(Sorhum bicolor L. Moench)*
2. Pohánka siata (*Fagopyrum esculentum Moench*.)
3. Proso siate (*Panicum miliaceum* L.)
4. Láskavec (*Amaranthus sp. L.*)

Predplodinou pre amarant bolo proso siate. Veľkosť celkovej plochy pokusu bola – 60 m x 45 m = 2 700 m^2 (0,27 ha). Poľný pokus bol usporiadaný blokovou metódou v troch opakovaniach s náhodným usporiadaním variantov.

Faktormi pokusu bolo obrábanie pôdy

KA - konvenčné obrábanie pôdy
RA – redukované obrábanie pôdy

a hnojenie

1. pôdna pomocná látka PRP® sol
2. pôdna pomocná PRP® sol + rastlinná pomocná látka PRP® EBV
3. bez aplikácie hnojív

Pri konvenčnom obrábaní pôdy sa po zbere predplodiny urobila podmietka a v jeseni stredná orba, na jar nasledovala predsejbové spracovanie pôdy radličkovým náradím a sejba. Pri redukovanom obrábaní pôdy po zbere predplodiny nasledovala podmietka, potom príprava pôdy radličkovým kypričom a sejba.
Pôdny kondicionér PRP® sol sa aplikoval k predsejbovej príprave pôdy v dávke 200 kg.ha^{-1}. Rastlinná pomocná látka PRP® EBV sa aplikovala od 3. listu v dávke 1,5 l. ha^{-1}. Zber sa vykonával po dosiahnutí zberovej zrelosti maloparcelkovým kombajnom. Všetky zásahy pri zakladaní a ošetrovaní pokusov boli vykonané za jeden deň pri prísnom rešpektovaní zásad pokusníckej rovnosti.
Pre hodnotenie dosiahnutých výsledkov boli použité matematicko-štatistické metódy (analýza variancie), ktorými sa zistili základné charakteristiky súboru údajov a otestovali sa hypotézy (prípadne zhodnotili sa závislosti znakov).

Výsledky a diskusia

Analýza priebehu teplôt a zrážok v pokusnom období

V Milhostove, sa nachádza meteorologická pozorovacia stanica Slovenského hydrometeorologického ústavu, ktorá dlhodobo zaznamenáva priebeh počasia v tejto oblasti Východoslovenskej nížiny. Hodnoty priemernej teploty vzduchu a sumy zrážok sú porovnávané s dlhodobým normálom (DN) týchto parametrov z rokov 1961 – 1990 (Mikulová et al., 2008) . V tabuľkách 1 a 2 sú uvedené priemerné teploty vzduchu a sumy zrážok z Milhostova za roky 2013 – 2015 a ich dlhodobý normál.

Tabuľka 1. Priemerné mesačné teploty vzduchu v Milhostove [°C]

Mesiac	DN	2013			2014			2015		
		° C	odch.	hodn.	° C	odch.	hodn.	° C	odch.	hodn.
I.	-3,4	-2,0	+1,4	N	1,2	+4,6	VT	0,4	+3,8	VT
II.	-0,9	1,2	+2,1	N	2,6	+3,5	VT	1,4	+2,3	N
III.	3,9	2,0	-1,9	N	8,4	+4,5	MT	5,5	+1,6	N
IV.	10,0	11,4	+1,4	N	12,0	+2,0	T	9,9	-0,1	N
V.	15,0	16,2	+1,2	N	14,8	-0,2	N	15,1	+0,1	N
VI.	17,9	20,1	+2,2	VT	18,8	+0,9	N	19,6	+1,7	T
VII.	19,4	21,1	+1,7	VT	21,6	+2,2	VT	22,4	+3,0	MT
VIII.	18,7	21,7	+3,0	MT	19,4	+0,7	N	23,7	+5,0	MT
IX.	14,8	14,1	-0,7	S	16,5	+1,7	T	17,4	+2,6	VT
X.	9,1	11,0	+1,9	T	10,8	+1,7	T	9,9	+0,8	N
XI.	3,6	6,6	+3,0	VT	5,9	+2,3	VT	4,7	+1,1	T
XII.	-1,1	0,1	+1,2	N	1,7	+2,8	VT	2,5	+3,6	VT
$\bar{x}$ I.-XII.	**8,9**	**10,3**	**+1,4**	**VT**	**11,1**	**+2,2**	**MT**	**11,0**	**+2,1**	**MT**
$\bar{x}$ IV. – IX.	**16,0**	**17,4**	**+1,4**	**T**	**17,2**	**+1,2**	**T**	**18,0**	**+2,0**	**VT**

Kde: S – studený, N – normálny, T – teplý, VT – veľmi teplý, MT – mimoriadne teplý

Pre Milhostov je dlhodobý normál ročnej (I. – XII.) priemernej teploty vzduchu 8,9 °C a pre vegetačné obdobie 16,0 °C. Trend ročného zvyšovania priemernej mesačnej teploty vzduchu sa potvrdil aj v rokoch 2013 – 2015 (tabuľka 2). V roku 2013 bol september studený, mesiace január, február, marec, apríl, máj a december boli teplotne normálne, október bol teplý, jún, júl

a november boli veľmi teplé, august bol mimoriadne teplý. Rok 2013 s odchýlkou +1,4 °C od dlhodobého teplotného normálu bol veľmi teplý a jeho vegetačné obdobie (odchýlka +1,4 °C) bolo teplé.
V roku 2014 boli teplotne normálne len máj, jún a august. Teplé boli mesiace apríl, september a október. Podľa odchýlky od dlhodobého normálu boli mesiace január, február, júl, november a december veľmi teplé. V roku 2014 marec s teplotou 8,4 °C, čo bolo o 4,5 °C viac ako dlhodobý normál, bol mimoriadne teplý. Priemerná ročná teplota vzduchu v roku 2014 bola 11,1 °C (odchýlka +2,2 °C) a celý rok bol mimoriadne teplý. Počas vegetačného obdobia 2014 bola priemerná teplota vzduchu 17,2 °C (odchýlka od DN +1,2 °C) a vegetačné obdobie bolo teplé.
V roku 2015 boli teplotne normálne mesiace február, marec, apríl máj a október. Mesiace jún a november 2015 boli teplé. Ako mimoriadne teplé sú podľa priemernej teploty vzduchu charakterizované január, september a december 2015. Mimoriadne teplé boli letné mesiace júl a august s priemernou teplotou vzduchu 22,4 °C (odchýlka od DN +3,0 °C), resp. 23,7 °C (odchýlka od DN +5,0 °C). Priemerná ročná teplota vzduchu v roku 2015 bola 11, °C (odchýlka +2,1 °C) a celý rok bol mimoriadne teplý. V roku 2015 bolo priemerná teplota vzduchu počas vegetačného obdobia 18,0 °C, čo bolo viac o 2,0 °C oproti dlhodobému normálu, a tak vegetačné obdobie 2015 je charakterizované ako veľmi teplé.
Pre Milhostov 30-ročný zrážkový normál predstavuje 550 mm a pre vegetačné obdobie 348 mm. V tabuľke 2 sú uvedené zrážkové úhrny v jednotlivých mesiacoch rokov 2013 – 2015.

Tabuľka 2. Mesačné úhrny zrážok v Milhostove [mm]

Mesiac	DN	2013			2014			2015		
		mm	% DN	hodn.	mm	% DN	hodn.	mm	% DN	hodn.
I.	30	47	156,7	V	36	120,0	N	65	216,7	VV
II.	26	48	184,6	VV	38	146,2	V	13	50,0	S
III.	31	67	216,1	V	20	64,5	N	12	38,7	S
IV.	41	41	100,0	N	46	112,2	N	6	14,6	MS
V.	57	82	143,9	V	76	133,3	V	53	93,0	N
VI.	70	78	111,4	N	23	32,9	VS	49	70,0	N
VII.	74	34	45,9	S	154	208,1	VV	35	47,3	S
VIII.	62	14	22,6	VS	96	154,8	V	2	3,2	MS
IX.	44	49	111,4	N	30	68,2	N	82	186,4	V
X.	38	19	50,0	N	71	186,8	V	93	244,7	VV
XI.	41	49	119,5	N	11	26,8	VS	32	78,0	N
XII.	36	2	5,6	MS	12	33,3	VS	5	13,9	MS
Σ I. – XII.	**550**	**530**	**96,4**	**N**	**613**	**111,5**	**V**	**447**	**81,3**	**S**
Σ IV. – IX.	**348**	**298**	**85,6**	**N**	**425**	**122,1**	**V**	**227**	**65,2**	**S**

Kde: MS – mimoriadne suchý, VS – veľmi suchý, S – suchý, N – normálny, V – vlhký, VV – veľmi vlhký, MV – mimoriadne vlhký

V roku 2013 boli zrážkovo normálne mesiace apríl, jún, september, október a november. Júl bol suchý (34 mm, t. j. 45,9 % DN), august bol veľmi suchý (14 mm, t. j. 22,6 % DN) a december bol mimoriadne suchý (2 mm, t. j. 5,6 % DN). Vegetačné obdobie roku 2013 s 298 mm zrážok bolo zrážkovo normálne.
V roku 2014 boli zrážkovo normálne mesiace január, marec, apríl a september. So zrážkami dosahujúcimi 26,8 – 33,3 % DN boli veľmi suché mesiace november, jún a december. Podľa zrážkových úhrnov boli február, máj, august a október 2014 vlhké mesiace, ale júl so zrážkami

dosahujúcimi 208,1 % DN bol veľmi vlhký. Celkovo rok 2014 s úhrnom zrážok 613 mm, t. j. 111,5 % DN bol vlhký, teda zrážkovo nadnormálny. Vegetačné obdobie roku 2014 so 425 mm zrážok, čo bolo 122,1 % DN, bolo tiež vlhké.
V roku 2015 boli mesiace apríl, august a december mimoriadne suché so zrážkami dosahujúcimi len 3,2 – 14,6 % DN. Júl s 35 mm zrážok bol suchý. Zrážky na úrovni dlhodobého normálu boli v roku 2015 v máji, júni a novembri (32 – 53 mm, t. j. 70,0 – 93,0 % DN). September bol vlhký (82 mm, t. j. 186,4 % DN), január a október boli veľmi vlhké – silne nadnormálne (65 mm, t. j. 216,7 % DN, resp. 93 mm, t. j. 244,7 % DN). Rok 2015 s celkovým úhrnom zrážok 447 mm, čo bolo 81,3 % DN, je charakterizovaný ako suchý. Podobne ako suché bolo charakterizované aj vegetačné obdobie roku 2015, kedy zrážkový úhrn za apríl až september bol 227 mm, čo bolo len 65,2 % DN.

Fenológia amarantu
V roku 2013 sa pokusy s amarantom siali 30. apríla a porast začal vzchádzať za 18 dní. Kvitnúť začal 19. júla a technologickú zrelosť k zberu na semeno dosiahol 17. októbra.

Tabuľka 3. Fenológia pokusov s amarantom

Rok	2013	2014	2015
Sejba	30.4.	2.5.	12.5.
Vzchádzanie	18.5.	22.5	3.6.
Klasenie	8.7.	10.7.	8.7.
Kvitnutie	19.7.	20.7.	22.7.
Technologická zrelosť	17.10.	31.10.	28.10.
Zber	21.10.	3.11.	30.10.

V roku 2014 sa sialo 2. mája a porast vzišiel až o 20 dní. Neskôr aj začal kvitnúť a zrelosť dosiahol až 31. októbra. Z dôvodu vysokej zrážkovej činnosti začiatkom mája sa v roku 2015 sejba posunula na 12. máj. Amarant začal vzchádzať až 3. júna, ale kvitnúť začal ako v predchádzajúcich rokoch a technologickú zrelosť dosiahol koncom októbra.

Produkčné parametre amarantu
V pokuse na ťažkých pôdach sa produkčné parametre amarantu pohybovali medzi 1 a 2 tonami na hektár (tabuľka 4). V roku 2013 úrody amarantu prevyšovali úroveň 1,5 $t.ha^{-1}$. Aplikáciou pomocných látok sa úrody amarantu zvyšovali. V roku 2014 boli úrody amarantu vyrovnanejšie a pohybovali sa v úzkom rozmedzí 1,58 až 1,77 $t.ha^{-1}$. Najnižšie úrody sa dosiahli v roku 2015. Na kontrolných variantoch sa dosiahli úrody len 1,20 $t.ha^{-1}$ pri konvenčnom variante a na redukovanom len 1,15 $t.ha^{-1}$. V oblasti Stredomoria sa v pokusoch pri druhu Amaranthus cruentus dosahovali úrody vyššie ako 2,7 $t.ha^{-1}$(Gresta et al. 2017). Veľmi široké rozmedzie úrod v pokusoch v Piešťanoch uvádza Jamriška (2001) a to od 0,79 do 5,9 $t.ha^{-1}$.

Tabuľka 4. Úrody amarantu v $t.ha^{-1}$ pri 13% vlhkosti

Obrábanie pôdy	Hnojenie	2013	2014	2015
Konvenčné	Kontrola	1,61	1,63	1,20
	PRP sol	1,88	1,77	1,58
	PRP+EBV	1,96	1,75	1,41
Redukované	Kontrola	1,65	1,58	1,15
	PRP sol	1,79	1,61	1,48
	PRP+EBV	1,82	1,65	1,35

Pri štatistických hodnoteniach boli preukazné rozdiely v úrodách amarantu pri jeho konvenčnom a redukovanom obrábaní (tabuľka 5). Preukazne vyššie boli úrody pri konvenčnom obrábaní pôdy. Na úrody preukazne vplývala aj výživa. Štatisticky preukazne boli nižšie úrody pri nehnojenej kontrole. Medzi variantami samotného PRP sol a v kombinácii s EBV neboli štatisticky signifikantné rozdiely. V sledovaných rokoch úrody preukazne stúpali od roku 2013 po rok 2015.

Tabuľka 5. Viacfaktorová analýza rozptylu a viacnásobné porovnanie úrod amarantu LSD-testom

Zdroj variability	Stupne voľnosti	F-test	Preukaznosť	Úrody [t ha^{-1}]	Skupina homogenity			
Obrábanie pôdy	1	19,45	++	1,63 1,56	KA RA	 x	x	
Hnojenie	2	66,82	++	1,47 1,67 1,66	K PRP sol PRP+EBV	x	 x x	
Roky	2	19,45	++	1,77 1,67 1,36	2013 2014 2015	 x	 x	x
Reziduá	63							
Celkom	71							

Koncentrácia dusíkatých látok v zrne amarantu

Semeno amarantu má unikátnu výživnú hodnotu. Ak ideál hodnoty bielkovín (FAO/WHO) označíme 100, potom bielkovinám z amarantu prináleží 75, z kravského mlieka 72, sója 68, pšenica 60 (Pospíšil 2013).

Najvyššie hodnoty koncentrácie dusíkatých látok sa dosahovali v roku 2015, v ktorom sa na kontrole pri redukovanom obrábaní pôdy dosiahla najvyššia koncentrácia NL v pokuse 181,3 g.kg^{-1} sušiny. Najnižšie koncentrácie sa namerali v zrne v roku 2013 a to do 142 g.kg^{-1} sušiny.

Tabuľka 6. Koncentrácia NL v g.kg^{-1} sušiny

Obrábanie pôdy	Hnojenie	2013	2014	2015	Priemer
Konvenčné	Kontrola	138,3	153,8	165,0	152,37
	PRP sol	139,1	148,8	160,6	149,50
	PRP+EBV	129,5	163,1	170,6	154,40
Redukované	Kontrola	140,0	149,4	181,3	156,90
	PRP sol	131,3	156,9	148,8	145,67
	PRP+EBV	141,8	158,8	178,1	159,57

Dosiahnuté koncentrácie NL boli štatisticky porovnávané (tabuľka 24). Na základe týchto hodnotení sa nepreukázali rozdiely v koncentráciách NL medzi obrábaniami pôdy. Preukazne nižšia koncentrácia NL bola v zrne amarantu pri sólovej aplikácii PRP sol, v porovnaní s ostatnými variantami hnojenia. Signifikantné boli rozdiely aj pri porovnaní koncentrácie NL v jednotlivých rokoch.

Tabuľka 7. Viacfaktorová analýza rozptylu a viacnásobné porovnanie koncentrácie dusíkatých látok v zrne Amarantu LSD-testom

Zdroj variability	Stupne voľnosti	F-test	Preukaznosť	NL [g.kg^{-1}]	Skupina homogenity			
Obrábanie pôdy	1	1,57	++	152,1 154,0	KA RA	x x		
Hnojenie	2	13,06	++	154,6 147,6 157,0	K PRP sol PRP+EBV		x x	
Roky	2	130,61	++	136,7 155,1 167,4	2013 2014 2015	x	 x	 x
Reziduá	63							
Celkom	71							

V pokusoch na experimentálnom pracovisku v Milhostove bola porovnávaná koncentrácia dusíkatých látok v amarante s koncentráciou dusíkatých látok v zrne ciroku, pohánky a prosa siateho. Na základe výsledkov rozborov preukazne najvyššia koncentrácia dusíkatých látok bola stanovená pri amarante (Kováč, Jakubová 2017). K podobným výsledkom dospela aj Léder (2010), ktorá najvyšší obsah dusíkatých látok dosiahla pri amarante, pred pšenicou, pohánkou, tritikale a prosom.

Záver

1. Pri štatistických hodnoteniach produkčných parametrov amarantu boli preukazne vyššie úrody pri konvenčnom obrábaní pôdy. Na úrody preukazne vplývala aj výživa. Štatisticky preukazne boli nižšie úrody pri nehnojenej kontrole. Medzi variantmi samotného PRP sol a v kombinácii s EBV neboli štatisticky signifikantné rozdiely. V sledovaných rokoch úrody preukazne stúpali od roku 2013 po rok 2015.
2. Na základe hodnotení sa nepreukázali rozdiely v koncentráciách NL medzi obrábaniami pôdy. Preukazne nižšia koncentrácia NL bola v zrne amarantu pri sólovej aplikácii PRP sol, v porovnaní s ostatnými variantami hnojenia. Signifikantné boli rozdiely aj pri porovnaní koncentrácie NL v jednotlivých rokoch.
3. 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. Vo výskume sa potvrdila aj potreba kombinovať aplikáciu pôdneho kondicionéra s minerálnym hnojením, najmä dusíkom.
4. Dosiahnutými úrodami amarant zaostáva za u nás intenzívne pestovanými plodinami, ale poskytuje iné benefity. Je zdrojom vysoko kvalitných bielkovín, vlákniny a tukov bohatých na nenasýtené mastné kyseliny. Semená obsahujú okrem iných bioaktívnych zložiek, ako sú fytosteroly, skvalén, fagopyritoly, saponíny a polyfenoly, vhodné hladiny minerálov, vitamínov pre ľudskú výživu. Amaranth v súčasnosti vyžadujú osobitné skupiny spotrebiteľov, ako sú vysokovýkonní športovci, podvyživené deti a ľudia trpiaci cukrovkou a celiakiou. Zároveň je to perspektívna plodina dobre znášajúca sucho a vysoké teploty súvisiace s globálnym otepľovaním.

Poďakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Udržateľné systémy inteligentného farmárstva zohľadňujúce výzvy budúcnosti 313011W112, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Použitá literatúra

Alemavehu, F. R. et al. 2014. The Potential for Utilizing the Seed Crop Amaranth (*Amaranthus* spp.) in East Africa as an Alternative Crop to Support Food Security and Climate Change Mitigation. In: Journal of Agronomy and Crop Science. 2014, Volume 201 Issue 5.
https://doi.org/10.1111/jac.12108

Gresta, F. et al. 2017. Agronomic, Chemical, and Antioxidant Characterization of Grain Amaranths Grown in a Mediterranean Environment. In: Crop Science Society of America, 2017 Vol. 57 No. 5, p. 2688-2698

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 vyživy 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 zdrava výživa. Ministerstvo zemědělství. Praha, 2014, str. 47-49. ISBN 978-80-7434-174-8.

Kováč, L. – Jakubová, J.2017: Teplomilné plodiny na ťažkých pôdach a ekonomika ich pestovania. 1. vyd. Michalovce: NPPC-VÚA Michalovce, 2017, 68 s. ISBN 978-80-971644-7-8.

Léder, F. 2010: Az alternatív növények élelmezési jelentősége. In: Az alternatív növények szerepe az Észak-alföldi Régióban (Szerk.: Gondola, I.), DE AGTC KIT Kutatóintézet, Nyíregyháza, pp. 107-130., ISBN 978-963-473-386-7

Mikulová, K. et al. 2008: Klimatologické normály 1961 – 1990 meteorologických prvkov teplota vzduchu a atmosférické zrážky : Záverečná správa výskumnej úlohy. Bratislava : SHMÚ, 2008. CD

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.

Wegerle, N. , Zeller F. J., 1995: Grain amaranth (Amarantbus ssp.): Cultivation, Breeding and Properties of an Old Indian Plant. In: Journal of Agronomy and Crop Science. 1995, Volume 174 Issue 1. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.1995.tb00195.x

Kontaktná adresa:

Ing. Ladislav Kováč, PhD.
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav agroekológie Michalovce
Špitálska 1273, 071 01 Michalovce, Slovensko
email: ladislav.kovac@nppc.sk

In vivo testy účinnosti fungicidů proti chorobám kůry a dřeva na hostitelských rostlinách

In vivo tests of efficacy of fungicides against bark and wood diseases of host plants

Kracíková M. [1], Haňáčková Z.[1]

[1]*Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.*

Abstrakt

Byla sledována účinnost vybraných účinných látek fungicidů na růst dřevokazných hub na hostitelských rostlinách. Byly testovány 4 fungicidy na podnožích M9 a St. Julien. Jako inokulum byly použity houbové izoláty dřevokazných hub *Diaporthe eres* (H2), *Neonectria sp*. (H50), *Cytospora cincta* (MA452) a *Cytospora leucostoma* (MA495). Každá varianta fungicidu a izolátu houby byla provedena na 4 podnožích. Celkem proběhla 4 hodnocení, vždy po 6 týdnech. Z testů vyplývá, že velikosti lézí u jednotlivých fungicidů se lišily především na základě vybraných podnoží. Průměr velikosti lézí u podnože St. Julien sahal až k hodnotám 20 mm u kontrolní varianty. Nejnižší velikost lézí byla zjištěna u přípravku Dagonis (fluxapyroxad, difenokonazol). U podnože M9 byl celkový výskyt lézí daleko menší. Nejvyšší nárůst dosahoval v průměru 3,5 mm, a to u izolátu *Diaporthe eres* (H2) a přípravku Luna Experience (účinná látka tebukonazol, fluopyram). U přípravku Dagonis k nárustu tohoto izolátu nedocházelo.

Klíčová slova: dřevokazné houby, přípravek, inokulum

Abstract

The effectiveness of selected active substances of fungicides on the growth of wood-destroying fungi on host plants was monitored. Four fungicides were tested on the bases of quince M9 and St. Julien. Fungal isolates of wood-destroying fungi *Diaporthe eres* (H2) *Neonectria sp*. (H50), *Cytospora cin*cta (MA452), and *Cytospora leucostoma* (MA495) were used as inoculum. Each fungicide variant and fungal isolate were applied on four bases. Four evaluations occurred, each after six weeks. The tests demonstrated that the size of the lesions for individual fungicides depended mainly on the basis of selected rootstocks. The average size of the lesions at the St. Julien base reached up to 20 mm in the control variant, the smallest size of the lesions was observed with Dagonis (active compound Fluxapyroxad, difenoconazole). In the M9 rootstock, the total incidence of lesions was much smaller. The highest increase was 3.5 mm in diameter in the *Diaporthe eres* (H2) isolate of Luna Experience (active compound Tebuconazole, fluopyram). No increase in this isolate was noticed with Dagonis.

Key words:, wood - destroying fungi, preparation, inoculum

Úvod

Rod *Cytospora*, popsaný již v roce 1818 zahrnuje přibližně 110 druhů (Kirk et al., 2008). Rody zahrnují velké množství endofytických hub, saprofytické houby degradující dřevo odumírajících stromů a patogeny způsobující fatální odumírání u více než 85 druhů dřevin (Christensen, 1940). *Leucostoma cinctum, Leucostoma persoonii*, patří mezi houby způsobující nekrotické léze a předčasné odumírání peckovin. Jedná se o houby z řádu *Diaporthales*, čeleď *Valsacea*e. V přírodě se často setkáváme s anamorfními (nepohlavní) stádii hub *Cytospora cincta* (= *Leucocytospora cinctum)* a *Cytospora leucostoma (= Leucostoma persoonii*). Mezi těmito dvěma druhy je velmi obtížné najít morfologické rozdíly (Biggs et al., 2005). Rod

Diaporthe zahrnuje mnoho rostlinných patogenních druhů způsobujících nespecifické symptomy u celé řady rostlin po celém světě (Król and Kowalik, 2010). V Evropě již bylo nalezeno několik patogenních druhů u ovocných plodin. Nedávné studie ukázaly, že příslušnost druhu k hostiteli není spolehlivým znakem, protože jednotlivé druhy tohoto rodu napadají široké spektrum hostitelů (Gomes et al., 2013). *Neonectria sp.* (=*Ilyonectria sp*.) je houbový patogen, který napadá zejména jabloně a hrušně. Houba napadá stromy v sadech a způsobuje odumírání mladých výhonů. Největším problémem je napadení mladého sadu, kde může dojít až k 10% ztrátě stromů (Goméz-Cortecero et al., 2016).
Všechny již zmíněné druhy dřevokazných hub napadají výhony, na kterých tvoří černohnědé léze. Jsou to celosvětově rozšířené houby, napadající především rod *Prunus*, zejména meruňku, broskvoň, třešeň a švestku. Vstupem infekce jsou nejčastěji drobná poranění po opadu listu. Nicméně, vstupem mohou být i odumírající větve, které nejsou schopné produkovat dostatečné množství klejotoku. (Kracíková, 2019). Postupně kůra praská a vysychá. Spory hub se šíří větrem, deštěm, hmyzem a infikovanými sadařskými nástroji (Biggs et al., 2005). Postupně dochází k oslabení stromů a menší násadě plodů. Choroba postihuje nejčastěji jednoleté výhony, ale může se šířit i do nosných větví, kde způsobuje destruktivnější infekce. To má za následek sníženou dlouhověkost a produktivitu sadů (Chang et al., 1991). Úmrtnost stromů v zasažených sadech může dosáhnout až 5% ročně (Grove and Biggs, 2006).

Materiál a metody

Testované fungicidy

Do testu byly použity fungicidní přípravky: Dagonis (účinná látka difenokonazol 50 g/L, fluxapyroxad 75 g/L; BASF FE; aplikovaná dávka 1,2 L/ha), Luna Experience (účinná látka fluopyram 200 g/L a tebukonazol 200 g/L; Bayer S.A.S.; aplikovaná dávka 0,75 L/ha), Horizon 250 EW (účinná látka tebukonazol 250 g/L; Bayer AG; aplikovaná dávka 0,75 L/ha), Talent (účinná látka myklobutanil 200 g/L; AGRO CS a.s.; aplikovaná dávka 0,7 L/ha).

Metodika pokusu

Byly založeny skleníkové testy ke stanovení účinnosti fungicidní přípravků, které jsou registrovány především pro jádroviny a peckoviny. Byl sledován jejich vliv na růst houbových izolátů dřevokazných hub. Houbové izoláty byly získány v rámci terénních průzkumů patogenních hub vyskytujících se v odumírajících peckovinách a jádrovinách. Vždy byly vyhledány stromy se symptomy odumírání výhonů. Následně byly odebrány výhony s nekrotickými lézemi.
Vyhledány byly i stromy vykazující symptomy náhlého odumírání a odebrány napadené výhony s viditelnými nekrotickými lézemi. Izoláty byly získány následujícím způsobem. Z omytých výhonů, zejména z přechodů mezi zdravým a napadeným pletivem byly získány segmenty cca 5 mm velké, které byly omyty v destilované sterilní vodě s kapkou roztoku Tween, aby se zbavili povrchových nečistot. Následně byly desinfikovány ponořením do 96 % etanolu na 15 s, opláchnuty v destilované sterilní vodě a vysušeny filtračním papírem. Poté jednotlivé kousky pletiv byly umístěny na PDA medium (Himedia) s přídavkem antibiotika chloramfenikol (0,1 mg/L). Misky byly kultivovány při pokojové teplotě. Po 7 dnech byly narostlé kolonie hub přeočkovány na čisté PDA medium. Následně byla z izolátů hub extrahována DNA s použitím kitu Exgene Plant SV mini (GeneAll, Soul, Korea). Pro identifikaci izolátů hub byly použity sekvence ITS oblastí rDNA. PCR reakce probíhala za standardizovaných podmínek s využitím kombinací primerů UniFungiITS-F: (5´-GGTTTCCGTAGGTGAACCTGC-3´) a UniFungiITS-R: (5´ - ACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAG - 3´). Získané PCR produkty byly přečištěny kitem ExpinTM Combo GP (GeneAll, Soul, Korea) dle návodu výrobce. Sekvenační reakce byla

připravena pomocí kitu Big Dye version 3.1 (Thermo Fisher Scientific) a vzorky byly sekvenovány v přístroji GA3500 (Thermo Fisher Scientific). Získané sekvence byly editovány v programu Chromas a k určení byly použity knihovny Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/). Izoláty hub, které byly určeny jsou uvedeny v tabulce 1. Tyto izoláty byly použity v *in vivo* testech. Inokulace do kmínku byla provedena na jaře 2020. Jako rostlinný materiál, který byl infikován, sloužili podnože kdouloň a St. Julien. Do kmínků stromků byl pomocí raznice vytvořen otvor o průměru 5 mm, do kterého byl vložen stejně velký segment kultivačního média s myceliem izolátů. V případě kontroly pouze médium bez mycelia (viz obrázek 1). Jako inokulum byly použité segmenty mycelia získané z okraje týden staré kolonie izolátů dřevokazných hub *Diaporthe eres* (H2), *Neonectria sp*. (H50), *Cytospora cincta* (MA452) a *Cytospora leucostoma* (MA495). Místo inokulace na kmínku bylo ovázáno parafilmem, aby nedocházelo k vyschnutí inokula. Poté byly pravidelně kontrolovány příznaky rozvíjející se infekce. Po 6ti týdnech proběhlo hodnocení. Byl odkryt parafilm a změřeny léze, případně u jednotlivých variant poznamenán i vyskytující se klejotok. Celkem proběhla čtyři hodnocení.

Tabulka 1. Seznam získaných izolátů dřevokazných hub

č. sb.	**Izolát**	**Hostitel**	**Lokalita**	**Materiál**
H2	*Diaporthe eres/Phomopsis velata*	*Malus sp.*	Sady Vviss	pletiva
H50	*Neonectria sp./Ilyonectria sp.*	*Pyrus communis*	Litovel	nekrotické kořínky
MA452	*Cytospora cincta*	*Prunus sp.*	Klapý	větev
MA495	*Cytospora leucostoma*	*Prunus sp.*	Slaný	větev

Obrázek 1: Umělá inokulace do kmínku podnože

Výsledky a diskuze

V rámci skleníkových testů byly zjištěny velké rozdíly ve velikosti lézí u jednotlivých druhů podnoží (Tabulka 2). U podnože M9 byly průměrné nárůsty lézí v rozmezí 0,2 – 3,5 mm (Graf 1). U přípravku Luna Experience byl pozorován nejvyšší nárůst lézí. Dále to bylo i u kontrolní varianty, přípravku Talent a Horizon 250EW. U podnoží M9 byl nejvyšší nárůst zaznamenán u houbového izolátu *Diaporthe eres (H2).* Naopak u izolátu *Cytospora cincta* (MA 452) nebyl nárůst ani u jedné podnože M9. U podnoží St. Julien byl nejvyšší nárůst u izolátu *Cytospora cincta* (MA 452). V průměru se velikost lézí tohoto patogenu pohybovala kolem 12,6 mm (obrázek. 2).

Velké rozdíly byly zjištěny u podnože St. Julien. V tomto případě došlo k nárůstu všech houbových izolátů. Rozdíly byly nepatrné u jednotlivých přípravků. Nejvyšší průměrný nárůst lézí 10,7 mm byl nalezen u kontrolní varianty. U přípravku Luna Experience to bylo 9 mm, u fungicidu Talent, Horizon 250 EW, Dagonis se průměr lézí pohyboval od 4 do 6 mm.

Ve skleníkových testech, jak u podnoží M9, tak u St.Julien přípravek Luna Experience (účinná látka tebukonazol, fluopyram) vykazoval nejnižší účinnost. Nejvyšší účinnost byla zjištěna u přípravku Horizon 250 EW (účinná látka tebukonazol) u podnoží M9 a u přípravku Dagonis (účinná látka difenokonazol, fluxapyroxad) u podnoží St. Julien.

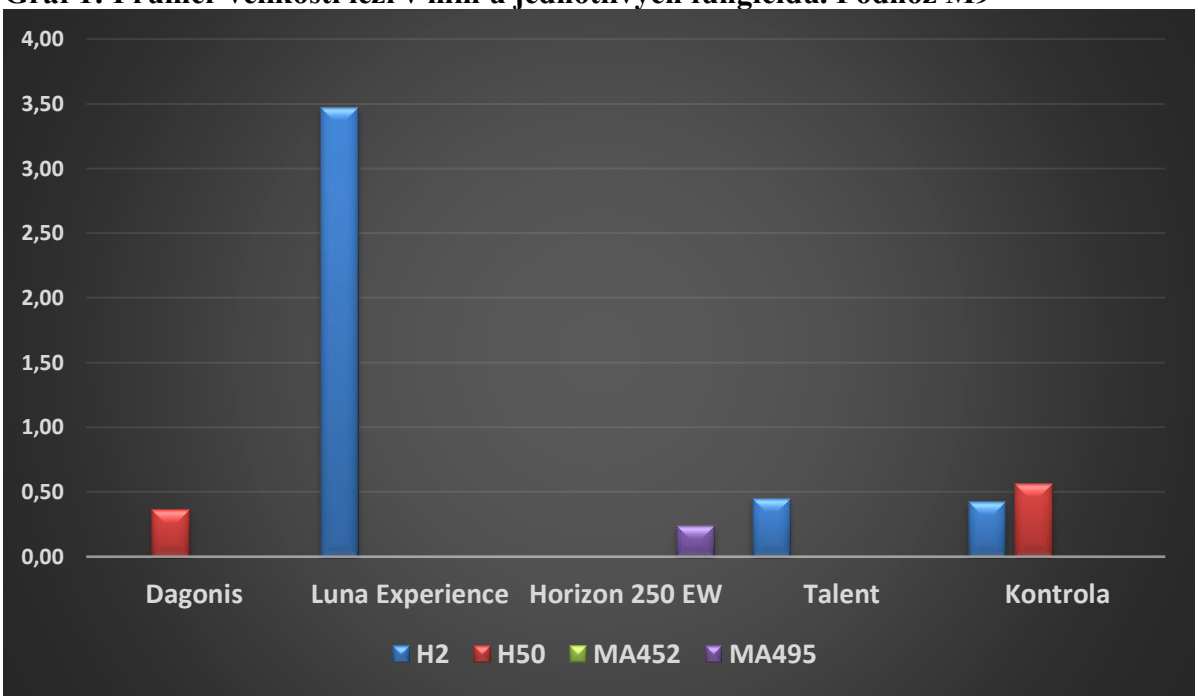
V Novém Skotsku v roce 2018 byly na podnožích mladých jabloní pozorovány nekrotické léze (Ali et al., 2020). Vyskytovaly se u 4 druhů podnoží (Emila 9, Supporter 4, M9-T337 a Pajam 2). Cílem studie bylo izolovat a následně identifikovat patogen způsobující poškození těchto podnoží. Od každé podnože bylo vytipováno 8 rostlin s příznaky, byly odebrány vzorky a následně izolovány na potato dextrose agar médiu (PDA). Na základě morfologie kolonií spor

byla určena houba *Diaporthe sp*. Jako hlavní patogen již zmíněných symptomů. Tato studie se také zabývala testováním poškození podnoží jabloní ve skleníkových testech. Již 3 dny po inokulaci tímto patogenem byly pozorovány na podnožích nekrotické léze a po 4 týdnech došlo k úhynu rostlin.

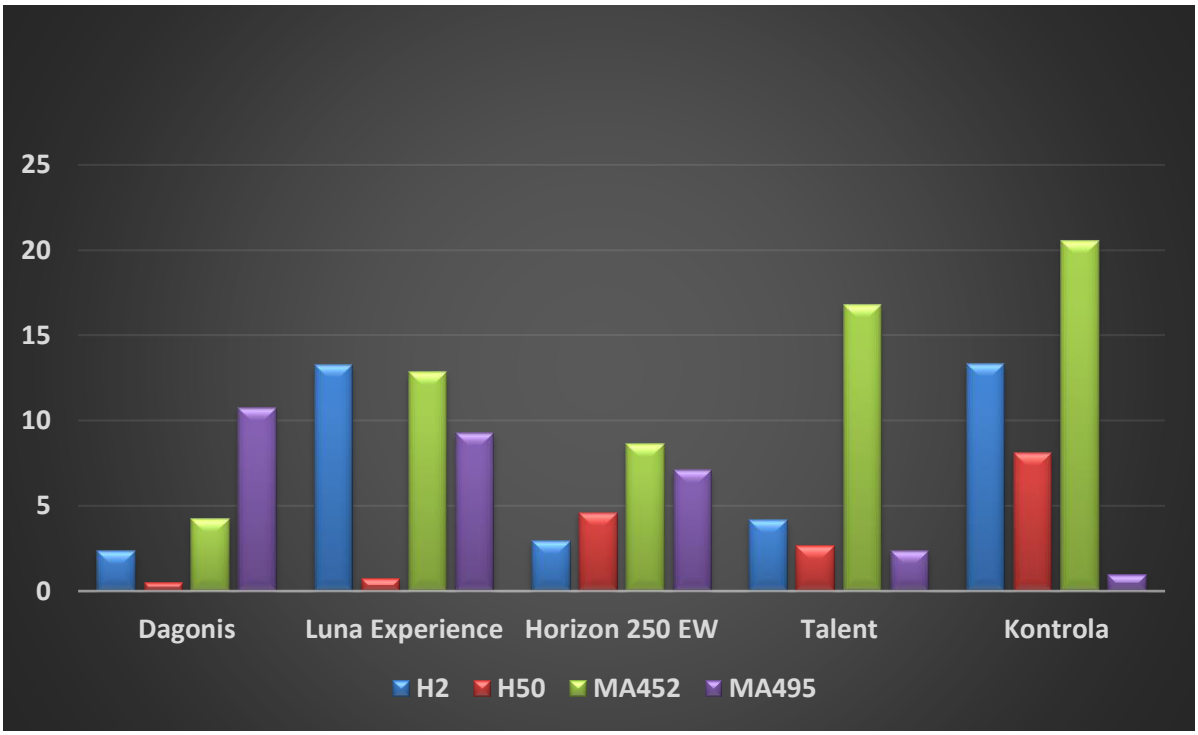
Tabulka 2: Výsledky jednotlivých hodnocení

izolát patogena/ podnož	Kontrola				Dagonis				Luna Experience				Horizon 250 EW				Talent			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
H2 / M9	2,09	0	0	0,00	0	0	0	0	2,14	3,88	2,3	5,73	0	0	0	0	2,24	0	0	0
H2 / St J	11,07	12,13	14,15	14,03	4,9	0	0	3,33	8,25	12,35	15,1	17,45	3,27	0	1,75	6,83	4,04	2,2	1,85	5,58
H 50 / M9	0	0	2,78	0,00	0	0	0	1,78	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
H 50/ St J	5,37	12,9	8,33	6,03	2,46	0	0	0,00	0	0	3,7	0	3,2	3,18	4,9	2,53	1,6	0	5,78	0
MA 452 / M9	0	0	0	0,00	0	0	0	0,00	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MA 452 / St J	13,7	18,78	20,88	23,33	4,4	3,42	4,58	4,57	7,48	10,9	13,58	15,75	2,58	15,8	7,53	8,78	7,11	15,9	18,93	18,28
MA 495 / M9	0	0	0	0,00	0	0	0	0,00	0	0	0	0	1,18	0	0	0,00	0	0	0	0
MA 495 / St J	2,59	2,2	0	0,00	3,79	14,68	12,99	11,74	2,93	8,65	9,13	10,53	3,45	10,4	5,1	5,45	0,94	0	2,45	4,83

Graf 1: Průměr velikosti lézí v mm u jednotlivých fungicidů. Podnož M9



Graf 2: Průměr velikosti lézí v mm u jednotlivých fungicidů. Podnož St. Julien



Obrázek 2: Léze a klejotok u izolátu *Cytospora cincta* (MA452) u kontrolní varianty Podnož St. Julien

Závěr

Jelikož zatím není známá žádná vhodná ochrana proti dřevokazným houbám, bylo by vhodné nalézt fungicidy účinné v preventivních ošetřeních proti napadení těmito patogeny. V našich testech se nejlépe osvědčily přípravky s účinnou látkou tebukonazol (Horizon 250 EW) a difenokonazol + fluxapyroxad (Dagonis). Výsledky získané ze skleníkového testu by mohly být předmětem pokračujícího výzkumu účinnosti dalších fungicidů napříč větším spektrem druhů podnoží**.**

Použitá Literatura

Ali, Shawkat, Renderos, Willy, Bevis, Eric, Hebb, Joan, Abbasi, Pervaiz, (2020): *Diaporthe eres* causes stem cankers and death of young apple rootstocks in Canada. Canadian journal plant of pathology. No.2. pp. 218-227. ISSN 1715-2992.

Biggs, A. R., Grove, G. G., (2005): Leucostoma canker of stone fruits. The Plant Health Instructor. 10: 2005-1220-1001.

Gomes, R.R., Glienke, C., Videira, S.I.R., Lombard, L., Groenewald, J.Z., Crous, P.W. (2013): Diaporthe: a genus of endophytic, saprobic and plant pathogenic fungi. Persoonia, 31,1–41.

Goméz-Cortecero, A., Saville, R.J., W.A.Scheper, R., Bowen, J.K., Medeiros, H.A., Kingsnorth, J., Xu, X., Harrison R.J., (2016): Variation in host and pathogen in the Neonectria/Malus Interaction; toward and Understanding of the Genetic Basis of Resistance to European Canker. Front Plant Sci.

Grove, G.G., Biggs, A.R., (2006): Production and dispersal of conidia of Leucostoma cinctum in peach and cherry orchards under irrigation in eastern Washington. Plant Disease 90, 587-91.

Chang, L.S., Iezzoni, A.F., Adams, G.C., Ewers, F.W., (1991): Hydraulic conductance in susceptible versus tolerant pecha seedlings infected with Leuctostoma persoonii. Journal of the American Society for Horticultural Science 116, 831-4.

Christensen, C. M., (1940): Studies on the biology of *Valsa sordida* and *Cytospora chrysosperma*. Phytopathology. 30: 459-475.

Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., Stalpers, J.A., (2008): Ainsworth & *Bisbyś Dictionary of the Fungi, 10th edn. Wallingford, UK: CAB International.*

Kracíková, M., Jaklová P., (2019): In vitro testy účinnosti fungicidů proti Cytospora spp. Úroda, 12 : 217-222.

Król, E., Kowalik, B. (2010): Charakterystyka grzybów rodzaju Phomopsis wyizolowanych z roślin sadowniczych. Zesz. Probl. Post. Nauk Roln./Prog. Plant Prot. Res., 554, 53–5

Dedikace

Tato práce byla realizována za finanční podpory projektu RO1521.

Kontaktní adresa:

Mgr. Michaela Kracíková
Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský Holovousy s.r.o.
Holovousy 129
508 01 Hořice
+420 491 848 214,
Michaela.KRACIKOVA@vsuo.cz

Využití modelu WEM při modelování ohroženosti území větrnou erozí

Use of the WEM model in modeling the threat of wind erosion

Kučera J.[1,2], Papaj V. [1], Podhrázská J. [1,2], Vojtěchovský T. [1], Janoušek M. [1]

[1]Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i.
[2]Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt
V souvislosti se změnami klimatu dochází ke zvyšování rizik rozvoje větrné eroze. Zvýšené riziko rozvoje větrné eroze je zejména v suchých a teplých oblastech a současně v územích intenzivně zemědělsky využívaných. Předkládaný článek prezentuje využití nových poznatků a postupů formou webové aplikace Řízení rizika větrné eroze na geoportálu Výzkumného ústavu meliorací a ochrany půdy. Do webového prostředí byl implementován model WEM (Windbreak Efficiency Model), který lze využít při ochraně zemědělské půdy před účinky větrné eroze. Model WEM je automatizovaný a interaktivní nástroj, který na základě půdních vlastností, klimatických charakteristik, větrných podmínek a vybraných parametrů větrolamů dokáže vyhodnotit ohroženost zájmového území z pohledu větrné eroze. Model WEM dokáže vyhodnotit ohroženost území jak na úrovni jednotlivých pozemků nebo větrolamů, tak i na úrovni vyšších územních celků.
Klíčová slova: Pozemkové úpravy, návrhy opatření, zemědělská půda, ochrana půdy

Abstract
In connection with climate change, the risks of developing wind erosion are increasing. There is an increased risk of developing wind erosion, especially in dry and warm areas and at the same time in areas intensively used for agriculture. The presented article presents the use of new knowledge and procedures in the form of a web application Wind erosion risk management on the geoportal of the Research Institute of Land Reclamation and Soil Protection. The WEM (Windbreak Efficiency Model) model has been implemented in the web environment, which can be used to protect agricultural land from the effects of wind erosion. The WEM model is an automated and interactive tool which, based on soil properties, climatic characteristics, wind conditions and selected parameters of windbreaks, can evaluate the endangerment of the area of interest from the point of view of wind erosion. The WEM model can evaluate the endangerment of the territory both at the level of individual plots or windbreaks, as well as at the level of higher territorial units.
Keywords: Land management, proposals for measures, agricultural land, soil protection

Úvod

Větrná eroze je proces, při kterém dochází k rozrušování půdního povrchu mechanickou silou větru (abraze), k přenosu půdních částic na určitou vzdálenost (deflace) a k jejich ukládání na jiném místě (akumulace). Vznik a průběh větrné eroze je závislý na vzájemném působení mnoha faktorů. Jedná se především o půdní charakteristiky, způsob využití půdy a její management, vlastnosti pozemků a charakteristiky klimatu a počasí. Vlivem intenzivního zemědělství jsou zmenšovány plochy souvislých chráněných vegetačních pokryvů a tím jsou připravovány podmínky pro vznik zrychlené eroze. (Holý, M. 1994).
V Evropě nepředstavuje větrná eroze tak rozsáhlý a závažný problém, jako je tomu v sušších oblastech světa. Lokálně ale může způsobovat významné škody (Riksen et al., 2001, 2003). Podobně je tomu i v ČR, kde dominuje především eroze vodní. Podle aktuálních informací je

větrnou erozí v ČR potenciálně ohroženo 18,32 % výměry orné půdy (Zelená zpráva 2016). Jedná se pouze o ohroženost lehkých půd ve vegetačním období (duben – říjen). Při zohlednění potenciální ohroženosti i těžkých půd v zimním období (listopad – březen) je v ČR větrnou erozí ohroženo až 22,23 % výměry orné půdy. To podle databáze LPIS představuje plochu větší než 545 tis. ha. Situace je o to závažnější, že jsou větrnou erozí ohroženy především nejúrodnější oblasti ČR (Jižní Morava, Polabí) v nížinách, které jsou zemědělsky intenzivně využívány.

Účinnost větrolamu a jeho vliv na snížení rychlosti větru je závislá především na jeho výšce a porositě (Bitog et al. 2009, 2012; Cornelis a Gabriels 2005; Heisler and DeWalle 1988, Podhrázská a kol. 2011, Řeháček a kol. 2017). Výška větrolamu přímo definuje výšku překážky a porosita větrolamu definuje jeho propustnost. Propustnost větrolamu lze popsat optickou porositou, která vyjadřuje poměr prázdných míst (mezer) k celkové ploše větrolamu. Vyhodnocuje se na upravených černobílých bočních snímcích větrolamu jako podíl bílých míst z celkového počtu pixelů (Burke 1998, Vigiak et al. 2003, Podhrázská a kol. 2011, Řeháček a kol. 2017). Propustnost větrolamu zásadním způsobem ovlivňuje to, jak výrazně dochází ke snížení rychlosti větru v okolí větrolamu a jak rychle se rychlost větru po snížení znovu obnovuje.

První verze nástroje WEM (Wind Erosion Model) vznikla jako samostatný toolbox pro software ArcGIS (ESRI). Jejím cílem bylo navrhnout, implementovat a otestovat nový výpočtový modul pro hodnocení účinnosti větrných barier (větrolamů). Byla tedy určena zejména pro potřeby vývojového a řešitelského týmu výzkumného projektu. V poslední době ale význam větrné eroze sílí. Proto vznikla i potřeba zpřístupnit modul WEM širší skupině uživatelů, zejména odborné veřejnosti a projektantům pozemkových úprav. V rámci aktuálně řešeného projektu (QK1710197) je proto implementována funkcionalita WEM do webové mapové aplikace Řízení rizika větrné eroze. Do této aplikace jsou postupně doplňovány výstupy projektů a všechny relevantní informace k problematice větrné eroze.

Materiál a metody

Analýza a hodnocení rizika větrné eroze

Pro stanovení potenciální ohroženosti území větrnou erozí byly využity půdně–klimatické faktory. Pro hodnocení potenciální ohroženosti byly využity informace o erodovatelnosti půdních typů, riziku přísušků, riziku výskytu erozně účinných větrů Podhrázská, J. a kol. 2016, Doležal a kol. 2017, Středová a kol. 2021). Potenciální ohrožení území bylo stanoveno na ornou půdu.

Hodnocení ochranného vlivu větrolamu

Pro hodnocení byly využity tři přístupy stanovení ochranné zóny větrolamů. První přístup byl z metodiky Podhrázská a kol. (2008), kde byla ochranná zóna pro větrolamy (ochranné lesní pásy) stanovena jako pevná hodnota ochranné zóny na závětrné straně 300 metrů a na návětrné 100 metrů. U těchto hodnot bylo vycházeno z předpokladu hodnocení větrolamu s optimální prostorové a druhové skladby větrolamu s průměrnou výškou 15 metrů. V tomto přístupu tedy nebyly využity získané parametry větrolamů (optická porozita a výška větrolamu).

Tab. 1: Vymezení ochranných zón, dle metodiky Podhrázská 2008

Typ bariéry	Závětrná strana [m]	Návětrná strana [m]
OLP	300	100
Ostatní LVP	150	50

Druhým přístupem (metodou) byla metoda stanovení ochranné zóny větrolamu, dle metodiky Doležal a kol., (2017). Postup uvedený v metodice je postaven na kombinované regresní rovnici, která stanovuje závislost mezi optickou porozitou a zeslabením rychlosti větru na závětrné i návětrné straně. Rovnice byla prvně prezentována v publikaci Středová et al. 2012. Pomocí této rovnice byly stanoveny ochranné zóny větrolamu na základě vyhodnocené optické porozity (Podhrázská a kol., 2011). V tomto přístupu byl využit parametr optické porozity. Parametr výšky větrolamu není vstupním parametrem rovnice.

$$z = a \times \exp\left(-\frac{\exp(-(x-b)}{c}\right) - \frac{(x-b)}{(c+1)} + d \times exp\left(-\frac{(y-f)}{g}\right) - \frac{(y-f)}{g+1}$$

Obr. 1: Rovnice pro stanovení ochranných zón, dle metody Středová 2012

y – optická porozita (%)

Koeficienty:
a = 4.1417551362956196E+01; b = 6.9845535425079362E+01; c = 8.2090132918982135E+01; d = 1.0073376683165979E+01; f = 2.0979890320903436E+01; g = 6.6089573586774133E+00

Třetím přístupem bylo využití postupu pro stanovení ochranných zón s uvažováním optické porozity a výšky větrolamu (Řeháček a kol., 2016). V tomto postupu se uvádí modelování ochranných zón pouze pro závětrnou zónu. Pro tento přístup byl využit parametr optické porozity a výšky větrolamu.

$$U = 52{,}80619 - 1{,}23901xOP - 5{,}80657xD + 0{,}12503xOPxD + 0{,}56948xD^2 + 0{,}02507xOP^2$$

Obr. 2: Rovnice pro stanovení ochranných zón, dle metody Řeháček 2017

U – účinnost větrolamu – snížení rychlosti na závětrné straně větrolamu (%)
OP – optická porozita (%)
D – vzdálenost od větrolamu (v násobkách výšky větrolamu H)

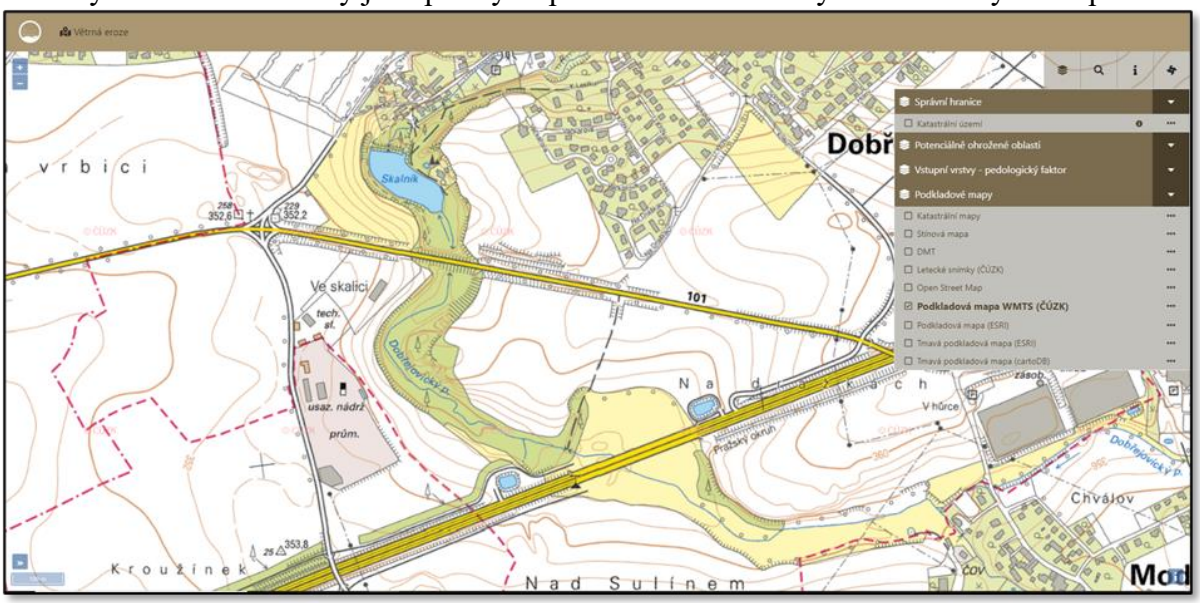
Výsledky a diskuse

Webová prezentace mapových podkladů pro podporu hodnocení rizik větrné eroze v ČR na základě půdně-klimatických údajů. Aplikace je přístupná veřejnosti na adrese https://geoportal.vumop.cz/vetrnaeroze. Aplikace je uveřejněna na geoportálu VÚMOP https://geoportal.vumop.cz, kde je součástí seznamu aplikací vyvinutých a spravovaných laboratoří GIS Praha, VÚMOP, v. v. i. (Obr. 3).

Obr. 3 Úvodní stránka se vstupem do mapové aplikace

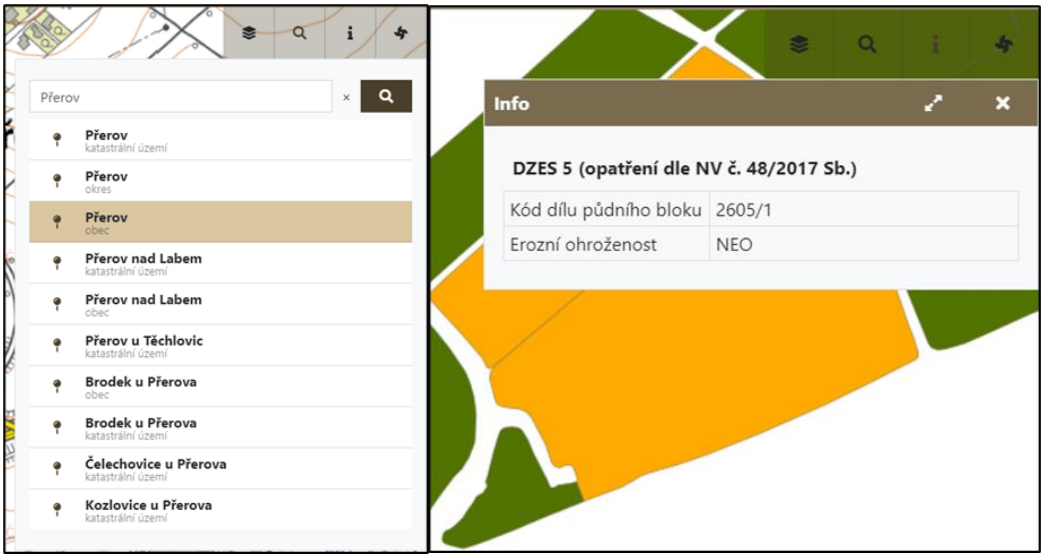
Mapová aplikace

Po vstupu do aplikace se uživatel dostane do mapového rozhraní (Obr.). V pravé části mapového okna se nachází ovládací panel se čtyřmi záložkami. V první záložce je strom mapových vrstev. Zde si uživatel může zobrazovat mapové vrstvy a seznámit se z jejich odborným obsahem. Vrstvy jsou pro vyšší přehlednost rozděleny do tematických skupin.



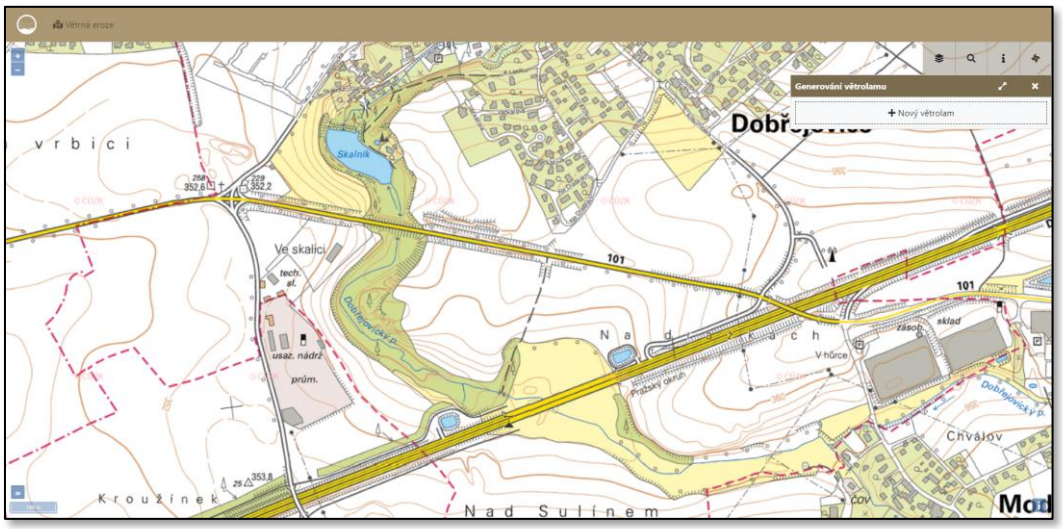
Obr. 4 Mapová aplikace – panel vrstev

Na druhé záložce je vyhledávání, které umožňuje vyhledávat správní jednotky. Na třetí záložce se zobrazují výsledky prostorového dotazování, které umožňuje zjistit bližší informace o vybraném objektu v případě, že je vrstva dotazovatelná viz Obr. 5.



Obr. 5 Ukázka panelu vyhledávání (vlevo), ukázka výsledku dotazu (vpravo)

Na poslední (čtvrté) záložce se nachází modul WEM **(Obr. 6)**. Aktuální implementace umožňuje uživateli nakreslit vlastní větrolam, definovat směr převládajícího větru a nastavit jeho parametry. Na základě těchto vstupů uživatele pak modul vygeneruje příslušné ochranné zóny.



Obr. 6 Počáteční stav záložky generování větrolamu

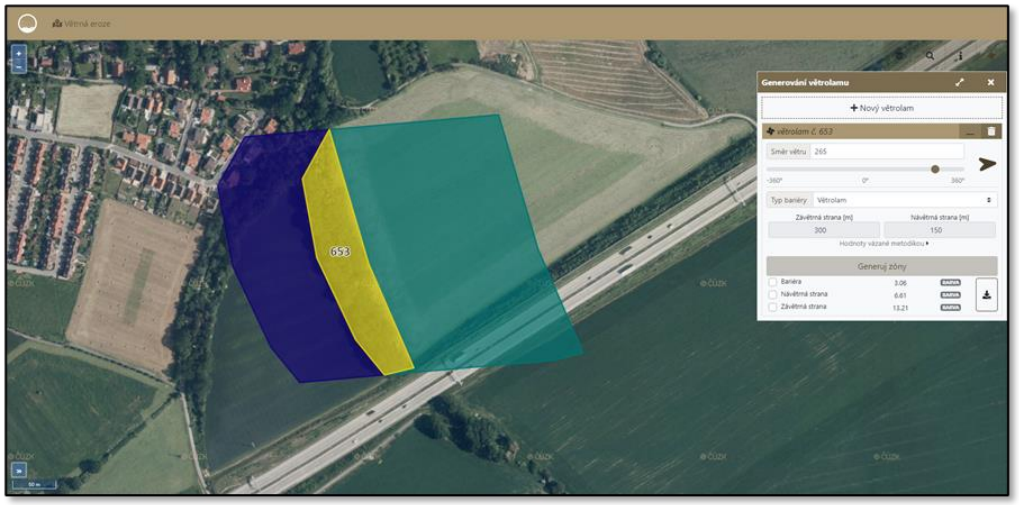
Generování větrolamu

Po kliknutí na tlačítko „ + Nový větrolam“ se aktivuje editace, která uživateli umožní nakreslit do mapy vlastní větrolam. Editace se ukončuje dvojklikem. Vytvořenému polygonu je přiřazen identifikátor a v bočním panelu se zobrazí možnosti zadání parametrů. Do kolonky „směr větru“ uživatel definuje převládající směr větru. Hodnotu lze rovněž navolit pomocí slideru pod textovým polem. Šipka vpravo rovnou indikuje směr větru podle zadané hodnoty, pro lepší přívětivost.

Dalším nastavitelným parametrem je typ větrné bariéry. Zde jsou uživateli k dispozici tři možnosti: „větrolam“, „ostatní vegetační bariéry“ nebo „vlastní nastavení“. Volbou typu větrné bariery uživatel přímo ovlivní délku ochranné zóny na závětrné a návětrné straně větrolamu.

Současná verze modelu WEM obsažená ve webové aplikaci generuje ochranné zóny podle metodiky Optimalizace funkcí větrolamů v zemědělské krajině, metodika VÚMOP, v.v.i. (Podhrázská a kol. 2008) v dalších aktualizovaných verzích bude umožněno generovat ochranné zóny, dle postupů uvedených v metodikách Doležal a kol 2017 a Khel a kol. 2017.
Po zadání uvedených parametrů modul WEM vygeneruje ochranné zóny uživatelského větrolamu a zobrazí je v mapě (Obr. 7 a Obr. 8). Uživatel si může navolit barvu vygenerovaných ochranných zón. Zóny se vygenerují stisknutím tlačítka „Generuj zóny“. Po vytvoření zón je možné stáhnout geometrii výsledných polygonů.
Uživatel může zároveň vytvářet více než jeden větrolam a každému z nich nastavit jiné parametry. Větrolamy je také možné v bočním panelu minimalizovat pro lepší přehlednost v případě že uživatel vytváří větrolamů více. Také je možné větrolamy mazat pomocí tlačítka s ikonou koše vpravo od názvu větrolamu.

Obr. 7 Ukázka vytvořeného větrolamu a rozhraní s parametry



Obr. 8 Větrolamy s vypočtenými ochrannými zónami.

Závěr

Na základě posouzení ohrožených území je možné definovat prioritní oblasti, kde je účelné navrhovat a postupně realizovat ochranná opatření. Výsledky hodnocení slouží k posouzení možnosti návrhu opatření ke zmírnění rizika větrné eroze ve vybraných územích. Základem je vždy vyhodnocení míry rizika pro posuzovaná území při uvažování vlivu současného stavu a při postupném zapojení všech navrhovaných opatření.

Problematika ohroženosti území větrnou erozí je v současné době stále více diskutované téma, zejména v souvislosti s výskytem sucha a jeho dalšího rozšíření. Ochrana území pomocí větrolamů je jedním z nejstarších způsobů ochrany území proti větrné erozi. Obzvlášť významnou etapou ve výsadbě větrolamů bylo období 50. až 60 let minulého století, kdy zejména po kolektivizaci a scelení půdní držby zde byly budovány rozsáhlé sítě ochranných lesních pásů. Postupem času přestala být větrolamům věnována péče, docházelo k jejich degradaci, prosychání a rozrůstání invazivních druhů. V současné době je snaha vracet liniovou zeleň do krajiny zejména prostřednictvím územních systémů ekologické stability, výsadbou lokálních biokoridorů a interakčních prvků realizovaných např. pozemkovými úpravami. Vždy je však třeba mít na mysli, že navrhované prvky by měly plnit nejen funkci krajinotvornou, ale i protierozní, a tomu přizpůsobovat jejich prostorové a funkční parametry i druhovou skladbu.

Nové poznatky a postupy jsou prezentované formou webové aplikace Řízení rizika větrné eroze na geoportálu VÚMOP. Aplikace s implementovanou funkcionalitou WEM umožnují využít automatizované a interaktivní nástroje. Tyto nástroje na základě půdních vlastností, klimatických charakteristik, větrných podmínek a vybraných parametrů větrolamů dokáží vyhodnotit ohroženost zájmového území z pohledu větrné eroze. Webová aplikace je určena širší skupině uživatelů, zejména odborné veřejnosti a projektantům pozemkových úprav.

Poděkování

článek vznikl za podpory projektu NAZV QK1710197 a MZE RO2018

Literatura

Burke, S., 1998. Windbreaks. Inkata Press: Port Melbourne. 128 s. ISBN–10: 075068951X.

Bitog, J.P., et al. 2009. Numerical simulation of an array of fences in Saemangeum reclaimed land. Atmospheric Environment, 43: 4612–4621.

Bitog, J.P., et al. 2012. Numerical simulation study of a tree windbreak. Biosystems Engineering, 111: 40–48. doi:10.1016/j.biosystemseng.2011.10.006.

Cornelis W.M., Gabriels D. (2005): Optimal windbreak design for wind-erosion control. Journal of Arid Environments, 61(2): 315–332.

Doležal, P., a kol., 2017. Řízení rizika větrné eroze. Certifikovaná metodika. Brno: VÚMOP,v.v.i.. Certifikační organ: SPU, číslo osvědčení:2/2017 SPU/O.

Heisler, G. M. a DeWalle, D. R., 1988. Effects of windbreak structure on wind flow. Agric. Eco-systems Environ., 22/23: 41–69.

Holý, M. 1994. Eroze a životní prostředí, Vydavatelství ČVUT Praha.

Podhrázská J. a kol., 2011. Potenciální ohroženost zemědělské půdy větrnou erozí. Certifikovaná metodika, VÚMOP, v.v.i.

Podhrázská J., a kol., 2008. Optimalizace funkcí větrolamů v zemědělské krajině. VÚMOP, v.v.i.: Brno. Číslo jednací 17161/08-13070

Riksen, M.J.P.M., DE Graaff, J. (2001): On-site and off-site effects of wind erosion on European light soils. Land Degradation and Development, 12: 1–11. doi:10.1002/ldr.423.

Riksen, M., Brouwer, F., DE Graff, J. (2003): Soil conservation policy measures to control wind erosion in northwestern Europe. Catena, 52: 309–326.

Řeháček a kol., 2017. Effect of Windbreaks on Wind Speed Reduction and Soil Protection against Wind Erosion, Soil & Water Res., 10.17221/45/2016-SWR

Středová, H. a kol. 2021. The road map to classify the potential risk of wind erosion. ISPRS INT. J. GEO-INF. 2021, 10, 269.

Středová H., Podhrázská J., Litschmann T., Středa T., Rožnovský J., 2012. Aerodynamic parameters of windbreak based on its optical porosity. Contributions to Geophysics and Geodesy, 42: 2013–226.

Vigiak O., Sterk G., Warren A., Hagen L. J, 2003. Spatial modeling of wind speed around windbreaks. Catena 52 (3–4), 273–288

Kontaktní adresa:

Ing. Josef Kučera
Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, v.v.i.,
oddělení pozemkových úprav a využití krajiny
Lidická 25/27, Brno 602 00
Mob.+420 541 126 275
e-mail: kucera.josef@vumop.cz

Vliv teploty na příjem a využití nitrátové formy dusíku u pšenice jarní

Influence of temperature on nitrate uptake and assimilation in spring wheat

Kurešová G.[1], Raimanová I.[1], Moulík M.[1], Balážová K.[2], Svoboda P.[1]

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
[2]Česká zemědělská univerzita v Praze

Abstrakt

Teplota, při které příjem nitrátů probíhá, je klíčovým parametrem rychlosti jeho využití. U šesti moderních odrůd jarní pšenice (*Triticum aestivum* L.) a dvou odrůd pšenice dvouzrnky (*Triticum dicoccum*) byl sledován vliv suboptimální (10 °C) a supraoptimální (30 °C) teploty na příjem a metabolismus nitrátů. Při vyšších teplotách byl pozorován rychlejší příjem i asimilace tohoto aniontu. Aktivita enzymu nitrátreduktázy byla dána přítomností nitrátových iontů. Při nižších teplotách byl metabolismus pomalejší, proto byly pomaleji metabolizovány nitrátové ionty. Aktivita nitrátreduktázy byla při nízké teplotě nižší u pozdnějších typů odrůd.
Klíčová slova: nitrátreduktáza, dusík, příjem živin, V_{max}

Abstract

The temperature is a key parameter of the rate of nitrate uptake and utilization. The effect of suboptimal (10 °C) and supraoptimal (30 °C) temperature on nitrate uptake and metabolism was monitored in six modern varieties of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) and two varieties of emmer wheat (*Triticum dicoccum*). At higher temperatures, a higher rate of uptake and assimilation of nitrate anion was observed. Nitrate reductase was activated by the presence of nitrate ions. At lower temperatures, the metabolism was slower, so nitrate ions were metabolized more slowly. Nitrate reductase activity was lower at lower temperatures in later types of varieties.
Keywords: nitrate reductase, nitrogen, nutrient uptake, V_{max}

Úvod

Dostupnost živin, zejména dostupnost dusíku (N), je limitujícím faktorem pro výnos. Metabolismus dusíku ovlivňuje mnoho faktorů. Jedním z hlavních parametrů jsou genetické předpoklady, které ovlivňují schopnost rostlin dusík přijmout a následně využít pro svůj růst a tvorbu výnosu. Rostliny přijímají dusík ve formě NO_3^- prostřednictvím vysokoafinitních (HATS) a nízkoafinitních (LATS) transportních systémů, které se nacházejí v membránách kořenových buněk. HATS jsou saturovány při nízké vnější koncentraci N, LATS naopak fungují při vyšším obsahu N v půdě (Plett et al., 2018). Schopnost příjmu nitrátů, které jsou nejhojnějším zdrojem dusíku (Andrews et al., 2013; Plett et al., 2018), kořenovým systémem lze charakterizovat stanovením kinetických parametrů příjmu nitrátů (V_{max} a K_m), charakterizujících systém HATS). Nitrátreduktáza (NR) katalyzuje přeměnu dusičnanů na dusitany, což je obvykle krok omezující rychlost asimilační cesty dusíku ve vyšších rostlinách (Chow, 2012). Její aktivita je jednou z charakteristik metabolismu dusíku v rostlinách. Aby bylo možné vybrat genotypy s potenciálem pro efektivnější využití dusíku, je důležité prostudovat způsoby absorpce a asimilace dusíku u odrůd pšenice, což by byl užitečný krok ke zlepšení výnosu a ekonomických investic i k minimalizaci ztrát při hnojení (Krapp, 2015; Pan,

2020). Efektivita využití dusíku (N use efficiency) je výsledkem celkového metabolismu a působení vnějšího prostředí (Krapp, 2015).
Cílem této práce bylo zjistit rozdíly v příjmu a využití dusičnanů u šesti moderních jarních kultivarů pšenice a dvou emergentních kultivarů pšenice.

Materiál a metody

Na základě předpokladu, že se odrůdy pšenice liší ve schopnostech přijmout a asimilovat nitráty, byl navržen pokus, ve kterém byl u šesti moderních odrůd jarní pšenice (*Triticum aestivum* L.) a dvou odrůd pšenice dvouzrnky (*Triticum dicoccum*) sledován vliv suboptimální (10 °C) a supraoptimální (30 °C) teploty na příjem a metabolismus nitrátů. Nelineární regresí v programu Enzfitter byly stanoveny kinetické parametry příjmu nitrátů (V_{max} a K_m), charakterizující vysokoafinitní transportní systém (HATS). U pozorovaných rostlin byla stanovena aktivita nitrátreduktázy a obsahu volných nitrátů v listech.

Tab. 1. Charakteristika sledovaných odrůdjarní pšenice

Odrůda	**Alicia**	**Astrid**	**SW Kadrilj**	**Libertina**	**Odeta**	**Pexeso**
kvalita	E	E	A	A	B	A
charakteristika	polopozdní	polopozdní	poloraná	poloraná	raná	středně raná

Rostliny vybraných odrůd byly předpěstovány po dobu tří týdnů v hydroponické kultuře za standardních podmínek (fotoperioda 16/8 hodin den/noc, teplotní režim 22/15 °C) v živném roztoku o koncentraci 157,9 µM $Ca(NO_3)_2.4H_2O$, 70,8 µM KNO_3, 41,3 µM $MgSO_4.7H_2O$, 52,5 µM KH_2PO_4, 47,6 µM KCl, 1,25 µM H_3BO_3, 1,0 µM Fe-EDTA, 0,1 µM $ZnSO_4.7H_2O$, 0,1 µM $MnSO_4.4H_2O$, 0,025 µM $CuSO_4.5H_2O$, 0,004 µM $(NH_4)_6Mo_7O_2$. Živný roztok byl kontinuálně provzdušňován a měněn dvakrát až třikrát týdně. Rostliny byly týden před vlastním pokusem pěstovány v prostředí se sníženou (10 °C) nebo zvýšenou (30 °C) teplotou, podle typu následného pokusu. 24 hodin před vlastním pokusem byly přemístěny do živného média bez dusíku, 30 minut před vlastním měřením byly pro odstranění indukce v roztoku se stejnou koncentrací N jako pokusný roztok. Rychlost příjmu nitrátových iontů byla určena na základě jejich úbytku z živného roztoku. Jednotlivé pokusné rostliny byly přemístěny do nádob o objemu 250 ml s čerstvým živným roztokem, který byl kontinuálně provzdušňován a míchán. Živný roztok obsahoval 300 µM NO_3^-. V pravidelných intervalech (15 minut) byly odebírány vzorky pro stanovení koncentrace nitrátů. Koncentrace NO_3^- iontů byla stanovena na automatickém analyzátoru Skalar San Plus System (Breda, Nizozemí). Rychlost příjmu byla vyjádřena jako µmol NO_3^- na g čerstvé hmotnosti kořene za hodinu [µmol NO_3^-/(g FW.h)]. Parametr V_{max} byl určen nelineární regresí pomocí programu Enzfiter (Biosoft, UK) Na konci krátkodobého pokusu byly rostliny rozděleny na nadzemní část a kořeny, odebrané vzorky pletivbyly rychle zmrazeny na teplotu -80 °C pro stanovení dalších parametrů. Stanovení nitrátreduktázy bylo provedeno dle práce Gaudinová (1990) Obsah nitrátů v listech byl stanoven po homogenizaci a následné extrakci horkou destilovanou vodou na automatickém analyzátoru Skalar San Plus System (Breda, Nizozemí).

Výsledky a diskuze

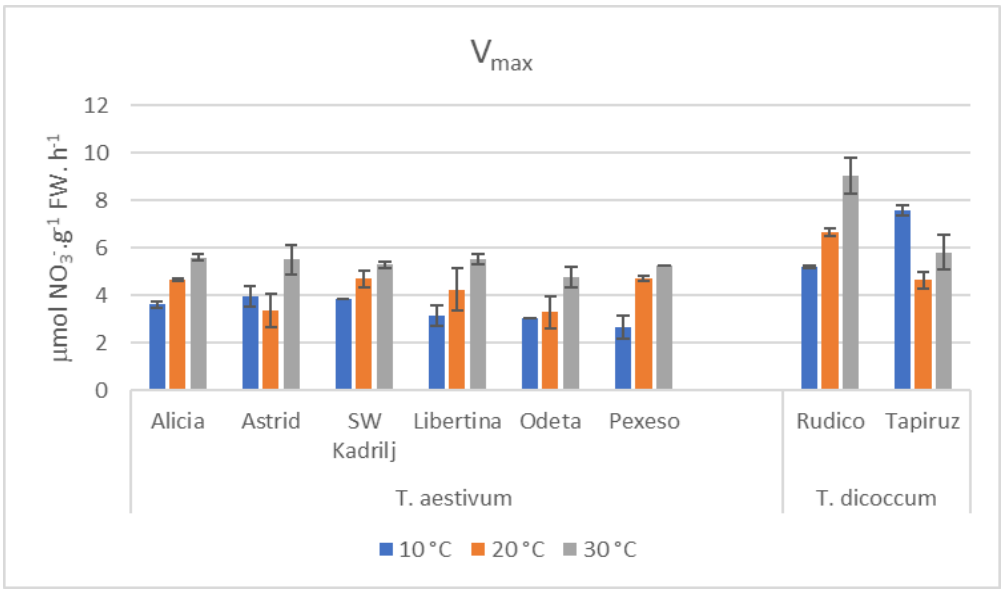
Odrůdy byly vybrány podle aktuálních potřeb šlechtitelů, jejich stručná charakteristika je shrnutá v Tabulce 1. Moderní typy odrůd reagují na vysokou dostupnost vysokým výnosem.

Dvě odrůdy pšenice dvouzrnky (*Triticum dicoccum*) byly vybrány jako zástupci starších typů odrůd, u kterých se předpokládá lepší využití živin i při jejich zhoršené dostupnosti (Pourazari et al., 2015).

Tab.1.: Charakteristika sledovaných odrůd ozimé pšenice

Odrůda		Alicia	Astrid	SW Kadrilj	Libertina	Odeta	Pexeso
kvalita		E	E	A	A	B	A
charakteristika		polopozdní	polopozdní	poloraná	poloraná	raná	středně raná

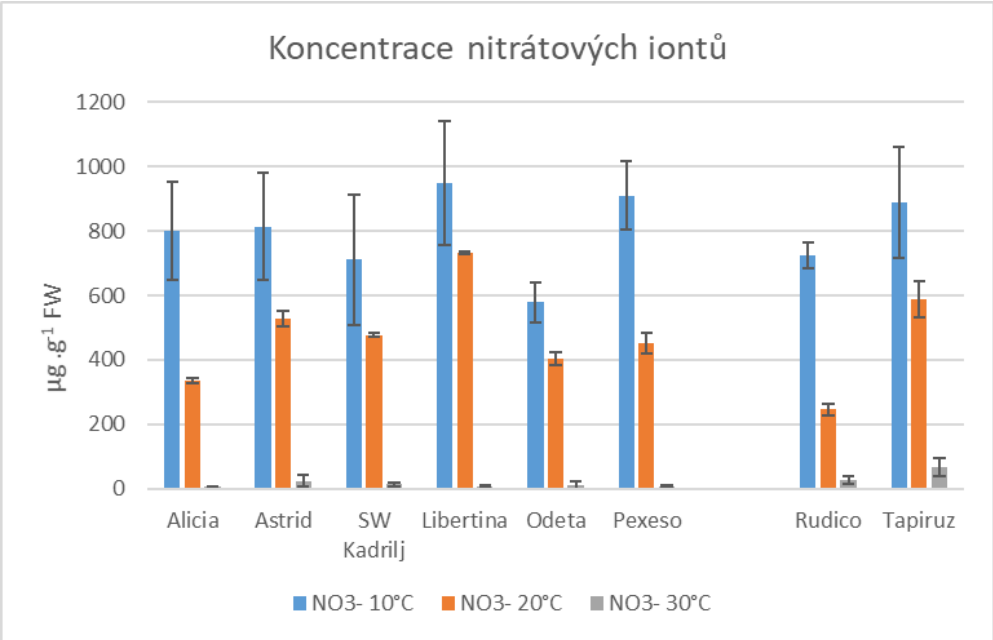
U většiny moderních odrůd byla pozorována nejnižší maximální rychlost příjmu nitrátových iontů (V_{max}) při teplotě 10 °C, zvýšila se při 20 °C, nejvyšší hodnoty pak byly naměřeny při 30 °C. Takto se projevovaly moderní odrůdy při teplotě 10 °C: Alicia (3,62), Astrid (3,96), SW Kadrilj (3,84), Libertina (3,17), Odeta (3,03) a odrůda Pexeso (2,65mmol $NO_3^-.g^{-1}$ FW. h^{-1}). U odrůd pšenice dvouzrnky byly hodnoty V_{max} při 10 °C následující: Rudico (5,21) a Tapiruz (7,59 $NO_3^-.g^{-1}$ FW. h^{-1}). Ze všech odrůd byly nejnižší hodnoty V_{max} při 10 °C naměřeny u moderní odrůdy Pexeso, V_{max} při 20 °C byla poměrně vysoká a hodnota při 30 °C se blížila průměru V_{max} (5,33) ostatních moderních odrůd. V_{max} odrůdy Rudico byla vyšší oproti průměru moderních odrůd ve všech teplotních režimech téměř o 60 %. U odrůdy Tapiruz byla naměřena velmi vysoká hodnota V_{max} při 10 °C, která přesahovala dokonce V_{max} moderních odrůd při 30 °C, naopak při vyšších teplotách došlo ke snížení této veličiny, která u ostatních odrůd při těchto teplotách spíše rostla. Výsledky jsou shrnuty v grafu 1.



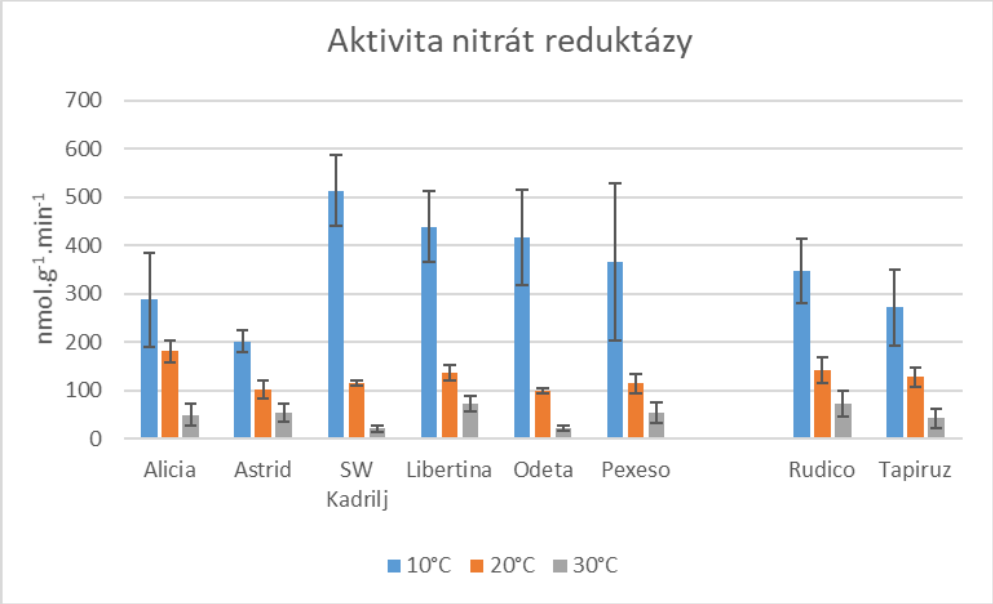
Graf 1. Maximální rychlost příjmu (V_{max}) vybraných kultivarů pšenice seté a pšenice dvouzrnky. Chybové úsečky představují směrodatnou odchylku

Rozdíly v míře absorpce jsou dále ovlivněny vývojem kořenového systému. Obecně se dá říct, že při stejné rychlosti příjmu mají odrůdy s vyšším poměrem kořenů k nadzemní hmotě (R/S) vyšší absorpční kapacitu (µmol $N.g^{-1}.rostlina^{-1}.h^{-1}$). Kultivary moderních odrůd pšenice dosáhly

průměrného poměru R/S 0,51, což je výrazně lepší poměr ve srovnání s kultivary pšenice dvouzrnky (zejména u odrůdy Tapiruz, kde byl poměr R/S 0,30).



Graf 2. Koncentrace nitrátových iontů v listech pšenice



Graf 3. Aktivita nitrátreduktázy v listech pšenice. Chybové úsdečky směrodatnou odchylku

Pro hodnocení schopnosti rostlin asimilovat přijatý dusík byly stanoveny koncentrace nitrátových iontů (graf 2) a přítomnost aktivního enzymu nitrátreduktázy v pletivech /listech/ pletivech nadzemní části rostlin (graf 3). Koncentrace nitrátových iontů byla ve všech případech nejvyšší při 10 °C, při teplotě 20 °C byla nižší a při 30 °C byla již velmi nízká. Tomu odpovídala také přítomnost aktivního enzymu nitrátreduktázy, která indukuje přítomnost nitrátových iontů. Při nižších teplotách pravděpodobně nedochází k tak rychlé metabolické přeměně, nitrátové

ionty jsou ukládány do vakuol a postupně jsou transportovány k dalšímu využití. Při vyšších teplotách je metabolická aktivita pravděpodobně vyšší a nitrátové ionty jsou asimilovány rychleji. Teplota 10 °C je ze všech sledovaných teplot nejblíže přirozené teplotě v této vývojové fázi pšenice. Mezi jednotlivými odrůdami jsou v tomto teplotním režimu porovnatelné rozdíly v aktivitě nitrátreduktázy. Nejnižší hodnotu vykazovala odrůda Astrid (200) a Alicia (200-300), dvouzrnky se pohybovaly v rozmezí 200-350 $nmol.g^{-1}.min^{-1}$. Hodnoty u ostatních moderních odrůd se pohybovaly od průměrně 500 po 350 $nmol.g^{-1}.min^{-1}$. Při vyšších teplotách jsou rozdíly v rámci chyb měření.

Závěr

Existují odrůdové rozdíly v příjmu a využití nitrátů. Teplota, při které příjem nitrátů probíhá, je klíčovým parametrem rychlosti jeho využití. Při vyšších teplotách byl pozorován rychlejší příjem i asimilace tohoto aniontu. Aktivita enzymu nitrátreduktázy byla dána přítomností nitrátového iontu. Při nižších teplotách je byl metabolismus pomalejší, proto byly pomaleji metabolizovány nitrátové ionty. Tomu také odpovídal pomalejší příjem nitrátů z živného média. Aktivita nitrátreduktázy byla při nízké teplotě nižší u pozdnějších typů odrůd.

Dedikace

Výsledek vznikl za podpory projektu NAZV QK1910041 a MZE-RO0418.

Použitá literatura

Andrews M., Raven J. A., Lea P. J., 2013. Do plants need nitrate? The mechanisms by which nitrogen form affects plants. Annals of applied biology, Vol.163 iss. 2, p.174-199.

Gaudinová A., 1990. The effect of cytokinins on nitrate reductase-activity. Biologia Plantarum, Vol. 32, p. 89–96.

Chow F., 2012. Nitrate assimilation: the role of in vitro nitrate reductase assay as nutritional predictor. Agricultural and Biological Sciences, Applied photosynthesis, In Tech, 105-120.

Krapp A., 2015. Nitrogen assimilation and its regulation: a complex puzzle with missing pieces. Curr Op Plant Biol, Vol. 25, p. 115–122.

Pan W.L., Kidwell K.K., McCracken V.A., Bolton R.P., Allen M., 2020. Economically optimal wheat yield, protein and nitrogen use component responses to varying N supply and genotype. Front Plant Sci. Vol. 10, p. 1790.

Plett D. C., Holtham L. R., Okamoto M., Garnett T. P., 2018. Nitrate uptake and its regulation in relation to improving nitrogen use efficiency in cereals. In Seminars in Cell & Developmental Biology, Vol. 74, p. 97-104. Academic Press.

Pourazari F., Vico G., Ehsanzadeh P., Weih M., 2015. Contrasting growth pattern and nitrogen economy in ancient and modern wheat varieties. Canadian Journal of Plant Science, Vol. 95, iss. 5, 851-860.

Kontaktní adresa:
Ing. Gabriela Kurešová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ruzyně
kuresova@vurv.cz, +420233022464

Vliv různých způsobů hnojení brambor dusíkem na výnos hlíz a využití N rostlinami

Effect of different methods of potatoes fertilization by nitrogen on tuber yield and nitrogen use by plants

Kusá H.[1], Růžek P.[1], Kasal P.[2], Watzlová E.[1]

[1]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
[2]Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s. r.o.

Abstrakt

V letech 2019-21 byly v polním pokusu s bramborami v technologii odkameňování testovány různé úpravy tvaru hrůbků a aplikace hnojiv. Pokus byl realizován na stanovišti ve Valečově (BVO, 460 m n.m., srážky 632 mm za rok, prům. roční teplota 7,4°C). Porovnávané tvary hrůbků: (i) mírně miskovitý, (ii) s důlky na vrcholu hrůbků a v nekolejové brázdě (iii) obnovou důlků v brázdě a kypřením povrchu hrůbků před/při vzcházení porostu. Vliv různých úprav hrůbků a aplikace hnojiv na výnos hlíz a využití dusíku z hnojiv byl sledován v maloparcelkovém pokusu s hnojivy značenými izotopem ^{15}N. Hnojiva byla aplikována při sázení (100 kg N/ha) nebo ve dvou dávkách: při sázení a před vzejitím porostu (70 + 30 kg N/ha).

Ve všech letech byly dosaženy vyšší výnosy při důlkování a hrázkování vrcholu hrůbků a nekolejové brázdy než v hrůbcích bez úpravy. Nejvyšší výnosy hlíz (60,1, 73,6 a 69,8 t/ha jednotlivých letech) byly zjištěny u varianty s přihnojením do kořenové zóny rostlin při kypření. V letech 2019 a 2020 byl u této varianty zaznamenán i nejvyšší celkový odběr dusíku rostlinami (286,3 a 227,2 kg N/ha) a využití dusíku z hnojiv (66,0 a 63,0 %) rostlinami brambor.

Klíčová slova: hnojení brambor, izotop 15N, využití dusíku, výnos hlíz, důlkování, kypření hrůbků

Abstract

Field experiment in the technology of stone separation with various shapes of ridges and application of fertilizers was carried out at the site in Valečov (BVO, 460 m above sea level, annual total precipitation 632 mm, average annual air temperature 7.4 ° C) in 2019-21. The shapes of the ridges were as follows: (i) slightly bowl-shaped, (ii) with pits at the top of the ridges and in the non-rail furrow, (iii) with resumption of the pits in the furrow and loosening of the ridges surface before/during the emergence of the stand. The effect of various shapes of ridges and fertilization on tuber yield and applied nitrogen efficiency was studied in the small-plot experiment with ^{15}N-labelled fertilizers. Those were applied only at planting (100 kg N/ha) or in two split doses: at planting (70 kg N/ha) and before the emergence of the stand (30 kg N/ha).

In all years, higher yields were achieved after pitting and damming the top of ridges and non-rail furrows than in ridges without treatment. The highest yields of tubers (60.06, 73.60 and 69.8 t / ha in individual years) were found in the treatment with fertilization into the root zone of plants during loosening. In 2019 and 2020, the highest total nitrogen uptake by plants (286.3 and 227.2 kg N / ha) and nitrogen utilization from fertilizers (66.0 and 63.0%) by potato plants were also recorded for this treatment.

Keywords: potatoes fertilization,isotope 15N, nitrogen use, tuber yield, pitting, ridges loosening

Úvod

V tradiční bramborářské oblasti ČR jsou brambory pěstovány téměř výhradně v technologii s odkameňováním. Rýhování a zejména vlastní separace hrud a kamenů je spojena s intenzivní aerací půdy a mineralizací organické hmoty, proto má tato technologie vysoké nároky na vracení organické hmoty do půdy. Ve většině zemědělských podniků je na podzim zaoráván hnůj, minerální hnojiva jsou aplikována na jaře před sázením plošně, dusíkatá hnojiva pak při sázení přímo do hrůbku. Ve srovnání s plošnou aplikací hnojiv užívanou při konvenční technologii většinou vede uložení hnojiv do hrůbku do budoucí kořenové zóny rostlin k vyššímu využití dusíku rostlinami, nižšímu obsahu Nmin. v půdě po sklizni a menšímu riziku znečištění vod vyplavením nitrátů v mimovegetačním období (MAIDL *et. al.,* 2002; KASAL *a kol.,* 2013). Při nedostatku srážek a nevhodném tvaru hrůbků, po jejichž bocích srážková voda stéká do brázd, mohou i granule hnojiva umístěné uvnitř hrůbků blízko kořenové zóny rostlin, zůstat v půdě až do sklizně. Úpravou tvaru hrůbku, zejména rozšířením jeho vrcholu, případně vytvořením důlků a hrázek lze zadržet větší množství vody v hrůbcích, i na svažitých půdách, protože voda zachycená v důlcích má více času na průsak dovnitř hrůbku. Vymělčením nekolejové brázdy a její opatření důlky a hrázkami přispívá k výraznému snížení povrchového odtoku (Čáp, 2021). Po srážkách během vegetace dochází často k vytvoření krusty na povrchu a srážková voda neproniká do hrůbků (k hlízám a hnojivům), ale stéká do brázd, kde se hromadí a na svažitých pozemcích odtéká po spádnici. Při intenzivních srážkách s sebou odnáší i půdu. Zde se osvědčilo kypření povrchu hrůbků před vzejitím porostu, při kterém zároveň dochází k obnově důlků a hrázek v nekolejové brázdě a je možné aplikovat hnojiva do kořenové zóny rostlin (RŮŽEK *a kol.,* 2018). Přihnojení před vzejitím porostu umožňuje snížit dávku dusíku aplikovanou při sázení, což je žádoucí z hlediska vzcházení porostu, které je dle ZEBARTHA a ROSENA (2007) zpožděno při vysokých koncentracích minerálních forem dusíku v půdě do 50. dne po sázení. V prvních 55 dnech je realizováno pouze cca 20% celkového odběru dusíku rostlinami. Toto období je velice rizikové z hlediska ztrát vyplavováním nitrátů či emisí NOx, zejména při aplikaci vysokých dávek hnojiv před nebo při sázení. K největšímu příjmu dusíku rostlinami dochází během šedesáti dnů po vzejití (KELLING *et. al.,* 2015), proto je využití dusíku z hnojiv aplikovaných při vzcházení porostu na počátku tvorby hlíz zpravidla vyšší než při aplikaci před či při sázení (MAIDL *et. al.,* 2002; RENS, et. al., 2016).

Cílem práce bylo zjistit, (i) zda různé úpravy tvaru hrůbků a nekolejové brázdy za účelem zadržení většího množství vody ze srážek v hrůbcích povedou k vyšším výnosům hlíz a využití živin z hnojiv, (ii) zda efektivnost hnojení dále zvýší rozdělení celkové dávky dusíku na dvě – při sázení a při kypření před vzejitím porostu.

Materiál a metody

Na odkameněném pozemku VS Valečov VÚB, s.r.o. Havlíčkův Brod (49.6464158N, 15.4958211E; BVO, 460 m n.m., roční úhrn srážek 632 mm, průměrná roční teplota vzduchu 7,4°C) byl v rámci polního výživářského pokusu s bramborami založen maloparcelkový pokus s různými způsoby aplikace (umístění) minerálních dusíkatých hnojiv a s různým tvarem hrůbků (4 opakování). Charakteristika půdy na pozemku: kambizem písčitohlinitá; hloubka ornice 20 – 25 cm. Předplodinou byla ozimá pšenice. Po ní v roce v roce 2018 následovala meziplodina - hořčice, jež byla zaorána spolu s chlévským hnojem (26 t/ha, 1. 11. 2018), v následujících letech byl aplikován pouze hnůj (5. 11. 2019: 15 t/ha, 27. 11. 2020: 26,5 t/ha). Před sázením bylo v letech 2019 a 2020 aplikováno hnojivo Patentkali v dávce 400 kg/ha (tj. 120 kg K_2O, 40 kg MgO a 68 kg S), v roce 2021 pouze 115 kg N/ha v močovině, kvůli vysokému obsahu draslíku v půdě. Po rýhování a separaci (6. 5. 2019, 5. 5. 2020, 19. 5. 2021)

byly sazečem vytvořeny pouze hrůbky. Byl použit Grimme GB 230 vybavený modulátorem hrůbků vytvářejícím rozšířený miskovitý povrch a mělkou nekolejovou brázdu. Sázení (poloraná odrůda Antonia) a aplikace hnojiv (9. 5. 2019, 7. 5. 2020, 20. 5. 2021) značených izotopem ^{15}N k určení využití dusíku z hnojiv rostlinami bylo provedeno ručně. U variant 2 - 4 bylo při sázení aplikováno 100 kg N /ha v močovině s inhibitorem ureázy (hnojivo UREA^{stabil}). U varianty 5 pouze 70 kg N/ha (Tab. 1). Kypření hrůbků a přihnojení var. 5 hnojivem DAM (všechny formy N značeny ^{15}N) bylo provedeno na počátku vzcházení porostu (3. 6. 2019, 27. 5. 2020, 14. 6. 2021).

Pokusná plocha byla preemergentně ošetřena herbicidem. V průběhu vegetace byly aplikovány obvyklé pesticidy dle aktuálního stavu porostu – v roce 2019 celkem sedm ošetření fungicidy proti plísni bramboru a alternáriovým skvrnitostem, v letech 2020 2021 z důvodu vysokého infekčního tlaku plísně bramboru bylo provedeno deset ošetření fungicidy a vždy jedno ošetření insekticidem proti mandelince bramborové. Rostliny byly během vegetace v dobrém zdravotním stavu, výskyt plísně, ani jiných škodlivých organismů, které by ovlivnily výsledky pokusu, nebyl zaznamenán.

Při sklizni brambor (16. 9. 2019, 8. 9. 2020, 6. 9. 2021) byl zjišťován počet a hmotnost stonků nati a hlíz jednotlivých rostlin. Ve všech vzorcích byl stanoven celkový obsah dusíku a poměr izotopů ^{14}N:^{15}N pomocí hmotnostního spektrometru (všechna stanovení v roce 2021 ještě nejdou dokončena). Rovněž byl stanoven obsah residuálního Nmin. v půdě, kolorimetricky v extraktu v 1% roztoku K_2SO_4.

Meteorologická sledování byla prováděna pomocí automatické meteorologické stanice umístěné v areálu VS Valečov, cca 300 m od pokusné plochy (Tab. 2).

Výsledky byly statisticky hodnoceny s využitím softwaru (Statistika.cz) za pomoci jednofaktorové analýzy rozptylu a Tukeyova HSD testu na hladině významnosti ($P < 0,05$). Statisticky průkazně rozdílné hodnoty jsou označeny rozdílnými písmeny (a,b,c).

Tab. 1 Varianty maloparcelkového pokusu

	Hnojení při sázení		**Přihnojení při kypření**		**Hrůbky upravené s miskou**
	Po stranách hlíz		Dlátem do hrůbku		
Var.	hnojivo	kg N/ha	hnojivo	kg N/ha	+další úpravy
1	-	0	-	0	0
2	UREA^{stabil}	100	-	0	0
3	UREA^{stabil}	100	-	0	+ důlky na vrcholu hrůbků + důlky v nekolejové brázdě
4	UREA^{stabil}	100	-	0	+ důlky na vrcholu hrůbků + důlky v nekolejové brázdě + kypření spolu s dláty a důlky v nekolejové brázdě
5	UREA^{stabil}	70	DAM^{stabil}	30	+ důlky na vrcholu hrůbků + důlky v nekolejové brázdě + kypření spolu s dláty a důlky v nekolejové brázdě + přihnojení

Tab. 2 Bilance povětrnostních podmínek jednotlivých ročníků vzhledem k dlouhodobému normálu

	Srážky (mm)					Teplota (°C)				
Měsíc	**V**	**VI**	**VII**	**VIII**	**IX**	**V**	**VI**	**VII**	**VIII**	**IX**
Dlouh. průměr	73,5	94	77,8	79,2	51,1	12	15,1	16,8	16,7	13,2
2019	110,6	56,9	89,3	76,2	96,0	10,6	21,0	18,4	18,8	13,1
2019: odchylka od normálu	37,1	-37,1	11,5	-3,0	44,9	-1,4	5,9	1,6	2,1	-0,1
2020	100,0	142,5	85,9	108,2	75,8	11,0	16,1	17,7	18,6	13,6
2020: odchylka od normálu	26,5	48,5	8,1	29,0	24,7	-1,0	1,0	0,9	1,9	0,4
2021	117,5	49,3	165,0	73,0	14,9	10,3	19,1	18,7	16,1	14,1
2021: odchylka od normálu	44,0	-44,7	87,2	-6,2	-36,2	-1,7	4,0	1,9	-0,6	0,5

Výsledky a diskuse

Povětrnostní podmínky

Prvotním cílem pokusu bylo zvýšit množství vody ze srážek zadržené v hrůbcích, přičemž největší rozdíly ve výnosu hlíz i využití dusíku byly očekávány u různě upravených hrůbků (zejm. var. 3 a 4). Jak však vyplývá z tabulky 2, všechny pokusné ročníky byly srážkově nadnormální. Pro všechny ročníky byl charakteristický mimořádně vlhký a chladný květen, jehož důsledkem bylo pomalé vzcházení porostu, v roce 2021 navíc kvůli nízkým teplotám v celém jarním období i mimořádně pozdě sázeného. Vegetační období roku 2019 bylo o 1,6 °C teplejší ve srovnání s normálem a úhrn srážek o 53 mm vyšší. Vzhledem k nadnormálnímu průběhu teplot a nižší zásobě vody v půdním profilu během vegetace však bylo vegetační období považováno za sušší. Rok 2020 se vyznačoval nadnormálními srážkami po celé vegetační období, zatímco rok 2021 byl proměnlivý – suché periody se střídaly s obdobími intenzivních srážek.

Rozložení a intenzita srážek výrazně ovlivnily zpřístupnění živin z hnojiv rostlinám a jejich přijatelnost i dosažený výnos hlíz.

Výnos hlíz, odběr a využití dusíku

Nejnižší výnosy hlíz byly dosaženy v nejsušším ze všech sledovaných ročníků, v roce 2019 (Graf 1). Dosahovaly 51–60 t/ha, přičemž vyšší byly u variant s důlky na vrcholu hrůbku a v nekolejové brázdě (var. 3) a kypřením (var. 4, 5). Dávka 100 kg N/ha při sázení (při stejném tvaru hrůbků) se neprojevila významným zvýšením výnosů ve srovnání s nehnojenou kontrolou. Na pokusném pozemku byla na podzim zaorána meziplodina spolu s hnojem a během vegetace brambor se uvolnilo dostatečné množství dusíku. Při odběru půdy 17. 5. byl zjištěn vysoký obsah Nmin v hrůbku (183 mg N/kg suché půdy). Nejvyšší výnos byl dosažen u varianty s kypřením hrůbků a rozdělením hnojiva do dvou dávek – 70 kg N/ha při sázení a přihnojení 30 kg N/ha při kypření na počátku vzcházení porostu (var. 5).

V době od sázení do kypření (26 dní) spadlo na stanovišti nadprůměrné množství srážek (103 mm), které mohly posunout živiny z hnojiv aplikovaných při sázení po stranách hlíz do půdního profilu ještě dříve, než rostliny brambor začaly dusík z půdy odebírat. Podle ZEBARTHA a

ROSENA (2007) v prvních třiceti dnech rostliny čerpají živiny jen z matečné hlízy a do 55 dnů po sázení přijmou přibližně 20 % z celkového množství dusíku, který za vegetaci spotřebují. Pozdější přihnojení do kořenové zóny rostlin se projevilo zvýšením výnosu hlíz, nejvyšším celkovým odběrem dusíku rostlinami i nejvyšším využitím dusíku z aplikovaných hnojiv. Hnojivo bylo aplikováno speciálními dláty z nekolejové brázdy do kořenové zóny a následně byly v brázdě vytvořeny důlky pro zadržení vody, která napomáhá transportu živin z hnojiva ke kořenům a jejich příjmu rostlinami. Celkový odběr dusíku hlízami a natí u této varianty (Graf 2) dosáhl 286 kg N/ha a byl statisticky významně (P>0,05) vyšší než u ostatních hnojených variant (249–253 kg N/ha) i kontroly (221 kg N/ha). Celkové využití dusíku z hnojiva rostlinami brambor činilo 51 - 59% při jednorázové aplikaci při sázení, při rozdělení do dvou dávek se stat. významně zvýšilo až na 66 % (Graf 3), díky vyšší efektivnosti druhé dávky hnojiv, aplikované v době stoupajícího odběru dusíku rostlinami. To potvrzují i poznatky RENSE *et al.* (2016), kteří značili izotopem 15N odděleně jednotlivé dávky a zjistili využití dusíku z hnojiv aplikovaných při vzcházení pětkrát vyšší než při hnojení před sázením.

Dusík z hnojiv se na jeho celkovém odběru rostlinami podílel jen 20% v případě miskovitého hrůbku bez dalších úprav a 22 – 24% u variant s důlkováním brázdy a příp. kypřením. Minerální dusík v půdě po sklizni brambor byl z 95-98% v nitrátové formě. I u nehnojené kontroly byl residuální obsah vysoký, v půdním profilu do 0,6 m bylo nalezeno 95 kg NO_3-N/ha, u hnojených variant o 6 – 39 kg NO_3-N/ha více. Nejnižší hodnoty residuálního N byly zjištěny u nejvýnosnějších variant s největším odběrem dusíku. 72-81% z tohoto množství bylo v ornici do hloubky 0,3 m. Míra rizika jejich posunu do půdního profilu či vyplavení závisí na intenzitě srážek v následujícím mimovegetačním období.

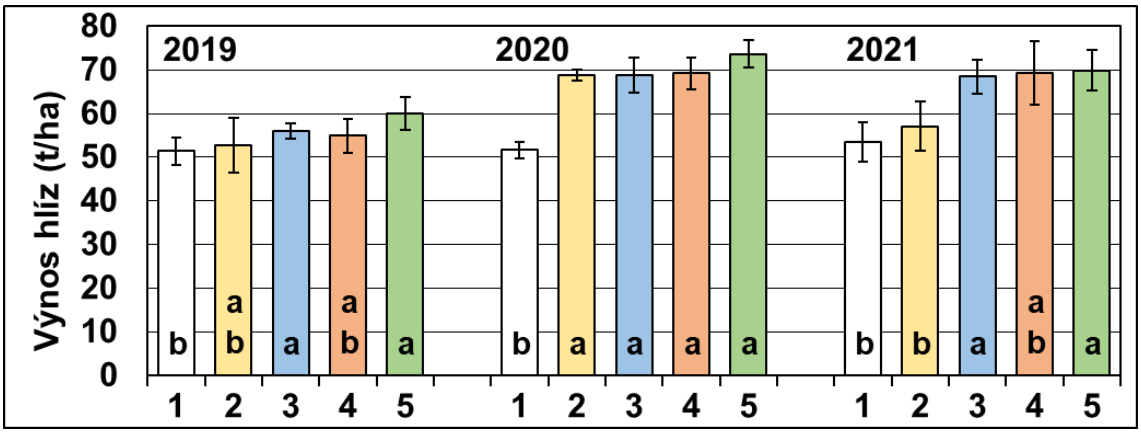
Nejvyšší výnosy byly dosaženy ve srážkově nejvydatnějším roce 2020 (Graf 1). U nehnojené kontroly činil výnos hlíz 51,6 t/ha, u variant hnojených plnou dávkou při sázení byly výnosy vyrovnané 68,7 – 69,2 t/ha a nejvyšší výnos (73,6 t/ha) byl opět dosažen u var. 5 s dělenou aplikací N hnojiv při sázení a kypření. Mezi jednotlivými hnojenými variantami nebyly zjištěny stat. významné rozdíly Využití dusíku z hnojiv rostlinami brambor bylo srovnatelné s předchozím ročníkem, pohybovalo se od 51 do 63%, přičemž nejvyšší bylo opět u varianty s kypřením a přihnojením (Graf 3). Zásoba minerálního dusíku v půdě byla v roce 2020 několikanásobně nižší než v minulém ročníku. V hrůbcích bylo na konci května (před kypřením) zjištěno pouze 33 mg Nmin./kg půdy (2019: 183 mg Nmin./kg), a proto byl očekáván vyšší podíl dusíku z hnojiv v celkovém odběru N rostlinami. Meziročníkový rozdíl nebyl ve skutečnosti příliš významný. V roce 2019 se dusík z hnojiv podílel na celkovém odběru N hlízami i natí max. z 24%, v následujícím roce jeho podíl dosáhl u hlíz nejvýše 28% a v nati 26 %. Bylo to způsobeno nižším celkovým odběrem dusíku rostlinami (u hnojených variant 203 – 227 kg N/ha, v roce 2019: 249 – 287 kg N/ha, Graf 2) i větším odčerpání dusíku z půdní zásoby, což potvrdily nízké residuální obsahy nitrátového dusíku po sklizni dosahující 35 - 47 kg NO_3-N/ha , a to u nehnojené kontroly a varianty jednorázovou aplikací N hnojiva při sázení.

Ty byly ovlivněny i vydatnými srážky během vegetace, jež vytvořily potenciál pro vyplavení nitrátů hlouběji do půdního profilu. V hloubce do 0,6 m bylo zjištěno nejvýše 47 kg NO3-N/ha u kypřené varianty s, naopak nejméně NO3-N ze všech hnojených variant bylo zjištěno po přihnojení při kypření (39 kg/ha), které se blížilo nehnojené kontrole (35 kg /ha). Nejnižší hodnoty nitrátového dusíku ze všech hnojených variant byly zjištěny při dělené aplikaci hnojiv, kde bylo současně dosaženo nejvyššího využití aplikovaného dusíku.

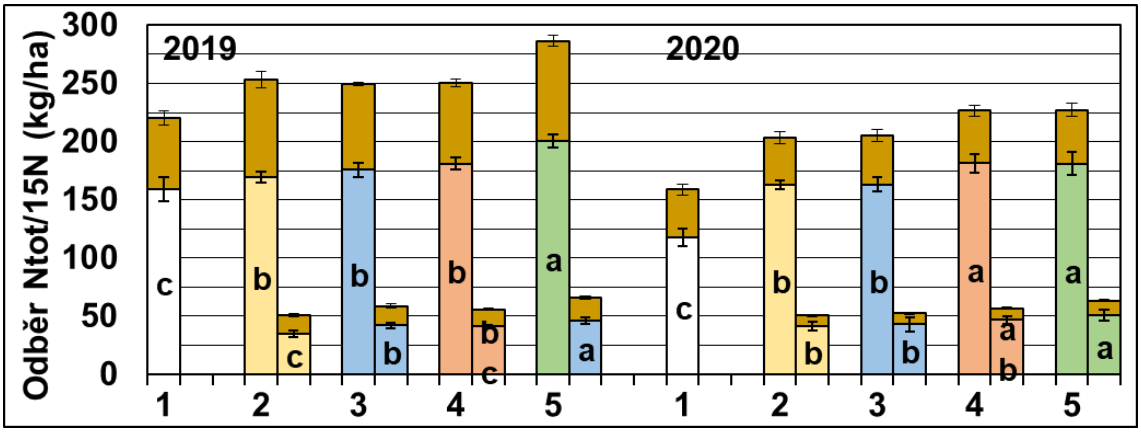
Květen roku 2021 byl srážkově (117,5 mm) nejvydatnější ze všech pokusných ročníků. Většina srážek (100,2 mm) spadla v prvních dvou dekádách před sázením a hnojením brambor, a nemohla způsobit případné vyplavení živin z aplikovaných hnojiv do spodních vrstev půdního profilu. Zjištěné výnosy hlíz potvrdily poznatky předchozích let. Ačkoli voda nebyl limitujícím faktorem, úprava hrůbků a brázd důlkováním, hrázkováním, případně kypřením se projevila

příznivě. U variant 3-5 (Graf 1) dosáhly výnosy hlíz 68,4 – 69,8 t/ha, přičemž mezi variantami nebyly průkazné rozdíly. Významně nižší výnosy byly zjištěny v hrůbcích miskovitého tvaru: u kontroly bez hnojení 53,5 t/ha, po aplikaci 100 kg N/ha 57,1 t/ha. Obsahy dusíku v hlízách a nati zatím nejsou stanoveny.

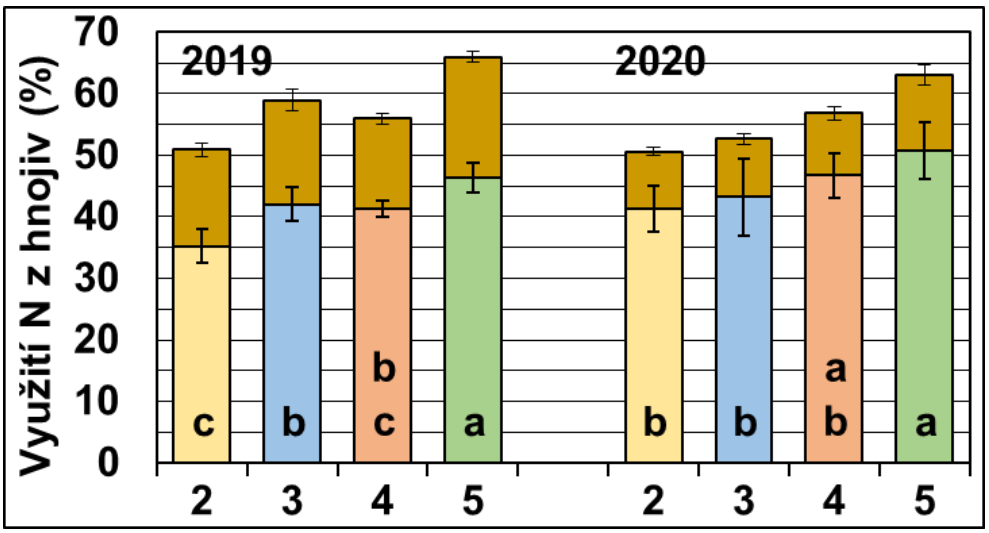
Graf 1. Výnos hlíz brambor



Graf 2. Celkový odběr dusíku (vlevo) a dusíku z hnojiv (vpravo hlízami a natí brambor)



Graf 3. Využití dusíku z hnojiv rostlinami brambor



V obou ročnících, jež jsou dosud kompletně vyhodnoceny, se přihnojení brambor na začátku vzcházení do kořenové zóny rostlin projevilo zvýšením výnosu hlíz, nejvyšším celkovým odběrem dusíku rostlinami i nejvyšším využitím dusíku z aplikovaných hnojiv. To potvrzuje poznatky MAIDLA et. al. (2002), kteří ve víceletém polním pokusu zjistili stoupající efektivnost u hnojiv s pozdějším termínem jejich aplikace, jež se při umístění do hrůbku zvyšovala od 33,9% (hnojení při sázení) do 43,7% při hnojení vzešlého porostu. RENS et al. (2016) zjistili rozpětí využití dusíku z hnojiv od 11% do 62% pro aplikace před sázením a na počátku tvorby hlíz. Nízkou efektivnost hnojiv aplikovaných při sázení přisuzovali převážně imobilizaci N během raných vývojových fází.

Závěr

Úprava tvaru hrůbků i nekolejové brázdy důlkováním a hrázkováním se projevila zvýšením výnosů hlíz ve srovnání s hladkým miskovitým povrchem hrůbků (o 7- 22 % při stejném hnojení N), a to i v ročnících, kdy srážky nebyly faktorem limitujícím výnos. Přínos důlků nespočívá pouze ve větším provlhčení hrůbků, ale i usměrněním vody do míst uložení hnojiv, zejména směrem z nekolejové brázdy, což dokládá vyšší využití dusíku z hnojiv u těchto variant (až o 9 %). Hlavním důvodem kypření povrchu hrůbků před/na počátku vzcházení porostu brambor bylo rozrušení povrchové krusty vytvoření intenzivními srážkami a zlepšení vsakování vody do hrůbků. Z hlediska výnosového nebyl vliv samotného kypření významný. Avšak kypření spojené s přihnojením přineslo ve všech letech nejvyšší výnosy hlíz (60,1 – 73,6 t/ha) i využití dusíku z aplikovaných hnojiv (max. 66%). Vyšší využití dusíku vede i k nižším reziduálním obsahům nitrátů v půdě po sklizni brambor. Dosažené výsledky potvrzují, že je vhodné aplikovat alespoň část dusíku k bramborám v pozdější fázi, kdy již jsou schopny rostliny přijímat dusík z půdy. Při povětrnostních a zejména srážkových podmínkách, které byly v pokusných letech, existuje značné riziko, že dusík aplikovaný při sázení bude vyplaven do spodních vrstev půdního profilu dříve, než jej začnou rostliny odebírat.

Dedikace

Publikované výsledky byly získány za finanční podpory MZe ČR v rámci projektu QK1910382.

Literatura

Čáp P., 2021. Půdoochranné technologie při pěstování brambor. Pozemkové úpravy, 29:

Kasal P., Růžek p., Kusá H., Čepl J., 2013. Metodika technologie pěstování brambor se zaměřením na vyšší efektivnost hnojení a ochranu vod, Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o., 27 pp.

Kelling K. A., Arriaga F. J., Lowery B., Jordan M. O., Speth P. E., 2015. Use of hill shape with various nitrogen timing splits to improve fertilizer use efficiency. Am. J. Pot. Res., *92:* 71-78

Maidl F. X., Brunner H., Sticksel E., 2002. Potato uptake and recovery of nitrogen 15N-enriched ammonium nitrate. Geoderma, *105*: 167-177

Rens L., Zotarelli, L. Alva A., Rowland D., Liu G., Morgan K., 2016. Fertilizer nitrogen uptake efficiencis for potato as influenced by application timing. Nutr. Cycl. Agroecosyst., 104: 175-185

Růžek P., Kusá H.., Vavera R., Kasal P., 2018. Inovace pěstování brambor pro lepší zadržení vody v hrůbcích. Úroda, *66*(4): 97-101.

Zebarth B. J., Rosen C. J., 2007. Research perspective on nitrogen BMP development for potato. Am. J. Pot. Res., 84: 3-18

Kontaktní adresa:

Ing. Helena Kusá, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6
kusa@vurv.cz

Možnosti a limity detekce zasolení půdy pomocí terénních přístrojů

Soil Salinity Assessment Using Conductivity Soil Sensors

Mayerová M., Madaras M., Stehlík M.

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

Abstrakt

Zasolení půdy vlivem zimní údržby komunikací je častou příčinou úhynu městské zeleně. Včasná identifikace zasolených míst je nezbytná pro rychlé zavedení účinných opatření vedoucích ke snížení negativního vlivu zasolení. Kromě laboratorního stanovení koncentrace solí v půdě jsou na trhu dostupné terénní přístroje, které měří hodnoty elektrické vodivosti přímo na místě, a to pomocí různých nepřímých metod. Tyto senzory doposud nebyly důkladně testovány v městském prostředí. Přesnost vybraných přístrojů jsme nejprve ověřili v nádobovém pokusu a následně jsme je testovali v městském prostředí z pohledu jejich praktického využití. S ohledem na praktické použití i přesnost měření lze doporučit Delta-T WET Sensor. Pro rychlou indikaci zasolení mohou být dobrou volbou také některé jednoduché, cenově dostupné přístroje (Hanna EC Tester, Hanna HI76305 EC sonda).

Klíčová slova: diagnostika, elektrická vodivost, TDR a FDR technologie, zasolení půdy

Abstract

Winter management of roads causes soil contamination with salt, which has the toxic effect on the urban vegetation. Early diagnostic of saline sites is important for taking effective measures to reduce negative impact of salinity. The common direct method for salinity measurement (soil sampling and salt extraction) is not very operational, therefore indirect techniques for measuring soil electrical conductivity (EC) have been developed. Until now, these soil salinity sensors were not comprehensively tested in the urban environment. Measuring soil EC by selected sensors was compared with soil extract method and their practical usability was tested in the urban soils. Delta-T WET sensor can be recommended with regard to practical use and accuracy. Some basic and cheaper sensors can be also used for quick indication of salinity (Hanna EC Tester, Hanna HI76305 EC).

Keywords: diagnostics, electrical conductivity, TDR and FDR technique, soil salinity

Úvod

Zasolení půdy je vážným problémem nejenom v zemědělských půdách aridních a semiaridních oblastí, ale také v urbánních půdách, kde je jednou z nejčastějších příčin úhynu dřevin v parcích a podél komunikací. Nejvíce ohrožena je vegetace v blízkosti chodníků a silnic, které jsou v zimním období ošetřovány posypovými materiály, zejména chloridem sodným (Na Cl). Byla prokázána korelace mezi zasolením urbánní půdy a zdravotní kondicí dřevin rostoucích podél komunikací (Czerniawska-Kusza et al., 2004). Nezanedbatelným zdrojem zasolení je i moč psů venčených na veřejných prostranstvích nebo moč lidská na frekventovaných místech (např. výstupy z metra, městské parky, okolí zahrádek restaurací). Vzhledem k tomu, že v městském prostředí jsou rostliny vystavovány nadměrnému stresu, může mít i mírné zasolení půdy fatální následky (Rejšek et Vácha, 2018). Proto je velmi důležitá včasná identifikace zasolených ploch a následná opatření vedoucí ke snížení negativního vlivu zvýšené koncentrace solí v půdě.

V současné době se standardně používá laboratorní stanovení koncentrace solí v půdě (Zbíral, 2002), které je ale poměrně časově náročné a vyžaduje standardizovanou metodiku odběru školeným personálem. Detekce stavu zasolení v terénu vyžaduje operativnější techniky, které umožňují získat informace na místě, aby příslušní pracovníci mohli co nejdříve rozhodnout o

řešení problémů. Základní senzory využívají jednodušší měření vodivosti na okruží nebo desce mezi dvěma elektrodami, vyhodnocující elektrickou vodivost pomocí měření odporu (Rhoades, 1993). Sofistikovanější přístroje pracují na principu technologie TDR (time domain reflectometry), která je založena na analýze přechodu vysokofrekvenčního elektromagnetického pulzu půdním prostředím, nebo FDR (frequency domain reflectometry), která zpracovává změnu frekvencí elektromagnetického pulzu probíhajícího mezi 2 měřícími hroty. Obě metody umožňují současně měřit vlhkost půdy (Corwin et Scudiero, 2019).
Určitým nedostatkem všech přístrojů pro detekci půdního zasolení je potřeba kalibrace pro konkrétní půdní prostředí. Přístroje často nejsou dostatečně testovány pro variabilní půdní podmínky (typické např. i v městském prostředí) a neexistují provozní návody pro interpretaci měření s ohledem na další půdní parametry (texturu půdy, vlhkost apod.). Přístroje při měření zobrazují hodnoty zasolení v standardních jednotkách EC (dS/m), nicméně hodnoty nekorespondují s vodivostí nasyceného půdního extraktu (EC_e) - referenční hodnotou při posuzování úrovně zasolení půdy. Škála měřených hodnot je obvykle specifická pro konkrétní typ přístroje. Výsledky je pak nutné dále korigovat, protože z přímého odečtu měření není jasná skutečná úroveň zasolení a to, zda měřená hodnota již indikuje pro rostlinu riziko nebo ne.
Cílem této práce bylo prověřit přesnost měření terénních přístrojů pro stanovení zasolení a prověřit jejich využitelnost v podmínkách urbánních půd Hlavního města Prahy.

Materiál a metody
Na základě průzkumu trhu byly vytipovány přístroje v různých cenových hladinách určené na měření elektrické vodivosti půdy (EC) a pracující na různých principech. Tyto přístroje byly testovány přímo v městském prostředí z pohledu jejich praktického používání a přesnosti měření. Přesnost vybraných senzorů byla navíc ověřena v nádobovém pokusu s různými stupni zasolení půdy a s různými typy půd.

Nádobový pokus.
V roce 2019 byl založen nádobový pokus se třemi různými typy půd ze třech lokalit (tabulka 1): Hněvčeves, Ruzyně a Humpolec.

Tabulka 1. Půdní charakteristiky vybraných lokalit

lokalita	půdní typ	půdní druh	pH (KCl)	pH (H_2O)	Obsah humusu
Hněvčeves	hnědozem luvická na spraši	jílovitohlinitá	6,1	6,9	2,4 %
Humpolec	kambizem slabě oglejená	písčitohlinitá	6,9	7,6	3,2 %
Ruzyně	hnědozem modální na spraši	jílovitohlinitá	7,0	8,1	4,1 %

Z každé lokality bylo nasypáno do 4 plastových nádob o objemu 60 l po 45 kg půdy. Půda byla zalita vodou, resp. roztokem Na Cl v množství odpovídajícím plnému nasycení půdy (50–60 obj. %). Byly tak získány 4 stupně zasolení půdy: kontrola 0 %; 0,075 %; 0,25 %; 0,5 %. Poté byla měřena elektrická vodivost půdy (EC) vybranými terénními přístroji s různými metodami měření: Hanna EC Tester, Hanna HI76305 EC sonda, Soli EC Tester, Tinovi PM-WCS-3-USB (měřené vodivosti mezi dvěma elektrodami); Trime Pico 32, Trime Pico 64, Field Scout TDR150 (TDR technologie); Delta T – WET senzor (FDR technologie), a to vždy ve čtyřech opakováních v každé z nádob (Obr. 1, 2). Půda z každé nádoby byla po měření vysušena, homogenizována a po nasypání do nádob a zhutnění rovnoměrně (po vrstvách) nasycena na vlhkost 30-40 %. Poté bylo znovu provedeno měření všemi přístroji. Postup byl stejným

způsobem opakován pro vlhkosti kolem 20 % a 10 %. V každém termínu měření byly odebrány vzorky pro laboratorní stanovení elektrické vodivosti v nasycené půdní pastě (EC_e) a neporušené vzorky do Kopeckého válečků pro určení objemové vlhkosti půdy. Tímto způsobem byly získány údaje pro ověření přesnosti jednotlivých přístrojů při různých vlhkostech půdy a různých stupních zasolení. Byly vytvořeny korelační křivky a převodníky měření, které pomohou uživatelům určit elektrickou vodivost EC_e při konkrétní vlhkosti půdy.

Obr. 1. Testované přístroje (zleva – China Soli EC Tester, Hanna EC Tester, Hanna HI76305, Delta T HH2 + WET-2 sensor, Field Scout TDR150, IMKO HD2 + Trime Pico 64 / Trime Pico 32, Tinovi PM-WCS-3-USB)

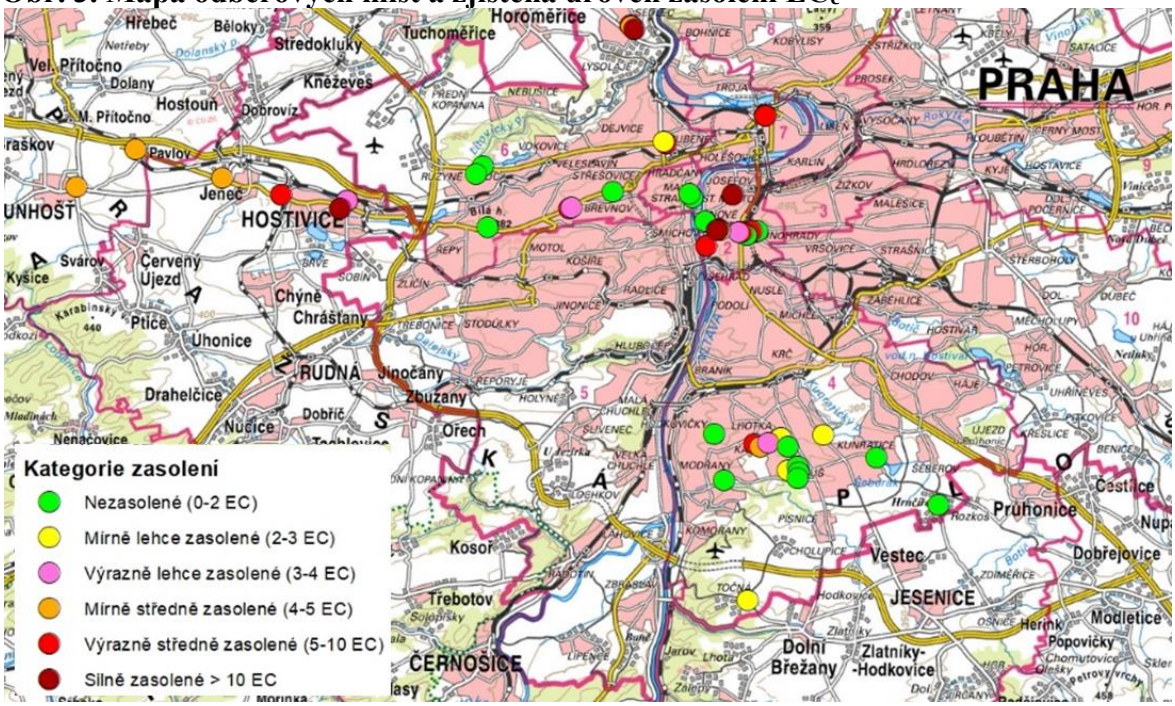
Obr. 2. Ukázka nádoby s měřícím přístrojem Trime Pico 64

Terénní průzkum

Přístroje testované v nádobovém pokusu byly ověřeny v prostředí urbánních půd na území hl. m. Prahy a v jejím okolí. Byly vybrány lokality, u kterých byl předpoklad vyššího zasolení půd jednak díky údržbě komunikací posypovou solí, jednak díky psím a lidským výkalům. Do výběru tak byly zahrnuty aleje na kraji vozovek, městská stromořadí, parky a prostranství s výrazným pohybem osob (např. před metrem či supermarketem). Měření probíhalo ve čtyřech termínech (jaro a podzim 2019, podzim 2020, jaro 2021). Navštívené pražské lokality: I. P. Pavlova, ulice Ječná, Anglická, Bělohorská, Evropská, Patočkova, Novodvorská, U Libušského

potoka, Dřevná, Gagarinova, Vídeňská, Na Příkopě, sídliště Na Dědině, Tylovo náměstí, Lennonova zeď, Kampa, Kamýk-Durychova, Kunratice-U Bažantnice, Hodkovičky – V Lučinách, Masarykovo nábřeží, Holešovice – nádraží, Karlovo náměstí, Vítězné náměstí, Náměstí Míru, Točná, Lhotka. Navštívené mimopražské lokality, převážně v blízkosti silničních komunikací: Hostivice, Jeneč, Pavlov, Unhošť (Obr. 3). Bylo provedeno měření elektrické vodivosti půdy pomocí vybraných přístrojů. Na všech lokalitách byly z hloubky do 15 cm sondýrkou odebrány vzorky půdy, které byly určeny pro laboratorní stanovení EC, pH a vlhkosti. Celkem bylo provedeno téměř 100 měření a odběrů.

Obr. 3. Mapa odběrových míst a zjištěná úroveň zasolení EC_e



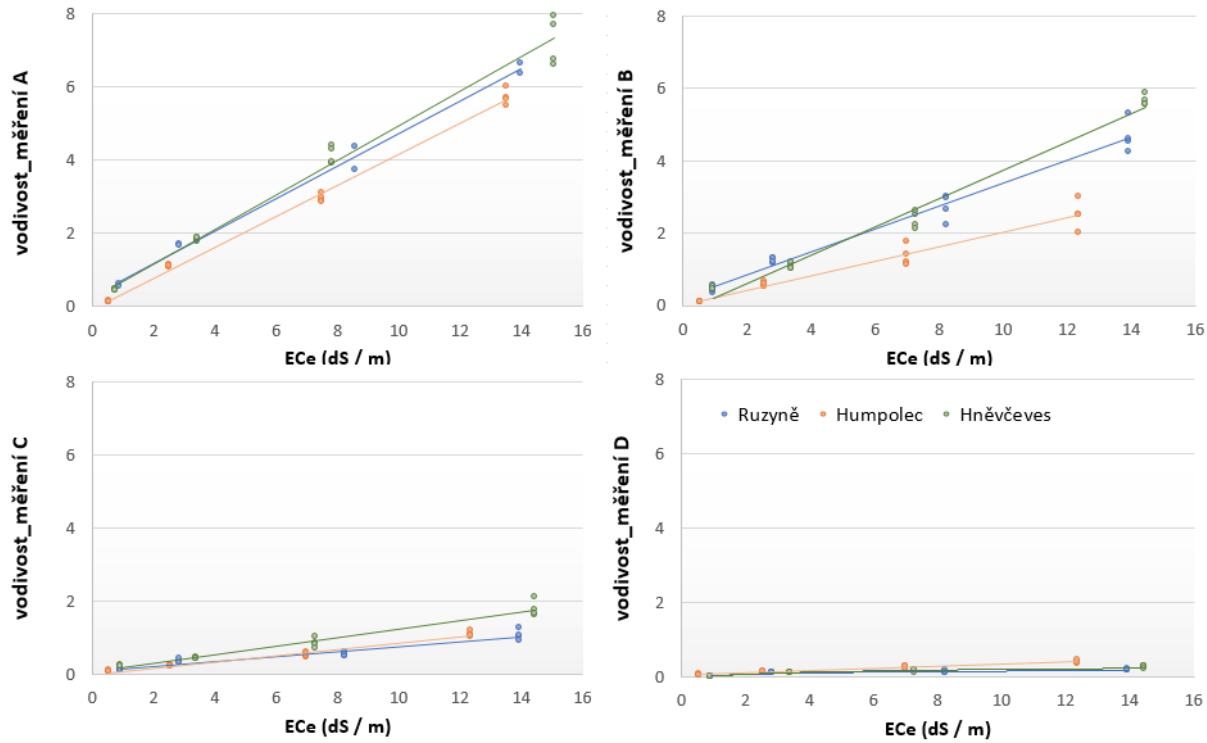
Výsledky a diskuse

Na základě korelace naměřených hodnot elektrické vodivosti půdy (EC) s hodnotami EC_e stanovenými v laboratoři byla zjištěna přesnost jednotlivých přístrojů při různé vlhkosti půdy. Pro většinu přístrojů platilo, že se snižující se vlhkostí přesnost měření klesá, přičemž některé přístroje (např. Soli EC Tester, Hanna EC Tester) silně podhodnocovaly hodnoty EC v porovnání s laboratorními hodnotami již při vlhkosti půdy 20–25 % (graf 1). Naopak Delta T – WET sensor, který pracuje na principu FDR technologie, vykazoval při hodnotách vlhkosti kolem 20 % hodnoty srovnatelné s laboratorními (graf 2, obr. 4). Spolehlivost tohoto přístroje v porovnání s přístroji na principu TDR technologie potvrzuje i práce Hameda (Hamed et al., 2006), který uvádí, že přístroj WET sensor je méně ovlivněn vyššími hodnotami objemové elektrické vodivosti. Pro měření v jílovitých půdách Hamed et al. (2006) WET sensor nedoporučuje kvůli obsahu smektitů, které způsobují extrémně vysoké hodnoty dielektrické permitivity. V našem pokusu byly také zjištěny rozdíly mezi jednotlivými typy půdy, ale přesnost přístroje v jílovitohlinité půdě z Hněvčevse nebyla nižší než u ostatních půd.

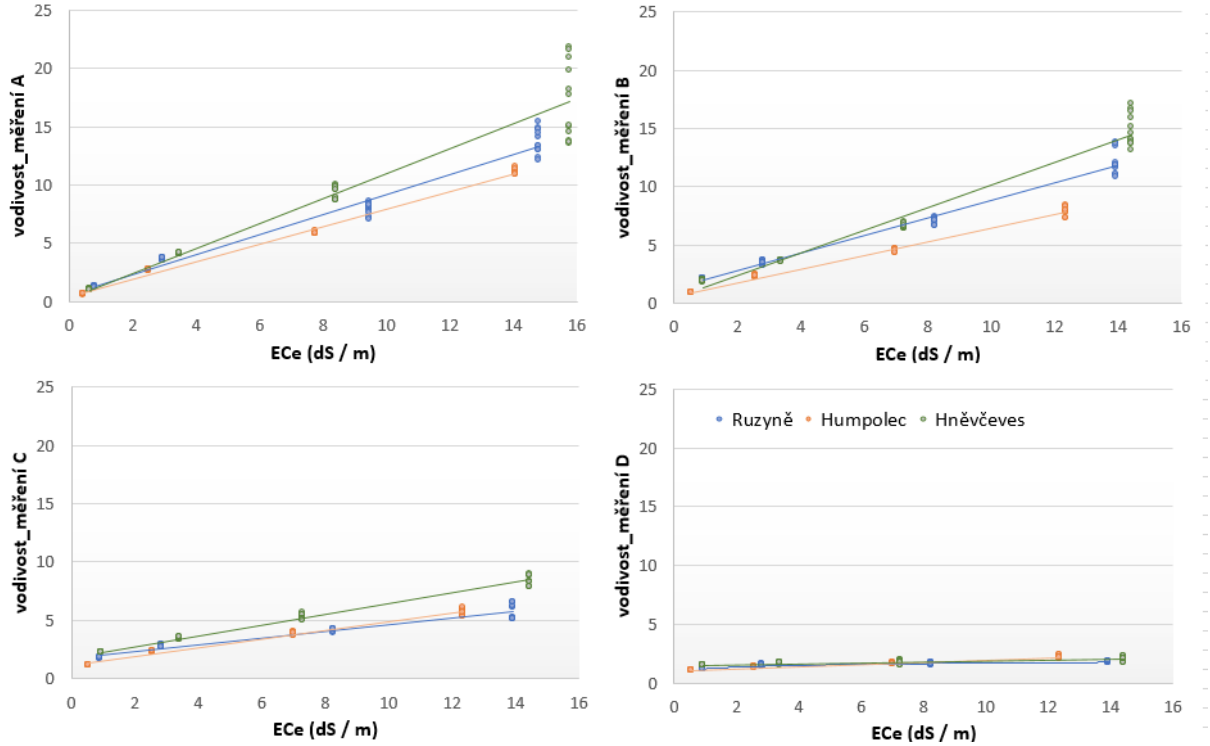
Praktické použití přístrojů bylo ověřeno v terénu. Pro zhutněné urbánní půdy se ukázaly jako nevhodné čidla s dlouhými měřícími hroty Trime Pico 32 (hroty 11 cm) a Trime Pico 64 (hroty 15 cm), které nebylo možné zasunout do půdy v potřebné hloubce. Základní přístroje využívající pro měření okruží nebo desku (China Soli Tester, Hanna Tester a Hanna HI76305 EC) jsou použitelné pouze u vlhčích substrátů. Hroty s okružím nemají dostatečný kontakt

s půdou zejména v sušších podmínkách s vlhkostí již pod 20 % a měření je podhodnocováno nebo zcela znemožněno. Pro hrubé určení vlhkosti půdy je možné využít tzv. prstovou zkoušku (Slípka 1988 in Němcová 2007) a hrubě takto odhadnout výsledné zasolení. U senzoru Tinovi je možné i měření vlhkosti, nicméně pro časté měření v terénu je senzor křehký a nemá v současnosti stabilní vyhodnocovací software. Výhodou těchto základních přístrojů je nižší pořizovací cena a možnost kontinuálního měření při zasouvání senzoru hlouběji do půdy. Z pohledu praktického použití se nejlépe osvědčil Delta T – WET senzor se 7 cm hroty, který byl také nejpřesnější v porovnání s hodnotami EC získanými v laboratoři. Dobrou přesnost měření prokázal i základní senzor Hanna HI76305 EC sonda, u které ale docházelo k mírnému podhodnocení díky nedostatečnému kontaktu měřidla s půdou (graf 3).

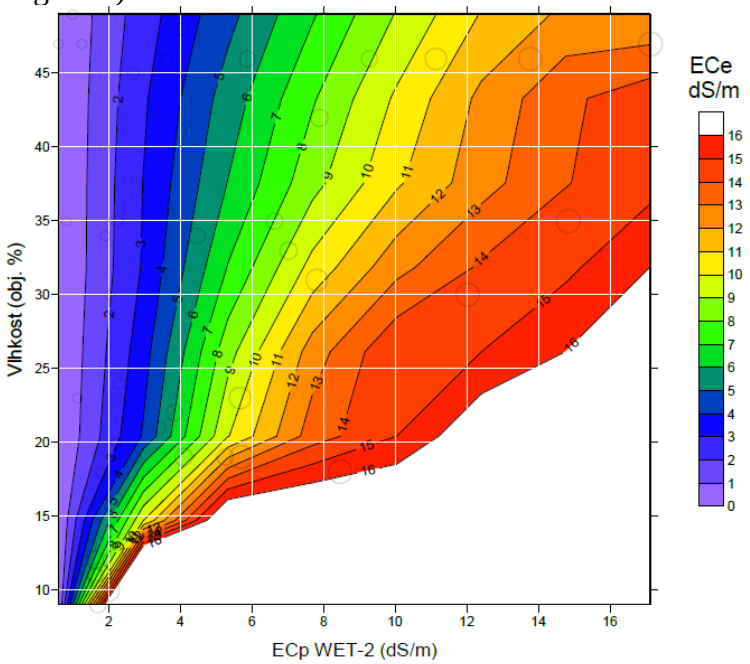
Graf 1 Korelace přístrojem změřené elektrické vodivosti s laboratorně stanovenou elektrickou vodivostí (EC_e) pro přístroj China soli EC tester při různé objemové vlhkosti půdy: měření A – 46 %, B – 33 %, C -20 %, D – 11 %.



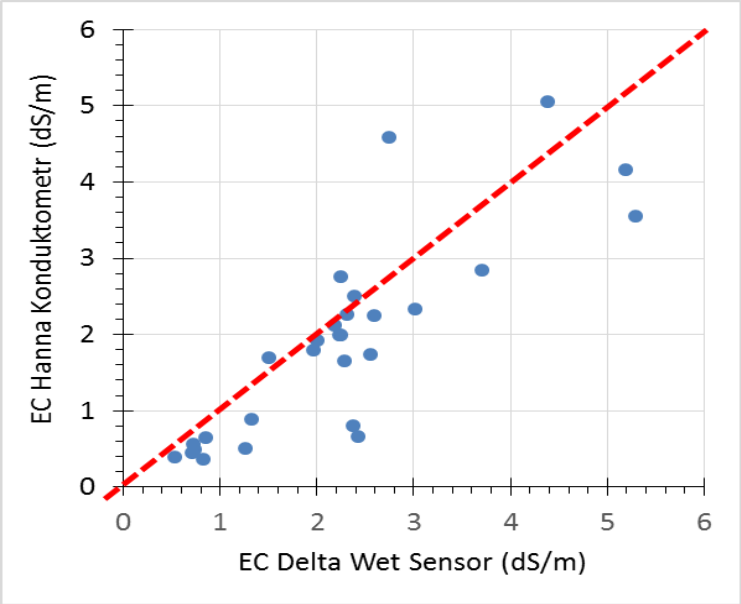
Graf 2: Korelace změřené elektrické vodivosti s laboratorně stanovenou elektrickou vodivostí (EC_e, mS/cm) pro přístroj Delta T WET senzor při různé objemové vlhkosti půdy: měření A–46 %, B–33 %, C–20 %, D–11 %



Obr. 4: Převodník měření pro přístroj Delta T WET senzor (EC_p).
Pomocí převodníku uživatel přístroje určí elektrickou vodivost EC_e při konkrétní vlhkosti půdy (kroužky vyznačují měření z nádobového pokusu, což byl podklad k sestavení diagramu)



Graf 3: Porovnání hodnot EC mezi přístroji Delta T – WET sensor a Hanna HI76305 EC sonda



Závěr

Testované přístroje pokrývají širokou škálu dostupných technologií a cenových kategorií půdních EC senzorů. Všechny přístroje prokázaly schopnost detekovat intenzitu zasolení, přičemž jejich cena se více či méně promítá i do kvality výsledků měření. China Soli Tester a Hanna EC Tester jsou přístroje v kategorii do 5000 Kč a lze je označit za indikační. Při vhodné vlhkosti a půdních podmínkách mohou dát uživateli informaci o vyšším zasolení půdy, ale při nižší vlhkosti půdy (10-20 %) mají základní senzory s měřením výrazné problémy. Přístroje Delta-T WET Sensor a Trime Pico jsou přístroje v cenovém rozmezí 50-70.000 Kč, přístroje současně měří i vlhkost půdy. Delta-T WET Sensor lze doporučit s ohledem na praktické použití i nejvyšší přesnost měření. Ve střední cenové kategorii 17-30.000 Kč se nacházejí přístroje Hanna HI76305 EC sonda a Field Scout TDR150, přičemž sonda Hanna se při měření v terénu částečně osvědčila a lze ji doporučit s ohledem na poměr cena/výkon.

Dedikace

Příspěvek vznikl s podporou projektu CZ.07.1.02/0.0/0.0/17_049/0000830: Komercializace nových výsledků zemědělského výzkumu VÚRV, v. v. i. pro zlepšení životního prostředí v hlavním městě Praze (Koncept 2: Včasné zjištění zasolení půdy pro zdravou městskou zeleň)

Literatura

Corwin D.L., Scudiero E. 2019. Review of soil salinity assessment for agriculture across multiple scales using proximal and/or remote sensors. Advances in Agronomy, Vol. 158, 130 p.

Czerniawska-Kusza I., Kusza G., Duzynski M. 2004. Effect of deicing salts on urban soils and health status of roadside trees in the Opole region. Environmental Toxicology, Vol. 19, 296-301.

Hamed Y., Samy G., Persson M. 2006. Evaluation of the WET sensor compared to time domain reflectometry. Hydrological Sciences Journa, Vol. 51, Issue 4, p. 671-681.

Němcová, D. 2007. Školní pozorování a pokusy s půdou, Diplomová práce, České Budějovice, 259 s.

Rejšek K., Vácha R. 2018. Dopad zimní údržby komunikací 56-58. In: Nauka o půdě, Olomouc, 56-58

Rhoades J.D. 1993. Electrical Conductivity Methods for Measuring and Mapping Soil Salinity. Advances in Agronomy, Vol. 49, 201-251.

Zbíral J. 2002. Analýza půd: jednotné pracovní postupy. Vyd. 2, přeprac. rozš. Brno: ÚKZÚZ, 38-41.

Kontaktní adresa:
RNDr. Mikuláš Madaras, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507/73
161 06 Praha 6 – Ruzyně
mayerova@vurv.cz

Možnosti nechemického ošetření osiv

Possibilities of non-chemical treatmetnts of seeds

Matějovič M.[1], Hlásná Čepková P.[1], Čurn V.[2]

[1] *Tým genové banky, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha 6 – Ruzyně*
[2] *Katedra genetiky a speciální produkce rostlinné, ZF, JU v Českých Budějovicích*

Abstrakt
Byly zkoumány možnosti nechemického ošetření semen vybraných zemědělských plodin za účelem snížení fytopatogenního tlaku, zlepšení parametrů klíčení a vývoje mladých rostlin a prodloužení bezzásahového skladovacího cyklu. Pro nechemické ošetření osiv byla testována metoda nízkoteplotního plazmatického ošetření ve vakuu (LTP), kdy byl sledován vliv plazmatu na vlastnosti klíčících semen amladých rostlin. Do práce byly vybrány 4 plodiny (ječmen, oves, len, řepka) různých genotypů. Hodnocení sestávalo ze zkoušky klíčivosti, délka kořenů a klíčků, rozvoj děložních listů. Ke statistickému vyhodnocení byla použita metoda analýzy rozptylu (ANOVA). Výsledky naznačují, že použití LTP má různý vliv na testovaná osiva. U vzorků řepky a lnu došlo k pozitivnímu ovlivnění klíčení a růstu mladých rostlin. Naopak jednoznačně negativní ovlivnění bylo pozorováno u semen ovsa, kdy klíčivost nepřesáhla jednotky procent.
Klíčová slova: plazma, LTP, rychlost klíčení, délka kořenů, délka klíčků, děložní listy

Abstract
The possibilities of non-chemical treatment of seeds of selected crops were examined in order to reduce pathogen pressure, improve germination and development parameters of young plants and prolong the non-interventional storage cycle. For non-chemical seed treatment, the low-temperature plasma vacuum treatment (LTP) method was used, where the effect of plasma on the properties of germination seeds of young plants was monitored. 4 crops (barley, oats, flax, rapeseed) of different genotypes were selected for work. The evaluation consisted of a germinate test, the length of roots and sprouts, the development of cotyledones. The variance analysis method (ANOVA) was used for statistical evaluation. The results suggest that the use of LTP has different effects on the seeds tested. Rapeseed and flax samples have been positively affected by germination and growth of young plants. On the contrary, a negative effect was observed in oat seeds, where germination did not exceed units of percentage.
Keywords: plasma, LTP, germination rate, root length, sprout length, cotyledones

Úvod

V poslední době se zvyšuje tlak fytopatogenních organimů na pěstované plodiny a umocňuje jej také monokulturní způsob pěstování. Také některé změny prostředí mají vliv na změnu v nahlížení na tradiční zemědělské plodiny, u kterých jsou očekávány a vyžadovány nové vlastnosti, které povedou ke snížení vlivu těchto změn prostředí na výnos. Tyto skutečnosti znamenají také vyšší požadavky na kvalitu osiva.

Kvalita osiva představuje základní předpoklad pro založení optimálního porostu. Hlavními parametry jsou obvykle chápány procento klíčivosti a vitalita (Pazderů, 2009). Klíčivost, energie klíčení, vzcházení jsou parametry osiva, určující budoucí výnos.

Pro zajištění kvalitního osiva se přistupuje k různým způsobům jejich ošetření. Během 20. stol. byla vyvinuta řada pesticidních preparátů na ochranu semen a rostlin během klíčení a vzcházení. Vzhledem k obavám z negativního vlivu užívaných pesticidů na zdraví člověka a životní prostředí přijala EU prostřednictvím směrnice 2009/128/ES povinnost uplatňovat systém

integrované ochrany rostlin, mezi které patří také upřednostňování alternativních metod ochrany rostlin namísto standardně používaných chemických metod. Mimo již užívané metody biologické (různé biologické preparáty) lze použít i různé metody fyzikální. Tyto ale nejsou doposud zavedené a ověřené v zemědělské praxi a neexistuje jejich srovnání s metodami dnes běžně používanými. Z toho je zřejmé, že tato problematika hledání alternativních postupů k chemickému ošetření je vysoce aktuální.

Mezi progresivní metody může být využití metod fyzikálního ošetření semen pomocí plazmových technologií.

Plazmové technologie jsou široce využívané v mnoha oblastech lidského života, jako je zpracování materiálů, výroba polovodičových zařízení, zemědělství, biomedicína, úprava vody aj. V současnosti si nízkoteplotní plazmové technologie získaly velkou pozornost rychlou reakční dobou, suchým prostředím během aplikace, ekologickým přístupem bez reziduí a mutagenních vlivů (Foster 2017; Zhou et al. 2016; Jiafeng et al. 2014; Kolb et al. 2008; Shashurin et al. 2008).

Plazmové technologie lze rozdělit do dvou hlavních kategorií v závislosti na použitém provozním tlaku. 1. nízkotlaká plazma a 2. vysokotlaká plazma. Nízkotlaká plazma může být generována vakuovými systémy, nicméně podle Tanakaran, Matra (2021) mají tyto systémy některé nevýhody, např. se jedná o drahou aparaturu s vyššími nároky na údržbu, omezenou velikostí ošetřovaných vzorků, atd. (Tanakaran, Matra, 2021). Nízkoteplotní vysokotlaká plazma a to zejména plazma za atmosférického tlaku překonává nevýhody vakuových systémů. Generování nízkoteplotní plazmy za atmosférického tlaku disponuje jednodušší obsluhou, lze jej použít v řadě aplikací od biomedicíny, zemědělství, až po úpravu odpadních vod (Penado et al. 2017; Striūgas et al. 2017; Stolárik et al. 2015; Kolb et al. 2008; Nie et al. 2008; Shashurin et al. 2008). Nevýhodou plazmatu za atmosférického tlaku je požadavek aparatury na vysoké vstupní napětí na elektrodách pro ionizaci plynu a blízkost elektrod i pro minimální výkon aparatury.

Využití plazmy ke stimulaci růstu rostlin již bylo zkoumáno pomocí řady technik, jako např. magnetické nebo radiovlnné plazma, plazmový paprsek, DBD nebo vrcholový výboj (Dobrin et al. 2015; Ling et al. 2015; Penado et al. 2017), vedoucí také k tvorbě reaktivních forem dusíku (RNS) a kyslíku (ROS), snižujících fytopatogenní zátěž osiva (Dobrin et al. 2015; Khamsen et al. 2016; Matra 2017). RNS mohou podle Tanakaran, Matra (2021) zlepšit výživové podmínky klíčícího semene a ROS naleptávat obalové vrstvy a tím pozitivně ovlivnit absorpci vody a živin semenem (Dobrin et al. 2015; Jiafeng et al. 2014). Stejně tak lze fyzikální metody aplikovat i na potraviny, kdy plody jsou často kontaminovány nežádoucími organismy, což může vést ke znehodnocení produktu či dokonce k ohrožení zdraví konzumentů. Zejména klíčky jsou považovány za jednu z nejrizikovějších potravin nabízených spotřebitelům v obchodech, protože se produkují v prostředí, které je vhodné pro vývoj nežádoucích organismů a konzumují se syrové. Vzhledem k tomu, že tepelné zpracování má nepříznivý účinek na klíčivost semen, je třeba vyvinout alternativní technologie zpracování pro účely mikrobiální inaktivace (Butscher et al., 2016).

Materiál a metody

Experimentální aparatura modifikovaného, počítačem řízeného přístroje Plasonic AR-550-M použitého k ošetření semen nízkoteplotním plazmatem je znázorněna na obr. 1. Sestava byla složena z jednotlivých modulů, jež zahrnovaly generátor mikrovlnného elektrického výboje, vakuového rotačního čerpadla, vakuového recipientu o objemu cca 10 l pro vzorky, řídící jednotky a kontrolní jednotky zaznamenávající pracovní tlak a teplotu v nádobě a dobu ošetřování. Pracovní parametry zařízení byly nastaveny na výkon 500 W, pracovní tlak < 50 Pa

a dobu ošetřování na 30 min. Uvnitř recipientu byla v Petriho miskách umístěna ošetřovaná semena.
Pro experiment byla využita kolekce semen vybraných genotypů zemědělských plodin (tab. 1) z genové banky Výzkumného ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Praze – Ruzyni. Použita byla pouze taková intaktní semena, která byla bez viditelných defektů či zárodků chorob. Vzorky byly uskladněny v GB v délce 10 a 20 let při teplotě -18 °C. Jako kontrolní vzorek byla použita čerstvě uskladněná semena. Osivo bylo rozděleno na varianty k ontrolní a ošetřené.

Obr. 13. Sestava modulárního plazmového přístroje Plasonic AR-550-M

Tab. 1: Vybrané genotypy zemědělských plodin použitých v experimentu

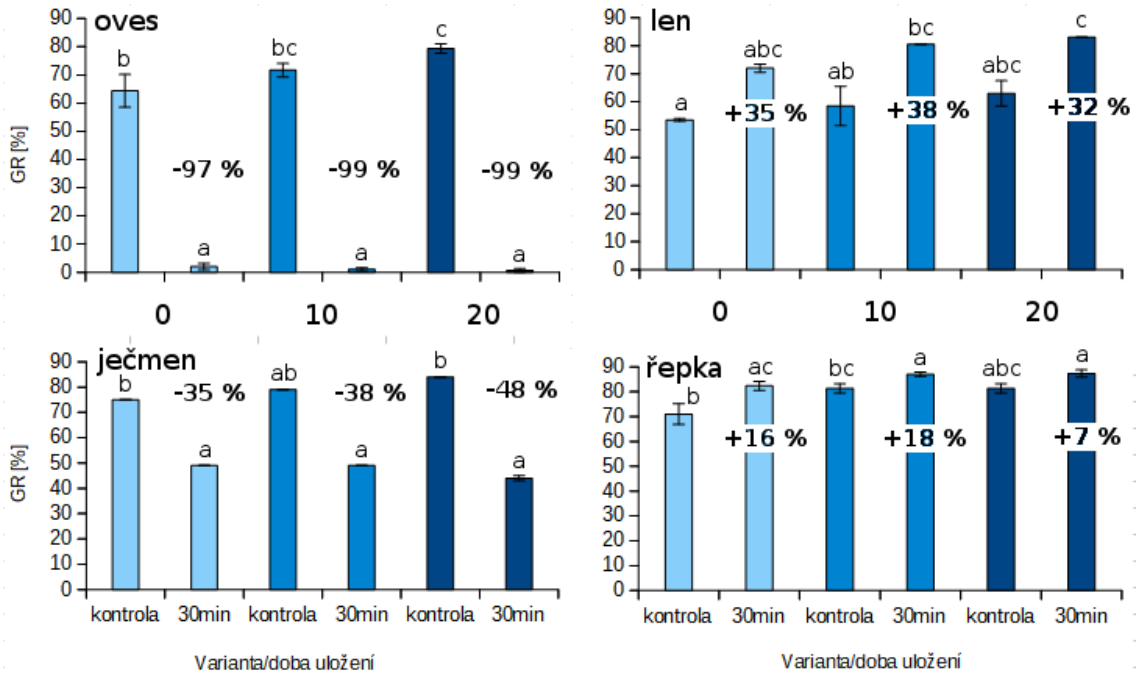
Plodina	Latinské jméno, varieta/odrůda/kultivar/	Čeleď
Oves	*Avena sativa*,Ulan‘	*Poaceae*
Ječmen	*Hordeum vulgare*,Kompolti 4‘	*Poaceae*
Len	*Linum usitattisimum*,Nsl.c.547‘	*Linaceae*
Řepka	*Brassica napus*,MAH-2‘	*Brassicaceae*

Z obou variant bylo odebráno 30 ks semen ve 3 opakováních. Vzorky byly v Petriho misek z obou stran zakryta filtračním papírem (Roy et al., 2018), dále ovlhčena destilovanou H_2O (Iranbakhsh et al., 2017) a kultivovány v klimatizované komoře Sanyo Incubator MIR 252 (Sanyo Electric Co., Ltd., Japonsko) při teplotě 20 °C (Li et al., 2017), za tmy (Don, 2009).
Semena byla považována za vyklíčená, když délka kořínku činila polovinu podélného průměru semene (Jiafeng et al., 2014). Počet vyklíčených semen byl zaznamenáván každých 24 h (Roy et al., 2018).

Pro hodnocení klíčivosti byla vybrána charakteristika Rychlost klíčení (GR), která je definována vztahem GR [%] = (Nx/Nts)x100, kde Nx je počet semen vyklíčených v x dnech a Nts je celkový počet vysetých semen (Roy et al., 2018). Měření probíhalo v každém termínu kontroly klíčivosti standardizovaným měřidlem (Logarex). Jako doplňková charakteristika byl zvolen výskyt děložních listů.
Vliv plazmatického ošetření semen je očekáván také u dalšího vývoje semene a mladých rostlin. Proto byla jako parametr hodnocení vývoje mladých rostlin zvolena délka (rychlost vývoje) kořenů (RL) a klíčků /SL) (Magureanu et al., 2018).
Statistické vyhodnocení bylo provedeno v SW Statistica 7.0 CZ. Vliv nízkoteplotní vakuové plazmy na vzorky osiv byl testován analýzou rozptylu (ANOVA), statisticky významné rozdíly byly verifikovány post hoc Tukey HSD testem na hladině významnosti $p \leq 0,05$.

Výsledky

Výsledky experimentu ukazují, že doba uložení 10 a 20 let měla příznivý vliv na klíčivost semen u všech sledovaných druhů (obr. 2). Nejvýrazněji byla klíčovost ovlivněna u vzorku lnu po 20 letech uskladnění, kde vzrostla klíčivost o 10 %. Dále výrazný pozitivní vliv 20 letého skladování v podmínkách -18°C na klíčivost byl zaznamenán u semen ječmene setého, kde došlo k nárůstu klíčivosti semen o 9 %. U semen řepky seté byl nárůst podobný jak po 10 letech, tak i 20 letech skladování a to o 3 % a o 10 %. Naopak spíše negativní vliv mělo na klíčivost aplikaci LTP, kde ve srovnání s neošetřenou variantou (kontrola) u vzorku ovsa došlo k jejímu výraznému poklesu (až o 99 %), u ječmene byl pokles mírnější (35 % až 47 %). Opačná situace, byla u semen řepky, kde po ošetření LTP došlo k nárůstu klíčivosti, jak u semen po desetiletém, tak i dvacetiletém skladování (o 18 % a 7 %). Podobně tomu bylo i u semen lnu, kde aplikaci LTP přispělo k nárůstu klíčivosti o 38 % a 32 %.
Vliv doby uložení na délku kořenů (tab. 2) byl patrný u lnu, délka kořenů naklíčených rostlin po 20 letech uložení byla v průměru o 1 % delší než u naklíčených semen kontrolní varianty. U materiálů ovsa setého byl zaznamenán přírůstek kořenů o 11 % vyšší u 10 let skladovaných vzorků, resp. 3 % u 20 let uložení v porovnání s kontrolou. Po aplikaci LTP došlo v některých případech k průkaznému nárůstu kořenů např. u 20 let uložených semen řepky seté (o 7 %), ale také ke snížení tvorby kořenů u vzorku ječmene (o 14 % a 32 % u 10 a 20 let uložených semen) ve srovnání s kontrolou.
Podobné výsledky byly získány také u délky klíčků (tab. 2). U všech testovaných vzorků došlo k průkaznému navýšení přírůstků po 10 a 20 letech uložení v GB ve srovnání se semeny uloženými v současnosti. Doba uskladnění měla převážně velmi příznivý vliv na růst klíčků semenáčů u všech testovaných druhů. Oproti tomu délka klíčků byla negativně ovlivněna aplikací LTP a to u všech hodnocených materiálů (tab. 2).



Obr. 2. Příklad rozdílů vlivu doby uložení a ošetření semen LTP na klíčivost 4 genotypů zemědělských plodin

Cluster stejnobarevných sloupců charakterizuje dvojici variant (kontrola a ošetřená varianta LTP) v jednom časovém období (0 – čerstvě uložená semena, 10/20 – doba v letech uložení semen v GB). Písmena nad sloupci představují statisticky významné rozdíly na hladině významnosti $p \leq 0{,}05$. Údaje v procentech v místě sloupců ošetřené varianty (LTP) definují nárůst/pokles klíčivosti vztaženým ke kontrole.

U hodnocených materiálů byl zaznamenán příznivý vliv skladování na rozvoj děložních listů, výjimku představoval vzorek ovsa, u jehož semen se děložní listy vyvíjely nejhůře. Naopak velmi dobře reagovala semena řepky seté, když se první děložní listy objevily již 3. den po výsevu a lnu u nějž byl zaznamenán výskyt 5. den. Po ošetření těchto materiálů LTP byla reakce u ovsa a ječmene na růst děložních listů negativní. Semena řepky a lnu naopak reagovala po aplikaci LTP intenzivnějším vývojem děložních listů, i když první listy se objevily stejně jako u neošetřené varianty.

Diskuze

Práce testovala vliv dlouhodobého uskladnění semen a nízkoteplotní plazmy za nízkého tlaku (LTP) na klíčivost semen, následný vývoj klíčenců a výskyt infekcí. Záměrem bylo nalezení vhodné metodiky na prodloužení bezzásahového režimu uskladněných semenných vzorků genetických zdrojů rostlin a snížení fytopatogenní zátěže.

Experiment ukázal, že doba uskladnění osiva měla pozitivní vliv na klíčivost u všech sledovaných vzorků. Solberg et al. (2020) popisuje situaci vybraných vzorků osiv uložených v permafrostu, kdy se po dobu 30 let skladování klíčivost příliš neměnila a zůstávala kolem 92 %. V našem experimentu došlo k navýšení klíčivosti u všech vzorků uložených 10 i 20 let oproti vzorkům uloženým v současnosti. O změnách klíčivosti během skladování v genové bance informují také Ellis et al. (2018), když osivo z jimi testovaných semen vykázaly pokles nebo nárůst klíčivosti v závislosti na rodu a druhu rostlin.

V našem experimentu došlo u neošetřených vzorků k navýšení klíčivosti u všech sledovaných plodin, statisticky průkazně u řepky a to v obou odběrech (10 a 20 let), zatímco práce Ellis et al. (2018) popisují navýšení klíčivosti pouze u jednoho vzorku.

Tab. 2. Vyhodnocení vlivu uskladnění a ošetření semen LTP na délku kořenů a klíčků a vývoj děložních listů

	Vliv dlouhodobého uskladnění (roky)			Vliv ošetření LTP					
					Nárůst / pokles*		Nárůst / pokles*		Nárůst / pokles*
Plodina	0	10	20	0	[%]	10	[%]	20	[%]
Délka kořenů [mm]									
Avena sativa ´Ulan'	38,50±2,25^{a}	42,76±2,25^{a}	39,56±2,19^{a}	8,50±5,50^{a}	-78	32,00±14,42^{a}	-25	32,50±14,50^{a}	-23
Hordeum vulgare ´Kompolti 4'	46,74±4,17^{c}	35,80±3,48^{abc}	37,65±2,21^{bc}	33,80±4,30^{abc}	-28	30,22±3,67^{abc}	-14	25,73±1,99^{c}	-32
Linum usitattisimum ´Nsl.c.547'	19,57±1,6,3^{a}	27,73±1,50^{b}	20,55±1,52^{a}	15,46±1,36^{a}	-21	22,63±1,45^{ab}	-18	20,82±1,37^{a}	1
Brassica napus ´MAH-2'	38,34±2,49^{a}	40,49±2,42^{a}	35,57±2,23^{ab}	28,02±2,27^{b}	-27	34,84±1,95^{ab}	-14	37,96±2,23^{a}	7
Délka klíčků [mm]									
Avena sativa ´Ulan'	29,66±0,97^{b}	40,57±2,29^{a}	45,38±2,44^{a}	9,67±2,40^{ab}	-68	25,00±2,40^{ab}	-68	33,00±0,00^{ab}	-27
Hordeum vulgare ´Kompolti 4'	48,28±4,52^{ab}	67,10±19,08^{b}	48,81±3,07^{ab}	39,27±4,77^{ab}	-19	37,85±4,51^{ab}	-44	36,43±2,72^{a}	-25
Linum usitattisimum ´Nsl.c.547'	29,27±2,46^{b}	27,02±1,15^{b}	27,07±1,86^{ab}	19,05±2,21^{a}	-35	20,54±1,46^{a}	-24	22,28±1,51^{ab}	-18
Brassica napus ´MAH-2'	28,85±2,29^{b}	31,45±2,45^{b}	25,53±1,94^{b}	14,31±1,01^{b}	-50	15,72±0,85^{a}	-50	12,66±0,70^{a}	-50
Děložní listy [počet rostlin]									
Avena sativa ´Ulan'	22,33±3,76^{a}	25,33±1,22^{a}	26,33±0,67^{b}	0,00±0,00^{b}	-100	0,00±0,00^{b}	-100	0,33±0,33^{b}	-99
Hordeum vulgare ´Kompolti 4'	37,00±4,00^{d}	0,00±0,00^{b}	28,00±0,00^{c}	18,00±0,00^{a}	-51	16,00±0,00^{a}	300	12,67±0,67^{a}	-55
Linum usitattisimum ´Nsl.c.547'	3,00±0,00^{a}	15,50±0,50^{a}	14,00±1,00^{a}	10,00±0,00^{a}	233	24,50±4,50^{a}	58	27,50±6,50^{a}	96
Brassica napus ´MAH-2'	35,33±0,88^{a}	44,00±2,65^{ab}	50,33±4,26^{ab}	37,00±2,52^{a}	5	54,33±5,70^{b}	23	59,67±2,19^{b}	19

* v tabulce jsou uvedeny průměrné hodnoty±sm.chyba

** nárůst/pokles je vždy vztahován k nulové, neošetřené variantě.

Písmennými indexy jsou značeny statisticky významné rozdíly na hladině významnosti p≤0,05.

Např. Pérez-García et al. (2007) popisují uchování vysoké počáteční klíčivosti po dobu téměř 40 let za předpokladu, že jsou uskladňované vzorky dostatečně vysušeny. A to i v případě, že jsou uloženy i za vyšších teplot (např. -10 až -5 °C). Položky použité v našem experimentu byly vysušeny na 8 % (obiloviny) a 5 % (řepka, len) a uchovány při teplotě -18 °C, což odpovídá požadavkům, kladeným na uložené semenné vzorky v genových bankách. Gómez-Campo (2002) popisují, že osivo čeledi *Brassiceae* je obvykle krátkověké, nicméně výsledky našeho experimentu s neošetřenými vzorky LTP potvrzují výsledky studie autorů Pérez-García et al. (2007). U ječmene konstatují např. Nagel et al. (2009), že při dlouhodobém uskladnění vzorků osiva docházelo ke snížení klíčivosti o 7 % (19 let), resp. 24 % (34 let), zatímco v případě našeho experimentu došlo k mírnému zvýšení klíčivosti (doba uložení 20 let).

Ošetření semen LTP mělo vliv jak na klíčivost, tak i vývojové parametry klíčenců. Použitá doba plazmování měla pozitivní vliv na klíčivost vzorků lnu a řepky tak jak to popisuje práce Abedi et al. (2020), Li et al. (2017), ad. Výsledky pokusu u řepky jsou v souladu se zjištěním Li et al. (2018), kdy LTP měla pozitivní vliv na rychlost klíčení, vigor a uniformitu klíčenců, tak také absorpci vody semeny. Z výsledků na obr. 2 je patrné, že klíčivost plazmovaných vzorků se

dále zvýšila oproti neplazmované kontrole. Podle Šerá et al. (2009) by se mohlo jednat o narušení dormance uložených semen. Naopak pokles klíčivosti ječmene a ovsa jsou v příkrém rozporu s výsledky Li et al. (2017). Výsledky našeho experimentu ukazují pokles klíčivosti po ošetření LTP u ječmene o 38 % ve vzorku uloženého 10 let a téměř 99 % u ovsa ve všech odběrech. Tato skutečnost mohla být způsobena dlouhou dobou expozice, jak ji popisuje např. Świecimska et al. (2020), kdy oves téměř neklíčil. Molina et al. (2020) uvažují o poškození podpovrchových vrstev semenných obalů. V případě našeho experimentu se snížená klíčivost týkala vzorků pluchatých plodin (ječmen, oves). Sekundárně se na obilkách ovsa v průběhu experimentu počaly vyvíjet kolonie fytopatogenních organismů (nejčastěji z řádu *Mucorales*).
Jak popisují Abedi et al. (2020), ošetření LTP synergicky zvýšilo včasný růst jak kořenů, tak i klíčků čekanky (*Cichorium intybus* L.). V našem experimentu k podobnému jevu došlo pouze u kořenů řepky (o 7 % u 20 let uložených semen) a lnu (o 1 % u 20 let uložených). Ostatní vzorky osiv reagovaly snížením přírůstků (ječmen, oves) jak kořenů, tak ve všech případech i klíčků.
Experiment sledoval také vliv LTP na vývoj děložních listů. Matra (2017) tvrdí, že děložní listy klíčních rostlin slunečnice (*Helianthus annuus* L.) se po ošetření LTP počaly tvořit 5. den po výsevu. Děložní listy se v našem experimentu počali vyvíjet již 3. den od výsevu u řepky, v následujících dnech u zbývajících plodin (4 den u ječmene a 7. den u ovsa). Tamošiūnė et al. (2020) popisují změny vývoje děložních listů v závislosti na délce expozice LTP. Při delší nebo naopak velmi krátké expozici byl vliv na růst a vývoj děložních i pravých listů neprůkazný. Náš experiment průkazně prokázal podobně pozitivní vliv na rychlost vývoje děložních listů u řepky ve všech odběrech (0, 10 i 20 let), neprůkazně pro len. Naopak oproti výsledkům zmíněných autorů v našem experimentu byl vývoj děložních listů po ošetření LTP omezen u ječmene a ovsa.

Dedikace
Tato studie vznikla za podpory Ministerstva zemědělství ČR projektem č. RO0418 a Národním programem pro uchování a využití genetické diverzity rostlin a agrodiverzity č. 6.2.5/51834/2017-MZE-17253 a GAJU027/2019/Z.

Použitá literatura
Abedi S., Iranbakhsh A., Ardebili Z.O. Ebadi M. (2020). Seed priming with cold plasma improved early growth, flowering, and protection of Cichorium intybus against selenium nanoparticle. Journal of Theroetical and Applied Physics 14, 2. p.113-119.

Butscher D., Loon H. van, Waskow A., Rohr P. R. von, Schuppler M. 2016. Plasma inactivation of microorganisms on sprout seeds in a dielectric barrier discharge. International Journal of Food Microbiology 238, p. 222–232.

Dobrin D., Magureanu M., Mandache N. B., Ionita M-D. 2015. The effect of non-thermal plasma treatment on wheat germination and early growth. Innovative Food Science and Emerging Technologies 29. p. 255–260.

Don R. 2009. ISTA Handbook on Seedling Evaluation. 3ed ISTA, Bassersdorf. 131 p.

Ellis R.H., Nasehzadeh M., Hanson J., Woldemariam Y. (2018): Medium-term seed storage of 50 genera of forage legumes and evidence-based genebank monitoring intervals. Genetic Resources and Crop Evolution 65, p. 607-623.

Foster J.E. 2017. Plasma-based water purification: challenges and prospects for the future. Physics of Plasmas 24: 055501.

Gómez-Campo, C. 2002. Long term seed preservation: the risk of using inadequate containers is very high. Monographs ETSIA, Universidad Politécnica de Madrid, 163, p. 1-10.

Iranbakhsh A., Ghoranneviss M., Oraghi Ardebili Z., Oraghi Ardebili N., Hesami Tackallou S., Nikmaram A. 2017. Non-thermal plasma modified growth and physiology in Triticum aestivum via generated signaling molecules and UV radiation. Biologia Plantarum iss. 4, p. 702-708.

Jiafeng J., Xin H., Ling L., Jiangang L., Hanliang S., Qilai X., Renhong Y., Yuanhua D. 2014. Effect of Cold Plasma Treatment on Seed Germination and Growth of Wheat. Plasma science and technology iss. 1, p. 54-58.

Khamsen N., Onwimol D., Teerakawanich N., Dechanupaprittha S., Kanokbannakorn W., Hongesombut K., Srisonphan S. 2016. Rice (*Oryza sativa* L.) Seed Sterilization and Germination Enhancement via Atmospheric Hybrid Nonthermal Discharge Plasma. ACS Applied Materials & Interfaces, iss 30, p.19268–19275.

Kolb J.F., Mohamed A.-A.H., Price R.O., Swanson R.J., Bowman A., Chiavarini R.L., Stacey M., Schoenbach K.H. 2008. Cold atmospheric pressure air plasma jet for medical applications. Applied Physics Letters 92, 241501.

Li L., Li J., Shao H., Dong Y. 2018. Effects of low-vacuum helium cold plasma treatment on seed germination, plant growth and yield of oilseed rape. Plasma Science and Technology iss. 9, p. 1-7.

Li Y., Wang T., Meng Y., Qu G., Sun Q., Liang D., Hu S. 2017. Air Atmospheric Dielectric Barrier Discharge Plasma Induced Germination and Growth Enhancement of Wheat Seed. Plasma Chemistry and Plasma Processing iss 37, p, 1621-1634.

Ling L., Jiangang L., Minchong S.,Chunlei Z., Yuanhua D. 2015. Cold plasma treatment enhances oilseed rape seed germination under drought stress. Scientific Reports iss. 5, 13033.

Măgureanu M., Sirbu R., Dobrin D., Gidea M. 2018. Stimulation of the Germination and Early Growth of Tomato Seeds by Non-termal Plasma. Plasma Chemistry and Plasma Proceedings iss. 38, p. 989-1001.

Matra K. 2018. Atmospheric non-thermal argon–oxygen plasma for sunflower seedling growth improvement. Japanese Journal of Applied Physics 57. 01AG03.

Nagel M., Vogel H., Landjeva S., Buck-Sorlin G., Lohwasser U., Scholz U., Börner A. 2009. Seed conservation in ex situ genebanks—genetic studies on longevity in barley. Euphytica, iss.1-2, p. 5–14.

Nie Q.-Y., Ren C.-S., Wang D.-Z., Zhang J.-L. 2008. A simple cold Ar plasma jet generated with a floating electrode at atmospheric pressure. Applied Physics Letters, iss. 93, 011503.

Pazderů K. 2009. Testování vitality osiv jako řešení zlepšení odolnosti porostů vůči suchu. In: ČZU. Osivo a sadba, XIV. národní odborný a vědecký seminář. ČZU

Penado K.N.M., Mahinay C.L.S., Culaba I.B. 2017. Effect of atmospheric plasma treatment on seed germination of rice (Oryza sativa L.). Japanese Journal of Applied Physics, iss. 57, 01AG08.

Pérez-García F., González-Benito M.E., Goméz-Campo C. 2007. High viability recorded in ultra-dry seeds of 37 species of Brassicaceae after almost 40 years of storage. Seed Science & Technology, iss. 35, p. 143-153.

Roy N.C., Hasan M.M., Talukder M.R., Hossain M.D., Chowdhury A.N. 2018. Prospective Applications of Low Frequency Glow Discharge Plasmas on Enhanced Germination, Growth and Yield of Wheat. Plasma Chemistry and Plasma Processing iss. 1, p. 13-28.

Shashurin A., Keidar M., Bronnikov S., Jurjus R., Stepp M. 2008. Living tissue under treatment of cold plasma atmospheric jet. Applied Physics Letters, iss. 93, 181501.

Solberg S.Ø., Brodal G., von Bothmer R., Meen E., Yndgaard F., Andreasen Ch., Asdal Å. 2020. Seed Germination after 30 Years Storage in Permafrost. Plants, iss. 9, p. 1-9.

Stolárik T., Henselová M., Martinka M., Novák O., Zahoranová A., Černák M. 2015. Effect of low-temperature plasma on the structure of seeds, growth and metabolism of endogenous phytohormones in pea (*Pisum sativum* L.). Plasma Chemistry and Plasma Processing, iss. 35, p. 659-676.

Striūgas N., Valinčius V., Pedišius N., Poškas R., Zakarauskas K. 2017. Investigation of sewage sludge treatment using air plasma assisted gasification. Waste Management, iss. 64, p. 149-160.

Świecimska M., Tulik M., Šerá B., Golińska P., Tomeková J., Medvecká V., Bujdáková H., Oszako T., Zahoranová A., Šerý M. 2020. Non-Thermal Plasma Can Be Used in Disinfection of Scots Pine (Pinus sylvestris L.) Seeds Infected with Fusarium oxysporum. Forests, iss. 11, p. 837.

Šerá B., Šerý M., Štraňák V., Špatenka P. 2009. Does Cold Plasma Affect Breaking Dormancy and Seed Germination? A Study of Seeds of Lamb's Quarters (*Chenopodium album* agg.). Plasma Science and Technology, iss. 6, p.750-754.

Tamošiūnė I., Gelvonauskiene D., Haimi P., Mildaziene V., Koga K., Shiratani M., Baniulis D. 2020. Cold Plasma Treatment of Sunflower Seeds Modulates Plant-Associated Microbiome and Stimulates Root and Lateral Organ Growth. Frontiers in Plant Science iss. 11, 568924.

Tanakaran Y., Matra K. 2021. The Influence of Atmospheric Non-thermal Plasma on Jasmine Rice Seed Enhancements. Journal of Plant Growth Regulation, p.1-10.

Zhou R., Zhou R., Zhang X., Zhuang J., Yang S., Bazaka K., Ostrikov K.K. 2016. Effects of atmospheric-pressure N 2, He, air, and O 2 microplasmas on mung bean seed germination and seedling growth. Scientific Reports, iss. 6, 32603.

Kontaktní adresa:
Ing. Martin Matějovič
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507/73
Praha 6 – Ruzyně
161 06
matejovi@vurv.cz

Diagnostika výživného stavu pšenice ozimé pomocí družicových dat sentinel–2 a senzorového systému OptRx

Diagnosis of the nutritional status of winter wheat using the Sentinel–2 satellite data and the OptRx sensor system

Mezera J., Lukas V., Elbl J., Horniaček I., Neudert L., Smutný V.

Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Cílem této studie byla diagnostika výživného stavu a porovnání pozemního a dálkového snímání porostu pšenice ozimé pro variabilní aplikaci dusíkatých hnojiv. Data byla získána z odběrů rostlin, z online senzorového systému AgLeader OptRx a sadou vegetačních indexů ze satelitních snímků družice Sentinel–2 na vybraných pozemcích s pšenicí ozimou v lokalitě Rašovice během roku 2020. Byly nalezeny vysoké korelace mezi Nupt a množstvím biomasy, dále mezi Nupt a všemi vegetačními indexy, přičemž nejvyšší hodnoty korelace s indexy z družice Sentinel–2 bylo dosaženo pro index EVI (r = 0.888) a pro index NDRE online senzoru OptRx (r = 0.830).

Klíčová slova: precizní zemědělství, diagnostika rostlin, mapování porostů, dálkový průzkum, vegetační indexy

Abstract

The aim of this study was to diagnose nutritional status and compare ground and remote sensing of winter wheat for variable application of nitrogen fertilizers. Data were obtained from plant samples, from the online sensor system AgLeader OptRx and a set of vegetation indices from satellite images of the Sentinel–2 satellite on selected fields with winter wheat in Rašovice in 2020. High correlations were found between Nupt and biomass, Nupt and all vegetation indices, the highest value of correlation with the indices from the Sentinel–2 satellite was achieved for the EVI index (r = 0.888) and for the NDRE index of the OptRx online sensor (r = 0.830).

Key words: precision agriculture, plant diagnosis, crop sensing, remote sensing, vegetation indices

Úvod

Jedním ze základních faktorů tvorby výnosů plodin je hnojení dusíkem (Elbl et al. 2021). Hodnocení stavu porostů a biofyzikálních parametrů plodin je důležitou informací při pracovních operacích v agronomii, zejména při aplikaci dusíkatých hnojiv. Vyšší dávka dusíkatého hnojení obecně zvyšuje výnos pšenice, počet odnoží a kvalitu zrna (Vizzari et al. 2019). Aplikace dusíkatých hnojiv na orné půdě má velký význam jak z environmentálního, tak z ekonomického hlediska, zejména v podmínkách vyšší prostorové variability zemědělských pozemků s očekávanými rozdíly v příjmu dusíku rostlinami (Sutton 2011). Pro tyto účely by mohla být řešením variabilní aplikace dusíkatých hnojiv na základě prostorové variability a identifikace zón pozemku, která řeší specifické změny vlastností půdy a požadavky plodiny dle daného místa (Diacono et al 2013; Shanahan et al 2008).

V dnešní době je aplikace variabilních dávek dusíku založena na snímání plodin pomocí pozemního snímání během jízdu (tzv. on-the-go senzory) (Heege et al. 2008) nebo dálkovým snímáním (Hansen a Schjoerrring 2003). Dvě družice Sentinel–2 (A/B) pravidelně poskytují

multispektrální snímky povrchu Země a tyto data jsou dostupná zdarma. Sentinel–2 je vybaven multispektrálním senzorem, který umožňuje vypočítat vegetační indexy pro hodnocení vegetačního stavu a obsahu chlorofylu v rostlinách (Adan et al. 2017). Snímky z družice Sentinel–2 jsou v oblasti střední Evropy pořizovány každé 3 až 4 dny (Söderström et al. 2016). Senzory on-the-go jsou namontovány na přídi stroje (traktoru) a využívají informace o odrazivosti viditelného a blízkého infračerveného spektra souvisejícího s parametry plodin, jako je LAI, obsah chlorofylu, nadzemní biomasa plodin a další.

Cílem studie bylo ověřit použití satelitních snímků a online senzoru plodin pro odhad výživného stavu porostů ozimé pšenice, jako je množství nadzemní biomasy, obsah dusíku a odběr dusíku. Jednalo se o online senzorový systém AgLeader OptRx a multispektrální data z družice Sentinel–2.

Materiál a Metody

Data byla získána ze dvou vybraných pozemků s pšenicí ozimou v lokalitě Rašovice během roku 2020. Celková plocha pozemků byla 40 ha, přehled polního pokusu je uveden v Tabulce 1.

Tabulka 6: Popis experimentu

Termín vzorkování	Termín snímku	Plocha [ha]	Nadmořská výška [m n m.]	Sklonitost [°]	Okres	Souřadnice
28.04.2020	25.04.2020	40	277–323	3.37–4.13	Vyškov	49.120N, 16.948E

Odběr vzorků rostlin

Terénní průzkum se skládá z odběru vzorků rostlin ve vegetační fázi stonkování (BBCH 32–35) a laboratorní analýzy rostlinného materiálu. Celkem bylo odebráno 21 rostlinných vzorků ze čtverců 0,5 x 0,5 m (0,25 m^2) na každém vzorkovacím místě lokalizovaném pomocí DGPS (Differential Global Positioning System) v nepravidelné vzorkovací síti. Vzorky rostlin byly v laboratoři analyzovány na odhad obsahu dusíku v rostlinách [%] a celkového množství nadzemní suché biomasy [t/ha]. Odběr dusíku (Nupt, [kg/ha]) byl vypočítán z těchto dvou parametrů vynásobením koncentrace dusíku suchou biomasou (Mezera et al. 2020).

Pozemní snímání pomocí systému AgLeader OptRx

Současně se vzorkováním rostlin byla během aplikace dusíku zaznamenávána data z online systému AgLeader OptRx (Obrázek 14). Výživný stav rostlin je hodnocen na základě spektrálního měření porostu pomocí aktivních LED diod v blízké infračervené, červené a red-edge oblasti spektra. V případě tohoto senzorového systému se pro odhad výživného stavu rostlin využívá vegetační index NDRE (Normalized Difference Red Edge Index).

Záznamy vegetačního indexu byly staženy z palubního terminálu OptRx a zpracovány pomocí nástrojů v programu ArcMap 10.6.1 (ESRI. Redlands. USA). Statistické hodnocení bylo provedeno v programu Statistica 12 (Tibco, USA).

Obrázek 14: Mapování porostu a aplikace dusíkatých hnojiv pomocí systému AgLeader OptRx

Dálkový průzkum pomocí družice Sentinel–2

Snímky z družice Sentinel–2 byly vybrány tak, aby byly bez oblačnosti a blízké termínu odběru vzorků rostlin a snímání senzorovým systémem OptRx. Datové sady byly staženy z otevřené databáze ESA open hub (Copernicus 2020), filtrovány maskou oblačnosti L2A s klasifikací scén. Pro vybraný termín snímku bylo z multispektrálních pásem vypočítáno 9 vegetačních indexů (viz. Tabulka 2).

Tabulka 7: Vegetační indexy z družice Sentinel–2 (Sentinel Hub 2021, Klem et al. 2014)

EVI	Enhanced Vegetation Index
GNDVI	Green Normalized Difference Vegetation Index
IRECI	Inverted Red Edge Chlorophyll 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

Mapování výnosů zrna

Údaje o výnosu zrna pšenice ozimé byly zaznamenány během sklizně 2020 pomocí výnosových čidel na sklízecích mlátičkách. Každá sklízecí mlátička byla vybavena DGPS, senzory toku zrna a vlhkosti. Výsledk**em** byla bodové data s údaji o poloze, vlhkosti zrna, mokrým a suchým výnosem a dalšími parametry. Data byla zpracována v ArcGIS, odlehlé a chybové hodnoty byly filtrovány a poté následovala prostorová interpolace metodou kriging k vyhlazení rozdílů.

Všechny výsledky ve formě geodat byly zpracovány a vizualizovány v ArcMap 10.6.1 (ESRI, Redlands, USA) v souřadnicovém systému WGS 1984. Pro každé místo vzorkování byla hodnota pixelu vegetačních indexů **Sentinel–2** získána překryvnou analýzou. Data byla poté exportována do aplikace Microsoft Excel (Microsoft Corporation, Redmond, USA) a následně do Statistica 12 (Tibco, USA) pro korelační a regresní analýzu.

Výsledky a diskuse

Základní statistické charakteristiky výsledků laboratorních analýz vzorků rostlin odebraných ve vegetační fázi (BBCH 32; stonkování) jsou uvedeny v Tabulce 3. Vyšší variační koeficient značí vysokou variabilitu pozemků mezi jednotlivými body vzorkování. Nejnižšího variačního

koeficientu bylo dosaženo pro výnos (6,73 %), zatímco nejvyššího variačního koeficientu bylo dosaženo pro příjem dusíku Nupt (29,67 %) s rozsahem téměř 194 kg/ha.

Tabulka 8: Popisné statistiky výsledků

	Průměr	Medián	Min	Max	Rozsah	Rozptyl	Směr. odch.	Var. koef [%]
N [%]	2,45	2,53	2,02	3,01	0,99	0,08	0,29	11,69
Biomasa [t/ha]	7,53	7,59	3,79	10,44	6,64	3,34	1,83	24,24
Nupt [kg/ha]	186,58	200,48	81,97	275,52	193,55	3065,51	55,37	29,67
Výnos [t/ha]	9,62	9,71	7,95	10,51	2,56	0,42	0,65	6,73
OptRx NDRE	0,37	0,39	0,23	0,44	0,21	0,00	0,05	14,02

Legenda: Min – minimum; Max – maximum; Směr. odch. – směrodatná odchylka; Var. koef – variační koeficient; N – obsah dusíku; Nupt – odběr dusíku

Vztahy mezi parametry porostu pšenice ozimé, vegetačními indexy z družice Sentinel–2 a indexem NDRE senzoru OptRx byly hodnoceny pomocí Spearmanova korelačního koeficientu (Tabulka 4). Pozornost byla věnována citlivosti jednotlivých vegetačních indexů na parametry porostu, zejména na odběr dusíku (Nupt) jako hlavního indikátoru výživného stavu rostlin. Vysoký korelační koeficient mezi Nupt a biomasou prokázal velký vliv množství biomasy na potřebu dusíku (Lemaire et al. 2008). Při hodnocení vztahu mezi vegetačními indexy, biomasou a Nupt jsou všechny vypočítané korelační koeficienty statisticky významné na hladině významnosti 95 %. U všech indexů bylo dosaženo korelace vyšší než 0,8, s výjimkou indexu REIP (r = 0,679). Nejvyšších hodnot korelačního koeficientu bylo dosaženo pro vegetační indexy EVI, CIRE a NDRE. Také index NDRE z pozemního senzoru OptRx vykazoval vysokou korelaci s Nupt a biomasou s hodnotou korelačního koeficientu na úrovni r = 0,830 pro obě proměnné. Obě technologie snímání, pozemní i dálkové, prokázaly v případě indexu NDRE vysokou korelační hodnotu r = 0,942, což ukazuje, že výběr pozemního nebo dálkového snímání závisí především na jejich provozních aspektech, nikoli na spektrální citlivosti na parametry porostu. Korelační koeficient 0,844 mezi výnosem pšenice a biomasou ukazuje na význam množství biomasy plodiny pro tvorbu výnosu a možnost predikovat výnos již během vegetace. Hodnocení citlivosti vegetačních indexů na sledované parametry plodin prokázalo také vysoký efekt biomasy na Nupt. Mapové výsledky NDRE indexu pro obě snímací technologie jsou uvedeny na Obrázku 2.

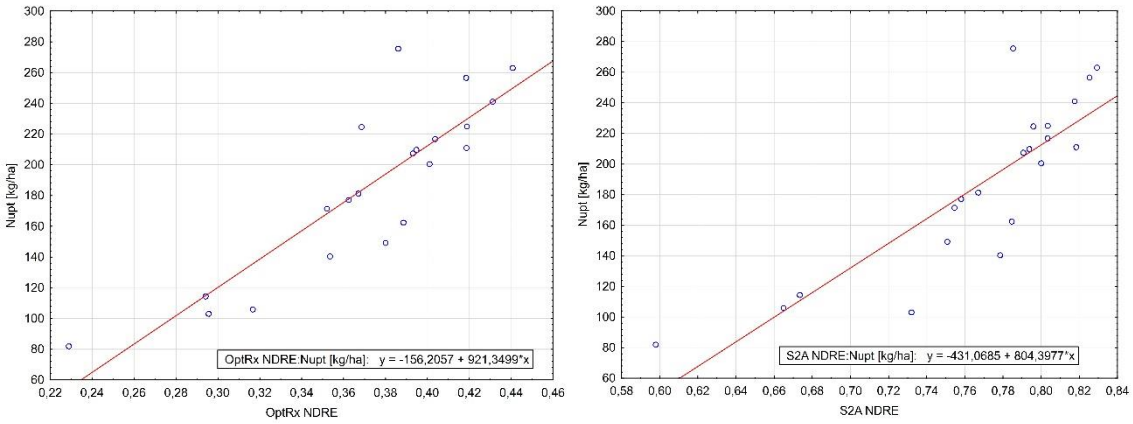
Tabulka 9: Korelační koeficienty mezi parametry porostu a vegetačními indexy.

Červené hodnoty jsou statisticky významné na hladině významnosti 95 %

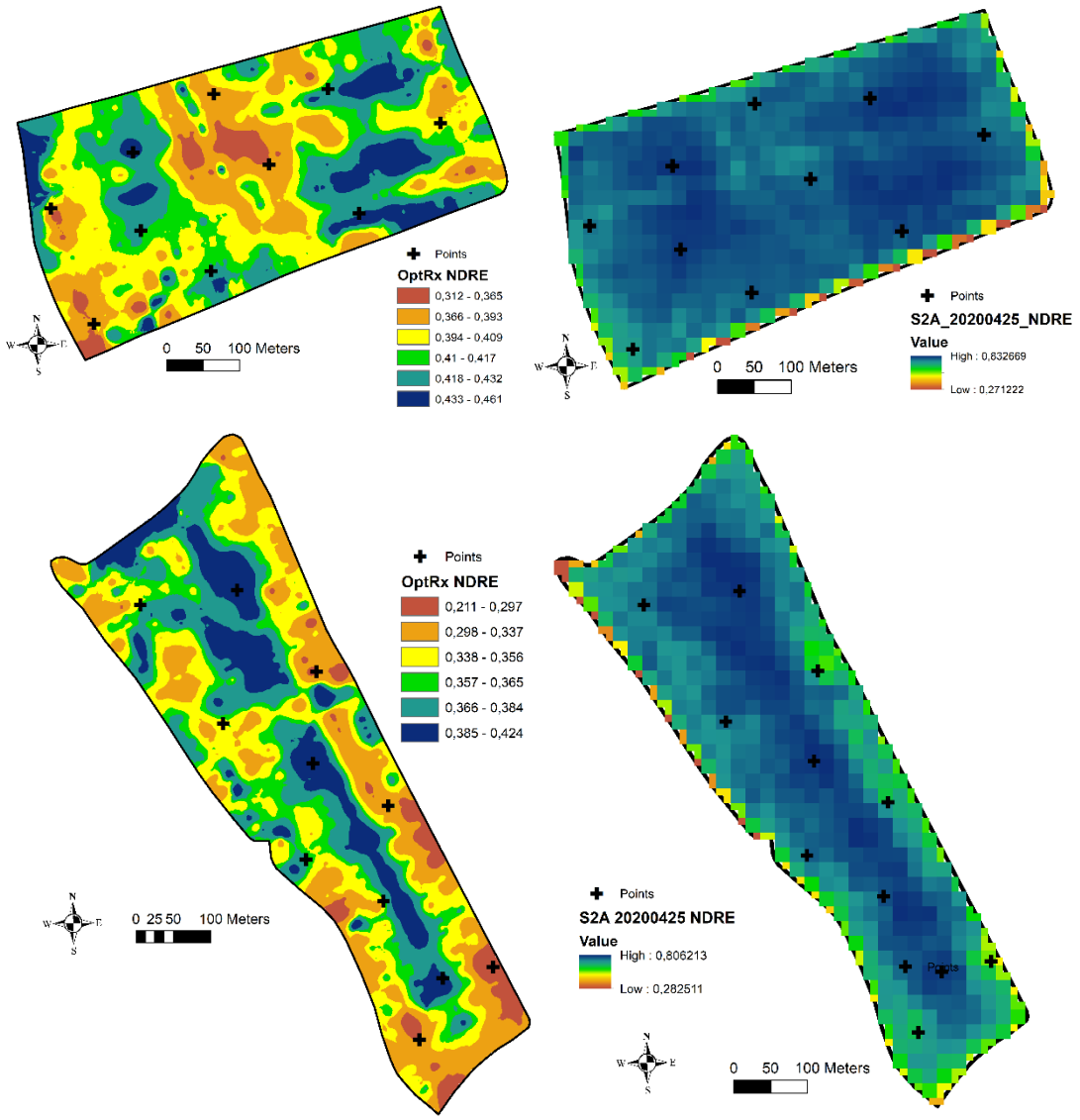
	Nupt	OptRx NDRE	EVI	GNDVI	IRECI	NDMI	NDRE	NDVI	NRERI	REIP	RENDVI	Výnos
N	0,662	0,558	0,537	0,605	0,488	0,521	0,542	0,609	0,594	0,440	0,581	0,415
Biomasa	0,919	0,825	0,894	0,812	0,865	0,868	0,869	0,804	0,821	0,696	0,803	0,844
Nupt	1,000	0,830	0,888	0,858	0,858	0,861	0,875	0,830	0,845	0,679	0,826	0,823
OptRx NDRE	0,830	1,000	0,918	0,917	0,926	0,957	0,942	0,923	0,938	0,834	0,921	0,703

Bodové grafy na obrázku 2 ukazují podrobnější výsledky analýzy vztahu mezi vegetačním indexem NDRE a Nupt. Pro index NDRE měly téměř všechny body lineární rozdělení, takže lze použít univerzální regresní rovnici. U indexu NDRE se nevyskytuje žádný účinek nasycení, který je běžný pro vegetační index NDVI. Jak uvádí Li et al. (2008), vztah mezi vegetačními indexy a parametry porostu se během vegetačního období mění, což se projevuje nižší citlivostí

vegetačních indexů při vyšším indexu listové plochy (LAI). Toto je známé jako saturační účinek NDVI a je to typické chování hodnot NDVI při vyšším LAI vegetace.



Obrázek 15: Bodové grafy Nupt a vegetačního indexu NDRE z pozemního senzoru OptRx (vlevo) a z družice Sentinel–2 (vpravo)



Obrázek 16 Vegetační index NDRE zkoumaných pozemků ze senzoru OptRx (vlevo) a z družice Sentinel–2 (vpravo); černé křížky značí odběrová místa vzorků rostlin

Závěr

V této studii bylo ověřeno využití satelitních snímků z družice Sentinel-2 a online senzoru pro diagnostiku výživného stavu pšenice ozimé a byly porovnány vegetační indexy obou metod snímání. Mezi vegetačními indexy a Nupt bylo dosaženo korelace vyšší než 0,8 pro všechny indexy, kromě indexu REIP, pro který byla dosažena hodnota r = 0,679. Nejvyšší hodnoty korelačního koeficientu byly vypočteny pro vegetační index EVI, CIRE a NDRE. Podobně bylo dosaženo vysoké korelační hodnoty také pro index NDRE online senzoru OptRx mezi Nupt a biomasou. Obě technologie snímání, pozemní i dálkové, prokázaly v případě indexu NDRE vysokou korelační hodnotu r = 0,942, což ukazuje, že z hlediska spektrálních vlastností jsou tyto metody srovnatelné. Korelační koeficient r = 0,844 mezi výnosem zrna a biomasou naznačuje možnost predikce výnosu již během vegetace. Na základě dosažených výsledků je možné použít obě tyto snímací techniky pro celoplošné mapování stavu porostu plodin sloužících jako vstupní informace pro variabilní aplikaci dusíkatých hnojiv. Výhodou online

senzorového systému OptRx je nezávislost na okolních světelných podmínkách. Dostupnost a následná kvalita zachycených snímků z družice Sentinel–2 závisí na přítomnosti oblačnosti ve scéně a je tak riziko, že snímek nebude v požadovaném termínu k dispozici z důvodu oblačnosti ve scéně.

Dedikace

Tato studie byla podpořena Interní grantovou agenturou Agronomické fakulty Mendelovy univerzity v Brně jako výzkumný projekt AF-IGA2021-IP073 „Vyhodnocení postupů tvorby aplikačních map a strategie variabilního přihnojování porostů obilnin dusíkatými hnojivy“. Experimentální část studie byla realizována podporou výzkumného projektu TACR TH04010494 „Výzkum a vývoj technologií smart farming pro malé a střední zemědělské podniky“.

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. et al. 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. et al. 2011. Evaluation of Sentinel–2 red-edge bands for empirical estimation of green LAI and chlorophyll content. Senzors, 11(7): 7063–7081.

Heege, H.J. et al. 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. et al. 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. et al. 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. et al. 2003. Remote sensing applications for precision agriculture: A learning community approach. Remote Sensing of Environment, 88: 157–169.

Sentinel Hub. 2021. Sentinel 2 EO products [Online]. Ljubljana: Laboratory for geographical information systems, Ltd. Available at: https://www.sentinel-hub.com/develop/documentation/eo_products/Sentinel2EOproducts [2021-08-25].

Sonobe, R. et al. 2018. Crop classification from Sentinel–2-derived vegetation indices using ensemble learning. Journal of Applied Remote Sensing, 12(02).

Vizzari, M. et al. 2019. Sentinel 2-Based Nitrogen VRT Fertilization in Wheat: Comparison between Traditional and Simple Precision Practices. Agronomy, 9(6): 278.

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

Identifikace přírodních látek z pylu vhodných pro zlepšení detoxifikačního mechanismu u včel

Identification of natural substances in pollen suitable for improving the detoxification mechanism in bees

Motis J.[1], Beneš K.[1], Rost M.[2], Čurn V.[3]

[1]OncoRa s.r.o., České Budějovice
[2]Retorta s.r.o., Boršov nad Vltavou
[3]Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Abstrakt
V pylu včelařsky významných rostlin byl sledován obsah kyseliny *p*-kumarové, která má výrazný indukční efekt na geny pro detoxikační enzymy, zvyšuje toleranci včel vůči pesticidům a byl popsán i její přímý baktericidní efekt. Byla vyvinuta jednoduchá metoda HPLC analýzy kyseliny *p*-kumarové v pylu a stanoven její obsah v etanolových extraktech pylu. Výsledky ukazují na poměrně variabilní obsah kyseliny *p*-kumarové ve vzorcích pylu v závislosti na druhu rostliny. V práci je diskutován význam kyseliny *p*-kumarové a je poukázáno i na další vlivy, které mohou mít vliv na druhovou skladbu mikroorganismů (vláknitých hub a kvasinek) ve včelstvech.
Klíčová slova: fenolické látky; kyselina *p*-kumarová; xenobiotika; detoxikační enzymy; včelí mikrobiom

Abstract
The content of p-coumaric acid in the pollen of bee-important plants was monitored. This phenolic acid has a significant inducing effect on genes for detoxification enzymes, increases the tolerance of bees to pesticides and also its direct bactericidal effect was described. A simple method for HPLC analysis of p-coumaric acid in pollen was developed and content of p-coumaric acid in pollen ethanol extracts was determined. The results show a relatively variable content of p-coumaric acid in the pollen samples depending on the plant species. The importance of p-coumaric acid is discussed and other influences that may affect the bee microbiome are discussed.
Keywords: phenolic substances; p-coumaric acid; xenobiotics; detoxifying enzymes; bee microbiome

Úvod

Včely patří mezi významné opylovatele planých rostlin i mnoha zemědělských plodin a poskytují tak nedocenitelné ekosystémové služby. V posledních letech se ale setkáváme s kritickou situací včel medonosných, jejichž populace se v EU i ve světě zmenšuje. Tento problém je ale mnohem závažnější a rozsáhlejší. Je zaznamenáván dramatický pokles výskytu či až vyhynutí a snížení rozmanitosti všech druhů volně žijících hmyzích opylovatelů v Evropě. To představuje závažný důvod k obavám, protože opylovatelé jsou nedílnou součástí zdravých ekosystémů a jejich úbytek může pak mít závažné nejen ekologické, ale i sociální a ekonomické důsledky. Odhaduje se totiž, že 5–8 % současné celosvětové rostlinné produkce je přímo závislé na opylovatelích a jen v EU závisí na opylovatelích přibližně 84 % druhů plodin a 78 % druhů planě rostoucích rostlin (Potts et al. 2010; Michener 2013; McMenamin 2018).
V současné době je značná pozornost věnována nejen studiu biologie včely (a dalších opylovatelů) a její roli v ekosystému, ale zejména studiu stresových faktorů, které na včelstvo

působí. Mezi tyto stresory patří např. změny vyvolávané klimatickou změnou a intenzivní zemědělskou výrobou, ztráta přirozeného habitatu, nedostatečná výživa, tlak parazitů a patogenních mikroorganismů, vystavení včelstev působením pesticidů (Steinhauer et al. 2018). Řada studií poukazuje i na význam střevního mikrobiomu a mikroorganismů přítomných v přirozeném prostředí včel, potravě a včelích produktech (Evans a Lopez 2004; Paludo et al. 2018). Střevní mikrobiom hraje zřejmě nejen zásadní roli v ochraně včely před patogenními mikroorganismy (Vásquez et al 2012), ale také ovlivňuje expresi antimikrobiálních peptidů, které jsou klíčovou součástí vrozené imunity včel (Kwong et al. 2017). Poměrně dobře prostudovanou skupinou jsou bakterie (jako součást střevní mikrobioty či druhy vyskytující se v úlovém prostředí či pylu), ale neméně zajímavou, nicméně málo prostudovanou skupinou jsou kvasinky a vláknité houby, které jsou součástí potravních zásob a úlového prostředí včel. Ačkoliv byly tyto mikroorganismy opakovaně detekovány v medu, pylu i tělech včely medonosné, jejich význam a vzájemný vztah mezi nimi a včelou nebyl dosud zcela pochopen. Jejich přítomnost navíc není pravidlem a je nejspíše ovlivněna ročním obdobím. Dosavadní studie se týkaly převážně fyziologických vlastností bakterií (zejména laktobacilů) a kvasinek, produkce enzymů, fermentace cukrů a produkce organických kyselin, a jejich rolí v mikrobiální transformaci pylu a nektaru, či přítomnosti patogenních mikroorganimů (Vásquez a Olofsson 2009; Silva 2017). Role těchto eukaryotních mikroorganismů je ale daleko zajímavější a významnější. Mutualistické vztahy mezi hmyzem a vláknitými houbami nebo kvasinkami jsou popsané jak u solitérních, tak u společenských druhů hmyzu (Nygaard et al. 2016; Hoar et al. 2015). Detailní studie prováděná na bezžihadlových včelách druhu *Scaptotrigona depilis* ukázala na závislost regulérního vývoje včelího plodu na přítomnosti kvasinek rodu *Zygosaccharomyces*, které jsou zřejmě zdrojem sterolů, prekurzorů ekdysonu (Menezes et al. 2015; Paludo et al. 2018). Byl navržen i model, na jehož základě lze vysvětlit roli kvasinek a vláknitých hub, které syntézou těkavých látek stimulují (*Candida*), nebo naopak inhibují (*Monascus*) růst kvasinek rodu *Zygosaccharomyces* tak, aby byla zajištěna mikrobiální rovnováha a udržen vzájemně prospěšný vztah (Paludo et al. 2019). U včely medonosné, *Apis mellifera*, není doposud vztah mezi kvasinkami a vláknitými houbami objasněn. Kvasinky rodu *Zygosaccharomyces* byly ale nalezeny ve starším plástovém pylu včely medonosné, kde byly i dominantní skupinou mikroorganismů (Detry e al. 2020).

Jedním z diskutovaných negativních vlivů na včelstva je jednostranná strava a význam přírodní stravy včel včetně významu fytochemikálií. Studie, porovnávající vliv medu a cukerné stravy, potvrzují význam přirozené stravy pro správnou funkci organismu včel (Brodschneider a Crailsheim 2010; Evans et al. 2018). Kromě základních živin totiž obsahuje nektar, pyl a propolis také širokou škálu rostlinných látek, fytochemikálií. Fytochemikálie mohou být toxické, některé druhy hmyzu mají však vyvinuté detoxikační mechanismy, umožňující tolerovat tyto látky. Tolerance a odbourávání nejen fytochemikálií jsou umožněny především enzymy, které zprostředkovávají inaktivaci nebo rychlou eliminaci xenobiotik (Wink 2018). Detoxikace xenobiotik je složitý, enzymy zprostředkovaný proces. Hlavní skupiny enzymů, které zprostředkovávají odbourávání xenobiotik, jsou cytochromy P450, karboxyl/cholinesterázy, glutathion-S-transferázy a transportní proteiny (Berenbaum a Johnson 2015; Gong a Diao 2017). Význam fytochemikálií je ale širší a u včely byl popsán indukční efekt kyseliny *p*-kumarové obsažené v pylových zrnech na geny pro detoxikační enzymy (Mao et al 2013; Wink 2018) či přímý baktericidní efekt (Lou et al. 2012). Flavonol kvercetin, známý pro své antioxidační účinky, a kyselina *p*-kumarová zvyšují toleranci včel vůči pesticidům (Barascou et al. 2021). Podáním kyseliny *p*-kumarové ve stravě byla také zvýšena exprese genů pro antimikrobiální peptidy, jež mají klíčovou funkci při imunitní reakci na mikrobiální infekci (Johnson et al. 2012). Podobně naše předchozí studie ukázala vliv polyfenolů přidaných do

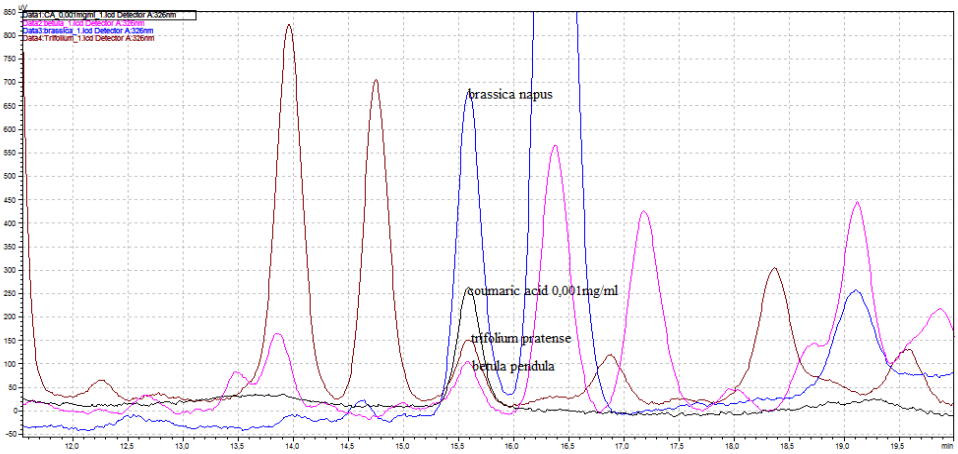
krmiva na zvýšení exprese genů pro cytochromy P450 u včel intoxikovaných thiaclopridem (Hýbl et al. 2021).
Cílem studie bylo stanovení přítomnosti kyseliny *p*-kumarové ve vzorcích pylu vybraných druhů rostlin významných z hlediska včelí pastvy.

Materiál a metody
Vzorky pylu (jednodruhový pyl) byl získán od Lock Bohemia s.r.o., Praha. Kyselina *p*-kumarová byla stanovena z ethanolového extraktu pylu. Příprava extraktů: vzorky pylu (300 mg) byly naváženy do 50 ml Erlenmeyerovy baňky, byly přidány 3 ml 96 % ethanolu, vzorky byly důkladně protřepány na vortexu, 60 min sonikovány při 50°C a poté při 4000g centrifugovány. Supernatant byl použit pro HPLC analýzu.
HPLC analýza byla prováděna na kapalinovém chromatografu Shimadzu LC-20AT Prominence, detekce byla při 326 nm na Shimadzu SPD-20A Prominence UV-Vis detektoru. Pro separaci byla použita kolona C18 (4,6 × 250 mm, 5-micron particle size), nástřik 20 µl vzorku. Izokratická eluce, mobilní fáze A : B = 85 : 15 (MP A: kyselina fosforečná, pH=3,2; MP B: acetonitril), průtok 1 ml/min s retenčními časy cca 15,5 minut. Koncentrace kyseliny *p*-kumarové byla vypočtena dle plochy píku standardu (kys. *p*-kumarová 0,001 mg/ml).

Výsledky a diskuze
Celkem bylo analyzováno 7 vzorků pylu (pyl břízy, vrby, řepky, jetele, akátu, lípy a pohanky). Zjištěné hodnoty obsahu kyseliny *p*-kumarové jsou prezentovány v tabulce 1. Ukázka chromatografického profilu je na obrázku 1, retenční čas kyseliny *p*-kumarové je cca 15,5 minuty.

Tabulka 1: Obsah kyseliny p-kumarové v analyzovaných vzorcích pylu

Zdroj pylu	Množství kyseliny *p*-kumarové (mg/kg)
Betula pendula	3,02
Salix sp.	60,02
Brassica napus	30,39
Trifolium pratense	5,59
Robinia pseudoacacia	41,90
Tilia sp.	15,11
Fagopyrum esculentum	78,08



Obrázek 1: Analýza kyseliny p-kumarové ve vzorcích pylu břízy, jetele a řepky

Analýzy byly prováděny z nepurifikovaných ethanolových extraktů pylu a použitá metoda separace byla schopná jasně odlišit kyselinu *p*-kumarovou od ostatních metabolitů přítomných v analyzovaném extraktu. Metoda HPLC analýzy byla vyvinuta pro analýzu hrubých extraktů, používá odlišné mobilní fáze než např. práce Bayram et al. (2021), Geetha et al. (2011) či Isidorov et al. (2009). Retenční čas kyseliny *p*-kumarové byl cca 15,5 minuty, tedy o něco delší než u výše zmiňovaných prací, ale delší doba analýzy umožnila jasné rozdělení látek a peak odpovídající kyselině *p*-kumarové byl je zřetelně viditelný i u vzorků pylu s jejím nízkým zastoupením.

Z výsledků je patrné, že obsah kyseliny *p*-kumarové se ve vzorcích pylu výrazně liší. Nejnižší obsah byl u pylu břízy a jetele, naopak pyl pohanky a vrby obsahuje tuto fenolickou látku ve značném množství. Porovnání zjištěných dat s literárními údaji je poněkud problematické, protože v řadě studií jsou stanovovány celkové fenolické látky jako ekvivalet kyseliny gallové (Mayda et al. 2020), nebo je analyzován rouskový či plástvový fermentovaný pyl a druhy zastoupené v pylu jsou uváděny sumárně (Isidorov et al. 2009; Sobral et al. 2017; Bayram et al. 2021). Rovněž údaje o zastoupení kyseliny *p*-kumarové v pylu nejsou zcela jednotné, např. Isidorov et al. (2009) uvádí kyselinu *p*-kumarovou jako hlavní fenolickou kyselinu, která se v pylu vyskytuje. Naproti tomu Sobral et al. (2017) a Bakour et al. (2019) tuto látku mezi hlavními detekovanými fenolickými látkami neuvádějí. Geldert et al. (2021) uvádějí jako významný zdroj kyseliny *p*-kumarové mimo jiné pohanku a jetel, který ale v naší studii patřil k rostlinám s nízkým obsahem. Daleko častěji jsou detailní analýzy fenolických látek prováděny v medu, původ medu je pak uváděn na základě analýzy pylových zrn v medu. Obsah kyseliny *p*-kumarové v medu rovněž velmi výrazně kolísá v hodnotách cca 1-8 mg/kg (Halagarda et al. 2020; Kędzierska-Matysek et al. 2021).

Výsledky ukazují, že významným zdrojem kyseliny *p*-kumarové je řepka. Z tohoto pohledu je ale nutno zohlednit více faktorů, nejen obsah kyseliny *p*-kumarové. Dalšími faktory mohou být rezidua pesticidů ovlivňující mikrobiální komunitu v úlovém prostředí. Vzhledem k výše diskutovanému významu mikroorganismů jsme u včelstev z oblasti s vyšším podílem monokultury brukve řepky olejky a z oblasti bez řepky izolovali z plástvového pylu mikroorganismy, které dle naší hypotézy hrají klíčovou roli v detoxikačních reakcích. Homogenizované vzorky plástvového pylu byly rozetřeny na selektivní kultivační půdy pro růst hub a kvasinek a výsledné spektrum izolovaných kmenů mikroorganismů bylo značně odlišné v závislosti na habitatu. Z plástvového pylu z oblasti z vyšší diverzitou a bez řepky olejky byly na rozdíl od ostatních vzorků izolovány i houby rodu *Talaromyces* a kvasinky rodu *Zygosaccharomyces* u nichž byl zjištěn vysoký obsah ergosterolu (Javůrková 2021). Výsledky odpovídají i zjištěním ze studie (Paludo et al. 2019), kde byl potvrzen výskyt stejných hub a kvasinek a kvasinky byly uvažovány jako klíčový producent ergosterolu jako prekursoru ekdysonu.

Závěr

Cílem studie bylo zjistit přítomnost kyseliny *p*-kumarové v pylu rostlin, které jsou významné z hlediska včelí pastvy. Bylo prokázáno, že tato fenolická kyselina se v pylu vyskytuje a je poměrně jednoduše detekovatelná. Výsledky studie zapadají do kontextu obdobných prací, kde kyseliny *p*-kumarová je významnou či nejvýznamněji zastoupenou fenolickou kyselinou. Výsledky rovněž ukazují na poměrně variabilní obsah kyseliny *p*-kumarové ve vzorcích pylu v závislosti na druhu rostliny. Toto je důvod proč by měl být obsah fenolických látek detailněji sledován v pylu včelařsky významných rostlin, rouskovém i plástvovém pylu, medu a propolisu. V práci je diskutován význam kyseliny *p*-kumarové a je poukázáno i na další vlivy, které mohou mít vliv na druhovou skladbu mikroorganismů (vláknitých hub a kvasinek) ve včelstvech.

Poděkování
Tato studie byla vytvořena díky podpoře projektů NAZV QK1910356 a GAJU 027/2019/Z.

Literatura

Bakour M., Fernandes A., Barros L., Sokovi´c M., Ferreira I., Badiaa L. (2019): Bee bread as a functional product: Chemical composition and bioactive properties. LWT, 109.

Barascou L., Sene D., Barraud A., Michez D., Lefebvre V., Medrzycki P., Di Prisco G., Strobl V., Yañez O., Neumann P., Le Conte Y., Alaux C. (2021): Pollen nutrition fosters honeybee tolerance to pesticides. R Soc Open Sci 8: 210818.

Bayram N.E., Gercek Y.C., Çelik S., Mayda N., Kostić A.Ž., Dramićanin A.M., Özkök A. (2021): Phenolic and free amino acid profiles of bee bread and bee pollen with the same botanical origin-similarities and differences. Arab. J. Chem. 14: 103004.

Berenbaum M.R., Johnson R.M. (2015): Xenobiotic detoxification pathways in honey bees. Curr Opin Insect Sci 10: 51–58.

Brodschneider R., Crailsheim K. (2010): Nutrition and health in honey bees. Apidologie 41: 278–294.

Detry R., Simon-Delso N., Bruneau E., Daniel, H.M. (2020): Specialisation of yeast genera in different phases of bee bread maturation. Microorganisms 8: 1–14.

Evans J.D., Lopez D.L. (2004): Bacterial probiotics induce an immune response in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). Journal of Economic Entomology 97: 752–756.

Evans E., Smart M., Cariveau D., Spivak M. (2018): Wild, native bees and managed honey bees benefit from similar agricultural land uses. Agric Ecosyst Environ 268: 162–170.

Geetha N.P, Mahesh M., Bettadaiah B.K., Kini R.K., Prakash H.S. (2011): HPLC Method for Determination of p-coumaric acid from the Medicinal Herb Leptadinia reticulata. International Journal of Phytomedicine 3: 319–324.

Geldert C., Abdo Z., Stewart J.E., Arathi H.S. (2021): Dietary supplementation with phytochemicals improves diversity and abundance of honey bee gut microbiota. J Appl Microbiol. 130: 1705-1720.

Gong Y., Diao Q. (2017): Current knowledge of detoxifi cation mechanisms of xenobiotic in honey bees. Ecotoxicology 26: 1–12.

Halagarda M., Groth S., Popek S., Rohn S., Pedan V. (2020): Antioxidant Activity and Phenolic Profile of Selected Organic and Conventional Honeys from Poland. *Antioxidants* 9: 44.

Hoar W.S., Bullock T.H., Heiligenberg W. (2015): Entomology: A Bee Farming a Fungus. Curr. Biol. 25: 1072–1074.

Hýbl M., Mráz P., Šipoš J., Hoštičková I., Bohatá A., Čurn V., Kopec T. (2021): Polyphenols as Food Supplement Improved Food Consumption and Longevity of Honey Bees (Apis mellifera) Intoxicated by Pesticide Thiacloprid. Insects 12: 572.

Isidorov V., Isidorova A., Szczepaniak L., Lazarek U. (2009): Gas chromatographic–mass spectrometric investigation of the chemical composition of beebread. Food Chem 115: 1056–1063.

Javůrková P. (2021): Morfologická a molekulární charakterizace kvasinek rodu Zygosaccharomyces asociovaných se včelami. Diplomová práce, ZF JU.

Johnson R.M., Mao W., Pollock H.S., Niu G., Schuler M.A., May R. (2012): Ecologically Appropriate Xenobiotics Induce Cytochrome P450s in Apis mellifera. PLoS One 7: 1–9.

Kędzierska-Matysek M., Stryjecka M., Teter A., Skałecki P., Domaradzki P., Florek M. (2021): Relationships between the Content of Phenolic Compounds and the Antioxidant Activity of Polish Honey Varieties as a Tool for Botanical Discrimination. *Molecules* 26: 1810.

Kwong W.K., Mancenido A.L., Moran N.A. (2017): Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. R. Soc. Open Sci 4: 1–9.

Lou Z., Wang H., Rao S., Sun J., Ma C., Li J. (2012): p-Coumaric acid kills bacteria through dual damage mechanisms. Food Control 25: 550–554.

Mao W., Schuler M.A., Berenbaum M.R. (2013): Honey constituents up-regulate detoxification and immunity genes in the western honey bee Apis mellifera. Proc Natl Acad Sci 110: 8842–8846.

Mayda N., Özkök A., Bayram N. (2020): Bee bread and bee pollen of different plant sources: determination of phenolic content, antioxidant activity, fatty acid and element profiles. Food Measure 14: 1795–1809.

McMenamin A.J. (2018): Honey Bee and Bumble Bee Antiviral Defense. Viruses 10: 395.

Menezes C., Vollet-Neto A., Marsaioli A.J. (2015): A Brazilian social bee must cultivate fungus to survive. Curr Biol 25: 2851–2855.

Michener C.D. (2013): The Meliponini. In: Vit, P., Pedro, S. R. M., Roubik, D. (Eds.), Pot-Honey: A legacy of stingless bees, Springer, New York, pp. 3–17.

Nygaard S., Hu H., Li C. (2016): Reciprocal genomic evolution in the ant-fungus agricultural symbiosis. Nat Commun 7: 1–9.

Paludo C.R., Menezes C., Silva-Junior E.A. (2018): Stingless Bee Larvae Require Fungal Steroid to Pupate. Sci Rep 8: 1122.

Paludo C.R., Pishchany G., Andrade-Dominguez A. (2019): Microbial community modulates growth of symbiotic fungus required for stingless bee metamorphosis. PLoS One 14: 1–12.

Potts S.G., Biesmeijer J.C., Kremen C. (2010): Global pollinator declines: Trends, impacts and drivers. Trends Ecol Evol 25: 345–353.

Silva M.S. (2017): Microorganisms in Honey. In: de Alencar, V., de Toledo, A.: Honey Analysis, Intechopen.

Sobral F., Calhelha R.C., Barros L., Duenas M., Tomas A., Santos-Buelga C., Vilas-Boas M., Ferreira I.C. (2017): Flavonoid Composition and Antitumor Activity of Bee Bread Collected in Northeast Portugal. Molecules 22: 248.

Steinhauer N., Kulhanek K., Antúnez K. (2018): Drivers of colony losses. Curr Opin Insect Sci 26: 1–7.

Vásquez A., Olofsson T.C. (2009): The lactic acid bacteria involved in the production of bee pollen and bee bread. J Apic Res 48: 189–195.

Vásquez A., Forsgren E., Fries I., Paxton R.J., Flaberg E., Szekely L., Olofsson T.C. (2012): Symbionts as major modulators of insect health: Lactic acid bacteria and honeybees. PLoS One 7: e33188.

Wink M. (2018): Plant secondary metabolites modulate insect behavior-steps toward addiction? Front Physiol 9: 1–9.

Kontaktní adresa:
doc. Ing. Michael Rost, Ph.D.
Retorta s.r.o., Boršov nad Vltavou
rost@retorta.cz

Vliv zpracování půdy na přijatelnost živin

Effect of soil tilage on nutrient availability

Mühlbachová G., Růžek P., Vavera R., Káš M., Watzlová E.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6 – Ruzyně

Abstrakt

Na pozemcích VÚRV v Praze – Ruzyni probíhá od roku 1995 polní pokus na hnědozemi, kde jsou uplatňovány různé technologie zpracování půdy – orba (20 cm), minimální zpracování (do 10 cm) a bez zpracování. V různých hloubkách půdního profilu (0-2 cm, 0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm) byly porovnávány obsahy živin (P, K, Mg a Ca). Nejvyšší obsahy živin u minimálního zpracování a bez zpracování byly, s výjimkou Ca, zjištěny ve vrchních vrstvách půdního profilu 0-2 cm a 0-10 cm, zatímco v nižších vrstvách se obsahy živin snižují. Naopak obsahy Ca jsou nejnižší v povrchové vrstvě půdy a s hloubkou půdního profilu se zvyšují vzhledem k postupnému vymývání Ca z půdního profilu. Obsahy živin se v průběhu dlouhodobého pokusu v povrchové vrstvě u bezorebných technologií stále zvyšovaly, proto byly dávky živin postupně snižovány, zejména po suchých letech s nižšími výnosy pěstovaných plodin. Z výsledků vyplývá, že při používání bezorebných technologií nejsou dostačující běžně prováděné AZP, ale je nutné zjistit koncentraci živin (zejména K) v povrchové vrstvě půdy.
Klíčová slova: zpracování půdy; obsah živin v různých vrstvách půdy; Mehlich 3; KVK-UF

Abstract

The long-term field experiment is conducted in Prague-Ruzyně since 1995 on luvisol. The nutrient contents (P, K, Mg and Ca) were evaluated under ploughing (20 cm), minimum tillage (to 10 cm) and no-tillage practices in different soil layers (0-2 cm, 0-10 cm, 10-20 cm, 20-30 cm). The highest contents of nutrients, with exception of Ca, were obtained under minimum and no-tillage technology in layers 0-2 cm and 0-10 cm, with exception of Ca, whereas they decrease in lower soil depths. On contrary Ca contents were the lowest in the surface soil layer and increased in deeper soil layers with Ca leaching from the soil profile. Nutrient contents increased during the field experiment in the surface layer, therefore, nutrient doses were gradually reduced, especially after dry years with lower yields of cultivated crops. The results show that the normally implemented agrochemical soil testing is not sufficient when using no-tillage technologies, but it is necessary to determine the concentration of nutrients (especially K) in the soil surface layer.
Keywords: soil tillage; nutrient content in different soil layers; Mehlich 3; KVK-UF

Úvod

Minimální zpracování půdy a technologie bez zpracování s ponecháním posklizňových zbytků na povrchu jsou v České republice stále více využívány v praxi. Mezi tyto postupy řadíme omezené, případně středně hluboké zpracování půdy kypřením, kde nedochází k obracení půdy jako u orby.

Hloubkou zpracování půdy ovlivňujeme její vodní, vzdušný a tepelný režim a zároveň i biologické, chemické a fyzikální vlastnosti. Na využití živin z aplikovaných hnojiv rostlinami mají značný vliv vlastnosti půdy v místě uložení hnojiva jako půdní struktura, obsah vzduchu a vody, pH, sorpční schopnost, koncentrace živin v půdě apod. Dlouhodobé používání technologií s minimálním zpracováním nebo bez zpracování půdy mění také rozvrstvení

koncentrací živin v půdním profilu (Martínez et al., 2016). U půd, kde jsou využívány minimalizační technologie nebo technologie bez zpracování se ve vrchním půdním horizontu zvyšuje obsah živin z aplikovaných hnojiv, které se dále nedostávají ve větším množství do hlubších částí půdního profilu. Ještě větší rozdíly v obsahu živin a dalších půdních charakteristik zaznamenal Franzluebbers (1996) ve vrstvě 0-5 cm. Na povrchu půdy mohou totiž vyšší obsahy některých živin, například monovalentního draslíku, způsobovat problémy vedoucí ke změně struktury půdy, jejímu rozplavení a dalším problémům, například erozi po vyšších srážkách. Je proto důležité diagnostikovat koncentrace živin v půdním profilu včetně povrchové vrstvy, pro rozhodování o vhodných dávkách hnojiv a způsobu jejich zapravení vzhledem ke konkrétním půdním podmínkám, použité technologii a pěstované plodině.
Cílem práce bylo zjistit obsah vybraných živin v půdě po dlouhodobém různém zpracování půdy a různé úrovni hnojení v různých vrstvách půdy 0-30 cm a zjistit vliv minerálního hnojení na případné změny v obsahu živin.

Materiál a metody

Polní pokus, kde jsou testovány různé půdoochranné technologie, byl založen v roce 1995. Stanoviště se nachází v Praze – Ruzyni (typ půdy – hnědozem na spraši, jílovito-hlinitá půda, průměrné roční srážky 472 mm, průměrná roční teplota 8,4ºC; pH($CaCl_2$) = 7,1). Na půdě jsou používány tři technologie zpracování půdy – orba 18-23 cm, minimalizační zpracování půdy (do 10 cm) a technologie bez zpracování s přímým setím do mulče. V rotaci plodin se střídá pšenice ozimá s řepkou ozimou nebo hrachem. Odběr vzorků probíhá každý rok mezi 14.-26. květnem, kde jsou odebírány půdy z profilu 0-2 cm (od roku 2020), 0-10 cm, 10-20 cm a 20-30 cm. V dlouhodobém pokusu je pravidelně prováděno hnojení vybranými živinami – draslíkem, fosforem, hořčíkem a sírou. Do roku 2014 dávka draslíku představovala 66 kg K/ha, fosforu 23 kg P/ha hořčíku 14 kg Mg/ha. Od roku 2015 byly dávky draslíku postupně snižovány na 40-50 kg K/ha a od roku 2020 na 33 kg K/ha. Od roku 2020 je současně odebírána i povrchová vrstva půdy 0-2 cm. Obsahy živin byly v každé sledované vrstvě půdního profilu stanoveny metodou Mehlich 3 (Zbíral et al., 2016)a KVK-UF (Matula 2007) a analyzovány metodou indukčního plazmatu ICP-OES.

Výsledky a diskuze

Na Grafech 1-4 jsou uvedeny obsahy živin K, P, Mg a Ca a jejich rozmístění v jednotlivých vrstvách půdy po různém zpracování. Po orbě jsou živiny ve zorané vrstvě půdy rozmístěny rovnoměrněji než u dalších zpracování půdy. Živiny méně pohyblivé v půdě jako P a K jsou orbou zapraveny do hlubších vrstev půdy a naopak spodní vrstva půdy obohacená vápníkem a případně i hořčíkem se obracením půdy dostává na povrch. U draslíku je transport v půdním profilu omezen také v důsledku vysokého stupně nasycení půdy bazickým kationem Ca^{2+} a tím i vysoké adsorpce K^+ na jílové minerály. Z dosažených výsledků vyplývá, že u bezorebného zpracování půdy jsou významně vyšší obsahy živin (P, K, Mg) zjišťovány v povrchové vrstvě půdy.
Protože po víceletém hnojení minerálními hnojivy byly v povrchové vrstvě půdy zjišťovány stále vyšší obsahy živin, jsou od roku 2015 postupně snižovány dávky draslíku (popř. i dalších živin), a to zejména po sušších letech s nižšími výnosy a nižším čerpáním živin z půdy pěstovanými plodinami. Snižování dávek minerálních hnojiv se dosud neprojevilo ve snížení výnosů pěstovaných plodin. Podobně ve svém dlouhodobém pokusu snížili dávky hnojení také Martínez et al. (2016).
Z výsledků stanovení obsahu živin v půdě vyplývá, že obsah draslíku stanovený metodou Mehlich a KVK-UF je podobný. Obsah draslíku se ve vrstvě půdy 0-10 cm v minulých letech

pohyboval po minimálním zpracování půdy na úrovni 260 mg K/ha a v půdě bez zpracování dokonce na úrovni 325 mg K/kg (Graf 1). Ve vrstvě 0-2 cm pak byl obsah K dokonce 310 mg K/kg u minimalizace a 435 mg K/kg u půdy bez zpracování Podle Matuly (2011) se vhodné rozmezí pohybuje mezi 100 až 220 mg K/kg, což je u tohoto dlouhodobého pokusu v povrchové vrstvě půd s bezorebným zpracováním půdy vysoce překročeno. Vysoký obsah monovalentního draslíku vede ke změně struktury půdy, což v důsledku vede k rozplavování půdy a ke zvýšení rizika jejích ztrát erozí. Proto je u bezorebných systémů doporučována podpovrchová lokální nebo zonální aplikace hnojiv s málo pohyblivými živinami,

Trend snižujícího se obsahu v hlubších půdních vrstvách byl zjištěn také v případě fosforu, což potvrdily analýzy jak metodou Mehlich 3, podle kterých se průměrný obsah P pohyboval okolo 45 mg P/kg, tak i v octanu amonném, kde byly zjištěny velmi nízké obsahy přijatelného P (Graf 2). U minimálního zpracování a zvláště u půdy bez zpracování byly ve vrstvě 0-2 cm zjištěny nejvyšší obsahy fosforu v porovnání s hlubšími půdními vrstvami. Metodou Mehlich 3 byl u minimalizace zjištěn obsah P ve vrstvě 0-2 cm 88 mg P/kg au půdy bez zpracování 114 mg P/kg, metodou KVK-UF byly ve stejné vrstvě zjištěny obsahy P 13 mg P/kg u minimalizace a 23 mg P/kg u půdy bez zpracování. Se zvyšující se hloubkou půdního profilu se obsah P stanovený oběma metodami snižoval. Obsah P zjištěný v octanu amonném pak ukazuje na velmi nízké obsahy P v porovnání s metodou Mehlich 3. Na snižující se obsah přijatelného P v hlubších vrstvách půdy může mít vliv také pH, které v souladu se zvyšujícím se obsahem vápníku v půdě se v hlubších vrstvách půdy zvyšuje zhruba o 0,2-0,3 jednotky a může tak ovlivňovat dostupnost fosforu v hlubších vrstvách půdy. Specifickým rysem fosforu mezi je totiž ustalování pouze velmi nízké koncentrace fosforečnanového aniontu v půdním roztoku (Matula, 2011), což může ovlivnit jeho přijatelnost pro rostliny.

Obsah hořčíku v půdách po minimálním zpracování a bez zpracování, podobně jako P a K, se snižoval s větší hloubkou půdního profilu, a to jak při stanovení metodou Mehlich 3, tak i KVK-UF při stanovení výměnných podílů Mg v octanu amonném (Graf 3). Obsah hořčíku v půdách stanovený metodou KVK-UF byl zhruba poloviční v porovnání s metodou Mehlich 3. Obsah hořčíku v půdách je přitom významným kvalitativním ukazatelem kvality životního prostředí a jeho obsah v půdě by měl být v relaci k ostatním živinám jako je draslík a vápník (Matula, 2011).

Obsah vápníku se v půdách, na rozdíl od obsahu draslíku, fosforu a hořčíku, v hlubších vrstvách půdy zvyšoval (Graf 4). Obsah vápníku zjištěný metodou KVK-UF byl zhruba na úrovni 28 % v porovnání s obsahem Ca zjištěným metodou Mehlich 3. Výměnný a vodorozpustný vápník se totiž z horních vrstev půdy vymývá a povrchová vrstva půdy se postupně okyseluje, čemuž je nutné u minimalizačních technologií zpracování půdy věnovat zvláštní pozornost. Vysoká biologická aktivita v povrchové vrstvě půdy zvyšuje mimo jiné emise CO_2, což podporuje přeměnu málo rozpustného uhličitanu vápenatého na lehce rozpustný hydrouhličitan vápenatý. Na okyselování povrchové vrstvy půdy má vliv perkolující voda s rozpuštěnými bazickými kationy vápníku a hořčíku, které se při nadbytku srážek vyplavují do spodních vrstev půdy, případně až do podzemních vod. Zlepšení stavu okyselování horní vrstvy půdy a zároveň i její struktury u bezorebných technologií vápněním je nutné provádět velmi citlivě nejlépe použitím menších dávek pomalu působícího dolomitického vápence, neboť razantnější způsoby vápnění mohou výrazně podpořit biologickou aktivitu v půdě, mineralizaci organických látek, tvorbu a následné vyplavení nitrátů a v neposlední řadě zvýšit množství vyplaveného vápníku z horní vrstvy půdy. Vápník má nezastupitelnou úlohu v tvorbě půdní struktury a významně ovlivňuje retenční schopnost půdy. Jak uvádí Fecenko a Ložek (2000), vápník je základním prvkem půdní úrodnosti a ochráncem životního prostředí. Jako nejdůležitější bazický kation rozhoduje o půdní reakci a úrodnosti půd a podstatně ovlivňuje přístupnost makro i mikroelementů v půdě. Obsah živin v půdě závisí také na dosažených

výnosech, proto v suchých letech s nízkými výnosy zůstává v půdě více živin a je třeba tomu přizpůsobit i hnojení.
Při porovnání metod Mehlich 3 a KVK-UF je zřejmé, že obsah živin zjištěný metodou Mehlich 3 je u většiny živin vyšší než pomocí metody KVK-UF. Používání extrakční metody Mehlich 3 je v současné době upraveno vyhláškou č. 275/1998 Sb., o agrochemickém zkoušení zemědělských půd a zjišťování půdních vlastností lesních pozemků, ve znění pozdějších předpisů. Metoda Mehlich 3 se proto standardně používá pro stanovení obsahu základních (makro) živin v půdě včetně kritérií hodnocení obsahu přístupného fosforu, draslíku a hořčíku v půdách. Činidlo Mehlich 3 má hodnotu pH okolo 2,5, zatímco octan amonný používaný v metodě KVK-UF má hodnotu pH 7. Z toho plyne různá účinnost těchto činidel při extrakci živin z půdy. Metodou KVK-UF jsou stanovovány výměnné obsahy živin, které více reflektují obsah živin aktuálně dostupný pro rostliny. Metoda Mehlich 3 je pak i vzhledem k jednoduchosti stanovení vhodná pro zjištění dlouhodobých trendů obsahu živin v půdách.

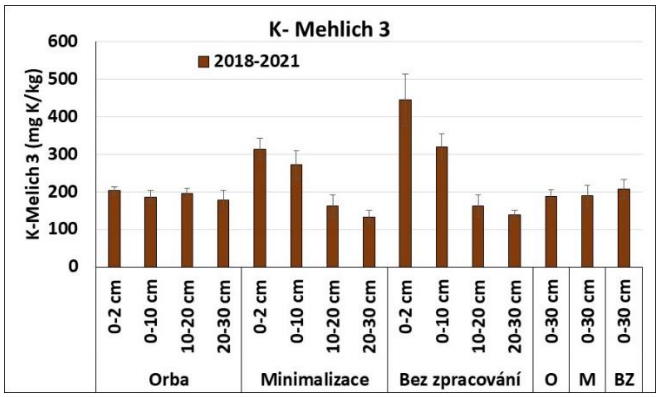
Závěr

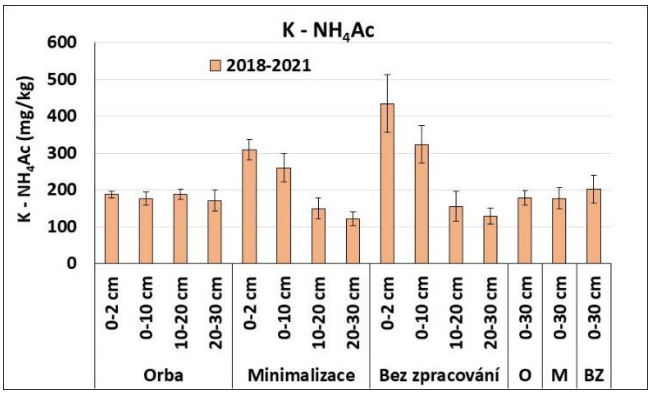
Na stanovišti (Ruzyně) se během 25 let používání různých způsobů zpracování půdy projevily rozdíly v obsahu živin v půdním profilu. Nejvyšší obsahy živin byly při minimálním zpracování půdy nebo v půdě bez zpracování, s výjimkou Ca, zjištěny ve vrchní vrstvě půdy, přičemž v nejsvrchnější vrstvě byly obsahy P, K a Mg nejvyšší. U bezorebných technologií zpracování půdy se tak distribuce prvků liší od konvenčního zpracování s orbou, kde jsou obsahy živin v půdních vrstvách vyrovnanější. Nicméně i u tohoto zpracování se obsah živin může v hlubších vrstvách půdy lišit. Vzhledem ke kumulaci většiny živin v povrchové vrstvě půdy je u minimalizačních technologií je třeba řešit nejen snižující se zásobu makroprvků v hlubších vrstvách půdy, ale především je třeba řešit vliv povrchové aplikace hnojiv, zvláště draslíku, na jeho obsah v této vrstvě půdy a vliv na půdní strukturu, riziko rozplavování svrchní vrstvy půdy, což může vést k dalším negativním jevům jako je horší vsakování vody a s tím spojené riziko vodní eroze půdy. Obsah živin závisí i na dosažených výnosech, proto v suchých letech s nižšími výnosy pěstovaných plodin zůstává v půdě více živin a je třeba tomu přizpůsobit i hnojení. Do budoucna je třeba u bezorebných technologií zpracování půdy operativnější a preciznější přístup k hnojení rostlin s ohledem na dosažené výnosy, průběh počasí v daném roce, koncentraci živin v povrchové vrstvě půdy, kdy může docházet k rizikovým jevům a naopak je třeba řešit případný nedostatek živin v hlubších vrstvách půdy.

Dedikace

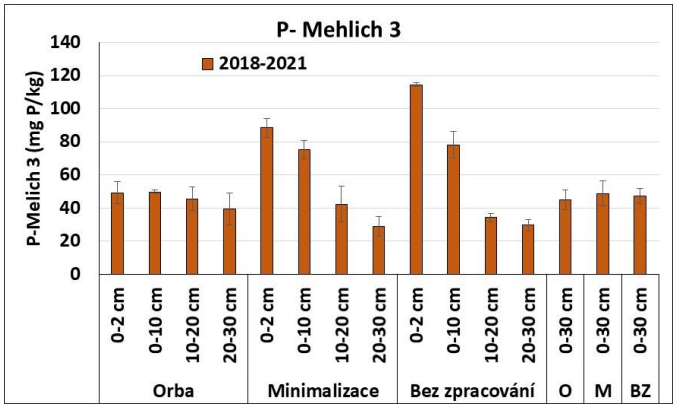
Výsledky byly dosaženy s podporou projektu MZe NAZV QK21020155.

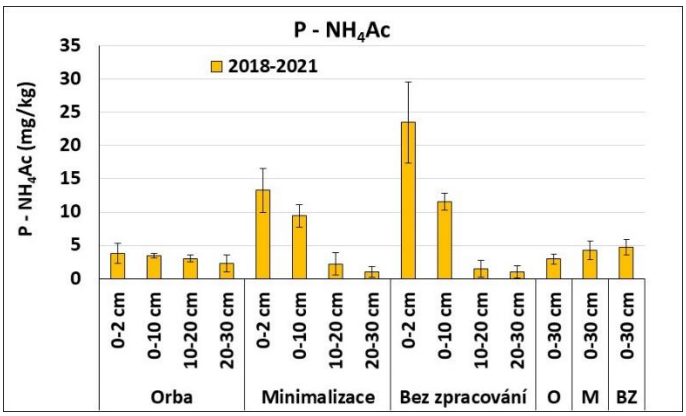
Graf 1: Obsah K ve vrstvách půdy po různém způsobu zpracování



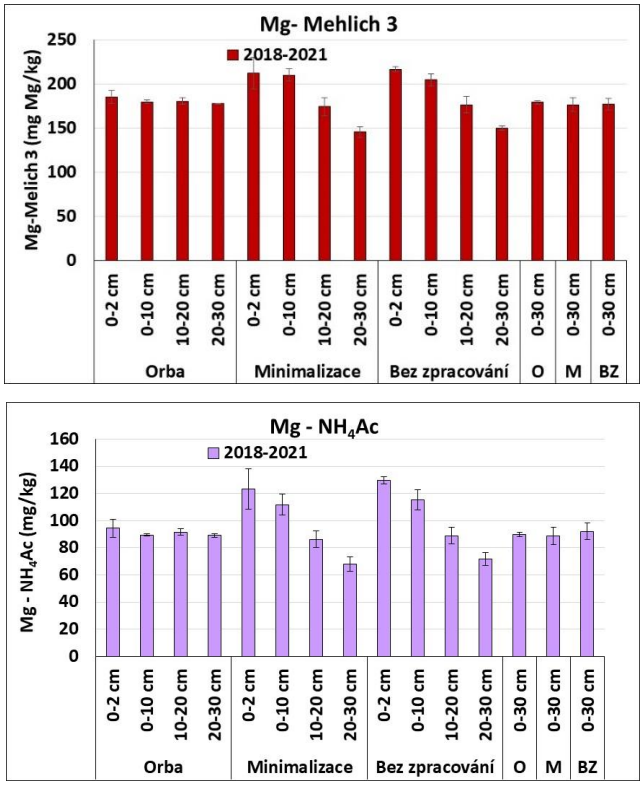


Graf 2: Obsah P ve vrstvách půdy po různém způsobu zpracování

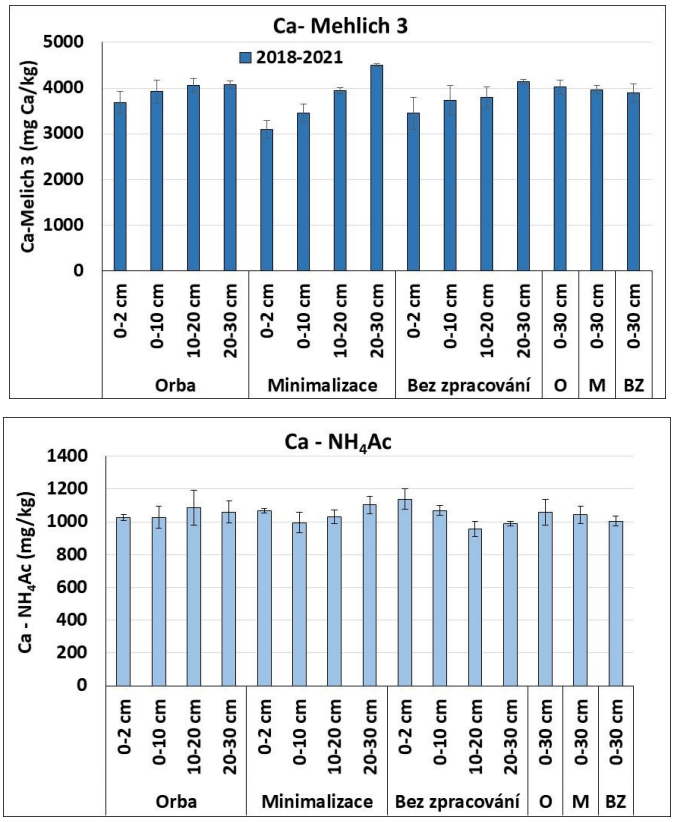




Graf 3: Obsah Mg ve vrstvách půdy po různém způsobu zpracování půdy



Graf 4: Obsah Ca ve vrstvách půdy po různém způsobu zpracování půdy



Použitá literatura

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

Franzluebbers A.J., 1996. Soil-profile distribution of primary and secondary plant-available nutrients under conventional and no tillage Soil and Tillage Research, 39, 229-239

Martínez I., Chervet A., Weiskopf P., Sturny W.G., Etana A., Stettler M., Forkman J., Keller T. 2016. Two decades of no-till in the Oberacker long-term field experiment: Part I. Crop yield, soil organic carbon and nutrient distribution in the soil profile. Soil and Tillage Research, 163, 141-151

Matula J., 2007. Optimalizace výživného stavu půd pomocí diagnostiky KVK-UF. Metodika pro praxi. ISCN: 978-80-87011-16-4

Matula J., 2011. Předpoklady harmonické výživy plodin. Zemědělec, 19: https://www.zemedelec.cz/predpoklady-harmonicke-vyzivy-plodin/

Vyhláška č. 275/1998 Sb., o agrochemickém zkoušení zemědělských půd a zjišťování půdních vlastností lesních pozemků, ve znění pozdějších předpisů.

Zbíral, J., Čižmárová, E., Obdržálková, E., Rychlý, M., Vilamová, V., Srnková, J., Žalmanová, A. (2016): Jednotné pracovní postupy. Analýza půd I., 4. vydání – Brno 2016

Kontaktní adresa:

Ing. Gabriela Mühlbachová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Dnovská 507
161 06 Praha 6 – Ruzyně
E-mail: muhlbachova@vurv.cz

Vliv hnojení (NPK, hnůj, kejda, digestát) TTP na výnos, kvalitu píce a půdu

Influence of fertilization (NPK, manure, cattle slurry, digestate) on yield, forage and soil quality in Permanent Grassland

Plisková J.[1], Nerušil P.[1], Sedlák L.[2], Pospíšilová L.[2], Menšík L.[1]

[1] Výzkumný ústav rostlinné výroby, VS Jevíčko
[2] Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

Trvalé travní porosty (TTP) jsou významným zdrojem biomasy ve výrobě objemné píce i jako zdroj biomasy pro bioplynové stanice. Cílem studie bylo vyhodnotit vliv hnojení statkovými, organickými a minerálními hnojivy na výnosové charakteristiky, kvalitu píce a kvalitu půdy v TTP v oblasti Malé Hané (Boskovická brázda) se 4sečným využitím. Produkce sušiny (úhrn sečí) v období 2016–2019 byla stanovena u hnojených variant ve výši 7,36–8,53 t.ha^{-1} sušiny a 4,21 t.ha^{-1} sušiny na nehnojené Kontrole. Obsah dusíkatých látek /NL/ v 1. seči se pohyboval od 132 do 150 g.kg^{-1} suš. a 137 g.kg^{-1} suš. na Kontrole. Stravitelnost organické hmoty /OMD/ dosahovala u všech hodnocených variant maxima v 1. a 4. seči (70–73 %). Nejnižší hodnoty pH (KCl) byly zjištěny ve variantě minerálního hnojení /NPK/, nejvyšší ve variantách statkových hnojiv (Hnůj, Kejda). Obsah uhlíku /Cox/ se pohyboval od 1,8 do 2,4 %. Nejnižší obsah Cox byl stanoven ve variantě NPK a Digestát, naopak nejvyšší ve variantách Hnůj a nehnojená Kontrola. Výsledky potvrdily smysluplnost 4sečného obhospodařování TTP a hnojení statkovými hnojivy (hnůj, kejda) z pohledu ekologické stability, jako předpokladu udržitelnosti a hospodářské jistoty současné zemědělské výroby v důsledku měnících se podmínek prostředí.

Klíčová slova: travní porosty, dusíkaté látky, stravitelnost organické hmoty, kvalita a zdraví půdy, multikriteriální hodnocení

Abstract

Permanent grasslands (PGs) are an important source of biomass in the production of forage and as a source of biomass for biogas plants. The study aimed to evaluate the effect of fertilization with manure, organic and mineral fertilizers (NPK) on yield characteristics, forage and soil quality in PGs in the area of Malá Haná (Boskovice furrow) with 4-cuts per season. Between the years 2016 and 2019, the total dry matter biomass production ranged from 7.36 to 8.53 t ha^{-1} in fertilized treatments, while the mean production in the unfertilized Control was 4.21 t ha^{-1}. The crude protein (CP) in the 1st cut ranged from 132 to 150 g kg^{-1} of dry matter in fertilized treatments, while the CP in the Control was 137 g kg^{-1}. The digestibility of organic matter (OMD) reached a maximum in the 1st and 4th cuts (70-73%) in all evaluated treatments. The lowest pH values (KCl) were found in the NPK treatment, while the highest in the organic manure treatments (Farmyard manure, Slurry). The carbon content (Cox) ranged from 1.8 to 2.4%. The lowest Cox content was recorded in the NPK and Digestate treatments, while the highest was in the Manure and unfertilized Control treatments. From the point of view of ecological stability as a prerequisite for sustainability and economic security of current agricultural production due to changing environmental conditions, the results confirmed the meaningfulness of 4-cuts PGs management and application of organic manures (farmyard manure, slurry).

Key words: grasslands, crude protein, organic matter digestibility, soil quality and health, multicriteria evaluation

Úvod

Trvalé travní porosty (TTP) jsou významným zdrojem biomasy ve výrobě objemné píce (Lemaire et al. 2011; Bellocchi, Chabbi 2020). Výzkum problematiky managementu obhospodařování TTP, které by zajistily zachování jejich produkčních a mimoprodukčních funkcí je i s odstupem 30. let po výrazných změnách v zemědělské prvovýrobě ČR stále potřebný a aktuální (Dindová et al. 2019; Menšík, Nerušil 2019; Pavlů et al. 2021). Produkční význam TTP spočívá v tom, že při správně načasované sklizni poskytují důležitý zdroj kvalitního objemného glycido-bílkovinného krmiva (kvalita píce je založena na vysoké stravitelnosti, koncentraci živin a jejich vzájemném poměru) pro hospodářská zvířata (Givens et al. 2000; Lemaire, Belanger 2020). V posledním desetiletí nachází vyprodukovaná (konzervovaná) píce TP své potenciální využití rovněž jako velmi kvalitní substrát pro bioplynové stanice (BPS) náhradou za kukuřici setou (Jurka et al. 2014). Hodnocení kvality a zdraví půdy pod TTP ve vztahu k různým typům hojení (minerální, statkové, organické) je v současné době stále více věnována pozornost zejména ve vztahu k otázce biogeochemických koloběhů prvků a látek (Karabcová et al. 2015; Pospíšilová et al. 2018; Lei et al. 2020; Cybulak et al. 2021; Raiesi 2021; Vinci et al. 2021 aj.)

Cílem studie je vyhodnotit vliv hnojení statkovými (hnůj, kejda), organickými (digestát) a minerálními (NPK) hnojivy na výnosové charakteristiky, kvalitu píce (NL, NEL, OMD) a půdní vlastnosti (pH, obsah uhlíku, dusíku a přístupné živiny) v TTP se 4. sečným využitím.

Materiál a metody

Výzkum probíhal v dlouhodobém pokusu na TTP /JFE/ (49.6282881N, 16.7317036E; VÚRV, v.v.i., VS Jevíčko) založeném v roce 2004 v nadmořské výšce 342 m n. m., s průměrnou roční teplotou 7,4°C /vegetační období 13,4 °C/ a průměrnými ročními srážkami 545 mm /vegetační období 347 mm/ (klimatologická stanice ČHMÚ Ostrava v Jevíčku /1966-1995/, Nerušil 2008). Půdním typem výzkumných ploch je hnědozem modální /HNm/ (Němeček et al. 2011) a geologickým podkladem území jsou horniny permokarbonu Českého masivu (Demek et al. 2006). Botanické složení TTP při založení experimentu: Luční porost - porostový typ ovsíkový (*Arrhenatheretum*), dominantní travní druhy - ovsík vyvýšený, srha laločnatá, psárka luční, lipnice luční, kostřava červená (Nerušil 2008). Varianty pokusu: (1) kontrola bez hnojení /Kontrola/; (2) minerální hnojení /NPK/; (3) hnůj + močůvka /Hnůj/; (4) kejda skotu /Kejda/; (5) digestát /Digestát/. Velikost pokusných parcel TTP: 8 × 1,25 m = 10 m^2, 4 opakování v každé variantě. Způsob obhospodařování - 4sečné využití /intenzivní/ (termíny sečí: 15.5.; 30.6.; 15.8.; 30.9. - nárůst 45 dní). Dávky minerálních a statkových hnojiv při modelovém zatížení TTP skotem 2,0 $DJ.ha^{-1}$ (120 kg N) uvádí tab. 1 (Komárek et al. 2005; Menšík, Nerušil 2019). Sklizeň provedena maloparcelovým sklízečem píce MPZ-115.

Tab. 1: Dávky minerálních, statkových hnojiv a termíny aplikací.

Varianta	Minerální hnojení						Chlévský hnůj	Močůvka	Hovězí kejda / Digestát	
	N				P	K				
	kg.ha^{-1} č. ž.						t.ha^{-1}			
	Jaro	po I. s.	po II. s.	po III. s.	Jaro	Jaro	Podzim	po I. s.	Jaro	po I. s.
Kontrola										
NPK	40	30	30	20	30	60	-	-	-	-
Hnůj	-	-	-	-	-	-	21,9	8,2	-	-
Kejda	-	-	-	-	-	-	-	-	14,5	14,5
Digestát									14,5	14,5

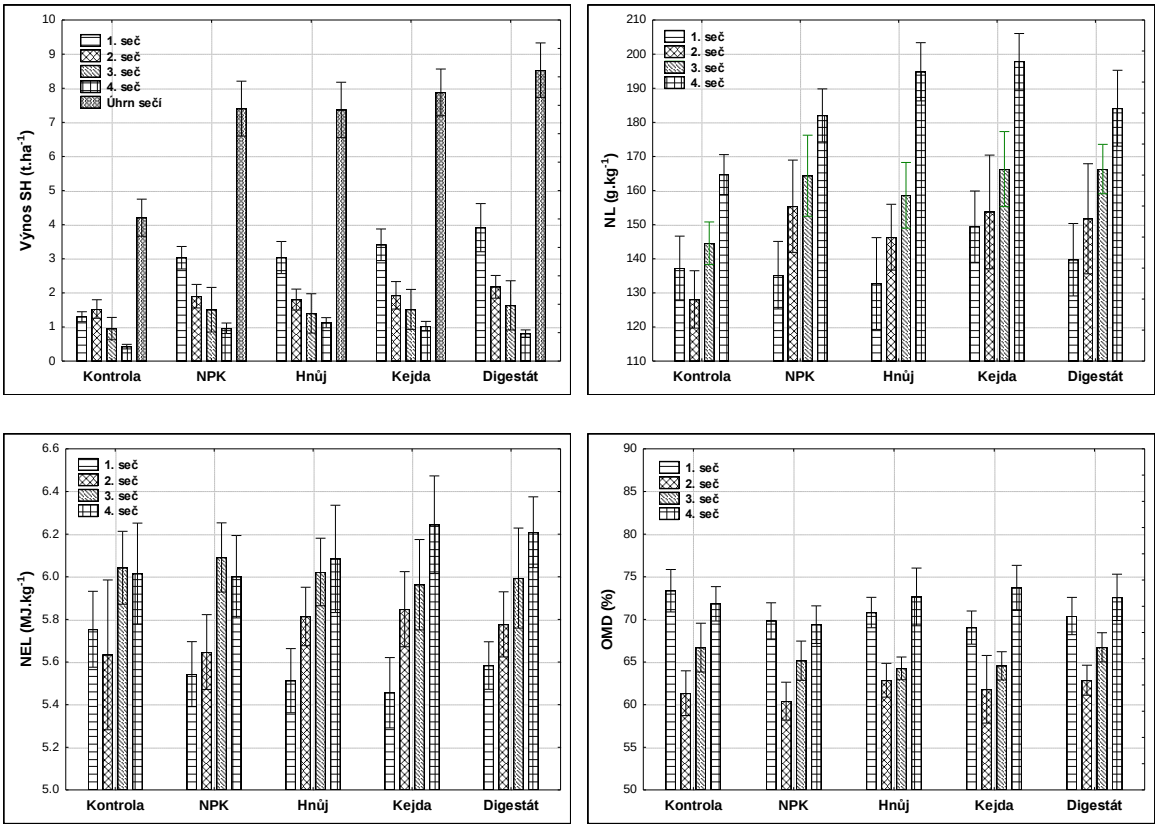
Pozn.: *Skutečné dávky statkových hnojiv byly stanoveny na základě obsahu živin v hnojivu v daném roce.*

Produkce sušiny v období 2016–2019 byla stanovena na základě výnosu zelené hmoty a laboratorně stanovené sušiny píce. Kvalita píce v období 2016–2019 byla měřena s využitím techniky NIRS (spektrometr FOSS NIRSystem 6500): dusíkaté látky (NL), netto energie laktace /NEL/, stravitelnost organické hmoty /OMD/. Půdní reakce byla stanovena potenciometrickou metodou (inoLab pH 730, WTW, Německo). Obsah Cox v půdě (horizont Ad) byl analyzován kolorimetricky podle Sims, Haby (1971). Obsah Ntot byl stanoven Kjeldahlovou metodou (Kirk 1950). Obsah přístupných živin (P, K) byl stanoven ve výluhu dle Mehlich III (Mehlich 1984) na analyzátoru ICP-OES (Thermo Scientific iCAP 7400 Duo, Thermo Fisher Scientific, Cambridge, UK). Statistické analýzy včetně grafických výstupů byly provedeny v programu STATISTICA verze 14.0. K hodnocení bylo využito průzkumové analýzy vícerozměrných dat /EDA/, ANOVY (HSD test), analýzy hlavních komponent /PCA/ (Meloun et al. 2012). Statistická průkaznost byla testována na hladině významnosti P = 0,05.

Výsledky

Produkce a kvalita píce

Produkce sušiny v intenzivním 4sečném využití travního porostu v modelovém zatížení 2 DJ.ha^{-1} bylo v průměru 4 sklizňových let 2016–2019 dosaženo v úhrnu sečí hnojených variant 7,36–8,53 t.ha^{-1} sušiny, což byl statisticky významně vyšší výnos oproti nehnojené Kontrole (4,21 t.ha^{-1}). Z variant hnojení byla nejnižší produkce dosažena u hnojení chlévským hnojem, následovaná minerálním hnojením NPK (7,40 t.ha^{-1} sušiny) a kejdou (7,88 t.ha^{-1}). Naopak nejvyšší produkce bylo dosaženo u varianty s digestátem (dvojnásobek výnosu nehnojené kontroly). Mezi hodnocenými variantami hnojení nebyly u 4sečného využití porostu zjištěny významné rozdíly viz obr 1.



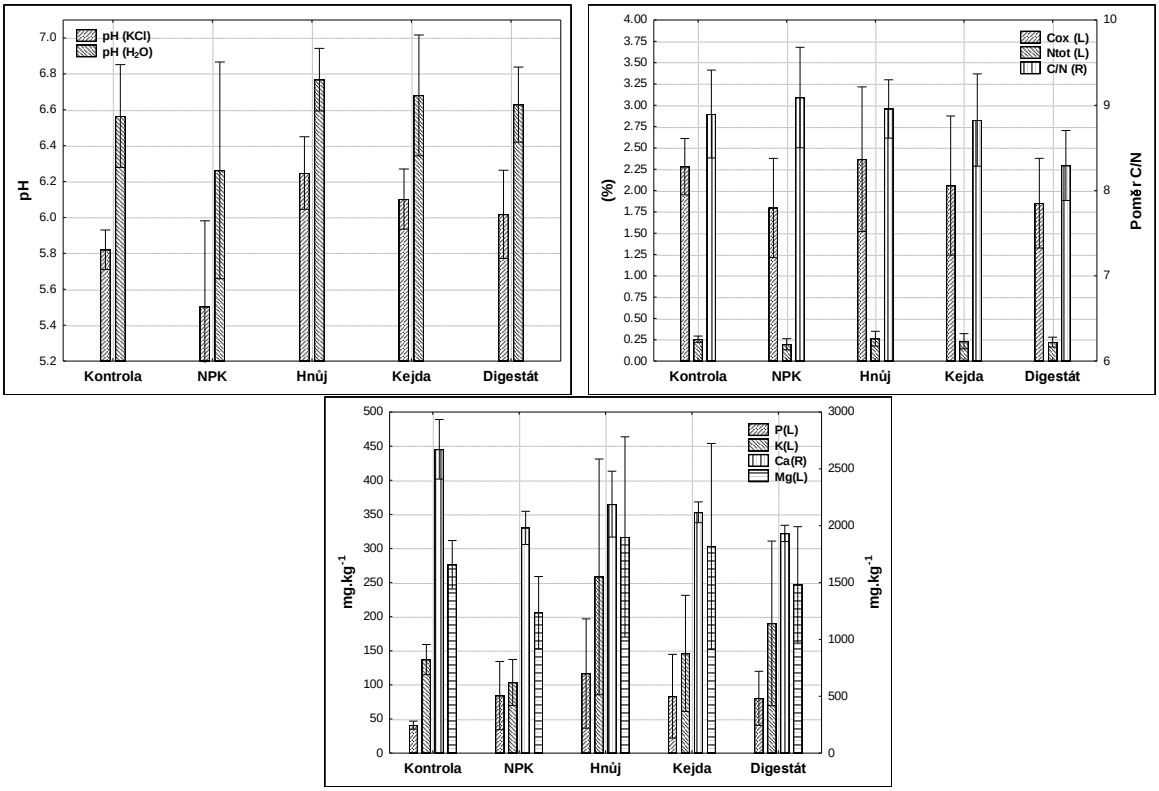
Obr. 1: Průměrný výnos a kvalita píce (NL, NEL a OMD) v období 2016–2019 u 4sečného obhospodařování TTP

Častěji sklízená píce 4sečně využívaného travního porostu s termínem 1. seče v polovině května a dalšími nárůsty v délce 45 dní je charakteristická velmi dobrou krmnou hodnotou a nadprůměrně vysokou koncentrací živin. Kvalita píce se směrem od 1. k 4. seči postupně zvyšovala. Zatím co obsah NL v píci nehnojeného travního porostu se pohyboval v rozpětí od 137,3 g.kg^{-1} suš. (1. seč) až po 164,7 g.kg^{-1} ve 4. seči, v případě hnojených variant překračoval ve většině případů hodnotu 160 g.kg^{-1} již ve 3. seči (viz obr. 1). Ve 4. seči se hodnoty obsahu NL píci hnojených variant nacházely v rozpětí 180–190 g.kg^{-1} sušiny. Obdobný trend nárůstu hodnot ve směru od 1. k 4. seči lze pozorovat rovněž u parametru NEL. Odlišný průběh od předchozích parametrů vykazuje stravitelnost organické hmoty (OMD), která dosahovala u všech hodnocených variant maxima v 1. a 4. seči a pohybovala se v rozpětí 70–73 % (obr. 1). Ve 3. seči došlo k poklesu na 64–66 % a nejnižší hodnoty byly zjištěny ve 2. seči (60–63 %).

Půda

Nejnižší hodnoty pH (KCl) - 5,5 byly zjištěny ve variantě minerálního hnojení /NPK/ (statisticky významný rozdíl oproti Kontrole i variantám statkového /Hnůj, Kejda/ i organického /Digestát/ hnojení). Naopak nejvyšší pH bylo zaznamenáno ve variantách statkového hnojení (Hnůj, Kejda), kde se pohybovalo v rozmezí hodnot 6,10–6,25 (statisticky významný rozdíl oproti Kontrole i variantě NPK). Nepatrně nižší pH bylo zaznamenáno ve variantě Digestát (6,0) oproti variantám Hnůj a Kejda (zaznamenán statisticky významný rozdíl mezi variantou NPK a Digestátem). Obsah uhlíku (Cox) se pohyboval od 1,8 do 2,4 %. Nejnižší obsah Cox byl zaznamenán u varianty NPK a Digestát, naopak nejvyšší obsah Cox byl zjištěn u varianty Hnůj a nehnojená Kontrola. Obsah dusíku (Ntot) se pohyboval v rozpětí od 0,19 do 0,26 %. Nejnižší obsah Ntot byl zaznamenán ve variantě NPK, nejvyšší byl zjištěn ve variantě

Hnůj a nehnojená Kontrola (mezi jednotlivými variantami hnojení a Kontrolou nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl). Nejnižší poměr C/N byl zjištěn ve variantě Digestát (zaznamenán statisticky významný rozdíl oproti všem ostatním variantám včetně Kontroly) viz obr. 2.



Obr. 2: Průměrné hodnoty pH, obsahu uhlíku, dusíku, poměr C/N a přístupné živiny (P, K, Ca, Mg) v období 2016–2019 u 4sečného obhospodařování TTP

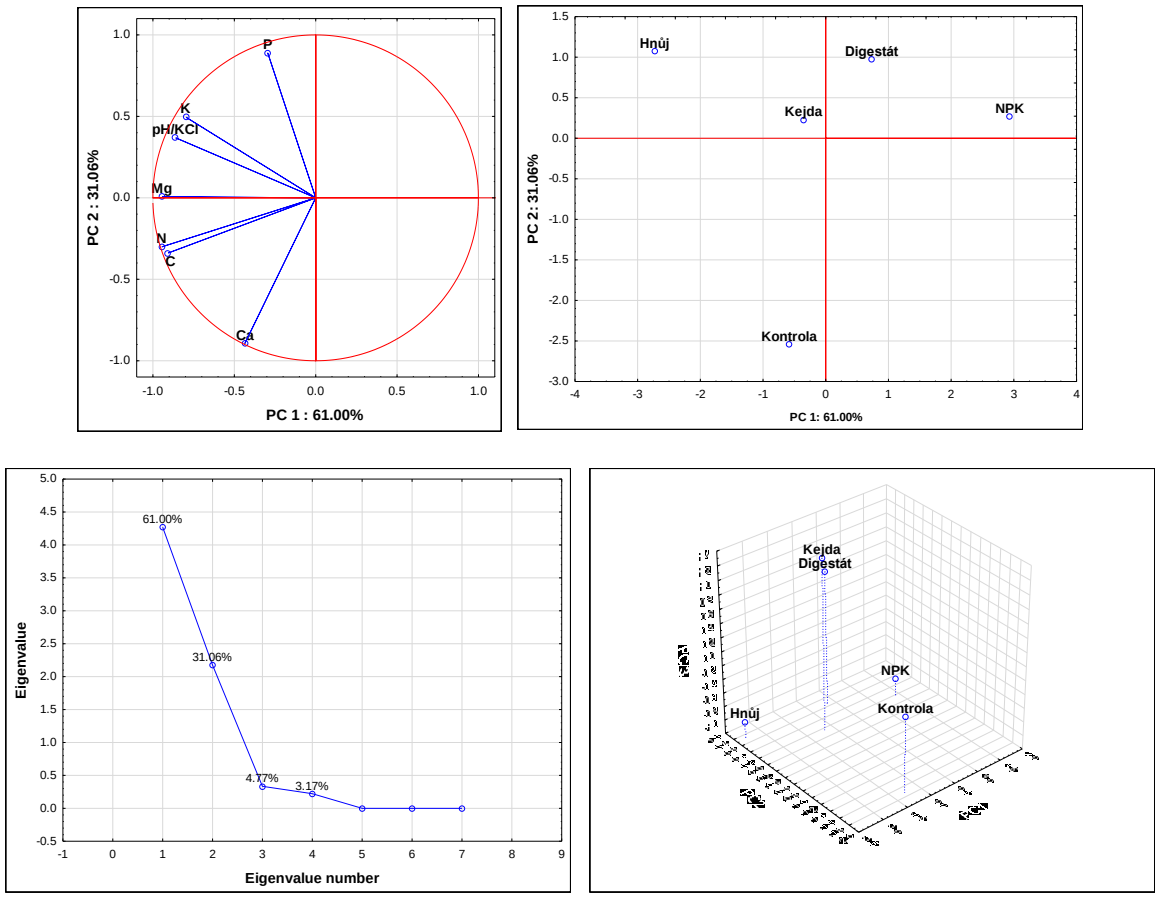
Nejnižší obsah P byl stanoven ve variantě nehnojená Kontrola (41 a 103 mg.kg^{-1}). Nejvyšší obsahy P byl zaznamenán ve variantě Hnůj /116 mg.kg^{-1}/ (statisticky významný rozdíl). Nejnižší obsah K byl stanoven u varianty NPK /103 mg.kg^{-1}/ (statisticky významný rozdíl mezi variantou Hnůj a variantami Kontrola, NPK, Kejda). Nejvyšší obsah K byl stanoven ve variantě Hnůj (258 mg.kg^{-1}). Nižší obsahy byly zaznamenány ve variantách hnojení Kejda, Digestát a u nehnojené kontroly. Nejnižší obsahy Ca, resp. Mg byly stanoveny ve variantě NPK (1980 mg.kg^{-1} Ca, resp. 206 mg.kg^{-1} Mg) a Digestát (1933 mg.kg^{-1} Ca, resp. 246 mg.kg^{-1} Mg). Nejvyšší obsah Ca byl zaznamenán ve variantě nehnojená Kontrola (2672 mg.kg^{-1}). U obsahu Mg byl nejvyšší obsah stanoven ve variantě Hnůj (317 mg.kg^{-1}). Varianta Kejda se svými hodnotami obsahu Ca, Mg je blízká variantě Hnůj.

Půda - multikriteriální hodnocení

Na grafu vlastních čísel (obr. 3, vlevo dole) a dále v komponetních vah jsou významné první dvě osy, které dohromady vyčerpávají cca 86 % variability. Osa PC1 charakterizuje jednoznačně obsah C, N a Mg, které jdou přímo podél této osy a jsou s ní korelované na úrovní přesahující hodnotu 0,90 (vysoká korelace), a dále obsah pH a K, které jsou s ní korelované přesahující hodnotu 0,79. Na ose PC2 je výrazná korelace s P a Ca (r = 0,89 a -0,89).

V rozptylovém diagramu komponentního skóre (obr. 3, vpravo nahoře) jsou podél osy PC1 jednoznačně umístěny jak varianty hnojení. Nehnojená Kontrola se významně diferencovala

oproti hnojeným variantám. Významně se vyčlenila varianta Hnůj (nejvyšší obsah C, N, P, K, a Mg a dále i nejvyšší pH z hnojených variant) oproti všem ostatním hnojeným variantám. Dále se významně odlišila varianta NPK (nejnižší obsahy Cox, Ntot, Mg a nejnižší pH). Varianta Kejda (pH, obsah C, N a přístupných živin Ca, Mg - blížící se variantě Hnůj). Varianta Digestát (nižší pH, významnější pokles obsahu C a dále Ca i Mg).



Obr. 3: Analýza PCA parametrů výnosových charakteristik, kvality píce a půdy (horizont Ad) u variant 4sečného obhospodařování TTP

Diskuze

ntenzivní (4sečné) využití TTP s modelovým zatížením pastviny 2,0 DJ.ha^{-1} zajistí srovnatelné množství píce jako 3sečné i 2sečného využití se zatížením 1,4 a 0,9 DJ.ha^{-1} (Nerušil 2008; Menšík, Nerušil 2019), ale s významně vyšší dosaženou kvalitou píce (NL, OMD, NEL) viz obr. 1. Včasná sklizeň, provedená za příznivých podmínek v optimální fenofázi v porostu dominujících hodnotných druhů trav poskytuje krmivo s vysokou kvalitou píce (Dindová et al. 2019) a umožňuje tak zvířeti zkrmovat jeho větší množství při nižší spotřebě koncentrátů (Míka et al. 1997; Givens et al. 2000; Lemaire, Belanger 2020). U krmiva z TTP s vysokou krmnou hodnotou a stravitelností lze také očekávat zvýšený dobrovolný příjem zvířaty, což má pozitivní vliv zejména na celkovou bilanci příjmu sušiny, plnivost bachoru, podíl strukturální vlákniny, stimulaci bachorové mikroflory apod. (Gruber et al. 2002).

Půda je významným přírodním zdrojem pro výrobu krmiv, potravin ale i energie. Produkční schopnosti půdy jsou přímo závislé na stavu fyzikálních, chemických a biologických vlastnostech, které jsou prostorově a časově proměnné (Amin et al. 2020). Zejména půdní

organická hmota resp. organický uhlík (Cox) jsou klíčovými parametry při hodnocení kvality, resp. úrodnosti půdy (Lorenz and Lal 2018). Obsah uhlíku (Cox) byl stanoven od 1,8 do 2,4 %. Nejnižší obsah Cox byl ve variantě NPK (1,79) a Digestát (1,85), naopak nejvyšší obsah Cox byl zjištěn u varianty Hnůj (2,36) a nehnojená Kontrola (2,27). Způsob hnojení má významný vliv na obsah Cox, Ntot, ale i pH v půdě (Křivánková et al. 2017; Menšík et al. 2018). Prokazuje se, že při hnojení pouze minerálními hnojivy (NPK), dochází k významné acidifikaci půdního prostředí (Wang et al. 2018; Zhang, Yang, et al. 2018; Shi et al. 2019; Xiang et al. 2020; Nobile et al. 2020 aj.) a tím i poklesu obsahu uhlíku, dusíku i přístupných živin nejnižší obsahy Cox, Ntot, Mg a nejnižší pH byly prokázány ve variantě NPK viz multikriteriální hodnocení /obr. 3/). Naopak významně se diferencovala varianta statkového hnojení Hnůj (nejvyšší obsah C, N, P, K, a Mg a dále i nejvyšší pH z hnojených variant) oproti všem ostatním variantám hnojení i nehnojené kontrole. Při dlouhodobé aplikaci statkových hnojiv (hnůj) je ve většině případů ve světové literatuře potvrzena vyšší kvalita humusu (Maltas et al., 2018; Poeplau et al. 2018; Fornara et al. 2018 aj.).

Závěr

Studie hodnotila vliv hnojení statkovými, organickými a minerálními hnojivy na výnosové charakteristiky, kvalitu píce a stav půdy v TTP v oblasti Malé Hané (Boskovická brázda) se 4sečným využitím v období 2016–2019.

Průměrná produkce sušiny (úhrn sečí) byla stanovena u hnojených variant ve výši 7,36–8,53 $t.ha^{-1}$ sušiny (statisticky významně vyšší výnos oproti nehnojené Kontrole /4,21 $t.ha^{-1}$/).
Průměrný obsah NL byl stanoven v 1. seči ve variantě Kontrola 137 $g.kg^{-1}$ suš. a v hnojených variantách se obsah NL pohyboval od 132 do 150 $g.kg^{-1}$ suš., ve 4. seči se hodnoty obsahu NL píci hnojených variant nacházely v rozpětí 180–190 $g.kg^{-1}$ sušiny. NEL se pohybovala od 5,5 do 6,2. Stravitelnost organické hmoty (OMD) dosahovala u všech hodnocených variant maxima v 1. a 4. seči a pohybovala se v rozpětí 70–73 %, ve 3. seči došlo k poklesu na 64–66 % a nejnižší hodnoty byly zjištěny ve 2. seči (60–63 %).

Výsledky multikriteriálního hodnocení stavu půdy (vícerozměrná analýza PCA) významně diferencovala (v hodnocených parametrech pH, Cox, Ntot, P, K, Ca, Mg) tři kategorie: (1) **hnojení statkovými hnojivy (Hnůj) -** nejvyšší obsah Cox, Ntot, P, K, a Mg a dále i nejvyšší pH, vysoká úrodnost půdy; (2) **hnojení statkovými hnojivy (Kejda) -** dlouhodobě udržitelné hospodaření s půdní organickou hmotou, vyšší obsah přístupných živin apod.; (3) **hnojení organickými hnojivy (digestát)** - nižší úrodnost půdy (pokles pH, významnější pokles obsahu C a dále Ca i Mg); (4) **hnojení minerálními hnojivy /NPK/**: nízká úrodnost půdy (významný pokles pH půdy, nízký obsah uhlíku i dusíku, nižší obsah P a nízký obsah K apod.).

Výsledky potvrdily smysluplnost vícesečného obhospodařování TTP a hnojení statkovými (hnůj, kejda), z pohledu ekologické stability, jako předpokladu udržitelnosti a hospodářské jistoty současné zemědělské výroby v důsledku měnících se podmínek prostředí.

Poděkování

Příspěvek byl vypracován s podporou projektu MZe ČR - RO0418 (VZ07 a Interní grant na podporu mladých vědeckých pracovníků – *„Vliv minerálních, statkových a organických hnojiv na stabilní složku SOM /HK, FK/ v půdě pod TTP při intenzivním využívání /4 seče/rok/“*) a dále projektu NAZV QK1810010.

Literatura

Amin, I., Fikrat, F., Mammadov, E., Babayev, M. 2020. Soil Organic Carbon Prediction by Vis-NIR Spectroscopy: Case Study the Kur-Aras Plain, Azerbaijan. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 51, 726–734, doi:10.1080/00103624.2020.1729367.

Bellocchi, G., Chabbi 2020. Grassland management for sustainable agroecosystems. Agronomy 10, 3–7. doi:10.3390/agronomy10010078

Cybulak, M., Sokołowska, Z., Boguta, P. 2021. The influence of biochar on the content of carbon and the chemical transformations of fallow and grassland humic acids. Scientific Reports 11, 1–14. doi:10.1038/s41598-021-85239-w

Demek J., Mackovčin P. (eds.) et al. 2006. Hory a nížiny: Zeměpisný lexikon ČR. Vydání II. Brno, AOPK ČR. 582 s., 1 CD. ISBN 80-86064-99-9.

Dindová, A., Hakl, J., Hrevušová, Z., Nerušil, P. 2019. Relationships between long-term fertilization management and forage nutritive value in grasslands. Agriculture, Ecosystems and Environment 279, 139–148. doi:10.1016/j.agee.2019.01.011

Fornara, D.A., Wasson, E.-A., Christie, P., & Watson, C.J. 2016. Long- term nutrient fertilization and the carbon balance of permanent grass- land: Any evidence for sustainable intensification? Biogeosciences, 13, 4975–4984. https://doi.org/10.5194/bg-13-4975-2016

Givens, D.I., Owen, E., Axford, R.F.E., Omed, H.M. /Eds./ 2000. Forage evaluation in ruminant nutrition. Wallingford, U.K., CABI. 496 pp.

Gruber, L., Steinwidder, A., Greimel, M. 2002. Vliv obhospodařování travních porostů na výnos, krmnou hodnotu, produkci mléka a koloběh živin. In. Chov a šlechtění skotu pro konkurenceschopnou výrobu a obhospodařování drnového fondu. Rapotín, VÚCHS: 62–68.

Jurka, M., Kohoutek, A., Nerušil, P. 2014. Konverze vsázky z TTP bioplynovou stanicí s prizmatickými fermentory. In: Pozdíšek, J. & Kohoutek, A. (eds.). Reintenzifikace travních porostů - základ výroby kvalitní píce pro živočišnou výrobu a vsázku do BPS. Výzkumný ústav pro chov skotu, s.r.o., Rapotín. pp. 70–74.

Karabcová, H., Pospíšilová, L., Fiala, K., Škarpa, P., Bjelková, M. 2015. Effect of organic fertilizers on soil organic carbon and risk trace elements content in soil under permanent Grassland. Soil and Water Research 10, 228–235. doi:10.17221/5/2015-SWR

Kirk, P.L. 1950. Kjeldahl Method for Total Nitrogen. Analytical Chemistry 22:354–358.

Komárek, P. et al. 2005. Produkce a kvality píce travních porostů v závislosti na zatížení skotem a frekvenci sečení. In Kvalita píce z travních porostů. VÚRV Praha, s. 175–182.

Křivánková, Z., Nerušil, P., Menšík, L. 2017. Vliv hnojení TTP statkovými a minerálními hnojivy na výnos kvalitu, botanické složení a půdu. Úroda 65(12): 421–424, vědecká příloha.

Lei, T., Feng, J., Zheng, C., Li, S., Wang, Y., Wu, Z., Lu, J., Kan, G., Shao, C., Jia, J., Cheng, H. 2020. Review of drought impacts on carbon cycling in grassland ecosystems. Frontiers of Earth Science, 17.

Lemaire, G., Belanger, G. 2020. Allometries in plants as drivers of forage nutritive value: A review. Agriculture (Switzerland), 10.

Lemaire, G., Hodgson, J., Chabbi, A. editors 2011. Grassland productivity and ecosystem services. CABI, Wallingford, UK. 312 p.

Lorenz, K., Lal, R. 2018. Carbon Sequestration in Agricultural Ecosystems; 1st ed.; Springer International Publishing, Springer Science+Business Media B.V., part of Springer Nature. ISBN 978-3-319-92317-8.

Maltas, A., Kebli, H., Oberholzer, H.R., Weisskopf, P., Sinaj, S. 2018. The effects of organic and mineral fertilizers on carbon sequestration, soil properties, and crop yields from a long-term field experiment under a Swiss conventional farming system. Land Degradation and Development, 29, 926–938, doi:10.1002/ldr.2913.

Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. Communications in Soil Science and Plant Analysis 15:1409–1416.

Meloun, M., Militký, J., Hill, M. 2012. Počítačová analýza vícerozměrných dat v příkladech. Academia Praha, 760 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. Journal of Soils and Sediments 18:2813–2822.

Menšík, L., Nerušil, P. 2019. Produkční, kvalitativní a porostové změny trvalého lučního společenstva ve vztahu k intenzitě využívání a úrovni hnojení v oblasti Malé Hané. Pořadí vydání: první. [Praha]: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., 100 s. ISBN 978-80-7427-319-3

Míka V. et al. 1997. Kvalita píce. Praha, ÚZPI. 227 s.

Nerušil, P. 2008: Produkční, kvalitativní a porostové změny trvalého lučního společenstva ve vztahu k intenzitě využívání a úrovni hnojení. Disertační práce. Mendelova univerzita v Brně, 141 s.

Němeček, J. et al. 2011. Taxonomický klasifikační systém půd. ČZU v Praze, Praha, 93 s.

Nobile, C.M., Bravin, M.N., Becquer, T., Paillat, J. 2020. Chemosphere Phosphorus sorption and availability in an andosol after a decade of organic or mineral fertilizer applications : Importance of pH and organic carbon modi fi cations in soil as compared to phosphorus accumulation. Chemosphere, 239, 124709, doi:10.1016/j.chemosphere.2019.124709.

Pavlu, K., Kassahun, T., Pavlu, V.V., Pavlu, L., Blazek, P., Homolka, P. 2021. The effects of first defoliation and previous management intensity on forage quality of a semi-natural species-rich grassland. PLoS ONE, 16, 1–15, doi:10.1371/journal.pone.0248804.

Pospíšilová, L., Hábová, M., Vlček, V., Jandák, J., Menšík, L., Barančíková, G. 2018. Carbon Dynamic aft er Conversion of Permanent Grassland into Arable Soil. Agriculturae Conspectus Scientificus 83, 25–30.

Raiesi, F. 2021. The quantity and quality of soil organic matter and humic substances following dry-farming and subsequent restoration in an upland pasture. Catena 202, 105249. doi:10.1016/j.catena.2021.105249

Shi, R., Liu, Z., Li, Y., Jiang, T., Xu, M., Li, J., Xu, R. 2019. Mechanisms for increasing soil resistance to acidification by long-term manure application. Soil and Tillage Research, 185, 77–84, doi:10.1016/j.still.2018.09.004.

Sims. J.R., Haby. V.A. 1971. Simplified colorimetric determination of soil organic matter. Soil Science 112:137–141.

STATISTICA verze 14.0 (Stat-Soft Inc., Tulsa USA, StatSoft ČR s.r.o. 2021).

Vinci, G., Cangemi, S., Bridoux, M., Spaccini, R., Piccolo A. 2021. Molecular properties of the Humeome of two calcareous grassland soils as revealed by GC/qTOF-MS and NMR spectroscopy. Chemosphere 279, 130518. doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130518

Wang, R., Zhang, Y., He, P., Yin, J., Yang, J., Liu, H., Cai, J., Shi, Z., Feng, X., Dijkstra, F. A., Han, X., Jiang, Y. 2018. Intensity and frequency of nitrogen addition alter soil chemical properties depending on mowing management in a temperate steppe. Journal of Environmental Management, 224, 77–86. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.07.036

Xiang, X., Liu, J., Zhang, J., Li, D., Xu, C., Kuzyakov, Y., 2020. Divergence in fungal abundance and community structure between soils under long-term mineral and organic fertilization. Soil & Tillage Research 196, 104491. doi:10.1016/j.still.2019.104491

Zhang, C.-J., Yang, Z.-L., Shen, J.-P., Sun, Y.-F., Wang, J.-T., Han, H.-Y., Wan, S.-Q., Zhang, L.-M., & He, J.-Z. 2018. Impacts of long-term nitrogen addition, watering and mowing on ammonia oxidizers, denitrifiers and plant communities in a temperate steppe. Applied Soil Ecology, 130, 241–250. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2018.06.017

Kontaktní adresa:

Ing. Ladislav Menšík, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.,
Odbor systémů hospodaření na půdě, Obhospodařování a využívání trvalých travních porostů, VS Jevíčko, K. H. Borovského 461, 569 43 Jevíčko
Email: ladislav.mensik@vurv.cz, Tel.: +420 461 327 814

Porovnání produkce nadzemní biomasy vybraných odrůd čiroku

Comparison of aboveground biomass production of selected varieties of sorghum

Porčová L.[1], Rábek M.[1], Smutný V.[1], Elzner P.[2]

[1]*Mendelova univerzita v Brně, Ústav agrosystémů a bioklimatologie*
[2]*Mendelova univerzita v Brně, Ústav pěstování, šlechtění rostlin a rostlinolékařství*

Abstrakt

V posledních letech se častěji setkáváme s nezvykle vysokými teplotami a zároveň nižším úhrnem srážek. V návaznosti na změnu klimatu dochází k poklesu výnosů silážní kukuřice, proto je zapotřebí hledat nové způsoby, jak zajistit dostatek objemných krmiv pro skot. Jednou z perspektivních možností je pěstování čiroku. Tato práce je zaměřena na vyhodnocení výnosové úrovně nadzemní biomasy šestnácti různých odrůd čiroku v porovnání se silážní kukuřicí (hybrid SY Orpheus). V roce 2019 dosáhla kukuřice na sledovaných stanovištích průměrného výnosu suché hmoty 11,81 t.ha^{-1}, čiroky dosáhly průměrného výnosu 13,98 t.ha^{-1}. Stejný nebo vyšší výnos suché hmoty dosáhlo celkem 12 odrůd čiroku. Ve srážkově bohatším roce 2020 byl výnos suché hmoty u kukuřice 22,29 t.ha^{-1}, u čiroku 15,59 t.ha^{-1}. Srovnatelný výnos s kukuřicí byl zaznamenán jen u jedné odrůdy čiroku.
Klíčová slova: čirok, kukuřice, výnos nadzemní biomasy, suchá oblast ČR

Abstract

Unusually high temperatures and at the same time lower total precipitation have occurred more and more often in recent years. The yield of silage corn decreases with climate change. Therefore, new ways are being looking for to ensure sufficient forage for cattle. One of the promising options is growing sorghum. This work is focused on the evaluation of the yield level of aboveground biomass of sixteen different varieties of sorghum in comparison with silage corn (SY Orpheus). Silage maize reached an average yield of dry matter of 11.81 t ha^{-1} at the monitored sites in 2019; sorghum reached an average yield of 13.98 t ha^{-1}. A total of 12 varieties of sorghum achieved the same or higher yield of dry matter. In the moister year 2020, the yield of dry matter of corn was 22.29 t ha^{-1}, for sorghum 15.59 t ha^{-1}. A comparable yield was recorded for only one variety of sorghum.
Keywords: sorghum, silage maize, above ground biomass, dry area of Czech Republic

Úvod

Se změnou klimatu se dostává do popředí pěstování plodin, které mají nižší náročnost na spotřebu vody a přitom poskytují uspokojivé výnosy. Čirok je historicky jednou z nejdéle pěstovaných plodin (Taylor, 2019). Považuje se za nenáročnou rostlinu, která se vyznačuje svou plasticitou. Na rozdíl od mnoha tradičně pěstovaných objemných krmiv má čirok nejnižší spotřebu vody na kilogram přírůstku sušiny (Pištínek, 2015). Díky mohutnému kořenovému systému a lepšímu hospodaření s vláhou je možné čirok pěstovat i na mělkých písčitých půdách s nedostatkem vláhy. Podobně jako kukuřice, využívá C4 metabolizmus a má pomalejší počáteční růst. Po tomto období však dochází ke zrychlování růstu, který je v porovnání s kukuřicí intenzivnější. Čirok se tak vyznačuje vysokým potenciálem produkce suché hmoty (cca 20 t.ha^{-1}). Proto může, především v oblastech s periodicky se vyskytujícím nedostatkem srážek, částečně nahradit pěstování kukuřice, která v důsledku sucha nedosahuje úrovně požadovaných výnosů nadzemní biomasy. Tento příspěvek hodnotí výnos suché hmoty různých

odrůd čiroku pěstovaných na pozemcích Polní pokusné stanice Žabčice, které se nachází ve velmi suché a teplé klimatické oblasti jižní Moravy.

Materiál a metody

Charakteristika zájmové oblasti

Zájmová oblast leží v oblasti jižní Moravy, v okrese Brno-venkov. Areál spadá do Dyjsko-svrateckého úvalu. Z pohledu zemědělské produkce se jedná o kukuřičnou výrobní oblast, s typickým vnitrozemským klimatem. Průměrný roční úhrn srážek je přibližně 491 mm, průměrná roční teplota činí 10,3 °C. Suchost klimatu zvyšují větry, které způsobují velký výpar půdní vláhy. Do oblasti zasahuje srážkový stín, hodnota Langova dešťového indexu je cca 52, což řadí pokusnou lokalitu k nejsušším oblastem v ČR. Pozemky jsou rovinatého charakteru, neohrožené vodní erozí, s nadmořskou výškou cca 190 m n. m.

Charakteristika stanovišť

Pro porovnání výnosu nadzemní biomasy, resp. suché hmoty různých odrůd čiroku byly v letech 2019 a 2020 založeny maloparcelní polní pokusy na dvou stanovištích, na lokalitě Nosislav a Unkovice.

Stanoviště Nosislav (GPS souřadnice pokusu 49°01'28.7"N, 16°37'07.8"E) se vyznačuje dobrou dostupností podzemní vody, z pedologického hlediska se jedná o půdní typ fluvizem glejová (vzniklá z nivních sedimentů řeky Svratky), půda je jílovito-hlinitá. V roce 2019 byla předplodinou pšenice ozimá, v roce 2020 ječmen ozimý.

Stanoviště Unkovice (GPS souřadnice pokusu 49°01'13.0"N, 16°35'28.2"E) je sušší, reprezentované lehkou písčitou půdou na štěrkopískovém podloží. V roce 2019 i 2020 byla předplodinou pšenice ozimá.

V obou sledovaných letech byla na obou stanovištích po sklizni předplodin provedena podmítka talířovým podmítačem, následovaná středně hlubokou orbou v podzimním období. V jarním období byla provedena vícenásobná předseťová příprava pomocí smykových bran (březen, duben, květen), z důvodu udržení pozemku v bezplevelném stavu. Výsev v jednotlivých letech proběhl 4. 6. 2019 a 22. 5. 2020, následně byl pozemek zválen cambridge válci. Ve stejném termínu byl proveden výsev kukuřice. Byla použita odrůda SY Orpheus (FAO 370) společnosti Syngenta. Kukuřice byla vyseta do hloubky 8 cm, při meziřádkové vzdálenosti 0,75 m. Výsevek byl 80 000 semen.ha^{-1}.

Technologie založení porostů a skladba odrůd

Odrůdy čiroku byly vysety přesným secím strojem KLEINE do hloubky 3 cm, na vzdálenost řádků 0,45 m. Výsevek byl 245 000 semen.ha^{-1}. K porovnání výnosu nadzemní biomasy bylo vybráno 16 odrůd čiroku z portfolia firem Výzkumný ústav rostlinné výroby, v. v. i., KWS OSIVA s.r.o. a SEED SERVICE s.r.o.: Ruzrok, Sweet Susana, Sweet Caroline, Buffalo grain BMR, Nutri Honey, Pampa Triunfo BMR, Latte, KWS Freya, KWS Sole, KWS Sammos, KWS Kallisto, KWS Tarzan, KWS Hannibal, KWS Titus, Nutrigrain a KWS Phoenix.

Sklizeň

Čirok na siláž je žádoucí sklízet při obsahu sušiny 28–38 % (Hermuth et al., 2012). Je sice možné sklízet i při nižším obsahu sušiny, nicméně takto koncipovaná sklizeň je ekonomicky nevýhodná. Zrnové nebo tzv. kombinované čiroky se sklízejí na siláž v mléčně-voskové zralosti zrna.

Aby byla nadzemní biomasa sklizena při optimálním obsahu sušiny, byl ve sledovaném období (druhé poloviny srpna) prováděn opakovaný týdenní monitoring obsahu sušiny u jednotlivých odrůd čiroku.

Při dosažení optimálního obsahu sušiny v nadzemní biomase byla u všech odrůd čiroku provedena ruční sklizeň, kdy byly rostliny ručně odřezány cca 10 cm nad povrchem půdy. Sklizňová plocha byla 2,25 m^2 (5 x 0,45 m), ve třech opakováních. Sklizená hmota byla následně zvážena a byly odebrány vzorky biomasy ke stanovení sušiny. Sušení proběhlo v laboratorní horkovzdušné sušárně VENTICELL při teplotě 105 °C. Výnos sklizené čerstvé hmoty byl následně přepočten na výnos suché hmoty v $t.ha^{-1}$. V roce 2019 probíhala sklizeň od 23. 8. do 6. 9., v roce 2020 od 26. 8. do 18. 9. Obdobným způsobem byla sklizena také kukuřice, přičemž obsah sušiny celé rostliny se pohyboval v rozmezí cca 32–34 %.

Zpracování experimentálních dat

Získaná data byla statisticky zpracována analýzou rozptylu pomocí programu Statistica 12 (StatSoft, 2013). Rozdíly ve výnosech jednotlivých odrůd čiroku a kukuřice byly vyhodnoceny metodou intervalů spolehlivosti (pomocí grafů při hladině významnosti $P < 0,05$). K průměrům výnosů byly spočítány směrodatné odchylky, které jsou uvedeny v textu.

Výsledky a diskuze

Z výsledků analýzy rozptylu byl zjištěn průkazný vliv ročníku, lokality a odrůdy. Průměrný výnos suché hmoty byl v roce 2019 13,98 $t.ha^{-1}$. V roce 2020 byl výnos 15,98 $t.ha^{-1}$, tedy průkazně vyšší o 2,00 $t.ha^{-1}$. Výnos na lokalitě Nosislav byl o 1,80 $t.ha^{-1}$ průkazně vyšší než na lokalitě Unkovice (14,08 $t.ha^{-1}$).

Důvod vlivu ročníku na výnos lze hledat v průběhu teplot vzduchu a úhrnu srážek ve vegetačním období. V tab. č. 1 je využito hodnocení dle *WMO* (*World Meteorological Organisation*), kdy jsou meteorologická data ročníku 2019 a 2020 porovnána s dlouhodobým normálem. V obou sledovaných letech bylo zaznamenáno chladnější období na začátku vegetace (chladný květen). V roce 2019 byla průměrná teplota vzduchu v následujících měsících nad dlouhodobým normálem. Naopak v roce 2020 byl červen a červenec teplotně srovnatelný s dlouhodobým normálem, pouze v srpnu byly podmínky teplotně mimořádně nadnormální. Z hlediska srážek byl ročník 2019 v průběhu vegetačního období srovnatelný s dlouhodobým průměrem. Stejně tomu bylo i v roce 2020, až na srážkově velmi bohatý červen. Porovnáme-li období květen–srpen, tak průměrná teplota vzduchu byla v roce 2019 19,5 °C, oproti 18,1 °C v roce 2020. Srážkově bylo bohatší vegetační období v roce 2020 (346,6 mm), oproti 274 mm v roce 2019.

Tab. č. 1: Porovnání průměrné teploty vzduchu a úhrnu srážek s dlouhodobým normálem (Žabčice, 2019 a 2020)

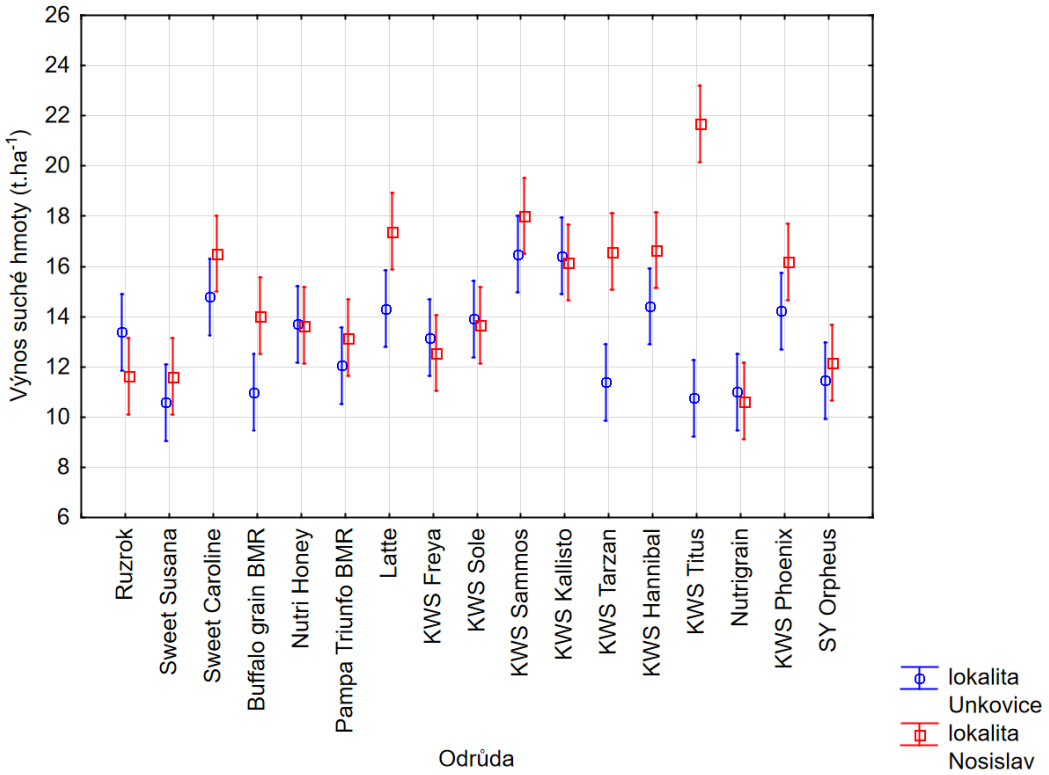
Průměrná teplota vzduchu (°C), rok 2019					Průměrná teplota vzduchu (°C), rok 2020				
Měsíc	Skutečnost (°C)	Normál (°C)	Rozdíl (°C)	Hodnocení dle WMO	Měsíc	Skutečnost (mm)	Normál (mm)	Rozdíl (mm)	Hodnocení dle WMO
květen	12,6	14,6	-2,0	*podnormální*	květen	13,0	14,6	-1,6	*podnormální*
červen	22,8	17,7	5,1	*mimořádně nadnormální*	červen	18,3	17,7	0,6	*normální*
červenec	21,0	19,3	1,7	*nadnormální*	červenec	19,9	19,3	0,6	*normální*
srpen	21,7	18,6	3,1	*mimořádně nadnormální*	srpen	21,3	18,6	2,7	*mimořádně nadnormální*
Průměr (°C)	19,5	17,6			Průměr (°C)	18,1	17,6		
Měsíční srážkové úhrny (mm), rok 2019					Měsíční srážkové úhrny (mm), rok 2020				
Měsíc	Skutečnost (°C)	Normál (°C)	Rozdíl (°C)	Hodnocení dle WMO	Měsíc	Skutečnost (mm)	Normál (mm)	Rozdíl (mm)	Hodnocení dle WMO
květen	79,0	62,8	16,2	*normální*	květen	76,4	62,8	13,6	*normální*
červen	67,2	68,6	-1,4	*normální*	červen	128,6	68,6	60,0	*mimořádně nadnormální*
červenec	55,4	57,1	-1,7	*normální*	červenec	44,0	57,1	-13,1	*normální*
srpen	72,4	54,3	18,1	*nadnormální*	srpen	97,6	54,3	43,3	*nadnormální*
Celkem (mm)	274,0	242,8			Celkem (mm)	346,6	242,8		

Při nižším srážkovém úhrnu v roce 2019 byl průměrný výnos suché hmoty u kukuřice SY Orpheus na lokalitě Nosislav (s lepší dostupností půdní vláhy) 12,17 ± 0,44 t.ha^{-1}. Je obecně známo, že v sušších podmínkách může čirok dosáhnout srovnatelný či vyšší výnos než kukuřice. Z tohoto důvodu může být čirok alternativní plodinou k silážní kukuřici, o čemž svědčí zvyšující se pěstební plochy v ČR (Bouma, 2021). Yadav et al. (2011) uvádějí, že čirok potřebuje jen 332 kg vody na vytvoření 1 kg sušiny, zatímco kukuřice 368 kg vody. Na této lokalitě dosáhly jen 3 odrůdy čiroku nižšího výnosu suché hmoty: Nutrigrain (10,64 ± 0,78 t.ha^{-1}), Sweet Susana (11,62 ± 1,03 t.ha^{-1}) a Ruzrok (11,63 ± 1,02 t.ha^{-1}). Odrůda Sweet Susana je zrnová silážní odrůda nižšího vzrůstu, proto byl nižší výnos suché hmoty očekávaný. Ještě nižší výnos (8,79 ± 0,39 t.ha^{-1}) byl v této oblasti zaznamenán v roce 2018 (Koláčková et al., 2020). Vyšší výnos byl zaznamenán např. v roce 2014 v oblasti Chrlic, kdy byl výnos suché hmoty 13,5 t.ha^{-1} (Povolný a Hampl, 2015). Všechny ostatní odrůdy dosáhli vyššího výnosu. Ze statistického hlediska dosáhlo 8 odrůd čiroku průkazně vyšší výnos jako kukuřice. Jedná se o odrůdy KWS Kallisto (16,16 ± 1,23 t.ha^{-1}), KWS Phoenix (16,18 ± 1,10 t.ha^{-1}), Sweet Caroline (16,51 ± 1,02 t.ha^{-1}), KWS Tarzan (16,59 ± 1,97 t.ha^{-1}), KWS Hannibal (16,65 ± 2,11 t.ha^{-1}), Latte (17,40 ± 0,66 t.ha^{-1}), KWS Sammos (18,02 ± 0,72 t.ha^{-1}) a KWS Titus (21,68 ± 0,92 t.ha^{-1}). Řada autorů ve svých výzkumech došla k závěru, že čiroky jsou nedostatkem srážek mnohem méně poškozovány, např. Yadav et al. (2011), Hermuth et al. (2012) a další.

V roce 2019 byl na sušší lokalitě Unkovice výnos suché hmoty u kukuřice o něco nižší, než na vlhčí lokalitě v Nosislavi, 11,46 ± 2,11 t.ha^{-1}. Při vysokých teplotách a nedostatku srážek kukuřice zpomaluje, až zastavuje vegetativní růst, čím pochopitelně dochází k poklesu výnosu

suché hmoty (Loučka et al., 2015). Pět ze sledovaných odrůd mělo nižší výnos jako kukuřice: nízká odrůda Sweet Susana (10,58 ± 2,05 t.ha^{-1}), KWS Titus (10,75 ± 0,81 t.ha^{-1}), zrnová silážní odrůda Buffalo grain BMR (10,99 ± 1,04 t.ha^{-1}), Nutrigrain (11,00 ± 1,86 t.ha^{-1}) a KWS Tarzan (11,39 ± 0,88 t.ha^{-1}). Ostatní odrůdy dosáhly stejný, nebo vyšší výnos suché hmoty. Nejvyšší výnos byl dosažen u odrůd Sweet Caroline (14,79 ± 1,25 t.ha^{-1}), KWS Kallisto (16,42 ± 1,65t.ha^{-1}) a KWS Sammos (16,48 ± 1,37t.ha^{-1}). Odrůdy KWS Kallisto a KWS Sammos pak měly statisticky průkazně vyšší výnos suché hmoty jako kukuřice. KWS Kallisto je relativně nová odrůda, výnosný kříženec súdánské trávy. O něco nižší výnos suché hmoty zaznamenali ve svém výzkumu v roce 2018 Koláčková et al. (2020), kdy tato odrůda dosáhla výnos 14,21 ± 0,96 t.ha^{-1}. Kompletní výsledky průměrných výnosů suché hmoty všech pozorovaných odrůd čiroku jsou graficky zobrazeny na obr. č. 1.

Obr. č. 1: Průměrný výnos suché hmoty v roce 2019

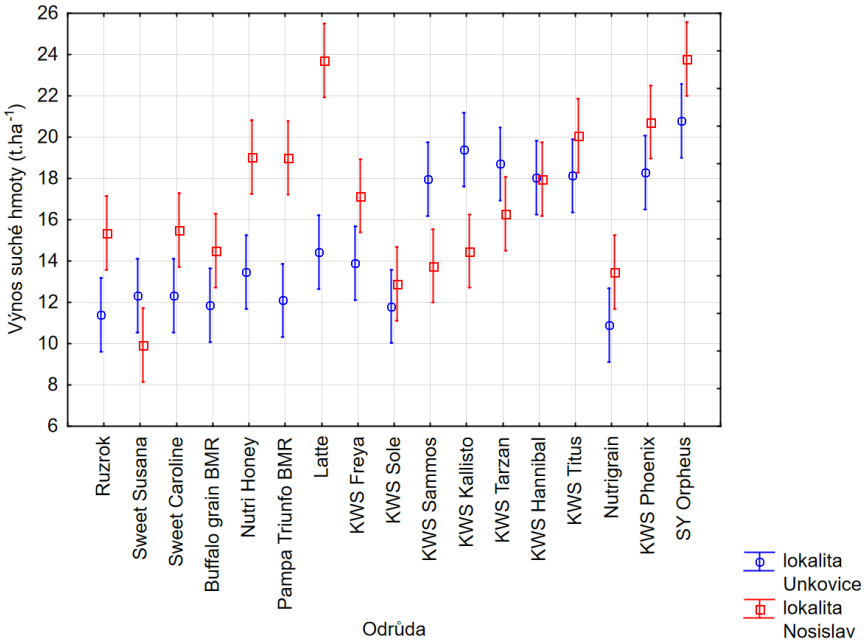


V roce 2020 bylo rozložení srážek příznivější, což se odrazilo i ve vyšším výnosu suché hmoty u kukuřice. Na vlhčím stanovišti Nosislav byl průměrný výnos suché hmoty u kukuřice 23,80 ± 1,11 t.ha^{-1}. Tento výnos koresponduje s výsledky Kunzové et al. (2021), která uvádí, že výnos suché hmoty silážní kukuřice se v roce 2020 v ČR pohyboval mezi 10,15 a 28,37 t.ha^{-1}. V optimálních podmínkách dosahuje kukuřice obvykle vyšších výnosů. Naopak čirok se lépe vyrovnává s nedostatkem vláhy v průběhu vegetačního období a lépe reaguje na vysoké teploty (Hermuth et al., 2020). V této souvislosti jen tři odrůdy dosáhly srovnatelný výnos suché hmoty: KWS Titus (20,08 ± 1,50 t.ha^{-1}), nová odrůda KWS Phoenix (20,73 ± 1,12 t.ha^{-1}) a Latte (23,72 ± 1,48 t.ha^{-1}). Nejnižší výnos dosáhly odrůdy Sweet Susana (9,94 ± 0,82 t.ha^{-1}), KWS Sole (12,89 ± 1,01 t.ha^{-1}) a Nutrigrain (13,46 ± 1,39 t.ha^{-1}).

O něco nižší výnos suché hmoty dosáhla kukuřice v roce 2020 na sušší lokalitě Unkovice. Průměrný výnos na této lokalitě byl 20,78 ± 1,66 t.ha^{-1} suché hmoty. Srovnatelný výnos dosáhlo celkem 6 odrůd čiroku. Nejvýnosnější byly odrůdy KWS Sammos (17,96 ± 0,71 t.ha^{-1}), KWS

Hannibal (18,03 ± 2,16 t.ha^{-1}), KWS Titus (18,13 ± 2,75 t.ha^{-1}), KWS Phoenix (18,29 ± 1,08 t.ha^{-1}), KWS Tarzan (18,70 ± 2,06 t.ha^{-1}) a KWS Kallisto (19,40 ± t.ha^{-1}). Odrůdu KWS Tarzan předurčuje k vysokým výnosům habitus rostliny, protože dorůstá do výšky 3,5–5 m. Jedná se o vysoce výkonný středně raný silážní hybrid. Vysoký výnos potvrzuje např. studie Koláčkové et al. (2020), kdy tato odrůda dosáhla výnos suché hmoty 15,91 ± 1,19 t.ha^{-1}, nebo výnosové hodnocení z Uherského Ostrohu, při výnosu suché hmoty 22,9 t.ha^{-1} (Povolný a Hampl, 2015). Statisticky průkazně nižší výnos mělo celkem 10 odrůd čiroku: Nutrigrain (10,89 ± 2,79 t.ha^{-1}), Ruzrok (11,40 ± 0,44 t.ha^{-1}) nebo KWS Sole (11,80 ± 1,46 t.ha^{-1}). Odrůda KWS Sole má velmi rychlý počáteční růst a rostliny dorůstají do výšky 2,5–4 m. Podobný výnos (10,72 t.ha^{-1}) zaznamenal při svém výzkumu Kubeš (2016). Rovněž zjistil, že odrůda dosahuje nejvyšších výnosů suché hmoty při meziřádkové vzdálenosti 0,30 m (12,60 t.ha^{-1}). Statisticky průkazně nižší výnos suché hmoty dále dosáhly odrůdy Buffalo grain BMR (11,87 ± 1,12 t.ha^{-1}), Pampa Triunfo BMR (12,09 ± 0,57 t.ha^{-1}), Sweet Susana (12,32 ± 1,33 t.ha^{-1}) nebo Sweet Caroline (12,32 ± 0,42 t.ha^{-1}). Vyšší výnosy suché hmoty (14,7–18,4 t.ha^{-1}) pak byly u odrůdy Sweet Caroline zaznamenány v suchém roce 2014 (Povolný a Hampl, 2015). Nízkého výnosu dosáhly i Nutri Honey (13,48 ± 1,17 t.ha^{-1}), KWS Freya (13,90 ± 1,47 t.ha^{-1}) a Latte (14,45 ± 2,03 t.ha^{-1}). U odrůdy KWS Freya, která má rychlý počáteční růst, udává společnost KWS OSIVA s.r.o. výnos suché hmoty přibližně 12,54 t.ha^{-1}. Vyšší výnosnost byla zaznamenána např. v práci Kubeše (2016), kdy odrůda dosáhla při stejné meziřádkové vzdálenosti výnos suché hmoty 14,33 t.ha^{-1}. Dle zprávy ÚKZÚZ dosáhla odrůda výnos i 19,2 t.ha^{-1} (Povolný a Hampl, 2015). Výsledky průměrných výnosů suché hmoty pozorovaných odrůd čiroku jsou graficky zobrazeny na obr. č. 2.

Obr. č. 2: Průměrný výnos suché hmoty v roce 2020



Z výše uvedených výsledků vyplývá, že vyšší výnos byl u většiny odrůd čiroku dosažen na vláhově příznivější lokalitě Nosislav. Významně vyšší výnosy na této lokalitě v porovnání s lokalitou Unkovice byly dosaženy u odrůd KWS Titus (20,88 t.ha^{-1} oproti 14,44 t.ha^{-1}), Latte (20,56 t.ha^{-1} a 14,38 t.ha^{-1}) a Pampa Triunfo BMR (16,08 t.ha^{-1} a 12,07 t.ha^{-1}). Pouze u dvou odrůd (KWS Sammos a KWS Kallisto) byly vyšší výnosy na lokalitě Unkovice, přičemž rozdíly byly 1,33 a 2,59 t.ha^{-1}.

Výsledky ukázaly, že řada odrůd čiroku dosáhla srovnatelného výnosu s kukuřicí na siláž. Je třeba však zdůraznit, že jde o srovnání s kukuřicí pěstovanou v pozdějším termínu (optimálním termínu pro výsev čiroku). Tímto měla kukuřice zkrácenou vegetační dobu, což se mohlo projevit poklesem výnosu. Porovnáme-li výnos odrůdy SY Orpheus z jiných pokusů na lokalitě Nosislav, ale při obvyklém termínu setí (polovina dubna), pak zjistíme, že v roce 2019 byl dosažen výnos 23,80 $t.ha^{-1}$ a v roce 2020 28,42 $t.ha^{-1}$. V relativním vyjádření jde o navýšení výnosu nadzemní hmoty kukuřice o 95 % v roce 2019 a 19 % v roce 2020 oproti pozdějšímu termínu výsevu.

Závěr

V posledních letech se dostává do popředí pěstování plodin, které i při nižší spotřebě vody dosahují optimálních hektarových výnosů. Z výsledků let 2019–2020 vyplynulo, že produkce suché hmoty čiroku dosáhla 14–16 $t.ha^{-1}$, přičemž se projevil vliv ročníku a lokality. Výnos na stanovišti s lepší dostupností vláhy (lokalita Nosislav) byl o 1,80 $t.ha^{-1}$ průkazně vyšší než na lokalitě Unkovice (14,08 $t.ha^{-1}$), což bylo potvrzeno u většiny zkoušených odrůd. Významně vyšší výnosy na této lokalitě v porovnání se sušší lokalitou Unkovice byly dosaženy u odrůd KWS Titus (20,88 $t.ha^{-1}$ oproti 14,44 $t.ha^{-1}$), Latte (20,56 $t.ha^{-1}$ a 14,38 $t.ha^{-1}$) a Pampa Triunfo BMR (16,08 $t.ha^{-1}$a 12,07 $t.ha^{-1}$). Pouze u dvou odrůd (KWS Sammos a KWS Kallisto) byly vyšší výnosy na lokalitě Unkovice, přičemž rozdíly byly 1,33 a 2,59 $t.ha^{-1}$. Z dvouletého pozorování vyplývá, že čirok je perspektivní plodinou, která by mohla v teplých suchých oblastech vhodně doplnit pěstování kukuřice na siláž.

Dedikace

Příspěvek vznikl za podpory projektu MendelFarm – Integrovaná ochrana rostlin v podniku hospodařícím v suchých podmínkách, který je financovaný z dotačního programu 9.f.m. Ministerstva zemědělství „Demonstrační farmy“.

Použitá literatura

Bouma D. 2021. Potenciál odrůd čiroku, bérů a tritikale pro výrobu biomasy. Uroda.cz [online]. Praha: Profi Press, s.r.o. 26. 7. 2021 [cit. 2021-10-13]. Dostupné z: https://www.uroda.cz/potencial-odrud-ciroku-beru-a-tritikale-pro-vyrobu-biomasy/.

Hermuth J. 2020. Zakládání porostů čiroků a jejich požadavky na prostředí. Úroda: odborný časopis pro rostlinnou produkci. Praha: Profi Press. 2020(12), s. 38–40. ISSN 0139-6013.

Hermuth J., Janovská D., Strašil Z., Usťak S., Hýsek J., 2012. Čirok obecný - Sorghum bicolor (L.) MOENCH: možnosti využití v podmínkách České republiky: metodika pro praxi. Praha: Výzkumný ústav rostlinné výroby. ISBN 978-80-7427-093-2.

Koláčková I., Baholet D., Gruberová H. A., Smutný V., Elzner P., Horký P., Skládanka J., Rábek M. 2020. Effect of Variety, Sowing Date and Location on Yield and Nutritional Characteristics of Sorghum. Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis [online]. 68(3), p. 529-537. ISSN 12118516. Dostupné z: https://acta.mendelu.cz/pdfs/acu/2020/03/07.pdf.

Kubeš P. 2016. Vliv různé šířky řádků na výnos biomasy a obsah sušiny při pěstování čiroku. České Budějovice, Diplomová práce. JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH. Vedoucí práce Doc. Ing. Jiří Diviš, CSc.

Kunzová E., Menšík L., Nerušil P., Hlisnikovský L. 2021. Výnosy a kvalita píce kukuřice na siláž v různých půdně-klimatických podmínkách ČR v roce 2020 - předběžné výsledky. Agromanual.cz [online]. České Budějovice: Kurent, s.r.o, 4.6.2021 [cit. 2021-10-

10]. Dostupné z: https://www.agromanual.cz/cz/clanky/vyziva-a-stimulace/hnojeni/vynosy-a-kvalita-pice-kukurice-na-silaz-v-ruznych-pudne-klimatickych-podminkach-cr-v-roce-2020.

Loučka R., Lang J., Jambor V., Tyrolová Y., Nedělník J., Třináctý J., Kučera J. 2015. Kritéria pro výběr hybridů kukuřice na siláž: uplatněná certifikovaná metodika. Troubsko: Zemědělský výzkum, spol. s r.o. ISBN 978-80-88000-05-1.

Pištínek T. 2015. Zkušenosti s pěstováním čiroku z Brněnska. Uroda.cz [online]. Praha: Profi Press, s.r.o. 24. 4. 2015 [cit. 2021-10-13].

Dostupné z: https://www.uroda.cz/zkusenosti-s-pestovanim-ciroku-z-brnenska/.

Povolný M., Hampl B. 2015. Výsledky zkoušek užitné hodnoty ze sklizně 2014. Čirok. Brno: ÚKZÚZ, Národní odrůdový úřad [cit. 2021-10-13].

Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/399243/ZUH_Cirok_2014.pdf.

StatSoft, Inc. 2012. Electronic Statistics Textbook. Tulsa: StatSoft.

Dostupné z: http://www.statsoft.com/textbook/.

Taylor J., Duodu K. 2018. Sorghum and Millets: Chemistry, Technology, and Nutritional Attributes. 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing and AACC International Press. ISBN 9780128115275.

Yadav S. S., Redden R., Hatfield L. J., Lotze-Campen H., Hall J. W. A. 2011. Crop adaptation to climate change. 1st ed. Chichester, West Sussex: Wiley-Blackwell. ISBN 978-0-8138-2016-3.

Kontaktní adresa:

Ing. Lenka Porčová, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav agrosystémů a bioklimatologie
Zemědělská 1665/1
613 00 Brno
lenka.porcova@mendelu.cz, +420 775 409 097

Vliv agrotechnických faktorů na kvalitu půdní organické hmoty

The impact of agrotechnical factors on soil organic matter quality

Pospíšilová L., Ryant P., Dryšlová T., Smutný V., Rábek M., Prudil J.

Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

V průběhu let 2017-2020 byl sledován celkový obsah a kvalita organické hmoty u fluvizemě glejové pod monokulturou ječmene jarního (*Hordeum vulgare*) a v norfolkském osevním postupu. Dlouhodobý stacionární polní pokus je veden v Žabčicích na Polní pokusné stanici Mendelovy univerzity v Brně. Hodnoceny jsou agrotechnické faktory jako vliv osevního postupu, způsob zapravení posklizňových zbytků a způsob zpracování půdy. Ke stanovení obsahu a kvality humusových látek byly použity standardní analytické metody. Je dokumentováno, že při monokulturním pěstování jarního ječmene ve svrchní části ornice (0-10 cm), příznivě působí varianta se zapravením či pálením slámy a mělčí zpracování půdy kypřením (minimalizace) v porovnání se sklizenou slámou při tradičním zpracování půdy.
Klíčová slova: ječmen jarní, monokultura, norfolkský osevní postup, zpracování půdy, hospodaření se slámou

Abstract

Content and quality of soil organic matter was studied during 2017-2020 in Fluvi-Eutric Gleysol under monoculture of spring barley (*Hordeum vulgare*) and Norfolk crop rotation system. The long-term field experiment was carried out in Žabčice at the Field Experimental Station of Mendel University in Brno. Effect of crop rotation system, straw management system and tillage system on humic substances content and quality was evaluated. As it was showed, monoculture of spring barley with minimum tillage and incorporated or burned straw had higher content of total organic carbon and humic substances in the depth 0-10 cm to compare with straw harvested and conventional tillage.
Keywords: spring barley, monoculture, Norfolk crop rotation, soil tillage, straw management

Úvod

Způsob hospodaření na půdě a agrotechnická opatření výrazně ovlivňují zásoby půdní organické hmoty a její kvalitu. Hospodaření s posklizňovými zbytky, vstupy nadzemní a podzemní biomasy, hnojení a zpracování půdy mají zároveň dopad i na fyzikální, chemické a fyzikálně-chemické půdní vlastnosti a na celkovou stabilitu agroekosystému (Banwart et al., 2015). Ztráty organického uhlíku při různých způsobech hospodaření lze obtížně stanovit a kompenzovat, protože souvisí s více faktory (např. typ půdy, aktivita půdních organismů, chemismus půdy, klimatické podmínky a antropogenní vliv apod.), jak uvádí Tobiášová (2020). Zejména dlouhodobé polní pokusy jsou cenným zdrojem informací o dopadech agrotechnických postupů, a to v komplexním pohledu na změnu půdních vlastností (Procházková a kol., 2001; Hůla, Procházková a kol, 2008; Křen a kol., 2015). Tyto informace jsou důležitým podkladem pro prevenci a nápravu negativních dopadů hospodaření. Především množství a kvalita půdní organické hmoty jsou měřítkem úrodnosti a produkční schopnosti půdy a jsou v úzkém vztahu k celkovému způsobu hospodaření v zemědělských podnicích (Kunzová a kol., 2015).

Cílem práce je sledovat změny v obsahu a kvalitě půdní organické hmoty: i) při rozdílném způsobu zpracování půdy v monokultuře ječmene jarního a v norfolkském osevním postupu; ii) při rozdílném způsobu hospodaření s posklizňovými zbytky v monokultuře ječmene jarního; iii) při monokulturním hospodaření a v norfolkském osevním postupu.

Materiál a metody

Dlouhodobý stacionární polní pokus je veden v kukuřičné výrobní oblasti. Průměrná roční teplota je 10,3 °C a úhrn srážek je 491 mm. Klasifikace půdního typu byla provedena podle Taxonomického klasifikačního systému půd ČR (Němeček a kol., 2011). Dlouhodobé stacionární pokusy jsou založeny metodou dělených dílců, jejichž velikost je 49 m^2 (7 x 7 m). Odběry půdních vzorků (0-0,10 m) byly prováděny v létě po sklizni v průběhu let 2017-2020. Celkový obsah organického uhlíku (Corg, %) byl stanoven oxidimetrickou titrací (Nelson and Sommers, 1996; Zbíral, 2016). Obsah huminových kyselin (HK) a fulvokyselin (FK) byl stanoven metodou krátké frakcionace (Kononova a Bělčikova, 1963, In: Pospíšilová a kol., 2016). Vícefaktorová analýza byla použita ke zpracování naměřených dat (program Statistica CZ12 software Inc., Tulsa, Oklahoma, USA). Rozdíly středních hodnot byly statisticky vyhodnoceny pomocí následného Fisherova testu při hladině významnosti 0,05.

Výsledky a diskuze

Fluvizem glejová má slabě kyselou až kyselou půdní reakci, je zrnitostně těžká, jílovitohlinitá, s obsahem jílnatých částic do 45 %. Půda je střední bonity a celkový obsah organického uhlíku do 1,5 % hodnotíme jako nízký. V Tab. 1 uvádíme výsledky statistického zpracování dat, ze kterých je patrné, že monokultura ječmene jarního při klasickém zpracování půdy orbou (CT – do hloubky 0,22 m) a při minimalizačním zpracování půdy (MT – do hloubky 0,12-0,15m) vykazuje statisticky průkazně vyšší obsah při minimalizačním zpracování půdy. Způsob zapravení posklizňových zbytků (odvoz, zapravení a pálení slámy) nevykazuje statisticky průkazný vliv na celkový obsah organického uhlíku v půdě – viz Tab. 2. Když ale vezmeme v úvahu oba faktory (způsob zpracování půdy a zapravení posklizňových zbytků), tak průkazně vyšší obsah uhlíku je při minimalizaci a zapravení či pálení slámy – viz Tab. 3. V případě norfolkského osevního postupu nebyl zjištěn průkazný vliv způsobu zpracování půdy na celkový obsah organického uhlíku – viz Tab. 4. Souhrn všech sledovaných agrotechnických faktorů a jejich vliv na vybrané parametry je dán v Tab. 5. Lze konstatovat, že monokulturní způsob hospodaření při klasické orbě má velmi nízký obsah humusu u variant odvoz slámy a zapravení slámy a nízký obsah humusu při pálení slámy. Při minimalizačním zpracování půdy je u monokultury situace opačná (nízký obsah při odvozu a zapravení slámy a velmi nízký při pálení). Zbylé parametry kvality humusu jako poměr HK/FK a stupeň humifikace jsou hodnoceny jako střední hodnoty. U Norfolku hodnotíme obsah humusu jako nízký a kvalitu HL jako střední a vliv způsobu zpracování půdy není statisticky průkazný.

Sledované agrotechnické faktory patří k velmi diskutovaným otázkám zemědělské praxe Smutný a kol., (2015), Dryšlová a kol. (2018), Tobiášová (2020) a Prudil et al. (2021). Uvedení autoři konstatují, že při klasické orbě do 30 cm se půda provzdušňuje a organické zbytky se zapraví do větší hloubky. Jsou tak podpořeny především rozkladné a oxidační procesy v půdě. Výsledkem je vyšší intenzita rozkladu labilních složek a v ornici zůstávají především stabilnější složky organické hmoty. Rostou tak i zásoby organického uhlíku v ornici (tj. půda ukládá, sekvestruje organický uhlík). Bez zapravení posklizňových či organických zbytků do patřičné hloubky nelze tohoto efektu dosáhnout. Minimalizační či bezorebné technologie značí ponechání rostlinných zbytků na povrchu půdy a pouze malá část labilních, ve vodě

rozpustných složek se dostane do hlubších vrstev půdy. Tento způsob hospodaření je doporučován v závislosti na půdním typu, specifických podmínkách lokality, hnojení, osevní postu apod. V porovnání s orbou je sekvestrace uhlíku v půdě nižší.

Závěr

Výsledky dlouhodobého stacionárního pokusu v Žabčicích ukazují, že množství a kvalita humusových látek v půdě jsou ovlivněny řadou agrotechnických faktorů, jejichž efekt se může navzájem umocňovat. Mohou tak významně ovlivňovat zásoby půdní organické hmoty a její kvalitu. Vzhledem k sekvestraci organického uhlíku je ovšem vyžadován další podrobnější výzkum, především s ohledem na stratigrafické rozmístění stabilních a labilních složek půdní organické hmoty v profilu půdy. Stanovení zásob a ztráty organického uhlíku souvisí nejen se stanovením obsahu labilních a stabilních složek půdní organické hmoty, agrotechnickými a klimatickými faktory, ale i se specifickými místními podmínkami, a proto je provedení přesných výpočtů obtížné.

Poděkování

Práce vznikla s podporou MZe ČR projektu NAZV QK21010124 „Půdní organická hmota – hodnocení parametrů kvality“ a projektu TAČR SS02030018 „Centrum pro krajinu a biodiverzitu“.

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.

Dryšlová T., Smutný V., Procházková B., a kol. (2018) Optimalizace agrotechnických opatření při hospodaření v suchých oblastech. Certifikovaná metodika. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_217_multitext/metodiky_pro_praxi/Metodika_agrotechnika.pdf

Hůla J., Procházková B. a kol. 2008. Minimalizace zpracování půdy. Praha: ProfiPress, s.r.o., 248 s.ISBN 978-8086726-28-1

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).

Kunzová E., Menšík L., Zbíral J., Malý S., Kubát J., Pospíšilová L., Horáček J. (2015). Studie „Návrh parametrů sledování stavu a obsahu organické hmoty v půdě v České republice“. VÚRV, v.v.i., Praha. 114 s.

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.

Procházková B. a kol. 2001. Organické hnojení při hospodaření bez živočišné výroby. Zemědělské informace, č. 14/2001. Praha: ÚZPI, 29 s.

Prudil J., Pospíšilová L., Ryant P., Smutný V., Dryšlová T. 2021. Total organic carbon content and transformation of selected soil properties as affected by different farming systems. https://www.postersessiononline.eu/173580348_eu/congresos/Eurosoil2021/aula/-PO_23_Eurosoil2021.pdf

Smutný V. a kol. 2015. Význam technologií zpracování půdy a dalších agrotechnických opatření při pěstování obilnin. Certifikovaná metodika. Dostupné z: http://web2.mendelu.cz/af_217_multitext/metodiky_pro_praxi.

Tobiášová E. 2020. Biológia pôdy. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. 159 s.

Zbíral J. (2016): Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ. Analýza půdy I. 4. revidovaná a rozšířená ed. Brno, ÚKZÚZ.

Přílohy

Tab. 1: Vliv způsobu zpracování půdy na celkový obsah organického uhlíku u monokultury ječmene jarního (kde: TOC – celkový obsah organického uhlíku; CT – klasická orba do 0,22 m; MT – minimalizační zpracování půdy do 0,15 m)

Varianta zpracování půdy	TOC (%)
Orba	1,09 a*
Minimalizace	1,23 b

**Rozdílná písmena (a, b) značí statisticky průkazný rozdíl při hladině významnosti 0,05*

Tab. 2: Vliv způsobu zapravení slámy na celkový obsah organického uhlíku (kde: TOC – celkový obsah organického uhlíku)

Hospodaření se slámou	TOC (%)
Sklizená	1,13 a
Zapravená	1,15 a
Pálená	1,19 a

Tab. 3: Vliv způsobu zpracování půdy a zapravení slámy na celkový obsah organického uhlíku (kde: TOC – celkový obsah organického uhlíku; CT – klasická orba do 0,22 m; MT – minimalizační zpracování půdy do 0,15 m)

Varianta zpracování půdy	Hospodaření se slámou	TOC (%)
Orba (CT)	Zapravená	1,03 a*
	Sklizená	1,04 ab
	Pálená	1,2 abc
Minimalizace (MT)	Zapravená	1,27 c
	Sklizená	1,23 bc
	Pálená	1,18 abc

**Rozdílná písmena (a, b, c) značí statisticky průkazný rozdíl při hladině významnosti 0,05*

Tab. 4: Vliv způsobu zpracování půdy a zapravení slámy na celkový obsah organického uhlíku v norfolkském osevním postupu (kde: TOC – celkový obsah organického uhlíku; CT – klasická orba do 0,22 m; MT – minimalizační zpracování půdy do 0,15 m)

Varianta zpracování půdy	TOC (%)
Orba	1,32 a
Minimalizace	1,39 a

Tab. 5: Vybrané agrotechnické faktory a jejich vliv na sledované parametry kvality půdní organické hmoty (kde: TOC – celkový obsah organického uhlíku; HL – obsah humusových látek; HK – obsah huminových kyselin; FK – obsah fulvokyselin; SH – stupeň humifikace)

Varianta	Corg (%)	HL (%)	HK (%)	FK (%)	HK/FK	SH (%)
MONO-orba-sklizená sláma	1,04	0,40	0,20	0,20	1,04	19,83
	Velmi nízký	Střední	Střední	Střední	Střední	Střední
MONO-orba-zapravená sláma	1,03	0,46	0,22	0,24	0,98	21,55
	Velmi nízký	Střední	Střední	Střední	Střední	Střední
MONO-orba-pálená sláma	1,20	0,47	0,24	0,22	1,12	20,66
	Nízký	Střední	Střední	Střední	Střední	Střední
MONO-minimalizace-sklizená sláma	1,23	0,46	0,23	0,24	1,01	18,97
	Nízký	Střední	Střední	Střední	Střední	Střední
MONO-minimalizace-zapravená sláma	1,27	0,50	0,26	0,25	1,04	20,15
	Nízký	Střední	Střední	Střední	Střední	Střední
MONO-minimalizace-pálená sláma	1,18	0,44	0,23	0,21	1,08	19,09
	Velmi nízký	Střední	Střední	Střední	Střední	Střední
Norfolk-orba-sklizená sláma	Nízký	0,53	0,27	0,22	1,24	20,40
	Nízký	Střední	Střední	Střední	Střední	Střední
Norfolk-minimalizace-sklizená sláma	1,39	0,58	0,29	0,24	1,19	21,24
	Nízký	Střední	Střední	Střední	Střední	Střední

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 aplikační dávky digestátu na pedokompakci

Influence of digestate application rate on pedocompaction

Prudil J.[1,2], Badalíková B.[1]

[1]Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko
[2]Mendelova univerzita v Brně

Abstrakt

V rámci víceletého polního pokusu (2018-2021) byl sledován vliv aplikační dávky digestátu [t.ha^{-1}] na zhutnění půdy. Bylo provedeno penetrometrické měření [MPa]; byly odebrány neporušené půdní vzorky pro zjištění vlhkosti [hmotnostní %] a objemové hmotnosti redukované [g.cm^{-3}]. Výše zmíněné bylo sledováno u 3 pokusných variant: varianta 1 – kontrolní, bez aplikace digestátu; varianta 2 – aplikace digestátu v dávce 20 t.ha^{-1} každý druhý rok; varianta 3 – aplikace digestátu v dávce 20 t.ha^{-1} každý rok. Výsledky ukázaly, že s rostoucí dávkou digestátu nedocházelo k zásadnímu zvyšování penetrometrického odporu. Objemová hmotnost redukovaná [Ohr] se mezi jednotlivými variantami příliš nelišila, vyjma roku 2021. Za sledované roky nedošlo k překročení agroekologického limitu pro půdní ulehlost, ta kolísala mezi hodnotami slabé a silné ulehlosti. Ukázalo se, že varianty, které byly hnojeny digestátem, vykazovaly vyšších hodnot půdní vlhkosti, a tedy lepšího vodního režimu než půdy kontrolní.
Klíčová slova: fyzikální vlastnosti půdy, zhutnění půdy, penetrometrie, vlhkost půdy

Abstract

The effect of the digestate application rate [t.ha^{-1}] on soil compaction was monitored in field experiment during years 2018-2021. Penetrometric measurements [MPa] were performed, soil samples were taken to determine moisture [weight %] and bulk density reduced [g.cm^{-3}]. In the experiment, the following 3 variants were chosen: variant 1 – control variant, without digestate application; variant 2 – application of digestate in a dose of 20 t.ha^{-1} every two years; variant 3 – application of digestate in a dose of 20 t.ha^{-1} every year. The results showed that with increasing dose of digestate there was no significant increase in penetrometric resistance. The bulk density reduced (Bdr) did not differ much between the individual variants, except in 2021. In the monitored years, the agroecological limit for soil relief was not exceeded, it fluctuated between the values of weak and strong lying. Variants that were fertilized with digestate achieved higher values of soil moisture, and thus a better water regime than control soils, without the application of digestate.
Key words: physical properties of soil, soil compaction, penetrometry, soil moisture

Úvod

Digestát neboli biokal je označován jako odpadní produkt anaerobní digesce (AD) vstupních surovin při výrobě bioplynu v bioplynových stanicích (Mystkowski, 2015; Stürmer et al., 2020). Digestát lze spíše chápat jako zdroj minerálního hnojiva s širokým spektrem živin, avšak dle *zákona č. 254/2010 Sb.* je považován za organické hnojivo (Pančíková, 2019; Stürmer et al., 2020). Z hlediska chemického však dochází v procesu digesce k odstranění 20-95 % organické hmoty. Zbylá organická hmota, označovaná jako neživá, vykazuje významně nižší stabilitu, než tomu je kupříkladu u kompostů (Fuchs et al., 2008). Jeho kvalita a chemické složení závisí nejenom na vstupním zdroji organické hmoty, ale i na délce jeho uskladnění. Obecně jsou rozlišovány dvě formy digestátu – tekutý a pevný. V případě tekuté formy je zastoupení sušiny nižší než 15 %, avšak obsah N a K je vyšší. Tuhá forma obsahuje

více než 15% zastoupení sušiny a vyšší obsah P (Szűcs et al., 2006). Současným trendem v zemědělství je recyklace digestátu, což vede ke snižujícímu se trendu využívání minerálních hnojiv. Tento recyklační systém hraje významnou roli při zmírňování klimatických změn či při udržení uspokojivé půdní struktury a kvality (Möller a Stinner, 2009). Na druhou stranu není zcela zřejmé, zda aplikací digestátu dochází pouze ke zlepšování půdních fyzikálních vlastností. Albiach et al. (2001) uvádí, že aplikace digestátu, v případě vysokého zastoupení půdní organické hmoty, napomáhá optimalizaci půdní textury a zlepšuje stabilitu půdních agregátů. Podobných výsledků dosáhl i Amlinger et al. (2001), jenž uvádí výše zmíněné a dodává, že aplikace digestátu napomáhá vsakování vody do půdy. Antagonistických výsledků však bylo dosaženo v rámci pokusů na ZD Budišov, které probíhaly mezi roky 2014-2017. V rámci těchto polních pokusů byla zjištěna větší tendence ke zhutňování půdy v souvislosti s aplikací digestátu. Jaša et al. (2019) uvádí, že výše zmíněné vedlo také ke zvyšování objemové hmotnosti redukované, a naopak ke snížení minimální vzdušné kapacity a pórovitosti, což vedlo k samotné tendenci utužování půdy. V takových půdách probíhá omezeně infiltrace vody, půda je nedostatečně provzdušněná a v součtu těchto faktorů dochází v konečném důsledku ke snižování půdní úrodnosti. Závěrem je možné konstatovat, že digestát se jeví jako vhodná alternativa pro doplnění živin do půdy. Při aplikaci digestátu je však nutností současně dodat živou organickou hmotu, aby nedocházelo k degradaci půdy a zhoršování půdních vlastností. Dodání slámy, kompostu či jiné snadno rozložitelné organické hmoty „nastartuje“ činnost mikroorganismů a dochází tak k uspokojivému průběhu procesu mineralizace a humifikace (Makadi et al, 2008; Insam et al, 2015).

Materiál a metody

Pokusná plocha se nachází na lokalitě Velešovice, jenž je situována v okrese Vyškov v Jihomoravském kraji. Nadmořská výška pokusné lokality je 228 m, dlouhodobý srážkový normál je 493 mm, v průběhu vegetačního období je úhrn srážek 385 mm; průměrná roční teplota dosahuje 7,2 °C. Hodnocení pokus probíhalo mezi roky 2018-2021. Dané stanoviště je situováno v bramborářské výrobní oblasti, půdní typ je zde zastoupen černozemí karbonátovou (CEc). Půdy jsou zde středně těžké, jílovitohlinité. Pokus byl rozdělen na 3 varianty:

- Varianta 1: kontrolní – bez aplikace digestátu;
- Varianta 2: aplikace digestátu v dávce 20 $t.ha^{-1}$ každý druhý rok;
- Varianta 3: aplikace digestátu v dávce 20 $t.ha^{-1}$ každý rok.

Aplikace digestátu, který pocházel z bioplynových stanic ZD Rakovec a. s., probíhala z jara v rozmezí let 2018-2021. Kapalný digestát, jehož výroba pocházela z kukuřičné siláže, byl aplikován na půdní povrch prostřednictvím hadicového aplikátoru Wienhoff. Následně byl takto aplikovaný digestát, jehož chemické složení uvádí tab. 1, zapraven diskovým zařízením do půdy. Na lokalitě byla pěstována silážní kukuřice, ozimá pšenice, ozimé žito a ječmen jarní. Zhutnění půdního profilu bylo zjišťováno pomocí elektronického penetrometru Eijkelkamp. Penetrometrický odpor [MPa] byl měřen ve 3 variantách po 15 opakováních. Princip penetrometrie je založen na zjišťování síly, kterou je nutné vyvinout k zatlačení normovaného ocelového kužele do půdy. Jeho výhodou je vysoká expeditivnost a možnost okamžitého vyhodnocení výsledků pro sledovaný profil. Vlhkost půdy byla stanovována prostřednictvím gravimetrické metody [hmotnostní %]. Neporušené půdní vzorky jednotlivých variant byly odebrány ze třech hloubek 0-0,10; 0,10-0,20; 0,20-0,30 m do Kopeckého válečků a vysoušeček. Následně byly vzorky z vysoušeček zváženy, vysušeny a opět zváženy po vysušení. Objemová hmotnost redukovaná byla hodnocena pomocí Kopeckého válečků.

Odběr půdních vzorků i penetrometrická měření probíhala v pravidelných termínech, a to během jarního a podzimního vegetačního období před zpracováním půdy.

Tab. 1: Chemické složení digestátu [%]

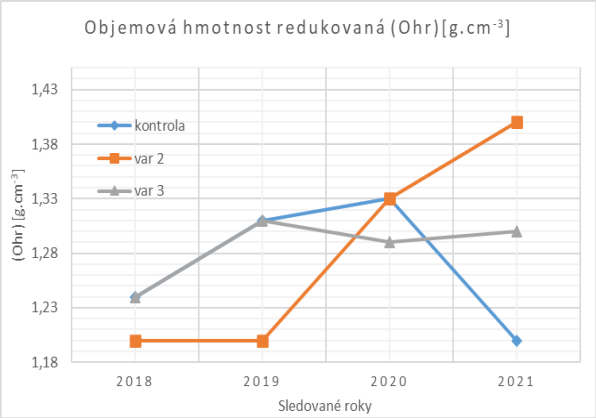
Parametr	***Chemické složení digestátu***
	Hodnota [%] suš.
Sušina	8,07
Popel	1,83
pH	7,92
Ca	0,109
K	0,48
Mg	0,07
P	0,089
N_{celk}	0,65
S	25,6

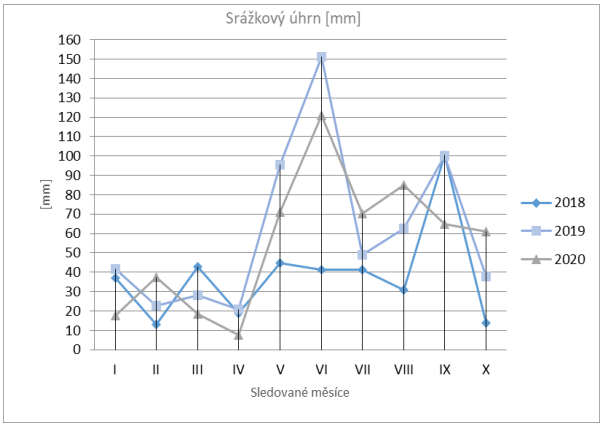
Výsledky a diskuse

Graf č. 1 prezentuje výsledky, vztahující se k průměrným hodnotám objemové hmotnosti redukované [Ohr], jenž byly naměřeny mezi roky 2018-2021. Ohr můžeme definovat jako hmotnost jednotkového objemu vysušené půdy a představuje půdní kyprost a ulehlost. Prvotní hypotézou výzkumu bylo, že zvyšující se dávka a četnost aplikace digestátu povede ke zvyšování Ohr, což potvrzují i výsledky výzkumu, jenž uvádí Šimečková, Jandák (2016) a Badalíková (2019). Podobného výsledku jsme dosáhli pouze v roce 2021, kdy výše zmíněné splňovala varianta 2 a varianta 3. Je však nutné podotknout, že varianta 3 dosahovala prakticky podobných výsledků jako ostatní varianty v letech předcházejících, avšak s ohledem na kontrolní variantu dosahovala roku 2021 vyšších hodnot Ohr. Výsledky ostatních let však výše zmíněné nepotvrzují, ale ani nevyvrací. Z přiloženého grafu je zřejmé, že aplikace digestátu, v našem případě, neovlivnila zásadně objemovou hmotnost redukovanou. Dokonce v případě varianty 2, tedy při aplikaci digestátu v dávce 20 $t.ha^{-1}$ 1x za 2 roky, došlo mezi lety 2018-2019 k mírnému poklesu Ohr oproti kontrolní variantě. Varianta kontrolní a varianta 3, tedy aplikace digestátu v dávce 20 $t.ha^{-1}$ každý rok, vykazovala totožných hodnot. Jen v roce 2020 došlo k mírnému poklesu Ohr u varianty 3 oproti kontrolní variantě. Graf č. 2 prezentuje hodnoty úhrnu srážek ve sledované oblasti mezi lety 2018-2020.

Graf 1: Objemová hmotnost redukovaná v závislosti na aplikačních dávkách digestátu

Graf 2: Srážkový úhrn lokality Velešovice v jednotlivých letech pokusu





K hodnocení ulehlosti půdy bylo využito hodnotící tabulky (tab. č. 2) dle Lhotského a kol. (1984a), jenž operuje s hodnotami objemové hmotnosti redukované. Ze zjištěných výsledků je zřejmé, že půdní vzorky, nehledě na variantě, vykazují hodnoty slabé ulehlosti, tedy 1,15-1,25 Ohr, až silné ulehlosti, tedy >1,25 Ohr. Varianta kontrolní vykazovala slabou ulehlost pouze v letech 2018 a 2021, v ostatních sledovaných letech byla silně ulehlá. Varianta 2, tedy aplikace digestátu v dávce 20 $t.ha^{-1}$ 1x za 2 roky, vykazovala slabou ulehlost mezi lety 2018-2019, avšak mezi roky 2020-2021 byla její ulehlost silná. Varianta 3, tedy aplikace digestátu v dávce 20 $t.ha^{-1}$ každý rok, vykazovala silnou ulehlost ve všech sledovaných letech, vyjma roku 2018, kde její hodnota ulehlosti byla na hraniční hodnotě 1,24 Ohr. Je tedy možné konstatovat, že aplikace digestátu měla negativní vliv na půdní ulehlost, což se projevilo zejména v roce 2021.

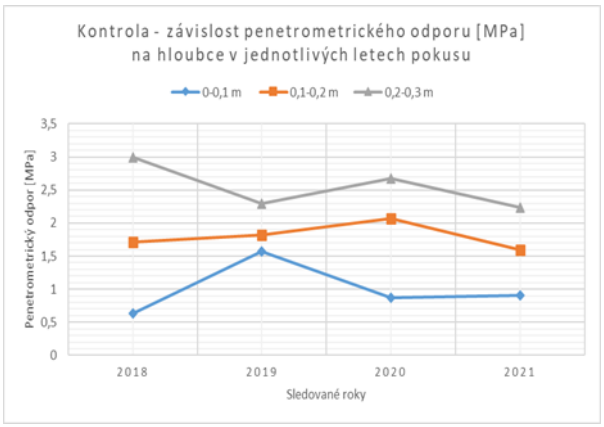
Tab. 2: Půdní úlehlost v závislosti na objemové hmotnosti redukované (Lhotský a kol., 1984a, upraveno)

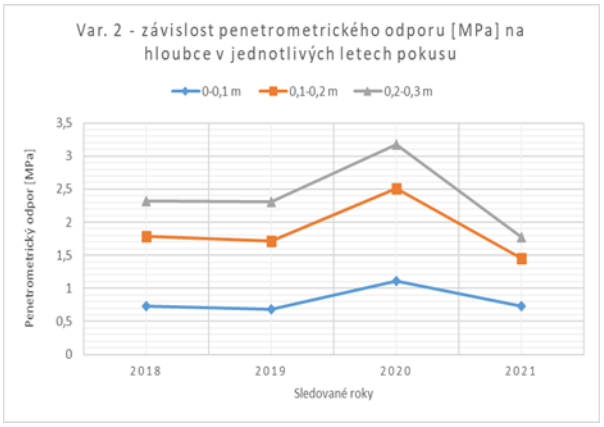
Půdní stav	Objemová hmotnost redukovaná [Ohr]
Čerstvě nakypřená	<0,95
Kyprá	0,95-1,15
Slabě ulehlá	1,15-1,25
Silně ulehlá	>1,25

Výsledky, které jsou uvedeny v grafu č. 3, 4, 5 a 6 se vztahují k penetrometrickému odporu [MPa], který vyjadřuje míru pedokompakce. Předpoklad byl obdobný jako u Ohr, tedy nárůst hodnoty penetrometrického odporu, a tedy utužení půdy, se zvyšující se dávkou a četností aplikace digestátu. Obdobný předpoklad popisuje i Badalíková (2010), jenž uvádí, že v důsledku vyšší aplikace digestátu dochází ke zvyšování penetrometrického odporu, což má negativní vliv na některé půdní vlastnosti, zejména dochází ke zhoršování půdní struktury. Tato hypotéza však nebyla potvrzena. Z přiložených grafů je totiž patrné, že aplikace digestátu ve sledovaných letech měla jen nepatrný vliv na výsledný penetrometrický odpor [MPa]. Nejvyšší hodnoty [MPa], a tedy utužení půdy, bylo naměřeno roku 2020 u varianty 2 (graf č. 4), a sice u varianty s aplikací digestátu v dávce 20 $t.ha^{-1}$ 1x za 2 roky.

Graf 3: Kontrola – závislost penetrometrického odporu [MPa] na hloubce v jednotlivých letech pokusu

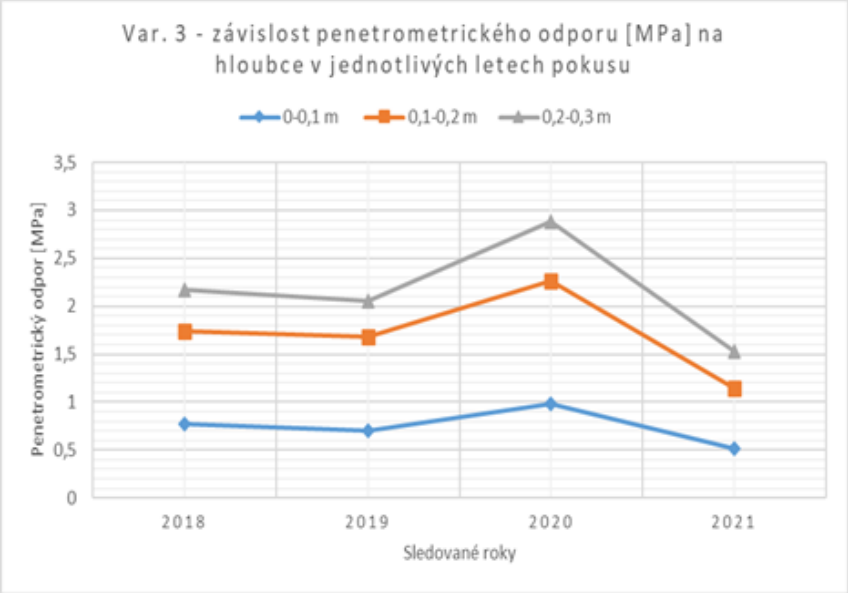
Graf 4: Var. 2 - závislost penetrometrického odporu [MPa] na hloubce v jednotlivých letech pokusu



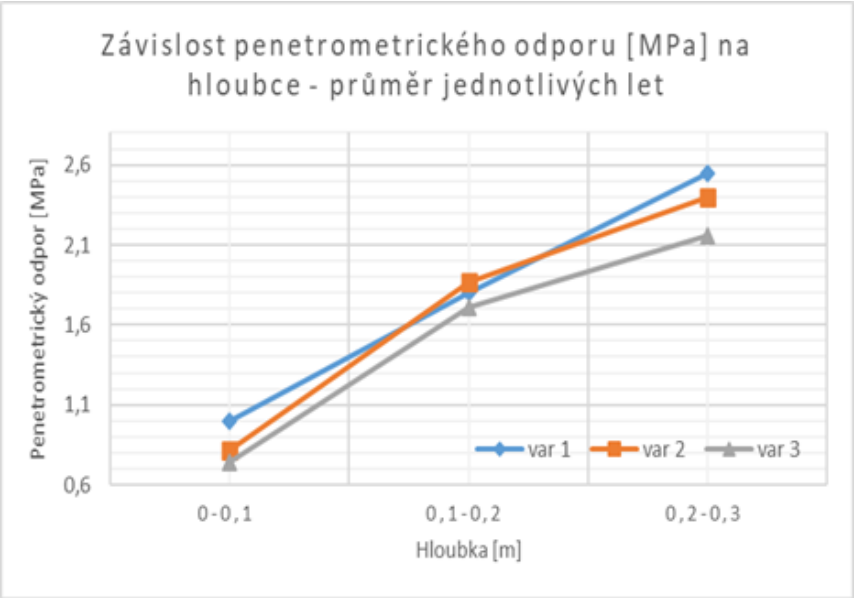


Z grafu č. 6, jenž prezentuje průměrné hodnoty penetrometrického odporu [MPa], je jasně patrný trend zvyšujícího se odporu, a tedy utužení půdy v hlubších částech ornice. Nejvyšší míra utužení byla u všech variant pokusu naměřena v hloubce 0,2-0,3 m, s tím, že nejvyšších hodnot penetrometrického odporu je dosahováno u kontrolní varianty – bez aplikace digestátu. Tato skutečnost nepotvrzuje úvodní hypotézu, a to nárůst hodnoty MPa s množstvím a četností aplikace digestátu.

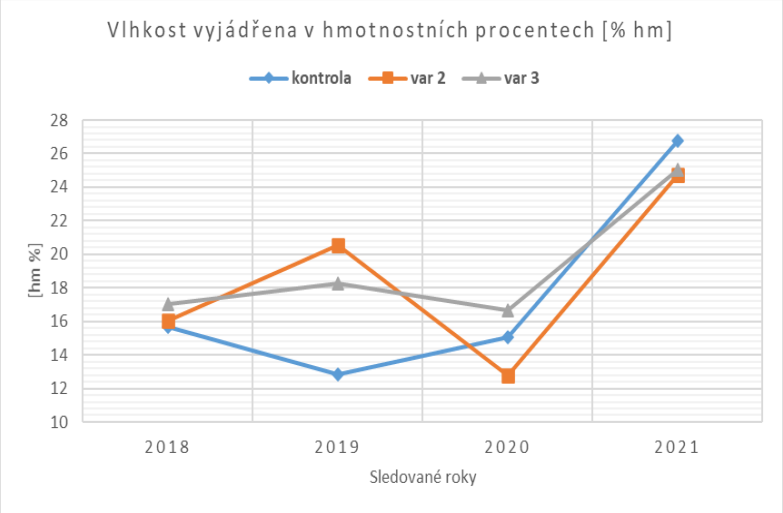
Graf 5: Var. 3 - závislost penetrometrického odporu [MPa] na hloubce v jednotlivých letech pokusu



Graf 6: – Závislost penetrometrického odporu [MPa] na hloubce – průměr jednotlivých let



Graf 7: Vlhkost vyjádřena v hmotnostních procentech [% hm]



Graf č. 7 reprezentuje výsledky, které se vztahují k půdní vlhkosti, jenž je vyjádřena v hmotnostních procentech [% hm]. Tento parametr je doplňujícím faktorem ve vztahu k půdnímu utužení. Půdní vlhkost je ovlivněna nejenom hydrometeorologickými podmínkami a úhrnem srážek, ale i jednotlivými zkoumanými variantami pokusu. Z přiloženého grafu je zřejmé, že vlhkost půdy byla mezi roky 2018-2020 obecně vyšší u variant hnojených digestátem, zatímco kontrolní varianta vykazovala nejnižší hodnotu. Pravděpodobně je to zapříčiněno tím, že digestát podporuje infiltrační schopnost půdy a dochází tak k snadnějšímu vsakování vody do půdy. Výjimku tvoří pouze rok 2021, kdy nejvyšší vlhkost byla naměřena u varianty kontrolní, což koresponduje i s celkovým úhrnem srážek za tento rok.

Závěr

Na závěr je nutno konstatovat, že nedošlo k potvrzení všech vědeckých hypotéz vytyčených v úvodu práce. Kupříkladu v případě objemové hmotnosti redukované [Ohr] nedocházelo v našem měření k očekávaným změnám v souvislosti s aplikací digestátu. Mezi lety 2018-2020 nebyla zjištěna žádná zásadní změna Ohr v souvislosti s četností aplikace digestátu, ani se zvyšující se dávkou aplikace. Avšak v roce 2021 došlo ke zvýšení hodnoty Ohr u variant hnojených digestátem oproti variantě kontrolní. Musíme však konstatovat, že nedošlo k překročení agroekologických limitů, dle hodnoticí tabulky ulehlosti podle Lhotského a kol. (1984). Projevil se zde trend nárůstu ulehlosti v hlubších částech ornice. Dalším sledovaným parametrem byl penetrometrický odpor, kde nebylo potvrzeno, že penetrometrický odpor půdy [MPa] se úměrně navyšuje s rostoucí dávkou a s četností aplikace digestátu. Na druhou stranu je nutno konstatovat, že u variant s aplikací digestátu (var. 2 a 3) byl pozorován pozitivní vliv na vlhkost půdy, jenž byl vyjádřen v hmotnostních procentech [% hm]. Tento trend byl sledován mezi roky 2018–2019, kdy var. 2 a 3 vykazovala vyšších hodnot půdní vlhkosti. Tento trend však nebyl potvrzen u varianty 2 v roce 2020, kdy byla naměřena nejnižší hodnota půdní vlhkosti. Rok 2021 byl odlišný oproti předcházejícím rokům, kdy nejvyšší vlhkosti bylo dosaženo u varianty kontrolní. Obě hnojené varianty vykazovaly prakticky totožné naměřené hodnoty.

Dedikace a poděkování

Výsledek vznikl za podpory Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO1721 a České národní agentury pro zemědělský výzkum – projekt č. QK 21010124 „Půdní organická hmota – hodnocení parametrů kvality.“

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., Weinfurtner K. and Dreher, P., 2003: “Applying compost benefits and needs,” in *A seminar 22-23 November 2001 (BMLFUW’2003)*, EuropeanCommission,Vienna and Brussels, Brussels, Belgium, November 2003.

Badalíková B., 2010: Struktura půdy. In: Certifikovaná metodika Hůla J. a kol.: Dopad netradičních technologií zpracování půdy na půdní prostředí. 58 s.

Badalíková B., Novotná J., 2016: Sledování půdních vlastností při protierozní ochraně půdy a při aplikaci digestátu. Uplatněná certifikovaná metodika 34/16, 32 s.
degradability of waste water sludge. Proceedings of the Internationale Conference

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, https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.109756.

Insam H., Gómez-Brandón, M. Ascher, J., 2015: Manure-base biogas fermentation residues – Friend or foe of soil fertility? Soil Biology & Biochemistry, 84: 1-14.

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.

Lhotský, J. a kol., 1984: Soustava opatření k zúrodňování zhutnělých půd. Metodika ÚVTIZ Praha, 39 s

Makadi, M., Tomocsik, a., Eichler-loeberman, B., Schiemenz, K., 2008: Nutriet cycling by usány residuem of bioenergy production – Effects of biogass-digestate on plant and soil parameters. Ceresů Research communications, vol. 36, p. 1807-1810. ISSN 0133-3720.

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.

Mystkowski, E., 2015: Poferment z biogazowni rolniczej nawozem dla rolnictwa, Kukurydza, 1(46), 52–56.

Pančíková, J., 2019: Je digestát organické hnojivo – ano, nebo ne? [online]. [cit. 27.10.2021]. Dostupný na www: https://www.uroda.cz/je-digestat-organicke-hnojivo-ano-nebo-ne/

Stürmer B., Pfundtner E., Kirchmeyr F., Uschnig S., 2020: Legal requirements for digestate as fertilizer in Austria and the European Union compared to actual technical parameters,

Szűcs, B., Simon, M. & Füleky, G., 2006: Anaerobic pre-treatment effects on the aerobic

Šimečková J., Jandák J., 2016: Changes of physical soil properties during the growing season 2014 – influence of applied fertilizer in crop porn. Acta Horticulturae et Regiotecturae 2/2016, Nitra, Slovaca Universitas Agriculturae Nitriae, 2016, pp. 49–53

Kontaktní adresa:

Ing. Jakub Prudil
Zemědělský výzkum, spol. s r.o.
Zahradní 1, 664 41 Troubsko
tel.: +420 547 138 822
e-mail: prudil@vupt.cz

Studium klíčivosti vybraných druhů trav obalovaných metodou wasp v podmínkách simulovaného sucha

Study of germination of selected types of grasses coated by WASP method in simulated drought conditions

Raab, S.[1], Frydrych, J.[2]

[1]OSEVA PRO s.r.o., Výzkumná stanice travinářská, Zubří
[2]OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Zubří

Abstrakt

U vybraných 4 druhů trav (*Festuca pratensis, Poa pratensis, Phleum pratense* a *Lolium perenne*) byla testována klíčivost semen v podmínkách simulovaného sucha. Sucho bylo simulováno v roztoku polyethylenglykolu 6000 (PEG). Testování klíčivosti probíhalo v laboratoři v Petriho miskách na filtračním papíře v 5 různých koncentracích (0,01 mol.l^{-1}, 0,02 mol.l^{-1}, 0,03 mol.l^{-1}, 0,04 mol.l^{-1} a 0,05 mol.l^{-1}). Jako kontrola byla použitá destilovaná voda. U všech vzorků semen se s rostoucí koncentrací výrazně snížilo procento klíčivosti.
Klíčová slova: polyethylenglykol, klíčivost, WASP, sucho, trávy

Abstract

Selected 4 species of grasses (*Festuca pratensis, Poa pratensis, Phleum pratense and Lolium perenne*) were tested for seed germination under simulated drought conditions. The drought was simulated with a solution of polyethyleneglycol 6000 (PEG). Germination testing was performed in the laboratory in Petri dishes on filter paper in 5 different concentrations (0.01 mol.l^{-1}, 0.02 mol.l^{-1}, 0.03 mol.l^{-1}, 0.04 mol.l^{-1} and 0.05 mol.l^{-1}). Distilled water was used as a control variant. The percentage of germination decreased significantly with all seed samples with increasing concentration.
Keywords: polyethylenglycol, germination, WASP, drought, grasses

Úvod

Klimatická změna a zvyšující se sucho v krajině negativně ovlivňuje zemědělské systémy a zároveň vede ke snižování biodiverzity, jak kulturních, tak i přirozených ekosystémů. Pro zemědělské plodiny jsou hrozbou výskyty extrémně vysokých teplot vzduchu, ale také extrémně nízkých teplot v průběhu zimy, hlavně při malé či žádné sněhové pokrývce, ale také vegetační mrazy. Střeštík et al. (2019) uvádějí, že na našem území je statisticky prokázán nárůst roční teploty vzduchu od roku 1961, průměrné hodnoty jsou vyšší o 1 až 2 ºC.

Nejvíce limitujícím stresovým faktorem pro rostliny během těchto horkých vln je nedostatek vody. Srážky na našem území se v ročních úhrnech v dlouhodobém pohledu statisticky nemění, ovšem mají vysokou dynamiku s výskytem dlouhých bezesrážkových období, a tím výskytů intenzivního sucha (Rožnovský, 2019).

Udržitelné zemědělství je v současné době limitováno nedostatkem vody (Castroluna et al., 2014). Nedostatek využitelné vody způsobuje růstový stres, který výrazně ovlivňuje klíčení semen (Sadr Abadi, 1989; Hamidi et al., 2010). Vedle vody jsou dalšími faktory řídícími klíčení kyslík, teplota a světlo (Koucheki et al., 1996; Hamidi et al., 2010). Ke snížení klíčivosti dochází, když vodní potenciál klesne pod hodnotu, na kterou je daná rostlina citlivá. Následně se v důsledku vodního stresu zpomalí klíčivost a sníží se i procento vyklíčených semen (Hamidi

et al., 2010). Stres ze sucha je hlavním faktorem omezujícím všechny vývojové fáze rostlin, což působí velké ztráty při tvorbě výnosu (Sivakumar et al., 2005).

Trvalé travní porosty jsou nedílnou součástí kulturní krajiny České republiky. Z hlediska biologického a hospodářského se jedná o mimořádně různorodou skupinu biotopů, které zahrnují jak intenzivně, tak i extenzivně využívané (ošetřované) plochy v krajině a v intravilánu sídel, s různým stupněm hodnocení ekologické stability (Salaš et al., 2020). Predikovaná změna klimatu samozřejmě výrazně zasahuje i do problematiky zakládání, údržby a využívání travnatých ploch. Nepříznivé klimatické a vodohospodářské trendy vývoje narušují stabilitu české krajiny, zejména v oblastech zemědělsky intenzivně využívaných. Při zakládání jakékoli zeleně je ve fázi vzcházení či zakořeňování limitujícím faktorem přístupnost vody. Ne vždy je možné zavlažovat, takže se hledají cesty k eliminaci nebezpečí sucha v tomto pro rostliny kritickém období. Možností je více, např. vhodné agrotechnické termíny, zlepšení fyzikálních a chemických vlastností půdy apod. Při výsevech semen trav je někdy problematická volba správného termínu, důvodem může být nepříznivé počasí, příliš vlhká půda neumožňující kvalitní výsev, po výsevu může přijít delší období sucha, to vše zvyšuje riziko pro vzcházení semen. 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. předkličování semen, ošetřování osiva biologickými rostlinnými stimulátory nebo obalování semen rychle a pomalu působícími hnojivy případně dalšími látkami (Hrabě et al., 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 ke zlepšování podmínek pro vzcházení nově zakládaných 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 obalených 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 et al., 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 (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. Cílem práce bylo vyhodnotit vliv obalení semen technologií WASP (Water Absorbing Seed Process) na počáteční vývoj porostů trav a jetelovin na třech půdně klimaticky odlišných lokalitách. Obal semen je tvořen několika vrstvami, které obsahují živiny, huminové kyseliny, biostimulátory aj. a především hydroabsorbent, zajišťující semeni stálou vlhkost (Feldsaaten Freudenberger, 2019).

Cílem práce je porovnat klíčivost čtyř druhů trav (*Festuca pratensis, Poa pratensis, Phleum pratense* a *Lolium perenne*) v podmínkách simulovaného sucha za pomoci roztoku polyethylengykolu u semen obalených metodou WASP a neošetřenou variantou.

Materiál a metody

Pro simulaci sucha v laboratorních podmínkách byla použita chemická látka polyethylenglykol 6000 pod obchodním názvem ROTIPURAN, který odpovídá molární koncentraci 5000–7000 $g.mol^{-1}$. Pro testy klíčivosti byly zvoleny koncentrace roztoků 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05 $mol.l^{-1}$, které byly zvoleny podle předešlého zkušebního testu klíčivosti. Pro ředění roztoků byla použita destilovaná voda. Byly testovány 4 druhy trav (*Festuca pratensis*, *Poa pratensis*, *Phleum pratense* a *Lolium perenne*). Testování klíčivosti bylo prováděno v Petriho miskách o průměru 9 cm, přičemž v každé misce bylo hodnoceno 50 semen. V kontrolní variantě byl filtrační papír zvlhčen pouze destilovanou vodou. K ostatním variantám byl přidán roztok polyethylenglykolu (PEG-6000) v koncentracích 0,01 až 0,05 $mol.l^{-1}$. Vyklíčená semena byla průběžně odstraňována v rozmezí 2–3 dnů. Roztoky byly průběžné doplňovány do Petriho misek během pokusu podle potřeby. Všechny varianty byly testovány v pěti opakováních. Petriho misky byly kultivovány postupně podle travních druhů v průběhu roku 2020 v růstové komoře NÜVE TK-600 v nastavení: den 8 hodin, světlo, teplota 25 °C, noc 16 hodin, tma, teplota 15 °C. Takto nastavené parametry byly zvoleny s ohledem na standardy pro testování klíčivosti osiv námi sledovaných druhů trav (ISTA, 2010). Pokus byl založen ve dvou variantách (neošetřené osivo / obalené osivo). Byla vyhodnocována rychlost klíčení jednotlivých travních druhů v závislosti na intenzitě simulovaného sucha a variantě úpravy osiva.

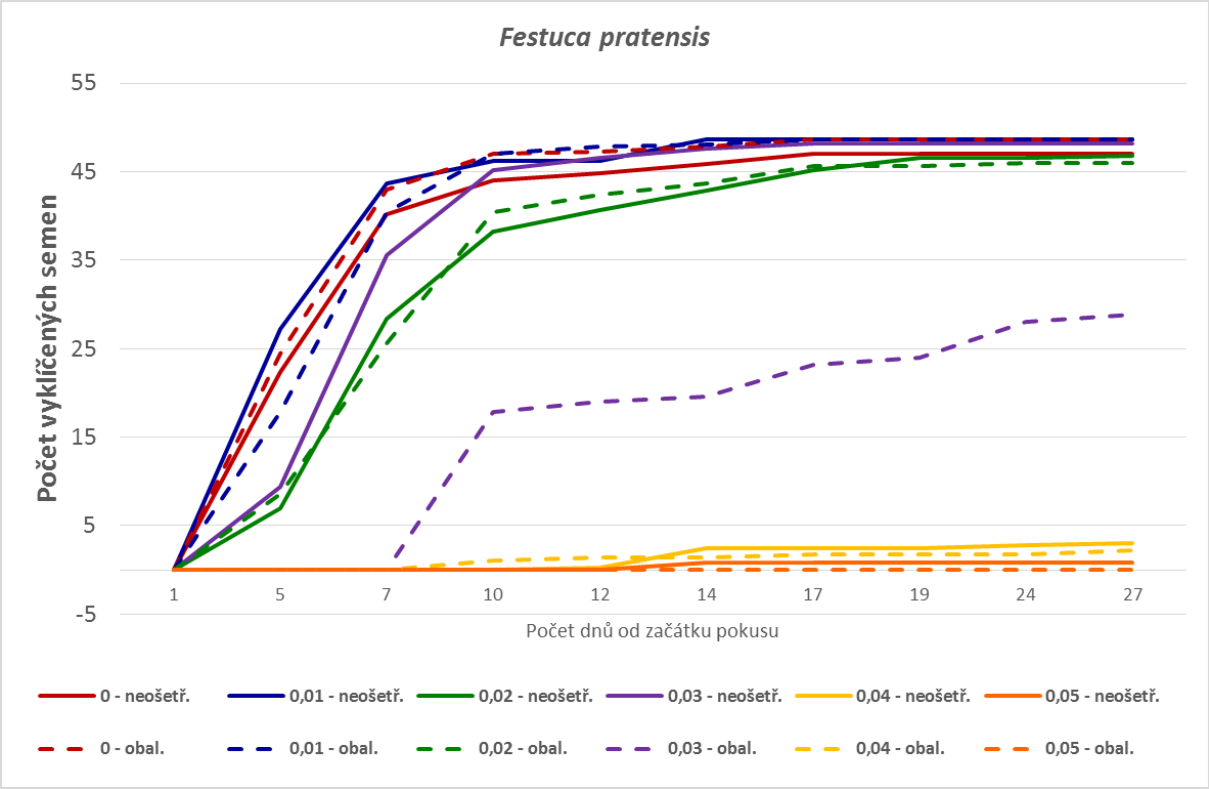
Výsledky a diskuze

Za jednu z nejdůležitějších vlastností osiva je považována klíčivost (Pazderů, 2009). Klíčení semen a vzcházení rostlin jsou nejkritičtější fáze vývoje rostlin, které ovlivňují úspěch nebo neúspěch vysetých plodin (Villalobos et al., 2016). Sledování klíčivostí v laboratorních podmínkách za použití roztoku polyethylenglykolu (PEG), jako kritérium suchovzdornosti, studovali také Siahsar et al., 2010; Hellal et al., 2018; Kintl et al. 2019; Hutyrova et al., 2019 a Vymyslický et al., 2021).

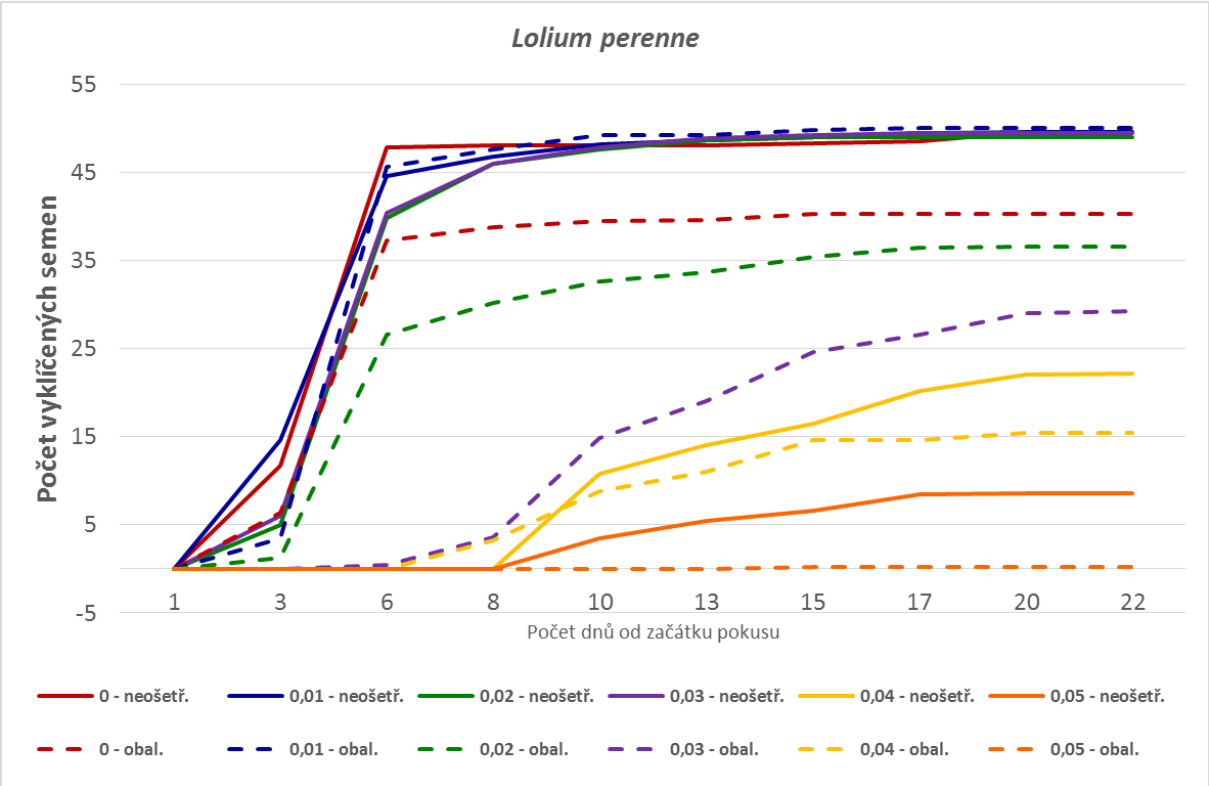
Ve výsledcích laboratorní zkoušky klíčivosti se ukázaly poměrně značné rozdíly mezi jednotlivými druhy trav (Graf 1–4). Druhy *Festuca pratensis* a *Poa pratensis* již při koncentraci PEG 0,04 $mol.l^{-1}$ neklíčily nebo klíčily velmi málo na rozdíl od druhů *Lolium perenne* a *Phleum pratense* kde ještě klíčení u koncentrace 0,04 $mol.l^{-1}$ probíhalo.

Klíčivost u druhu *Festuca pratensis* (Graf 1) byla u varianty neošetřeného a obaleného osiva v kontrolní variantě a koncentraci 0,01 $mol.^{l-l}$ téměř stejná. U koncentrace 0,02 $mol.l^{-1}$ již byl zaznamenán opožděný začátek klíčení a největší rozdíl byl zaznamenán u koncentrace 0,03 $mol.l^{-1}$, kdy u obaleného osiva byl zaznamenán jak pozdější nástup klíčení tak i menší procento vyklíčených semen. U koncentrace 0,04 $mol.l^{-1}$ a 0,05 $ml.l^{-1}$ bylo u druhu *Festuca pratensis* zaznamenáno velmi málo vyklíčených semen.

U druhu *Lolium perenne* (Graf 2) byly zaznamenány význačné rozdíly jak mezi variantami semen neošetřenými a obalenými tak i mezi jednotlivými koncentracemi. Téměř ve všech koncentracích bylo zjištěno pozdější vzcházení obalovaného osiva i nižší klíčivost semen.

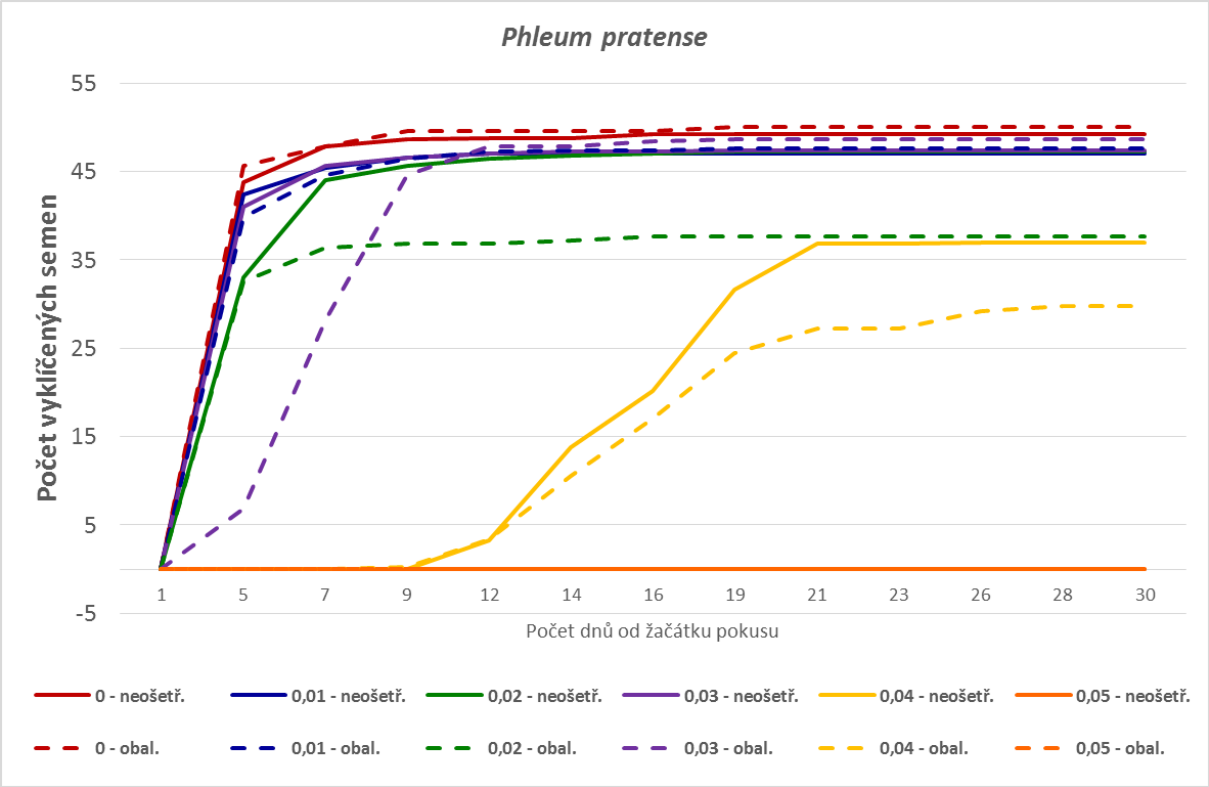


Graf 3: Vliv simulovaného sucha a varianty úpravy osiva na rychlost klíčení travního druhu *Festuca pratensis*

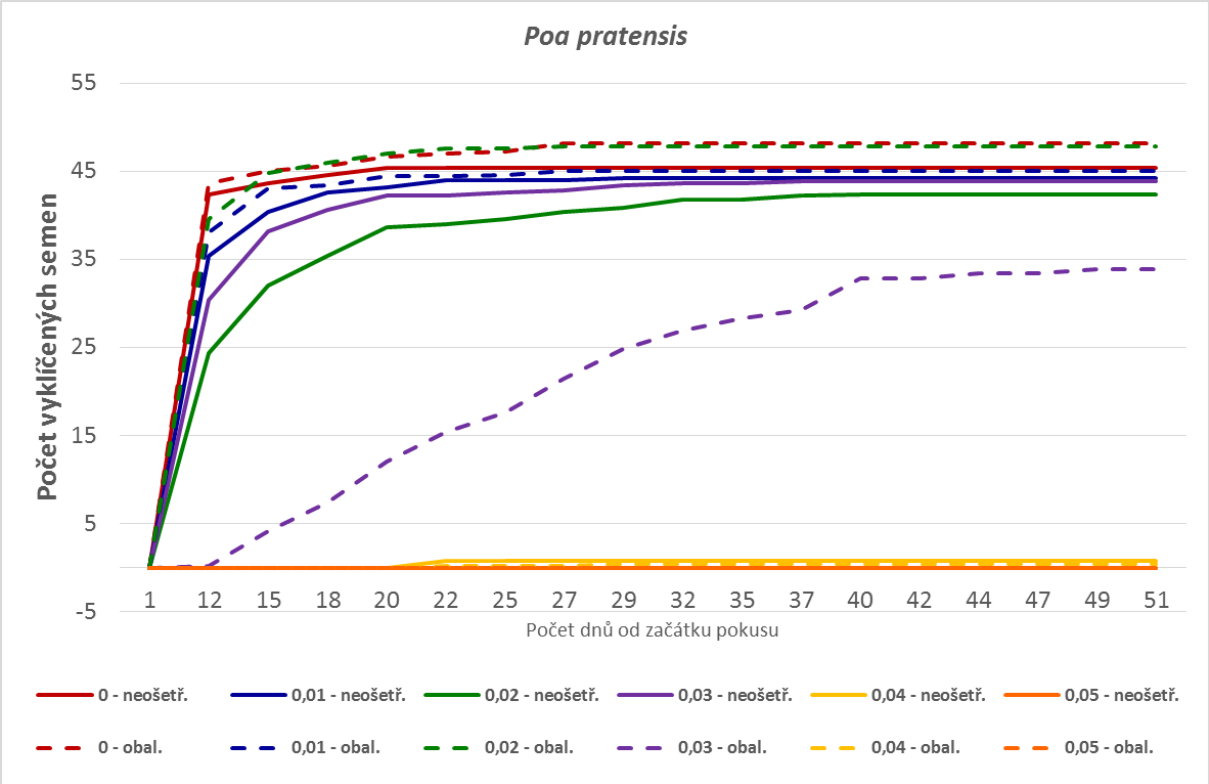


Graf 4: Vliv simulovaného sucha a varianty úpravy osiva na rychlost klíčení travního druhu *Lolium perenne*

U druhu *Phleum pratense* (Graf 3) bylo od koncentrace PEG 0,02 mol.l^{-1} pozorováno pomalejší klíčení semen ve variantě obaleného osiva v porovnání s neošetřenými semeny. Značný rozdíl byl zaznamenán u nejvyšších dvou koncentrací, kdy u koncentrace 0,04 mol.l^{-1} byla zaznamenaná klíčivá semena, tak u koncentrace 0,05 mol.l^{-1} již neklíčila žádná semena.
U posledního druhu *Poa pratensis* (Graf 4) bylo zpomalení klíčení ve variantě obaleného osiva pozorováno až v koncentraci PEG 0,03 mol.l^{-1} a to hlavně u varianty s obalovaným osivem. U koncentrace 0,04 a 0,05 mol.l^{-1} již semena téměř vůbec neklíčila.



Graf 5: Vliv simulovaného sucha a varianty úpravy osiva na rychlost klíčení travního druhu *Phleum pratense*



Graf 6: Vliv simulovaného sucha a varianty úpravy osiva na rychlost klíčení travního druhu *Poa pratensis*

Závěr

Druhy *Festuca pratensis* a *Poa pratensis* již při koncentraci PEG 0,04 mol.l^{-1} neklíčily nebo klíčily velmi málo. U druhů *Lolium perenne* a *Phleum pratense* bylo od koncentrace PEG 0,02 mol.l^{-1} pozorováno pomalejší klíčení semen ve variantě obaleného osiva v porovnání s neošetřenými semeny. U druhů *Festuca pratensis* a *Poa pratensis* bylo zpomalení klíčení ve variantě obaleného osiva pozorováno až v koncentraci PEG 0,03 mol.l^{-1}. Dosažené výsledky laboratorních testů potvrzují, že při použití obaleného travního osiva dochází k různě velkému zpomalení při klíčení a následně i vzcházení rostlin.

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 MZERO1821).

Literatura

Castroluna A., Ruiz O.M., Quiroga A.M. (2014). Effects of salinity and drought stress on germination, biomass and growth in three varieties of Medicago sativa L. Avances En Investigacion Agropecuaria, 18, s. 39–50.

Feldsaaten Freudenberger, 2019: Seed Coating Technology [online], [cit. 2019-09-10]. URL: http://www.mantelsaat.com/english/home.html

Hamidi H. & Safarnejad A. (2010). Effect of Drought Stress on Alfalfa Cultivars (Medicago sativa L.) in Germination Stage. American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences, 8 (6), s. 705–709.

Hellal F. A., El Shabrawi H. M., Abd El Hady M., Khatab I. A., El-Sayed S. A. A. and Abdelly C. (2018). Influence of PEG induced drought stress on molecular and biochemical constituens and seedling growth of Egyptian barely cultivars. J. Genet. Eng. Biotechnol. 16. s. 203–212.

Hrabě F. et al. (2009). Trávníky pro zahradu, krajinu a sport. Olomouc: Vydavatelství Petr Baštan, s. 62–64. ISBN 978-80-87091-07-4

Hutyrová H., Kadaňková P., Kubíková Z., Kintl A., Pelikán J. (2019). Studium klíčivosti odrůd čeledi Fabaceae v podmínkách simulovaného sucha v roztoku polyethylenglykolu. In: Salaš P. (ed.): ,,Rostliny v suchých oblastech a klimatická změna‘‘. Lednice 23.-24.10.2019. Zahradnictví: Vědecká příloha. Praha: profi Press, 2019, XVIII (11), 142-147. ISSN 1213-7596.

Kintl A., Elbl J., Kadaňková P., Hutyrová H. (2019). Drought Tolerance of the Seeds of White Sweet Clover (Melilotus albus Medik.). In: Proceedings of the Seed and Seedlings XIV, CULS, Prague, s. 167–173.

Koucheki A.M., Mhalatti N. (1996). Cultivate Plants Ecology (Plant and Environment Relations). Jahad Daneshgahi Publication.

Lošák M., Ševčíková M., 2018: Vliv obalování semen technologií WASP na kvalitativní ukazatele osiv a vzcházení trav. Úroda, vědecká příloha, 66 (12), 313–317.

Pazderů K. (2009). Importance of germination energy for seed quality evaluation. In: Proceedings of the Seed and Seedlings IX, CULS, Prague, s. 56–60.

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.

Rožnovský J. (2019). Water Balance and Phase of Hydrocycle Dynamics. In: Zelenkova Martina, Jitka Fialová a Abdelazim M. NEGM, ed. *Assessment and Protection of Water Resources in the Czech Republic*. Springer Water, s. 403–414. ISBN 978-3-030-18362-2.

Sadr Abadi R. (1989). Drought Stress Effects on Azote Stabilization in Some Alfalfa Species. M.A. Agriculture Thesis, Agriculture University, Sharif Industrial University-Isfahan, s. 127.

Salaš a kol. (2020). Využití obalovaného osiva pro zakládání porostů trav a jetelovin. Certifikovaná metodika. Mendelova univerzita v Brně, Agriprint s.r.o. Olomouc, ISBN 978-80-7509-752-1.

Siahsar B., Ganjali S., Allahdoo M. (2010). Evaluation of drought tolerance indices and their relationship with grain yeild of lentil lines in drought-stressed and irrigated environments. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 7(9), s. 4336–4346.

Sivakumar M. V. K., Das H. P., Brunini O. (2005). Impacts of present and future climate variability and change of agriculture and forestry in the arid and semi-arid tropics. Climatic Change, 70 (1-2), s. 31–72.

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.

Střeštík J., Rožnovský J., Štěpánek P., Zahradníček P. (2019). Změna klimatických podmínek ve vybraných regionech ČR v období 1961–2017. In: *Rožnovský J., Litschmann T. (eds.). Sborník příspěvků z mezinárodní konference ,,Hospodaření s vodou v krajině''*, Třeboň 13. 14.6.2019 [CD]. Praha: Český hydrometeorologický ústav. ISBN 978-80-87577-88-2.

Villalobos F. J., Orgaz F., Fereres E. (2016). Sowing and Planting. In: Villalobos F. J., Fereres E. (eds) Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture and Environment. 3rd Edition Academic Press, p. 613.

Vymyslický T., Huňady I., Ondriasková V., Kubíková Z. (2021). Suchovzdornost vybraných genetických zdrojů rodu Lotus ve fázi klíčení. Osivo a sadba, sborník referátů, XV. národní odborný a vědecký seminář, Česká zemědělská univerzita v Praze, 2021. ISBN: 978-80-213-3080-1.

Kontaktní adresa:

Ing. Simona Raab
OSEVA PRO s.r.o.
Výzkumná stanice travinářská Rožnov – Zubří
Hamerská 698, 756 54 Zubří
raab@oseva.cz
Tel: +420 739 077 123

Využití dusíku a rychlost stárnutí listů během období tvorby zrna u vybraných odrůd pšenice: vliv dusíku a dostupnosti vody

Use of nitrogen and leaf senescence during grain formation period in selected cultivars of wheat: Effect of nitrogen and water availability

Raimanová I., Kurešová G., Haberle J., Svoboda P.

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha 6

Abstrakt

V polním pokuse v Praze Ruzyni byly letošního roku sledovány rozdíly v rychlosti stárnutí praporcových listů u vybraných odrůd ozimé pšenice. Byl sledován vliv dostupnosti vody (varianty S, K, V) a dvou úrovní hnojení dusíkem (N1 a N0) na vybrané ukazatele senescence listů a metabolismu dusíku. Vybrané parametry byly stanoveny na počátku kvetení a poté 15. a 25. den po odkvětu. Byly zjištěny rozdíly mezi odrůdami pšenice seté a pšenice jednozrnky. Obsah chlorofylu se neměnil nebo mírně stoupal až do 15. dne po odkvětu. Následný pokles byl u nestresovaných variant (K, V) výrazně pomalejší a to i na variantě s nižší úrovní hnojení. Rychlejší pokles byl zaznamenán u rostlin stresovaných nedostatkem vody a u rostlin pšenice jednozrnky. Obsah N v listech, stejně jako aktivita nitrát reduktázy byly nejvyšší na začátku kvetení. Obsah dusíku začal výrazněji klesat až 25. den po odkvětu.
Klíčová slova: stárnutí listů, pšenice, dostupnost vody, dusík

Abstract

Differences in flag leaf senescence in selected varieties of winter wheat were observed in field experiment in Prague Ruzyně in 2021. The effect of water availability (variants S, K, V) and two nitrogen fertilation levels (N1 and N0) on selected parameters of leaf senescence and nitrogen metabolism was observed. Differences were found between cultivars of winter wheat. The chlorophyll content did not affected or rise slightly until the 15th day after flowering. The subsequent decrease was significantly slower for non-stressed variants (K, V), even on the lower fertilization level variant. A significant decrease was seen in plants stressed by water shortage and in eincorn plants. The N content of the leaves, as well as the activity of nitrate reductase were highest at the beginning of flowering. The nitrogen content began to decrease more significantly only on the 25th day after flowering.
Keywords: leaf senescence, wheat, irrigation, water shortage, nitrogen

Úvod

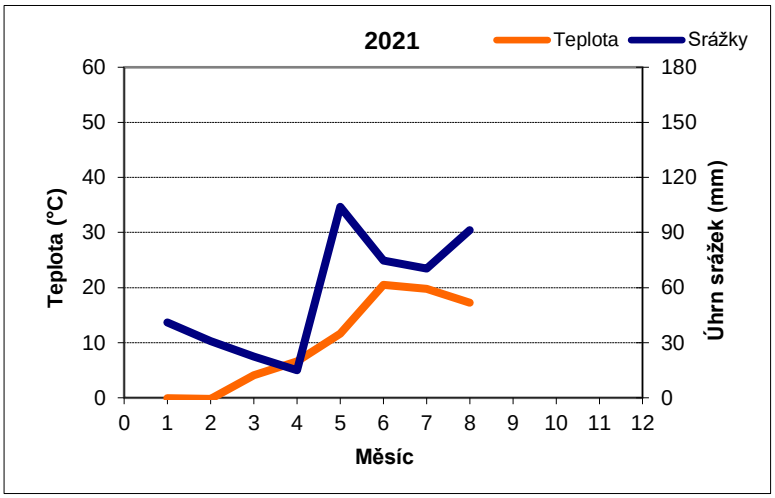
Rostliny ozimé pšenice do začátku kvetení přijmou v závislosti na půdních podmínkách a průběhu počasí (teploty, srážek) 70 - 90 % dusíku a vytvoří kolem 60 % celkové biomasy (Hirel *et al*., 2007). Krátce po začátku kvetení rostliny přecházejí do reprodukční fáze růstu. Během tohoto období metabolicky aktivní listy mění svou úlohu a stávají se zdrojem asimilátů, které jsou translokovány do vyvíjejícího se zrna. Nastupující období tvorby zrna je provázeno omezováním příjmu živin z půdy, poklesem metabolické aktivity listů a translokací asimilátů do rostoucích obilek. Rychlost těchto procesů, které jsou spojeny s postupným stárnutím (senescencí) listů, je ovlivněna podmínkami prostředí a současně genetickými rozdíly pěstovaných odrůd. Vzhledem ke stále rychleji se měnícím podmínkám prostředí jsou na

pěstované odrůdy kladeny velké nároky a pěstitelé vyhledávají plastičtější odrůdy schopné poskytnout odpovídající výnos i za méně příznivých podmínek (sucho, vyšší teplota atd.)
Cílem práce bylo zhodnotit vliv dostupnosti vody a úrovně výživy na stárnutí listové plochy během období tvorby zrna. Jako vhodné ukazatele rozdílů v rychlosti senescence praporcových listů u ozimé pšenice byly využity změny v obsahu chlorofylu, celkového N a aktivity nitrát reduktázy.

Materiál a Metody

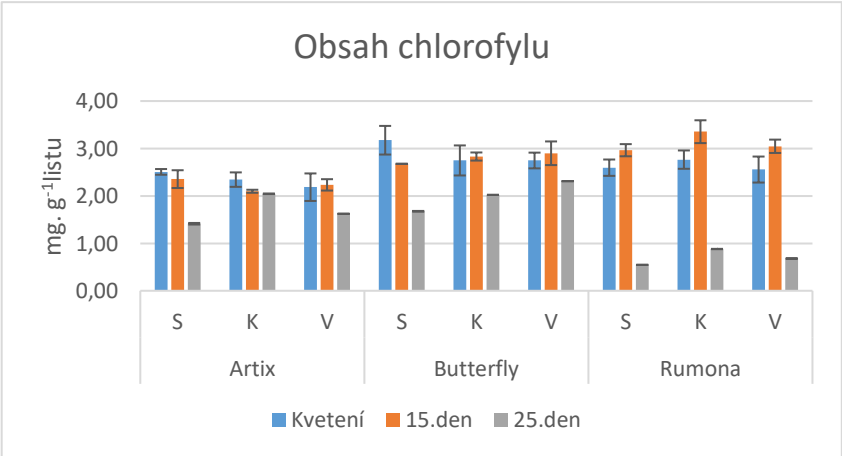
V maloparcelkovém polním pokusu byly sledovány dvě vybrané kontrastní odrůdy ozimé pšenice (*Triticum aestivum* L.) - Artix (raná odrůda, pekařská jakost B, Selgen a.s.) a Butterfly (poloranná až pozdní odrůda, pekařská jakost E, Selgen a.s.), společně s odrůdou pšenice jednozrnky (*Triticum monococum*) – Rumona (středně raná, použití pro výrobu bio-potravin, VÚRV, v.v.i.). Vybrané registrované odrůdy byly pěstovány na pozemcích VÚRV, v.v.i. v Praze-Ruzyni (334 m n.m., teplá, mírně suchá oblast, černozem luvická, průměrná roční teplota 8,5 °C, průměrné roční srážky 477 mm).
Sledované odrůdy byly pěstovány při dvou úrovních hnojení dusíkem – varianta N0 (celková dávka aplikovaného dusíku 40 kg N ha^{-1}) a varianta N1 (celková dávka dusíku 100 kg N ha^{-1}). Současně byla u odrůd nastavena různá úroveň dostupnosti vody – varianta S (porost byl od počátku metání zakrýván mobilním krytem, tak aby úroveň dostupnosti vody v kořenové zóně na počátku kvetení dosáhla úrovně vodního stresu, varianta K (úroveň dostupnosti vody odpovídala srážkám a dostupné vodě v půdě), varianta V (optimální dostupnost vody byla regulována kapkovou závlahou).
Na začátku kvetení (BBCH 61) byla označena stébla ve stejné vývojové fázi. U označených stébel byly odebírány praporcové listy a vyvíjející se klas ve třech termínech během období tvorby zrna (na začátku kvetení, 15. a 25. den po začátku kvetení). Poslední odběr byl proveden těsně před sklizní. Část vzorků byla zamražena a uchovávána při -80 °C, druhá část byla usušena při 70°C. V odebraných vzorcích listů byl stanoven celkový obsah dusíku, obsah chlorofylu a aktivita nitrát reduktázy.
Obsah celkového dusíku v sušině (mg N. g^{-1} listu) byl stanoven spektrofotometricky v mineralizovaném vzorku na automatickém analyzátoru Skalar San Plus System (Breda, Nizozemí). Obsah chlorofylu ve zmražených vzorcích (mg. g^{-1} listu) byl stanoven spektrofotometricky upravenou metodou č. 942.04 dle AOAC, (1990). Aktivita nitrát reduktázy (nmol $NO_2^-.g^{-1}$ listu) byla stanovena metodou in vitro podle Gaudinová, (1990).

Výsledky a diskuze



Obr. 1. Waltrův klimogram s průběhem počasí v roce 2021

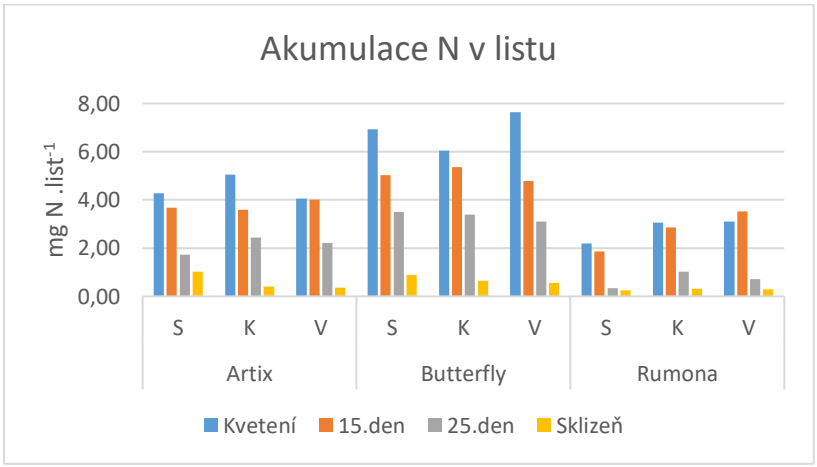
Průběh počasí během jarních a letních měsíců, ovlivňující vývoj porostu, zakládání klasů, termín kvetení, tvorbu zrna a jeho výslednou kvalitu a výnos, byl v letošním roce charakterizován mírným přísuškem během dubna, vlhkým a studeným květnem a příznivými teplotními i srážkovými podmínkami v průběhu kvetení a během tvorby a zrání zrna (Obr. 1). Chladné, deštivé počasí během května významně posunulo počátek kvetení u sledovaných odrůd, kdy i velmi raná odrůda Artix v Ruzyni nakvetla až počátkem června (7.6), následovaná pozdní odrůdou Butterfly (12.6) a odrůdou pšenice jednozrnky (20.6.).

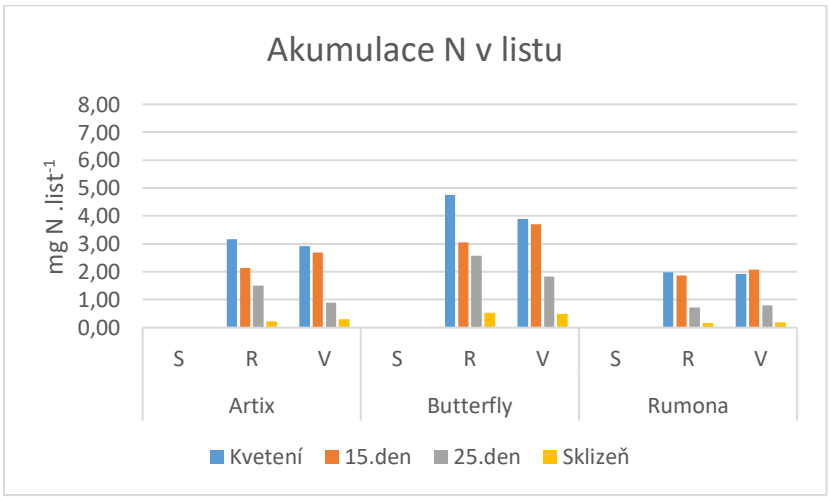


Obr. 2. Obsah chlorofylu v praporcovém listu odrůd pšenice u varianty N1během období tvorby zrna (kvetení – 25.dní po odkvětu)

Metabolická aktivita listů je jedním z důležitějších zdrojů asimilátů pro vyvíjející se zrno. Délka období, kdy si listy po odkvětu zachovávají svou aktivitu, před nástupem senescence, může významně ovlivnit kvalitu i výnos zrna. Dobrým ukazatelem stavu listů, je obsah chlorofylu. Jeho degradace je prvním viditelným projevem senescence listové plochy.
U odrůd pšenice seté (Artix a Butterfly) nebyly zjištěny významnější změny v obsahu chlorofylu během prvních 15. dní po odkvětu a následný úbytek byl v letošním roce jen velmi

pozvolný, což indikuje pomalejší stárnutí listů a tím prodloužení období tvorby asimilátů (Obr. 2). Největší pokles byl zaznamenán u suché varianty (pokles téměř o 50 %, u variant K a V jen o 15-25%), což je dáno dobou, po kterou jsou rostliny u této varianty vystaveny suchu. U později nakvétající pšenice jednozrnky rostl obsah chlorofylu až do 15. dne po odkvětu a poté následoval rychlý úbytek mezi 15. a 25. tým dnem bez ohledu na dostupnost vody (pokles o 70-80%). U varianty N0 byl obsah chlorofylu od počátku nižší v průměru o 14% u všech odrůd i variant. Odrůdové tendence v nástupu senescence byli stejné.
Dalším sledovaným parametrem byla akumulace celkového dusíku v praporcových listech, který závisí na velikosti (hmotnosti) listové plochy a obsahu dusíku v sušině. Převážná část zde uloženého dusíku je posléze remobilizována a využita pro tvorbu zrna. Více než 50% N je v listech uloženo ve formě základního enzymu asimilace CO_2 – RuBisCO (Hirel et al., 2007), a dále ve formě strukturních a metabolických bílkovin, minerálního dusíku ve vakuolách a nově syntetizovaných N-látek. Pokles obsahu N je spojen s poklesem fotosyntetické aktivity listů. Rozdíly v množství celkového dusíku akumulovaného v praporcových listech vybraných odrůd v době kvetení je dán jejich velikostí. Ze sledovaných odrůd byl nejvyšší obsah akumulovaného N v listu zjištěn u více hnojené (N1) odrůdy Butterfly (elitní pekařská jakost)





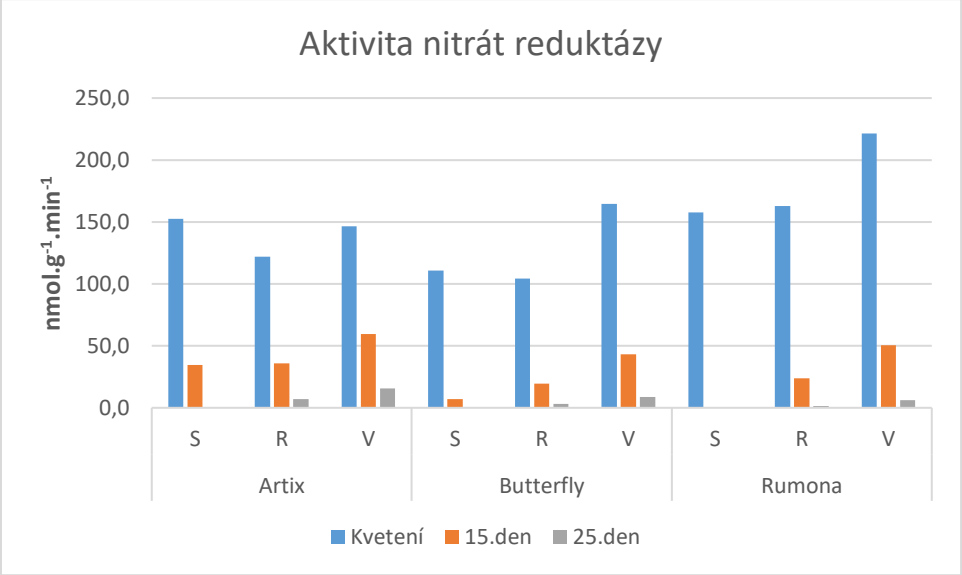
Obr. 3 Akumulace celkového N v praporcových listech odrůd pšenice u varianty N1 a N0 během období tvorby a zrání zrna

Rychlost translokace asimilátů z listu do zrna je ovlivněna působením vnějších podmínek (teplota, srážky). U obou odrůd pšenice seté byl pokles dusíku v praporcovém listu patrný již

15. dní po kvetení (Obr. 3). 25. den po odkvětu klesl zhruba na polovinu (u odrůdy Artix - 41% (S), 48% (K) a 55% (V) u více hnojené varianty (N1) a 47% (K) 32% (V) u varianty N0, u odrůdy Butterfly – 55%, 51% a 56% u varianty N1 a 54 resp. 47% u N0). V době sklizně byl u obou odrůd největší podíl translokovaného dusíku zjištěn u zavlažované a více hnojené varianty (91 respektive 93%).

U pšenice jednozrnky byl stejně jako v případě obsahu chlorofylu průběh odlišný, 15. dní po kvetení zde byl zaznamenán pokles jen velmi mírný (varianty S a K u obou úrovní hnojení) a u zavlažované varianty došlo dokonce k nárůstu akumulovaného N v praporcových listech o 14% a 8% (N1 resp. N0). Následný pokles mezi 15. a 25. tým byl však výrazný okolo 30%. V době sklizně zůstalo v praporcových listech 18 resp. 9% (N1 a N0) dusíku, který nebyl využit pro tvorbu zrna.

Aktivita nitrát reduktázy ukazuje schopnost listů metabolizovat minerální dusík, současně je nepřímým ukazatelem příjmu nitrátů z půdy (resp. jejich dostupnosti). U všech odrůd byla nejvyšší aktivita nitrát reduktázy v praporcových listech zaznamenána na počátku kvetení. Její rychlý pokles během následujících 15-ti dnů naznačuje omezování příjmu půdního N během počáteční fáze tvorby zrna. U suché varianty (S) nebyla ani u jedné odrůdy stanovena aktivita nitrát reduktázy 25. den po kvetení. U zavlažované varianty (V) byla naopak aktivita nitrát reduktázy nejvyšší, což ukazuje na podmínky vhodné pro příjem a využití nitrátů z půdy.



Obr. 4 Aktivita nitrát reduktázy v praporcových listech odrůd pšenice u varianty N1 během období tvorby a zrání zrna

Závěr

Rychlost stárnutí listové plochy je ovlivněna úrovní dostupnosti vody stejně jako nedostatkem dusíku v půdě. Průběh počasí před a během období tvorby zrna posunul začátek kvetení u všech sledovaných odrůd a díky dostupným srážkám došlo ke zpomalení senescence listové plochy u kontrolních i zavlažovaných variant a tím k prodloužení období tvorby asimilátů pro vývoj zrna, což mělo vliv i na vyšší výnos. V porovnání se suchou variantou zde také déle zůstal zachován příjem dusíku z půdy. V porovnání s odrůdami pšenice seté, u pšenice jednozrnky byla pozorována výrazně rychlejší senescence a vliv nedostatku vody zde nebyl tak výrazný.

Dedikace
Výsledek vznikl za podpory projektu NAZV QK1910041 a MZE-RO0418.

Použitá literatura
AOAC, (1990): Official methods of analysis: Chlorophyll in plants. Spectrophotometric method for total chlorophyll and a and b components. 62 - 63.
Gaudinová, A., (1990): The effect of cytokinins on nitrate reductase-activity. Biologia Plantarum 32, 89 - 96.
Hirel, B., Le Gouis, J., Ney, B., Gallais, A., (2007): The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: toward a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. Journal of Experimental Botany 58, 2369 – 2387.

Kontaktní adresa:
RNDr. Ivana Raimanová, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507/73
16106 Praha 6 – Ruzyně
raimanova@vurv.cz, tel.: 607 060 322

Emise co_2 a ztráty vody z půdy po různém zpracování před setím ozimů

CO_2 emissions and soil water loss after various treatment before winter crops sowing

Růžek P., Kusá H., Mühlbachová G., Vavera R.

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

Abstrakt

V polních pokusech na stanovišti v Praze-Ruzyni byl v letech 2020 a 2021 sledován vliv mělké a hluboké podmítky, mulčování a ponechaného strniště po sklizni ozimé pšenice a hrachu na půdní vlhkost a emise CO_2 z půdy během teplého letního období před setím řepky ozimé. Varianty pokusu byly následující: hluboká podmítka (do 10-12 cm), mělká podmítka (do 5-6 cm), mulč a strniště s ponechanou rozdrcenou slámou. Emise CO_2 měřené v různých termínech po hluboké podmítce provedené v letním počasí byly v teplých dnech až dvojnásobné oproti ostatním způsobům zpracování půdy a managementu posklizňových zbytků. Půda po hlubší podmítce také vykazovala nižší vlhkost, vyšší teplotu a větší denní výkyvy teplot. Strniště a mulč, které zůstávají na neporušeném povrchu půdy, snižují emise CO_2, zvyšují sekvestraci uhlíku a vody v půdě a omezují její přehřívání v letním období.
Klíčová slova: Zpracování půdy, emise CO_2, sekvestrace vody a C v půdě

Abstract

The effect of deep and shallow chiselling, straw mulch and intact stubble after wheat and pea on soil moisture and CO_2 emissions during warm summer period before winter rape sowing was studied in field experiments in Prague in 2020-21. The following treatments were compared: deep chiselling up to 12 cm, shallow chiselling (6-8 cm depth), straw mulch and intact stubble with a straw. Deep chiselling in hot summer weather caused even twice CO_2 emissions from soils in comparison with other soil tillage and straw management practices. The soils under deep chiselling showed also higher soil temperature and greater temperature fluctuation during a day and a lower soil moisture. Straw mulch and stubble remaining on the intact soil surface increased water and carbon sequestration in soil, decreased CO_2 emissions from soils and prevented soil overheating in warm summer period.
Keywords: soil tillage, CO_2 emissions, water and C sequestration in soil

Úvod

Předpokládané změny klimatu s častějšími obdobími sucha, nepravidelnými srážkami a rostoucími teplotami přinášejí nové požadavky na šetrné zpracování půdy, zadržení vody, uhlíku a živin v půdě a stabilizaci výnosů pěstovaných plodin i v sušších letech. Obsah organických látek a vody v půdě je ovlivněn různými druhy pěstovaných plodin a meziplodin, způsobem hospodaření, klimatickými a půdními podmínkami. V souvislosti se změnou klimatu je zásadní prozkoumat dlouhodobé účinky těchto environmentálních faktorů a zemědělských činností na dynamiku uhlíku a vody (Chi et al., 2017).

Změny v postupech zpracování půdy orientované na nižší intenzitu jsou již v zemědělské praxi běžně akceptovány. Hlubší zpracování podporuje ztrátu organické hmoty v půdě, což vede k dalším problémům, jako je narušení agregátů nebo zvýšená eroze půdy (Melero et al., 2009). Značné množství CO_2 se uvolňuje do atmosféry ze zemědělských půd po mineralizaci půdní organické hmoty (asi 50 Gt C/rok). Vhodnější způsoby zpracování půdy ale mohou zásoby C

v zemědělské půdě obnovit a pomoci tak zmírnit emise CO_2 (Paustian et al. 2000). Použitím posklizňových zbytků jako mulče je možné zlepšit obsah organického uhlíku v půdě. Povětrnostní podmínky mohou hrát důležitou roli při zachování organické hmoty v půdě. Například nedostatek srážek negativně ovlivňuje postupný rozklad posklizňových zbytků (Lopez-Sangil et al., 2018). Emise CO_2 z půdy závisí na různých faktorech jako je způsob zpracování půdy, její teplota a vlhkost, vzájemné interakce mezi těmito faktory a samozřejmě závisí i na dostupnosti organických látek zapravovaných do půdy (Paustian et al., 2000; Dong et al., 2017). Curtin et al. (1998, 2000) ukázali, že sláma ponechaná na povrchu půdy snížila emise CO_2 přibližně 5krát v porovnání se zapravením slámy orbou.

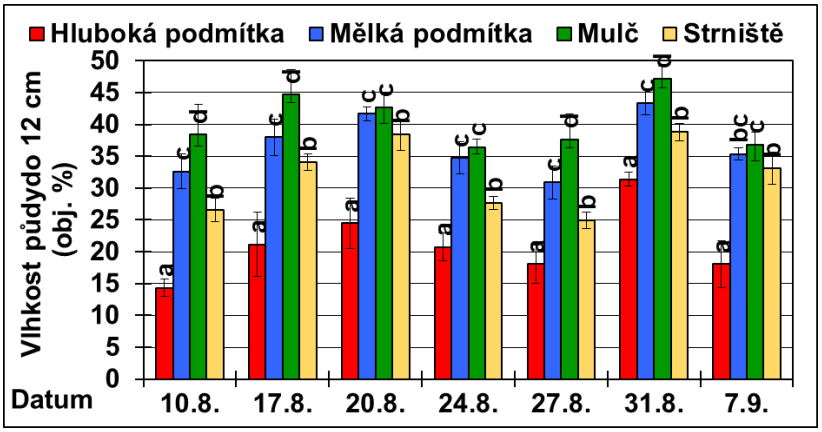
Materiál a metody

Polní pokusy s různým managementem posklizňových zbytků včetně slámy a strniště po sklizni ozimé pšenice (2020) a hrachu (2021) byly provedeny na hnědozemi v Praze- Ruzyni. Jejich cílem bylo porovnat šetrnější agrotechnické postupy před setím řepky (mělká a hlubší podmítka, mulčování, ponechané strniště) pro lepší zadržení vody a uhlíku v půdě během teplého letního období. Byly porovnávány následující postupy: hluboká podmítka (do 10-12 cm), mělká podmítka (do 5-6 cm), mulč s rozdrcenou slámou na povrchu a strniště s rozdrcenou slámou. Vlhkost a teplota půdy a emise CO_2 byly měřeny v 3-7 denních intervalech v teplém letním období 10.8. až 7.9. v roce 2020 a 6.8. až 14.9. v roce 2021. Emise CO_2 byly stanoveny pomocí automatického systému na měření CO_2 z půdy LI-COR 8100 v systému s Multiplexerem 8150 a měřícími komorami LI-8100-104 (USA) pracujícími v režimu postupně se zavírajících a otevírajících komor. Objemová vlhkost byla stanovena v půdním profilu do hloubky 12 cm pomocí FieldScout TDR Soil Moisture Meter (Spectrum Technologies, Inc., United Kingdom).

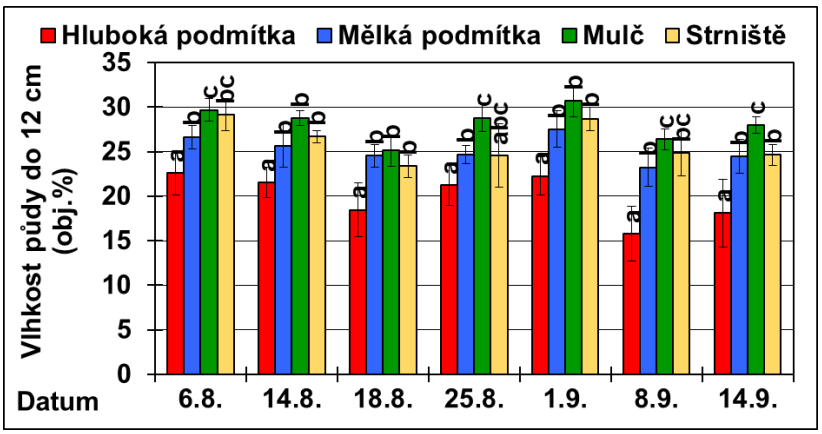
Výsledky a diskuse

Polní pokus po sklizni ozimé pšenice (od 7.8. - provedena podmítka a mulčování slámy do 7. 9. 2020) lze charakterizovat průměrnými denními teplotami vzduchu od 11,5 do 26,0 °C a úhrnem srážek 40,7 mm. Teplota půdy v hloubce 5 cm byla ovlivněna způsobem zpracování půdy a managementem posklizňových zbytků. Nejvyšší rozdíly v teplotě během dne vykazovala půda po hluboké podmítce, které během 24 hodin činily až 20 °C. Půda po mělké podmítce, mulčování a strništi se během dne méně prohřívala a maximální rozdíl dosahoval přibližně 10 °C. Nejvyšší odpolední teploty byly po hluboké podmítce vyšší až o 5-8 °C. Celodenní průměrné teploty byly nejvyšší v půdě po hluboké podmítce a klesaly v pořadí: hluboká podmítka >> mělká podmítka > strniště ≥ mulč. Naopak vlhkost půdy do hloubky 12 cm byla nejvyšší u mulče a nejnižší u hluboké podmítky (Graf 1). Obdobné výsledky ve vlhkosti půdy byly zjištěny také v roce 2021 po sklizni hrachu, kdy byly podmítka a mulčování provedeny 30. 7. a pokus probíhal do 14. 9. (Graf 2).

Graf 1: Objemová vlhkost různě zpracované půdy po sklizni ozimé pšenice



Graf 2: Objemová vlhkost různě zpracované půdy po sklizni hrachu

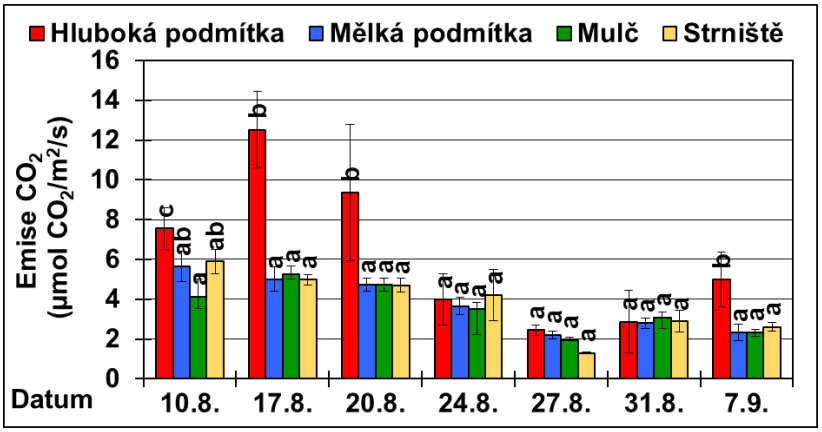


Po hlubší podmítce byly v roce 2020 po ozimé pšenici ve většině termínů měření zjištěny také nejvyšší emise CO_2. Rozdíly v emisích CO_2 mezi hlubokou podmítkou a ostatními variantami pokusu byly statisticky průkazné (Graf 3). Teplota půdy přitom představovala jeden z významných faktorů, které emise CO_2 z půdy ovlivnily. Nejvyšší emise CO2 byly zjištěny po dešti na suchý a teplý povrch půdy na hluboké podmítce ve dnech 17. 8. a 20 .8. V těchto dnech, podobně jako dne 7.9., kdy teplé zářijové dny zvýšily teplotu půdy, byly emise CO_2 dvojnásobné oproti mělčí podmítce, mulčování a ponechanému strništi. Posklizňové zbytky ponechané na povrchu půdy snižovaly nadměrné prohřívání půdy, ztrátu půdní vlhkosti a mineralizaci půdní organické hmoty. Podle některých autorů (např. Curtin et al, 1998, 2000) orba může zvýšit emise CO_2 z půdy až 5 x. Podmítka do 10-12 cm v našem polním pokusu pak zvýšila emise CO_2 v teplých dnech zhruba dvakrát. Dong et al. (2017) uvádějí, že emise CO_2 z půdy závisí na různých faktorech jako je způsob zpracování půdy, její teplota a vlhkost a vzájemné interakci mezi těmito faktory. K těmto faktorům patří dle našich výsledků také aerace půdy. V roce 2021 přišly bezprostředně po zpracování půdy 1. srpna intenzivní srážky (22 mm), což způsobilo u podmítnuté půdy rozplavení její povrchové vrstvy a následně pak zhoršení její aerace. To se projevilo mimo jiné menšími rozdíly v emisích CO_2 mezi zpracovanou a nezpracovanou půdou (Graf 4). Dá se předpokládat, že při častějších srážkách a větší vlhkosti půdy jsou emise oxidu uhličitého nižší.

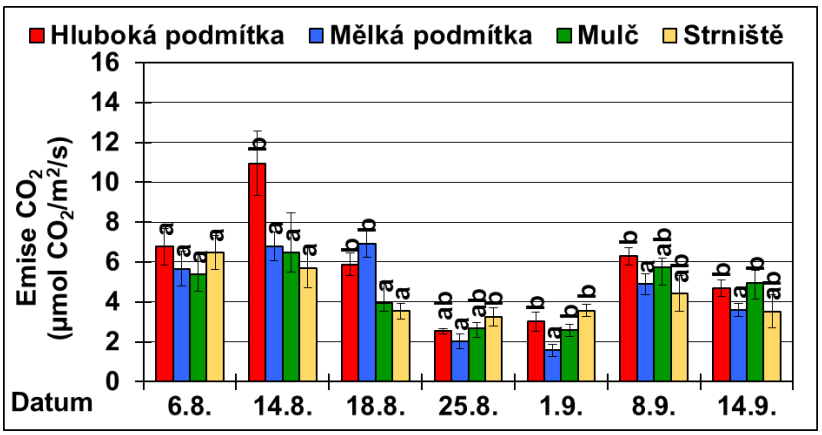
Mineralizace půdní organické hmoty po zpracování půdy neznamená jen ztrátu uhlíku ve formě emisí CO_2, ale také uvolňování dostupných živin včetně dusičnanů (Zhu et al., 2016). Dusičnany jsou snadno pohyblivé v půdě, proto se po silných letních srážkách mohou snadno

vyplavit do hlubších vrstev půdy. Dosažené výsledky upozorňují na souvislosti mezi teplotou půdy, její vlhkostí, aerací a emisemi CO_2 z půdy. Pokud po sklizni polních plodin v letním období nenásleduje ozimá řepka lze doporučit v teplém letním období omezit ztráty uhlíku (popř. i nitrátů) snížením prohřívání a aerace půdy ponecháním strniště nebo jeho zmulčováním. Také při pěstování řepky existují inovační konzervativní technologie (např. strip till, no-till), které omezují rozklad organických látek v půdě, ale při jejich používání je většinou třeba podpořit růst rostlin dodáním živin již při setí.

Graf 3: Emise CO_2 z různě zpracované půdy po sklizni ozimé pšenice



Graf 4: Emise CO_2 z různě zpracované půdy po sklizni hrachu



Závěr

Mulčování slámy, případně ponechání strniště a pozdější zpracování půdy by mělo být v příštích letech více uplatňováno z následujících důvodů: i) Půda bez zpracování s mulčem na povrchu se zahřívá v teplém letním období méně a lépe zadržuje vodu; ii) Zpracování půdy, které ovlivňuje rozklad půdní organické hmoty, se provádí později při nižších teplotách a způsobuje nižší ztráty (emise) CO_2 v porovnání se zpracováním půdy bezprostředně po sklizni za vysokých teplot; iii) Při pozdějším zpracování půdy dochází k nižší mineralizaci organických látek v půdě a tím i k nižší tvorbě nitrátů a rizika jejich ztrát zejména vyplavením na promyvných půdách po intenzivních letních srážkách. Často v praxi používané hlubší a intenzivnější zpracování půdy v teplém letním období před setím ozimé řepky může významně zvýšit jak emise CO_2, tak i ztráty vody z půdy. Dosažené výsledky potvrdily, že emise oxidu uhličitého závisí kromě intenzity a hloubky zpracování půdy na její teplotě, vlhkosti a aeraci.

Dedikace

Publikované výsledky byly získány za finanční podpory MZe ČR v rámci institucionální podpory RO0418.

Literatura

Curtin, D., Selles, F., Wang, H., Biederbeck, V.O., Campbell, C.A. 1998, Carbon Dioxide Emissions and Transformation of Soil Carbon and Nitrogen during Wheat Straw Decomposition. Soil Science Society of America Journal, 62, 1035-1041.

Curtin, D., Wang, H., Selles, F., McConkey, B.G., Campbell, C.A. 2000. Tillage Effects on Carbon Fluxes in Continuous Wheat and Fallow–Wheat Rotations. Soil Science Academy America Journal, 64, 2080-2086.

Dong, W., Liu, E., Wang, J., Yan, C., Li, J., Zhang, Y. 2017. Impact of tillage management on the short- and long-term soil carbon dioxide emissions in the dryland of Loess Plateau in China. Geoderma, 307, 38-45

Chi, J., Waldo, S., Pressley, S. N., Russell, E. S., O'Keeffe, P. T., Pan, W. L., Lamb, B. K. 2017. Effects of climatic conditions and management practices on agricultural carbon and water budgets in the inland Pacific Northwest USA. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 122, 3142–3160. https:// doi.org/10.1002/2017JG004148

Lopez-Sangil, L.; Hartley, I.P.; Rovira, P.; Casals, P.; Sayer, E.J. 2018. Drying and rewetting conditions differentially affect the mineralization of fresh plant litter and extant soil organic matter. Soil Biol. Biochem., 124, 81–89.

Melero, S., López-Garrido, R., Murillo, J.M., Moreno, F. 2009. Conservation tillage: Short- and long-term effects on soil carbon fractions and enzymatic activities under Mediterranean conditions. Soil Till. Res., 104, 292-298

Zhu, X.Y., Chang, L.,Liu, J., Zhou, M.H., Li, J.J., Gao, B., Wu, D.H. 2016. Exploring the relationships between soil fauna, different tillage regimes and CO_2 and N_2O emissions from black soil in China. Soil Biol & Biochem, 103, 106-116 10.1016/j.soilbio.2016.08.019

Kontaktní adresa:

Ing. Pavel Růžek, CSc.
Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha 6
ruzek@vurv.cz

Testování účinnosti kmenů dusík fixujících bakterií u cizrny beraní var. Olga

Testing the efficiency of nitrogen-fixing soil bacteria in chickpea var. Olga

Staveníková J., Trněný O., Malec J., Vejražka K., Hofbauer J.

Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko

Abstrakt

Symbiózou hlízkových bakterií a bobovitých rostlin jsou schopny rostliny realizovat biologickou fixaci vzdušného dusíku. Tento symbiotický vztah je unikátní v tom, že určité rostlinné druhy mohou být hostiteli jen konkrétních bakteriálních kmenů. Cílem této práce bylo identifikovat bakterie tvořící hlízky na kořenech cizrny beraní a ověřit jejich účinnost fixace dusíku za účelem výběru nejvhodnějšího kmene. Ze sedmi navrhovaných a identifikovaných variant izolátů, kterými byla inokulována cizrna beraní, var. Olga, byly na základě měření acetylen-redukční metodou a následným výpočtem vybrány dva kmeny *Mesorhizobium ciceri* vhodné k použití v zemědělské praxi.

Klíčová slova: biologická fixace dusíku, *Cicer arietinum*, Rhizobiales, ARA

Abstract

Through the symbiosis of tuberous bacteria and legumes, the plants are able to realize the biological fixation of atmospheric nitrogen. This symbiotic relationship is unique in that certain plant species can be colonized by specific bacterial strains. The aim of this work was to identify the bacteria which form tubers on the roots of chickpeas and to verify their effectiveness of nitrogen fixation in order to select the most suitable strain. There were proposed and identified seven variants of isolates, by which was inoculated chickpeas, var. Olga. Based on results of acetylene-reduction method were selected two variants *Mesorhizobium ciceri* suitable for use in agricultural practice.

Keywords: biological nitrogen fixation, *Cicer arietinum*, Rhizobiales, ARA

Úvod

Bobovité rostliny (Fabaceae) jsou charakteristické svou schopností tvořit symbiózu s hlízkovými bakteriemi, díky kterým mohou realizovat biologickou fixaci dusíku, která je založena na přijímání vzdušného dusíku do kořenů rostlin. Rostliny využívají biologickou fixaci především v prostředí, kde mají nedostatek dusíku ve formě, která je rostlinám přístupná (nitráty a amonné ionty). V orné půdě se nachází pouze 0,1 – 0,2 % dusíku, ten se vyskytuje především v organické formě (98 – 99 %), která je pro rostliny nepřístupná. Přístupné jsou minoritní nitrátové a amonné ionty, což mnohdy rostlinám nestačí a je pro ně žádoucí, aby přijímaly dusík z atmosféry, která je na něj bohatá (78 %). Plynný dusík je pro rostliny za normálních podmínek nedostupný, avšak rostliny z čeledi Fabaceae jej mohou získávat pomocí symbiózy s hlízkovými bakteriemi. Hlízkové bakterie tvoří symbiózu s mnoha bobovitými rostlinami. Dříve byly pěstovány především jeteloviny, které plnily funkci nejen hostitele bakterií a tím pádem větší fixace dusíku, ale především sloužily jako píce pro dobytek. Od 90. let minulého století v České republice poklesl chov skotu a s tím spojená i poptávka po pěstování jetelovin. Pro obnovu biologické fixace dusíku v krajině je třeba zavést nové a atraktivní plodiny, které budou mít využití nejen v zemědělství, ale například i pro potravinářství. Atraktivní plodinou může být cizrna.

Cizrna je třetí nejrozšířenější luskovinou na naší planetě hned po sóji a fazolu. Rozlišujeme celkem 40 druhů cizrny, nejznámější je cizrna beraní (*Cicer arietinum*). Nejvíce se pěstuje v oblasti Blízkého východu, Středomoří, severní Afriky, v Indii, Etiopii a jižní Evropě. Se

změnou klimatu a oteplováním se mění podmínky i pro její pěstování a je možné tuto suchovzdornou rostlinu pěstovat i v našich současných podmínkách střední Evropy. Cizrna je zajímavou plodinou především svou krátkou vegetační dobou (70-100 dní), také svou nenáročností na půdu a živiny, je odolná k pukání lusků (Houba, 2017). Dle barvy květu a zbarvení semen dělíme cizrny na tři druhy: desi, kabuli a gulabi. Fialově kvetoucí s drobnými černými až hnědočervenými semeny je desi, bíle kvetoucí se žlutými až oranžovými semeny je kabuli a gulabi se vyznačuje černými a zelenými semeny (Singh, Pramod et al., 2015). V celosvětovém katalogu OECD (Organization for Economic Co-operation and Development) je uváděno přes 70 odrůd cizrny, avšak v České republice je pouze jedna právně chráněná odrůda Olga, vyšlechtěná v Zemědělském výzkumu spol. s r.o. Olga je zajímavá tím, že je to typ gulabi s hnědým osemením, má nižší HTS (hmotnost tisíce semen) než typ kabuli a je vhodná pro pěstování v podmínkách střední Evropy.

Jedním z rodů hlízkových bakterií, který tvoří symbiózu s kořeny bobovitých je rhizobium. Rhizobia jsou gram-negativní bakterie, obligátně aerobní a heterotrofní organismy, které jsou schopné fixovat vzdušný dusík. Z hlediska rychlosti růstu bakteriální kultury je dělíme na rychle rostoucí (kmeny pro jetel, vojtěšku či hrách a na pomalu rostoucí (kmeny pro cizrnu, sóju či lupinu). Přirozená koncentrace bakterií v půdě se udává v řádech 10^7, při inokulaci je tedy žádoucí inokulovat rostliny bakteriemi o koncentraci minimálně o řád vyšší, aby byly v přirozeném bakteriálním prostředí v půdě konkurenceschopné. Symbióza mezi bobovitými rostlinami a rhizobii začíná již při klíčení semen. Rostliny do svého blízkého okolí vylučují fenolické látky, které působí chemotakticky na bakterie a aktivují v nich tzv. nod faktory, které produkují signální bílkoviny noduliny. Noduliny indukují kaskádu procesů, které vedou k uchycení bakterií na povrchu kořínku, vytvoří zde infekční vlákno, které proniká do kortexu kořene, kde stimuluje tvorbu kořenových buněk, které vytvoří hlízku. Je zahájena koordinace metabolismu rostliny a bakterií. Pomocí enzymu nitrogenasa je zahájena fixace dusíku (Freiberg et al., 1997). Díky této symbióze jsou luskoviny schopné ročně fixovat 50 – 200 kg N/ha (pícniny 200-300 kg N/ha) (Mikanová, Šimon, 2013).

Při inokulaci rostlin bakteriemi je třeba dbát na odrůdovou specifitu bakterií. Vztah mezi rostlinou a bakterií je velmi unikátní, často je jeden nebo několik kmenů bakterií schopno vytvořit symbiózu s daným rostlinným druhem. Specifita vztahu mezi bakterií a rostlinou je dána variabilitou v genech pro některé nod faktory (např. nodE, nodF, nodH) (Zhang et al., 2000). Je proto potřeba vyzkoušet, který konkrétní kmen rhizobia s danou odrůdou rostliny tvoří symbiózu a jak efektivní jejich vztah je. Zda jsou schopni symbiózu tvořit, jaké množství hlízek vytvoří, jak je efektivní fixace dusíku a zda bude mít vztah pozitivní vliv na růst a vývoj rostliny (větší biomasa apod.). Kmeny rhizobií k inokulaci jsou k dostání buď od komerčních dodavatelů anebo je možné si kmeny vyizolovat z hlízek rostoucích na kořenech ve volné přírodě.

Před přípravou tekutých inokul a jejich aplikací na semena je žádoucí, aby byly vyizolované kmeny identifikovány, byla ověřena jejich viabilita a schopnost tvořit hlízky s daným rostlinným druhem. Identifikace bakterií se standartně provádí sekvenací oblasti 16S ribozomální DNA, která je součástí 30S malé podjednotky ribozomů prokaryot. Aktivita enzymu nitrogenáza je v hlízkách nejvyšší v období před zahájením kvetení rostlin. V této době je nejvhodnější hlízky sbírat a izolovat z nich kmeny, ale také měřit jejich efektivitu fixace. Efektivita fixace dusíku se standardně měří acetylen-ethylen redukční metodou (ARA). Podstatou metody je zjistit, kolik přidaného acetylenu jsou hlízky schopny pomocí enzymu nitrogenáza redukovat na etylen.

Materiál a metody

Izolace bakterií z hlízek

Bakterie, které byly použity na testování účinnosti u cizrny beraní, var. Olga, byly získány buď od komerčních firem anebo vyizolovány z hlízek inokulované cizrny komerčním inokulem. Seznam kmenů a jejich původ naleznete v následující tabulce (tabulka č. 1).

Tabulka č. 1: Seznam kmenů zkoumaných hlízkových bakterií a jejich původ

Varianta 1	bakterie získány z farmy Žiro na šikmém agaru
Varianta 2	bakterie získány z farmy Žiro na šikmém agaru
Varianta 3	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Farmy Žiro
Varianta 4	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Farmy Žiro
Varianta 5	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo
Varianta 6	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo
Varianta 7	hlízky skleník Troubsko po inokulaci inokulem z Garten Soya Německo

Při izolaci bakterií z hlízek je nutné dodržovat pracovní postup a pracovat v čistém prostředí, aby nedošlo ke kontaminaci kolonií rhizobií jinými bakteriemi, které se v půdě a na kořenech mohou vyskytovat. Po odběru rostlin byly omyty kořeny a z nich byly odebrány jednotlivé hlízky. Hlízky byly proplachovány po dobu 10 min pod tekoucí vodou a následně umístěny do destilované vody. Purifikace hlízek pokračovala povrchovou desinfekcí 10% roztokem chlornanu sodného po dobu 3 minut. Následně byly hlízky promývány třikrát po sobě destilovanou vodou také po dobu 3 minut. Po pročištění byly umístěny na suchou Petriho misku, rozmáčknuty a sterilní bakteriologickou kličkou přeneseny na tuhé živné médium v Petriho misce.

Kultivace bakterií na agaru a v tekutém médiu

Živné médium bylo připraveno dle Tittabutr et al., 2007. Množství 250 ml média odpovídá množství pro 10 Petriho misek nebo pro dvě Ehlermeirovy baňky po 125 ml tekutého média (bez přídavku agaru). Složení média na objem 250 ml: mannitol 2,5 g, K_2HPO_4 0,125 g, $MgSO_4*7H_2O$ 0,05 g, NaCl 0,025 g, kvasniční extrakt 0,125 g, agar 3,75 g (jen pro tuhé médium), destilovaná voda 250 ml. pH roztoku je upraveno na 6,8. Následně je médium autoklávováno při teplotě 125 °C po dobu 15 min. Bakteriální kmeny rhizobií pro cizrnu jsou kultivovány na Petriho misce při teplotě 30 °C po dobu 4 dní. V případě tekutého inokula jsou kultivovány při teplotě 25 °C a promíchávány na třepačce o rychlosti 115 rpm také po dobu 4 dní.

Identifikace mikroorganismů

Identifikace mikroorganismů byla provedena sekvenováním oblasti 16S ribozomální RNA a porovnáním výsledků s databází mikroorganismů. Nejprve byla z hlízek vyizolovaná DNA. Izolace probíhala dle standardního postupu: do sterilní zkumavky byl přidán 1 ml sterilní vody a vložena jedna kolonie bakterie. Zkumavka byla inkubována po dobu 10 min ve vodní lázni o teplotě 100 °C. Následně byla směs centrifugována po dobu 5 min, při otáčkách 1000 rpm. Po centrifugaci byl supernatant obsahující RNA bakterií přepipetován do nové zkumavky.

Vyizolovaná RNA byla podrobena 16S PCR (Polymerase chain reaction). Směs o celkovém objemu 15 µl pro metodu PCR obsahovala: 6,3 µl ultračisté vody, 7,5 µl MasterMixu PPP (Top-Bio), 0,6 µl primeru 27F (konc. 10 µM), 0,6 µl primeru 1492R (konc. 10 µM) a 0,6 µl

vyizolované RNA. Sekvence univerzálních primerů pro oblast 16S ribozomální RNA byly následující: primer 27F: 5´-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3´; primer 1492R: 5´-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3´. Parametry PCR reakce: denaturace 94 °C po dobu 5 minut, 35 cyklů (denaturace 94 °C 30 s, nasedání primerů 57 °C 40 s, elongace 72 °C 90 s) a finální elongace 72 °C po dobu 10 minut.

Před samotnou sekvenací bylo potřeba získané amplikony (o délce 1465 bp) purifikovat, zkontrolovat jejich kvalitu a změřit jejich koncentraci. Purifikace byla provedena enzymy FastAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase a Exonuclease I (Thermofisher Scientific), složení reakční směsi v objemu 24 µl: 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. Inkubace směsi 15 minut při 37 °C a následně 15 minut při 85 °C, nakonec byla zchlazena na 4 °C. Kontrola kvality byla provedena pomocí gelové elektroforézy (podmínky: 20 min, 100 V) a koncentrace byla změřena na přístroji Quibit 4 Fluorometer (Life Technologies, Singapore).

Vzorky byly sekvenovány pomocí přímého i zpětného primeru Sangerovou metodou (Eurofins Genomics Germany GmbH, Německo). Sekvenační směs byla složena z 5 µl purifikovaného PCR produktu a z 5 µl (koncentrace 5 µm) přímého (27F: 5´-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3´) nebo zpětného primeru (1492R: 5´-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3´). Získané sekvence byly bioinformaticky vyhodnoceny následujícími nástroji: Multiple Sequence Alignment (https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/), BioEdit 7.2 (https://bioedit.software.informer.com/7.2/) a k identifikaci bakterií byla využita databáze nr BLAST (https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi).

Stanovení koncentrace tekutého inokula před inokulací

Koncentrace tekutého inokula byla stanovena metodou Drop plate counting. Metoda spočívá ve vytvoření koncentrační řady tekutého inokula (od 10^0 po 10^{10}). Následně jsou na Petriho misku rozdělenou na 6 variant koncentrací kapány kapky promíchaného inokula o určitém objemu v dostatečné vzdálenosti od sebe (od každé koncentrace minimálně 3 opakování = kapky). Na jedné misce je tedy 6 variant koncentrací. Kultury jsou kultivovány po standardní dobu 3-4 dní. Následně jsou spočítány kolonie a dle zvoleného objemu dopočítány koncentrace jednotlivých ředění. Metoda je velmi jednoduchá, efektivní a šetří prostor a materiál. Její nevýhodou je, že koncentraci bakterií zjistíme až 3-4 dny po inokulaci. Proto byla tato metoda použita před zahájením experimentu za účelem stanovení optimální doby růstu kultur za daných podmínek (25 °C, rychlost rotace 115 rpm) a jejich případné ředění. K inokulaci cizrny beraní bylo použito inokulum o koncentraci v řádech 10^8 CFU/ml (colony forming units).

Kultivace cizrny beraní, inokulace bakteriemi rodu rhizobium

Cizrna beraní, var. Olga byla kultivována po dobu 30 dní za teplotních (25 °C) a světelných (den/noc, 16/8 hodin) podmínek v agroperlitu. Rostliny byly zalévány zálivkou deficitní na dusík o složení směs s makroprvky ředěná 100x: K_2HPO_4 50 g/l, $CaCl_2.2H_2O$ 37 g/l, $MgSO_4.7H_2O$ 15 g/l a směs pro mikroprvky ředěná 1000x: $FeCl_3.6H2O$ 13,5 g/l, Chelaton 3 50,3 g/l, $Na_2MoO_4.5H_2O$ 125 mg/l, H_3BO_3 2900 mg/l, $CuSO_4.5H_2O$ 80 mg/l, $MnCl_2.4H_2O$ 1800 mg/l, $ZnSO_4.7H_2O$ 220 mg/l. K inokulaci bylo použito 7 kmenů cizrny beraní (Tabulka č. 1) a jedna varianta kontrolní, která byla pěstována za stejných podmínek, jen nebyla inokulována. V každé variantě bylo hodnoceno 30 rostlin. Inokulace proběhla zálivkou 7 dní po zasetí. Následně byly rostliny kultivovány ve skleníku a pravidelně zalévány. Před kvetením (BBCH 51) byly rostliny testovány. Rostliny byly vyjmuty z perlitu, byly počítány hlízky na kořenech, odříznuta nadzemní část a celé kořeny i s hlízkami umístěny do skleněných lahviček opatřených gumovou zátkou a připraveny tak na měření metodou ARA.

Stanovení efektivity fixace dusíku metodou ARA

Měření probíhalo standardní acetyle-ethylen redukční metodou (Hardy et al. 1973). Ke kořenům ve skleněné lahvičce o objemu 330 ml byl vstříknut injekční stříkačkou plynný

acetylen o objemu 10 ml. Následně byly kořeny s hlízkami inkubovány po dobu 60 minut. Během této doby enzym nitrogenáza v hlízkách redukoval acetylen na ethylen. Po 60 minutách byl z každé lahvičky odebrán 1 ml plynu a měřen na plynovém chromatografu CHROM 5. Jako kontrola byl použit 1 ml standardní směsi helia a ethylenu, který zde byl obsažen v koncentraci 100 ppm (helium ve směsi sloužilo jako inertní nosič). Z výsledků měření byla dle Unchovich et al., 2008 určena koncentrace ethylenu v µmol/ml ve vzorku.

Výsledky

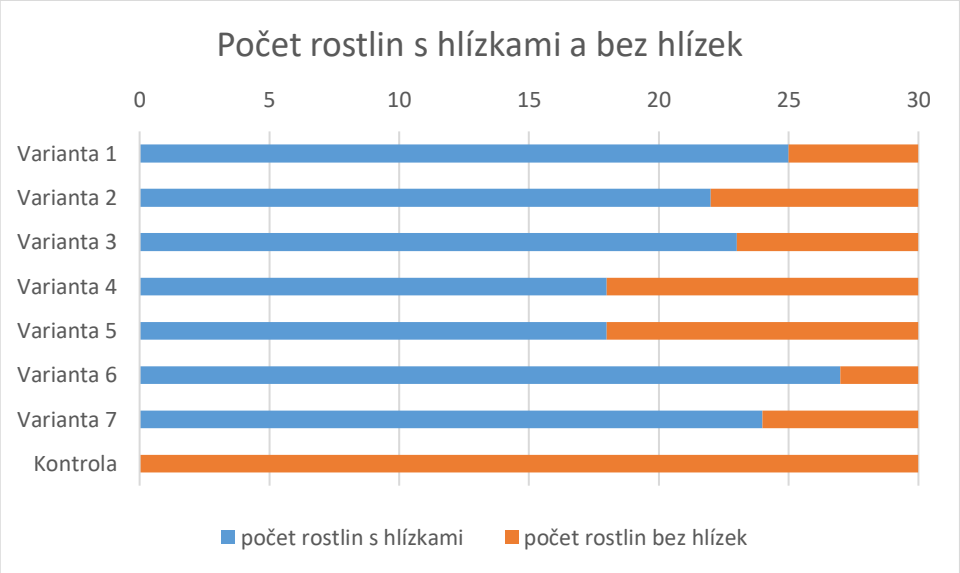
Identifikace mikroorganismů ve vzorcích izolátů

Identifikované mikroorganismy sekvenováním byly určeny jako *Mesorhisobium sp*. případně *M. ciceri* nebo *M. loti*. Všechny tyto druhy patří do čeledi Phyllobacteriaceae, která patří do řádu Rhizobiaceae, kam řadíme i rod Rhizobium. Identifikované bakterie jsou tedy příbuznou čeledí rhizobií a můžeme s nimi pracovat a vyhodnocovat je stejným způsobem jako by to rhizobia byla.

Schopnost izolátů tvořit symbiózu s rostlinami cizrny

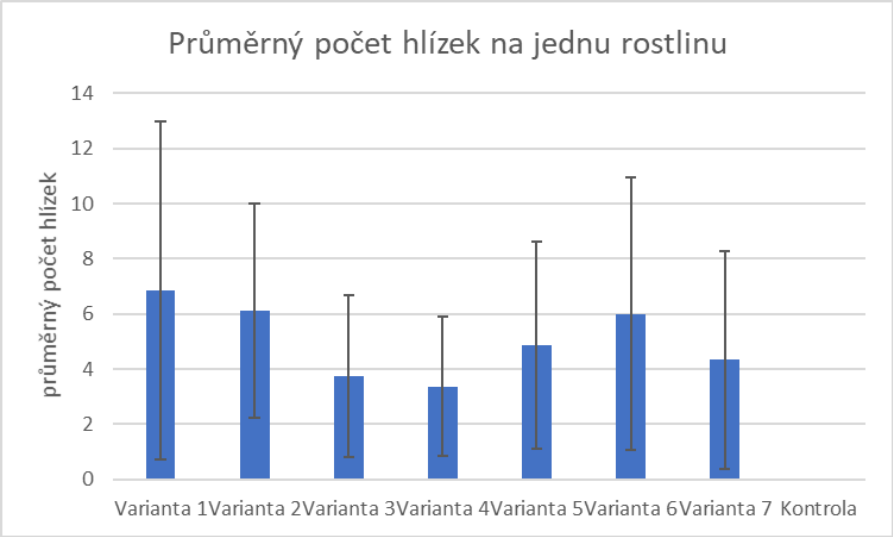
Před měřením metodou ARA byly spočítány hlízky na kořenech jednotlivých rostlin u všech zkoumaných variant. Byl hodnocen počet rostlin, které hlízky měly (symbióza s hlízkovými bakteriemi proběhla) a které ne. Nejvíce rostlin s hlízkami bylo u varianty 6, a to 27 rostlin s hlízkami. Nejméně rostlin z inokulovaných variant bylo u varianty 4 a 5 (18 rostlin s hlízkami). Žádné hlízky nebyly pozorovány u kontrolní neinokulované varianty. Výsledky dle jednotlivých variant jsou uvedeny v následujícím grafu (Graf č. 1).

Graf č. 1: Počty rostlin s hlízkami a bez hlízek u jednotlivých kmenů, každá varianta čítala 30 rostlin



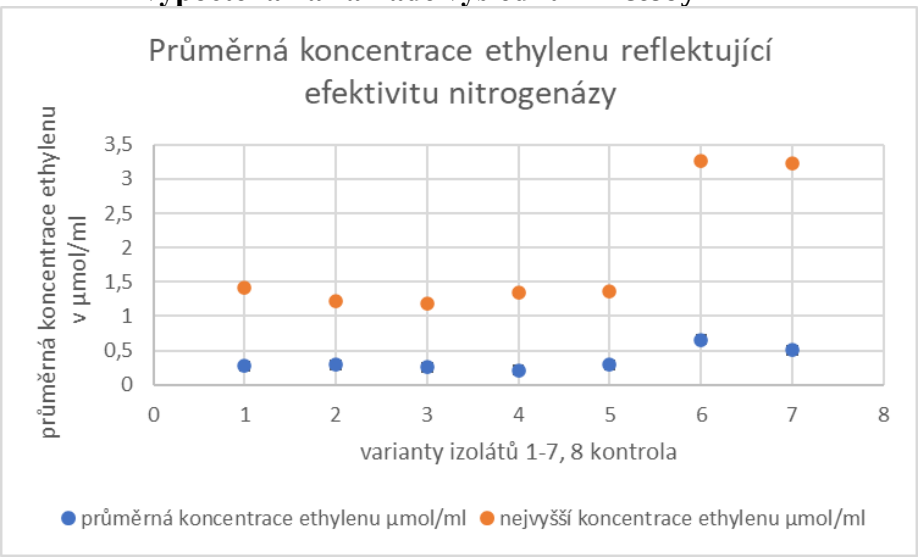
Jelikož schopnost tvořit hlízky může být u každého izolátu jiná, byl hodnocen i průměrný počet hlízek na jednu rostlinu. Výsledky byly rozděleny opět dle zkoumaných variant (graf č. 2).

Graf č. 2: Průměrný počet hlízek na jednu rostlinu, počítáno jen u rostlin, které hlízky měly, rostliny bez hlízek do výpočtu zahrnuty nebyly.
Velká směrodatná odchylka je způsobena variabilitou nejen mezi jednotlivými variantami, ale i mezi rostlinami v rámci jedné varianty.

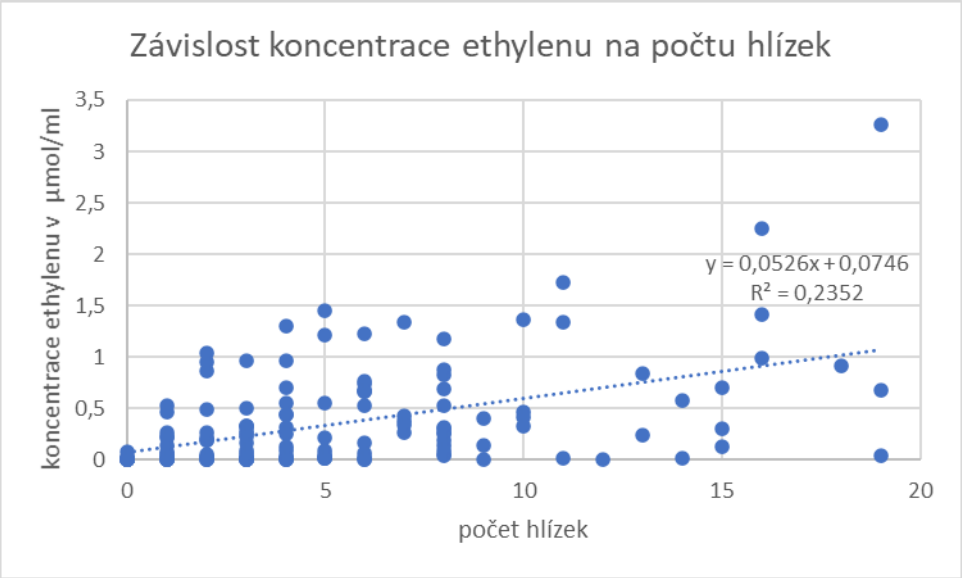


Efektivita fixace dusíku hlízkových bakterií na cizrně beraní, var. Olga
Efektivita enzymu nitrogenáza fixovat vzdušný dusík u jednotlivých variant izolátů byla měřena metodou ARA. Výsledky byly přepočteny na množství ethylenu, které enzym přeměnil z acetylenu za stanovenou dobu 60 minut v daném objemu nádoby 330 ml, do které bylo přidáno 10 ml plynného acetylenu. Jelikož u některých variant byly rostliny, které byly schopny více fixovat dusík než ostatní vzorky, v grafu (graf č. 3) jsou uvedeny jak průměrné hodnoty pro jednotlivé varianty izolátů, tak maximální naměřené a vypočtené hodnoty. Z výsledků je patrné, že nejefektivnější byly varianty 6 a 7. Nejméně efektivní byla varianta č. 4. Určením závislosti koncentrace ethylenu na počtu hlízek (graf č. 4) byla zjištěna střední pozitivní korelace (r = 0,485) mezi koncentrací ethylenu a počtem hlízek na rostlině.

Graf č. 3: Průměrná koncentrace ethylenu reflektující efektivitu enzymu nitrogenáza vypočtená na základě výsledků z metody ARA



Graf č. 4: Zobrazení závislosti koncentrace ethylenu na počtu hlízek na rostlině napříč variantám 1-7



Závěr

S využitím moderních molekulárních metod byly identifikovány kmeny hlízkových bakterií u sedmi vzorků komerčních inokulantů. U komerčních inokulantů byla následně testována schopnost tvořit hlízky na cizrně beraní, var. Olga a jejich efektivita fixovat vzdušný dusík. Z výsledků jsou patrné rozdíly mezi jednotlivými variantami, jak ve schopnosti tvořit symbiózu s cizrnou, tak v efektivitě fixace dusíku. Varianty č. 6 a 7 dosáhly nejvyšších hodnot aktivity nitrogenázy.

Získání vhodných kmenů hlízkových bakterií pro jedinou právně chráněnou odrůdu cizrny v ČR je důležitým přínosem pro naši současnou zemědělskou praxi. Při zavádění plodin z čeledi Fabaceae, které nejsou běžně v našich podmínkách pěstovány, je potřeba upravit nejen osevní postupy, abychom půdu nezatěžovali, ale je potřeba půdu i obohatit kmeny bakterií, které budou schopny s netradičními plodinami tvořit symbiózu.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován v rámci řešení projektu DKRVO, číslo MZE-RO1721, financovaného Ministerstvem zemědělství.

Použitá literatura

Freiberg C., Fellay R., Bairoch A., Broughton W.J., Rosenthal A., Perret X.,1997. Molecular basis of symbiosis between Rhizobium and legumes. Nature,387(6631):394-401. doi: 10.1038/387394a0.

Hardy R.W.F., Burns R.C., Holsten R.D., 1973. Applications of the acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. Soil Biol. Biochem. 5, 47–81. doi: 10.1016/0038-0717(73)90093-X

Houba M., 2017. Třetí nejrozšířenější luskovina – cizrna. Úroda, 10: 37-38.

Mikanová O., Šimon T., 2013. Alternativní výživa rostlin dusíkem, Metodika pro praxi. Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i.

Singh, Pramod, Srivastava, Nidhi, Sharma, Bechan et Bhagyawant, Sameer, 2015. Effect of Domestic Processes on Chickpea Seeds for Antinutritional Contents and Their Divergence.3. 111-117. doi: 10.12691/ajfst-3-4-3.

Tittabutr P., Payakapong W., Teaumroong N., Singleton P. Boonkerd N., 2007. Growth, Survival and field performance of bradyrhizobial liquid inoculant formulations with polymeric additives. ScienceAsia. 33. 69-77. doi:10.2306/scienceasia1513-1874.2007.33.069.

Unkovich M., Herridge D., Peoples, M., Boddey R., Cadisch G., Giller K., Alves B. Chalk, P., 2008. Measuring Plant-associated Nitrogen Fixation in Agricultural Systems. ACIAR Monograph No.136.

Zhang X. X., Turner S. L., Guo X. W., Yang H. J., Debellé F., Yang G. P., Dénarié J., Young J. P., Li F. D., 2000. The common nodulation genes of Astragalus sinicus rhizobia are conserved despite chromosomal diversity. Applied and environmental microbiology, 66(7), 2988–2995. doi: 10.1128/AEM66.7.2988-2995.2000

Kontaktní adresa:
Mgr. Jana Staveníková
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko
stavenikova@vupt.cz, +420 547 138 810

Netradiční plodiny pěstované v oblasti Vysočiny

Non-traditional crops grown in the Vysočina region

Svobodová A.[1]

[1]Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.

Abstrakt

V letech 2019 a 2020 byly bramborářské výrobní oblasti (BVO) pěstovány méně tradiční okopaniny za účelem sledování jejich adaptability v netypickém klimatickém regionu. Sledování probíhalo na ve výzkumné stanici Valečov. Výzkumná stanice se nachází v nadmořské výšce 460 m. n.m. (mírně teplý okrsek). Do pokusů byly zařazeny plodiny: povijnice batátová (*Ipomoea batatas*) a jakon (*Smallanthus sonchifolius*). U povijnice batátové byl sledován vliv odrůdy na výnos hlíz. U jakonu byl sledován výnos hlíz v rámci dvou odrůd. Navíc bylo testováno hnojení dusíkatým minerálním hnojivem (100 kg $N.ha^{-1}$) oproti variantě bez hnojení (0 kg $N.ha^{-1}$). Z výsledků vyplývá, že u obou plodin byly zaznamenány významné rozdíly ve výnosech hlíz u sledovaných odrůd. U jakonu byl shledán pozitivní vliv dusíkatého hnojiva na výnos hlíz. Obě plodiny s ohledem na klimatický region dosáhly optimálních výnosů a lze je doporučit jako alternativní plodiny pro další pěstování.
Klíčová slova: povijnice batátová, jakon, dusík, výnos

Abstract

In 2019 and 2020, less traditional root crops were grown for BVO in order to monitor their adaptability in a non-standard climate region. Monitoring took place at VS Valečov - Potato Research Institute Havlíčkův Brod. The research station is located at an altitude of 460 m above sea level. Crops were included in the experiments: sweet potato (*Ipomoea batatas*) and yakon (*Smallanthus sonchifolius*). In the case of sweet potato, the influence of variety on tuber yield was monitored. For yacon, tuber yield was monitored within two varieties. In addition, fertilization with nitrogen mineral fertilizer (100 kg $N.ha^{-1}$) was tattooed compared to the variant without fertilization (0 kg $N.ha^{-1}$). The results show that for both crops significant differences in yields were recorded for the monitored varieties. In yacon, a positive effect of nitrogen fertilizer on the level of tuber yield was found. With regard to the climatic region, both crops achieve optimal yields and can be recommended as alternative crops for further cultivation.
Key words: sweet potato, yakon, nitrogen, yield

Úvod

Netradiční okopaniny jako je povijnice batátová (*Ipomoea batatas*) a jakon (*Smallanthus sonchifolius*), byly testované v podmínkách bramborářské výrobní oblasti (BVO) za účelem sledování jejich adaptability v daném regionu. Netradiční okopaniny jsou charakteristické především vysokou produkcí organické hmoty a množstvím lehce stravitelných živin. Obsahují velké množství významných nutričních látek, které jsou důležité pro výživu člověka. Povijnice batátová neboli batáty jsou vytrvalá krátkodenní liána dorůstající až do 5,0 m a zařazena je do čeledi svlačcovité (*Convolvulaceae*). Listy jsou různotvaré, od středovitých po srdčité nebo dlanité, hluboce laločnaté. Květy bílé, růžové až purpurové, dlouze stopkaté, zvonkovitě nálevkovité, podobné květům svlačce. Plod chlupatá nebo lysá tobolka o průměru 5−8 mm s 2 až 4 tmavými semeny, které se však objevují nepravidelně. Hlavním produktem jsou podzemní kořenové hlízy. Mají kuželovitý nebo vřetenovitý tvar s bílou, nažloutlou, oranžovou nebo

hnědou až fialovou pokožkou. Jejich tvar je rozmanitý a hmotnost se pohybuje od 500 g do 5000 g. Celá rostlina je prostoupena mléčnicemi s nahořklou bělavou šťávou, která tepelným zpracováním nebo promytím mizí (Šamla, 1994). Na základě analýz morfologických znaků nejen povijnice batátová, ale i dalších divokých druhů Ipomoea se předpokládá, že tyto rostliny mají původ v oblastech mezi mexickým Yucatánským poloostrovem a řekou Orinoko ve Venezuele. Nicméně nejstarší doposud objevené pozůstatky kořenů rostlin jsou datovány už před 8000 až 10 000 let. Tyto nálezy se nacházely v jeskyni chilského kaňonu v Peru (Srisuwan et al. 2006, Loebestein 2009). Batáty byly do Evropy dovezeny spolu s Kolumbovskými výpravami a ve známost vešly pod názvem sladké brambory. Název batáty byl prvně publikován v 16. století botanikem Johnem Gérardem, který rostlinu pojmenoval Battata virginiana. Název převzal od amerických indiánů, kteří plodinu pěstovali a nazývali ji batatas. Jednotlivé odrůdy sladkých brambor lze rozpoznat na základě morfologických znaků, jako je barva slupky, barva dužiny, struktura, tvar a také podle chuti. Ačkoliv pochází batáty z tropických oblastí dokáží se přizpůsobit podmínkám mírného pásma. Optimální teplota pro jejich růst je okolo 20 – 25 °C, ale tolerují i nižší teploty. Rostliny povijnice batátové snesou i sucho, avšak rizikem je nižší úroda. Pro pěstování batátů jsou nejvhodnější lehké písčito-hlinité půdy. Těžké hlinité půdy zpomalují vývoj a vznikají vady, jako jsou praskání či deformace hlíz. Výše úrody závisí na složení a pH půdy. Výnos batátů závisí na obsahu dusíku, fosforu, draslíku, menšího množství bóru, vápníku a hořčíku (Thottappilly, 2009). Rostliny batátů v našich podmínkách množíme za pomoci matečních rostlin, ze kterých se následně připraví sazenice. Sazenice vysazujeme do hrůbků podobně jako brambory. Druhou sledovanou rostlinou byl jakon. Jakon řadíme do čeledi *Asteraceae*, hvězdicovitých. V našich podmínkách se jedná o jednoletou bylinu. Rostlina dosahuje výšky 1,0 až 2,0 m a lodyha je pokrytá trichomy. Lodyhy jsou čtyřhranné a hustě olistěné vstřícnými listy sytě zelené barvy. Výjimečně se objevují na vrcholu lodyh drobné žluté až oranžové úbory. Plod je nažka, která se však v našich klimatických podmínkách tvoří výjimečně. Jakon má dva druhy hlíz. První jsou oddenkové, které nazýváme kaudexy a slouží k dalšímu množení. Druhé jsou kořenové hlízy a ty vyrůstají po pěti až dvaceti ve svazku. Mají nepravidelně vřetenovitý až kulovitý tvar. Dosahují v průměru hmotnosti 200 g až 500 g, ale také až 2 000 g. Mají slabou, šedohnědou až fialovou pokožku, která na vzduchu velmi rychle tmavne (Illéš et al. 2019). Dužnina je křehká, chrupavá, šťavnatá a nasládlá, barvy bíle, krémově žluté, někdy až nafialovělé. Jakon je původní rostlina z humidních horských oblastí Bolívie a Peru nacházejících se po celé délce andských svahů a údolí. Jeho pěstování je rozšířené i v dalších tropických výše položených agroekologických pásmech Kolumbie a Venezuely. První pokusy introdukovat jakon do Evropy se datují k roku 1861, kdy se experimentálně začal pěstovat ve Francii (Bredemann, 1943; Illéš et al. 2019). Dále se pak rozšířil do Itálie, Německa a Japonska. V Japonsku se úspěšně pěstoval jako prostředek pro dosáhnutí dlouhověkosti. Illéš et al. (2019) uvádí, že v roce 1994 se jakon introdukoval i do České republiky a úspěšně se začal pěstovat na dvou lokalitách (ČZU Praha, Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod). Technologie pěstování jakonu je velmi podobná pěstování brambor. Jedná se o širokořádkovou plodinu, která pro optimální vývoj kořenů potřebuje dostatek místa. Jakon je rostlina, která v původní oblasti rostla v podmínkách horských oblastí s mírnými teplotami a relativní vlhkostí do 85 %. Nadzemní části rostliny jsou velmi citlivé na mrazy. Optimální růst je zaručený v teplotním rozmezí od 18 do 25 °C. Výsadba může probíhat přímo z kaudexů do vyhřáté půdy nebo mohou být kaudexy vysazeny do semenáčků. Výsadba ze semenáčků může urychlit růst rostlin. Přímá výsadba probíhá ručně do předem připravených hrůbků v polovině května. Rostlinky nebo kaudexy vysazujeme s roztečí 0,40 – 0,45 m se sponem 0,75 m mezi řádky. Jakon je rostlina, která pro svůj růst potřebuje dobré vláhové podmínky. Proto lze doporučit závlahu. Sklizeň jakonu probíhá v říjnu. Hlízy je nutné ihned vhodně uskladnit, jinak vzhledem k jejich vysokému podílu vody dojde k seschnutí.

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 teplém okrsku v kraji Vysočina v nadmořské výšce 460 m. n.m. Dle Quitta se jedná o klimatický okrsek MT7. Ve vegetačním období (od dubna do září) je dlouhodobá průměrná denní teplota vzduchu 14,42°C a suma srážek je 442,1 mm. Meteorologické údaje uvádí Tab. 1.

Tab. 1: Sledované měsíční údaje v průměru let 1991–2020

Měsíc	**Měsíční úhrn srážek (mm)**	**Průměrná měsíční teplota vzduchu (°C)**
Leden	42,48	-1,53
Únor	33,85	-0,47
Březen	45,86	3,07
Duben	37,24	8,16
Květen	81,36	12,89
Červen	78,89	16,33
Červenec	98,92	18,21
Srpen	85,81	17,95
Září	59,88	12,95
Říjen	45,64	8,23
Listopad	41,55	3,49
Prosinec	45,22	-0,63
Průměr/Suma (roční)	**696,7**	**8,22**
Průměr / Suma (vegetační období)	**442,1**	**14,42**

Do pokusu u povijnice batátové (*Ipomoea batatas*) byly zařazeny tři odrůdy. Byla to odrůda Beauregard, která má slupku narůžovělé či měděné barvy a dužina je oranžová. Má výborné předpoklady pro skladování, ale nižší šťavnatost. Další odrůdou byla O´Henry. Slupka je tenká, barva světle hnědá. Dužina zlaté barvy je bez žilek a trochu sušší, podobně jako tradiční sladké brambory. Velké hlízy rostou v kompaktním střapci pod rostlinou, což umožňuje snadnější sběr. Poslední byla nová odrůda Fialových sladkých brambor s fialovou slupkou i dužinou, u kterých byla zjištěna zatím nejvyšší antioxidační aktivita (bataty.cz). Jakon (*Smallanthus sonchifolius*) byl pěstován v rámci dvou odrůd (Fiorella, Graciella). Odrůda Fiorella má polovzpřímený habitus a intenzivně větví. Hlízy jsou vřetenovitého tvaru, délka je střední až dlouhá, s purpurově červenou slupkou. Odrůda Graciella je středně vysoká, má polovzpřímený habitus a intenzivně větví. Hlízy jsou vřetenovitého tvaru, dlouhé, s bílou slupkou a bílou dužninou. Obě odrůdy byly předpěstovány ve skleníku a na pole byly vysázeny v podobě sazenic o velikosti cca 10 cm. Před výsadbou bylo provedeno minerální hnojení K, Mg (Patentkali 0,4 $t.ha^{-1}$) jednotné na celou pousnou plochu a stanoveno bylo na základě AZZP (agrochemické zkoušení zemědělských půd). Před sázením byl pozemek nakypřen rotavátorem a nashonkován pomocí nosiče nářadí RS 09. Varianty hnojení viz. Tab. 2. Následně pak byla na pokus rozprostřena černá geotextilie, aby bylo omezeno zaplevelení. Sázení probíhalo ručně a vysazovaly se sazenice za pomocí sázecího kolíku ve sponu 0,45 – 0,75 m. Nakonec byla v meziřádku

natažena kapkovací zavlažovací hadice. Během vegetace probíhalo sledování porostu bez dalších agrotechnických zásahů. Sklizeň byla provedena ručně v měsíci říjnu.

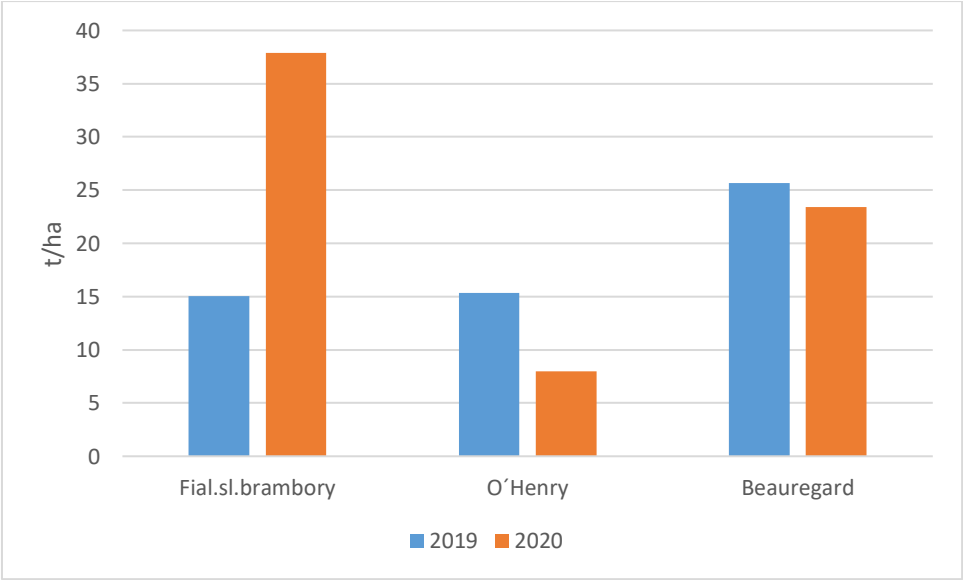
Tab. 2: Varianty hnojení jakonu v letech 2019–2020

Odrůda	Dávka N hnojiva (močovina)	
Fiorella	0 kg N.ha^{-1}	100 kg N.ha^{-1}
Graciella	0 kg N.ha^{-1}	100 kg N.ha^{-1}

Výsledky a diskuze

Obě sledované plodiny během vegetace vykazovaly optimální růst. Rostliny batátů během měsíce června až července intenzivně pokryly celou vysázenou plochu a rozrostly se bez mezerovitostí. Rostliny jakonu dorostly do velikosti od 1,5 – 1,8 m a stonky se mohutně rozvětvily. Navíc obě plodiny během vegetace vykvetly, což obzvláště u jakonu je dle dostupné literatury spíše vzácností. Tvorba květů jakonu je více redukovaná v porovnání s ostatními druhy a je to jeden z velkých problémů generativního rozmnožování (Grau a Rea, 1997; Illéš et al. 2019). Již z tohoto fyziologického jevu můžeme usuzovat, že se rostliny dobře aklimatizovaly do daných podmínek. U batátů byl v roce 2019 zaznamenán nejvyšší výnos u odrůdy Beauregard 25, 70 t.ha^{-1}. V roce 2020 odrůda Beauregard dosáhla výnosu 23,40 t.ha^{-1}. Rok 2020 byl atypický díky vyšší invazi hlodavců a díky tomuto problému byl porost batátů částečně poškozen. Tudíž výnos byl zhruba o polovinu nižší. Nejvyšší výnosy v tomto roce byly u Fialových sladkých brambor (37,9 t.ha^{-1}). Fialové sladké brambory nebyly hlodavci poškozeny. Výsledné hodnoty výnosů v rámci let jsou zaznamenány v grafu 1.

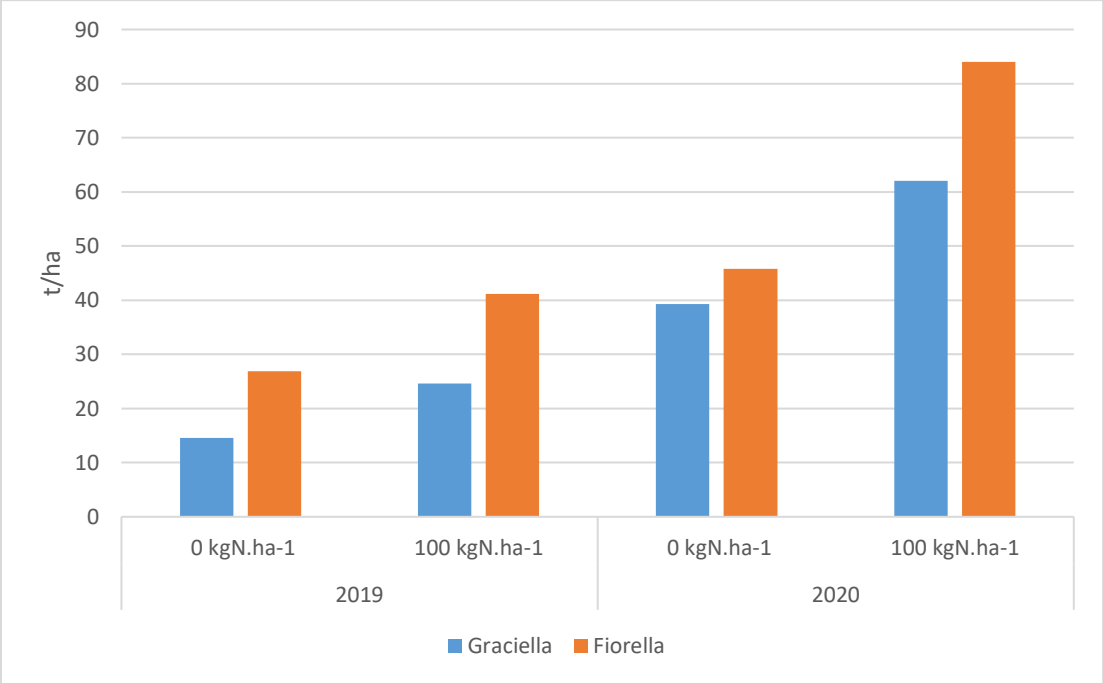
Graf 1: Vliv odrůdy povijnice batátové na výnos hlíz v letech 2019 – 2020



Výnosy jakonu byly ovlivněny odrůdou i dávkou hnojení. V rámci let se jako výnosnější jeví odrůda Fiorella a průměrný výnos se pohyboval kolem 50,0 t.ha^{-1} oproti Gracielle, kde byl průměrný výnos hlíz 35,0 t.ha^{-1}. Dalším sledovaným ukazatelem byl vliv dávky minerálního dusíkatého hnojiva. Na variantě 100 kg N.ha^{-1}došlo k výraznému navýšení výnosu hlíz oproti

nehnojené variantě (0 kg N.ha^{-1}). V roce 2019 byly výnosy na hnojené variantě navýšeny o 60 % a v roce 2020 dokonce o 72 % v průměru odrůd.

Graf 2: Vliv odrůdy jakonu a varianty hnojení na výnos hlíz v letech 2019 – 2020



Závěr

Z výsledků vyplývá, že obě plodiny během vegetace 2019–2020 vykazovaly optimální růst. Výnosy hlíz u povijnice batátové byly ovlivněny odrůdou a nejvhodnější odrůda pro pěstování v BVO se jevila odrůda Beauregard, která byla bohužel v roce 2020 poškozena hlodavci. Výnos hlíz u jakonu byl ovlivněn nejen odrůdou, kde vyšších výnosů dosáhla odrůda Fiorella, ale především dusíkatým hnojením. Díky aplikaci dusíkatého minerálního hnojiva byly výnosy hlíz navýšeny zhruba o 60 – 70% oproti nehnojené variantě. Přes zmiňované komplikace obě plodiny dokázaly vyprodukovat optimální výnos konzumních hlíz.

Poděkování

Pokus vznikl na základě institucionální podpory v rámci „Dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumné organizace (DKRVO) 2018 - 2022“ schválené usnesením vlády ČR ze dne 8. února 2017 č. 107 s číslem MZE-RO1621.

Literatura

BREDEMANN G. (1943): Über Polymnia sonchifolia Poepp. & Endl. (Polymnia edulis Wedd.), die Yacon – Erdbirne. In Botanica Oeconomica (Hamburg) 1(2): 65–85.

GEORGE, R. A. T. (2011): Tropical vegetable production. 240 p. Wallingford: CABI.ISBN 978-1-84596-753-9.

GRAU A. ,REA J. (1997): Yacon. Smallanthus sonchifolius(Poepp. & Endl.) H. Robinson. In: Hermann M., Heller J.(eds.): Andské kořeny a hlíznaté kořeny: Ahipa, Arracacha,Maca a Yacon. IPK, Gatersleben/IPGRI, Řím, 174 :199–256.

ILLÉŠ L.; NOVÁK J.; CUSIMAMANI E. F. (2019): Jakon – plodina říše Inkov, Nitra, Krajina povodu, charakteristika, pestovanie, zber a využitie jakona, p. 8 – 29, ISBN 978-80-89703-65-4.

LOEBENSTEIN G. (2009): Origin, Distribution and Economic Importance. In Loebenstein, G., Thottapilly, G. 2009. The Sweetpotato. Dordrecht: Springer, p. 9-12. ISBN 978-1-4020-9474-3.

SRISUWAN S., SIHACHAKR D., SILJAK-YAKOVLEV S. (2006): The origin and evolution of sweet potato (Ipomoea batatas Lam.) and its wild relatives through the cytogenetic approaches, Plant Science, Vol. 171, Issue 3, p. 424, ISSN 0168-9452.

ŠAMLA J. (1994): Subtropy pěstitelské praktikum, 1. vyd. – Brno, p. 167., ISBN: 80-900182-2-X

THOTTAPPILLY G. (2009): Introductory Remarks. In Loebenstein, G., Thottapilly, G. 2009. The Sweetpotato. Dordrecht: Springer, p. 3-8. ISBN 978-1-4020-9474-3.

Dostupné z: http://www.bataty.cz/odrůdy[cit. 2021-22-9].

Kontaktní adresa:

Ing. Andrea Svobodová, Ph.D.
Výzkumný ústav bramborářský Havlíčkův Brod, s.r.o.
Dobrovského 2366, 580 01 Havlíčkův Brod
728126290, svobodova@vubhb.cz

Možnosti desikace porostů lnu setého (L*inum usitatissimum*) a svazenky vratičolisté (*Phacelia tanacetifolia*)

Possibilities of accelerated ripening of flax crop (*Linum usitatissimum*) and Lacy phacelia crop (*Phacelia tanacetifolia*)

Šafář J.[1], Kubíková Z.[2], Seidenglanz M.[1]

[1] Agritec Plant Research s.r.o., Šumperk
[2]Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o.Troubsko

Abstrakt

Tato studie si klade za cíl najít desikant, který by mohl nahradit účinné látky, kterým byla ukončena z různých důvodů registrace k urychlení předsklizňového dozrávání. Jako jediná možná eventualita se v současnosti jeví látka pyraflufen-ethyl, která dosud nepodléhá restrikcím jako jiné látky určené k desikaci. Pokusy ve lnu a svazence probíhaly v letech 2020-2021 na dvou odlišných lokalitách v okrese Šumperk. Významný vliv na urychlení dozrávání porostů bylo zjištěno u variant s použitím pyraflufen-ethylu s DAMem a smáčedlem, která je využitelná pro pěstování lnu i svazenky na semeno.
Klíčová slova: desikace, len, svazenka

Abstract

The aims of this study to find a desiccant that could replace active substances that have been discontinued for application to accelerate pre-harvest ripening. Pyraflufen-ethyl is currently the only possible eventuality, which is not yet as restricted as other desiccants. The trials in flax and lacy phacelia crop were carried out in the years 2020-2021 in two different localities in the district of Šumperk. A significant effect on accelerating the ripening of crops was the application of pyraflufen-ethyl with UAN (ammonium nitrate with urea) and adjuvant Toil, which created good quality harvested seeds of flax and lacy phacelia.
Keywords: accelerated ripennig crops, Linum, Phacelia

Úvod

Používání desikantů se využívá při jednorázové sklizni u celé řady polních plodin. Desikace je předsklizňová technologie využívaná k předčasnému ukončení vegetace (zásadní faktor snižující vlhkost sklizených semen, jež šetří náklady na dosoušení). Dále je tato technologie uplatňována v zaplevelených porostech pro usnadnění sklizně, snížení vlhkosti sklízené hmoty, což souvisí s déle trvající fenologií plevelů v porovnání s kulturní plodinou. Již na počátku používání pesticidů v zemědělství bylo bez diskuzí, že se pěstování zemědělských plodin stane brzy na chemických vstupech závislé, což souvisí se společenskou poptávkou na dostupnost zemědělských komodit při snížení ekonomiky produkce a nižším využití lidských zdrojů. V minulosti byl využíván, nejen v ČR, jako desikant přípravek s účinnou látkou glyfosát do luskovin (kupř. Ellis et al. 1998), řepky nebo obilovin a glufosinát v přípravku s komerčním názvem Basta, jehož registrace byla ukončena. Další účinné látky vhodné k desikaci byly v minulosti bromoxynil, dále carfentrazone, flumioxazin, fluroxypyr (dosud využívané jako herbicidy). Tyto látky taktéž nejsou povoleny jako desikanty. Na základě nařízení Komise EU 2018/1532 je rovněž ukončena možnost používání široce rozšířených desikantů s účinnou látkou diquat, která byla pro pěstování lnu na semeno po více než 50. let zcela zásadní. Současné možnosti použití desikantů jsou v ČR zcela tristní z hlediska množství účinných látek.

V registru přípravků na ochranu rostlin (dostupné na http://eagri.cz/public/app/eagriapp/POR/) zůstala jako desikant prakticky pouze jedna účinná látka – pyraflufen-ethyl, která je registrovaná do brambor, slunečnice, jetelovin, svazenky vratičolisté (rozšíření registrace v roce 2021) a trvalých kultur (stav k říjnu 2021). Je tedy nezbytné při pěstování zejména minoritních plodin najít v dohledné době náhradu za zmíněné desikanty s ukončenou dobou registrace nebo najít technologii umožňující sklizeň porostů s přijatelnou vlhkostí semen.

Materiál a metody

V okrese Šumperk byly v katastrech obcí Bratrušov (v roce 2020) a Vikýřovice (2021) založeny maloparcelkové pokusy splňující standardy EPPO (mezinárodně uznávané metodiky pro registraci pesticidů využitelných k pěstování zemědělských plodin) ve lnu (odrůda Libra 2020, Raciol 2021) a svazence vratičolisté (odrůda Protana 2020, Merva 2021). Velikost pokusných parcel byla 25 m^2 ve čtyřech plně znáhodněných opakováních. Jednotlivé foliární varianty pokusu jsou uvedeny v tabulce 1. Termíny aplikací pro len byly dne 30.7.2020, 26.7.2021 u svazenky pak 31.7.2020, 31.7.2021 (opakovaný přestřik po pěti dnech u varianty č. 3 byl ve svazence realizován v roce 2021 k zjištění negativního dopadu na klíčivost semen) viz. Tab. 7. a 8. V pokusech byla hodnocena účinnost, resp. zasychání pletiv plodin na listech, stoncích a generativních částech v procentech hodnocením na stupnici (1, 5, 10, 25, 50, 75, 100 %). Na každé parcele bylo hodnoceno 50 rostlin samostatně a odděleně po jednotlivých zmíněných částech rostlin. Takhle bylo získáno ve čtyřech opakováních 200 hodnocených rostlin za každou pokusnou variantu (viz. Tab. 1). Dále bylo provedeno sklizňové hodnocení za pomoci sklizňové mlátičky Wintersteiger Quantum vč. laboratorních hodnocení vlhkosti semen a hmotnosti tisíce semen (HTS). Výsledky byly statisticky zpracovány v programu ARM 2016 (Gylling Data Manager) za použití Student-Newman-Keuls testu jako post-hoc analýzy rozptylu (ANOVA) dle De Muth & James E. (2006).

Výsledky

Desikační pokusy ve lnu, které probíhaly v letech 2020-2021 přinesly přesvědčivé výsledky účinnosti pyraflufen-ethylu na listy a tobolky lnu. Je nutno dodat, že závěrem vegetace listy lnu vadnou samovolně, což nesnižuje funkčnost této látky jako desikantu na tobolky lnu (viz. Tab. 2 a 3). V roce 2020 nebyly hodnoceny stonky lnu v důsledku velmi silného napadení fusariovým vadnutím stonků lnu (*Fusarium oxysporum f. sp. lini*). Náhradou za neschválené účinné látky (dikvát, glufosinát) a karfentrazon, jež je používán v některých zemí EU v jiných plodinách (Perreira et al 2015, Soltani et al 2013, Tavares et al 2016), se v současnosti jeví jako alternativa pouze pyraflufen-ethyl při použití se smáčedlem a DAMem (var. č. 3, Tab. 2-4). Varianta s DAMem dosáhla jako jediná uspokojivých výsledků (zvýšení usychání tobolek o cca 30-50 %, účinnost 98-100 %). Velice významný vliv měla aplikace na vlhkost semen (v roce 2020), kdy došlo ke snížení vlhkosti z 23 % (průměr kontroly) na 9,5 % (Tab. 2).
Pokusy podobného charakteru probíhaly ve svazence vratičolisté, kde lze považovat aplikace pyraflufen-ethylu bez smáčedla, 14 dní před sklizní, rovněž za dostatečnou. U svazenky byl efekt pyraflufen-ethylu patrný jak na listy, stonky i generativní orgány i při použití bez DAMu (Tab. 5-8). Varianty s látkou pyraflufen-ethyl rovněž dosáhly snížení vlhkosti semen (Tab. 6 a 8).

Tab. 1: Seznam použitých předsklizňových desikantů a jejich dávek v pokusech se lnem a svazenkou

(v roce 2021 byla v pokuse se svazenkou var. č. 3 bez DAMu a proběhla opakovaná aplikace v uvedených dávkách). Aplikace probíhaly při BBCH 83-85 s výjimkou roku 2020, kdy v pokuse se lnem setým byl postřik při BBCH 85-87. Legenda: adj. – smáčedlo

Datum	Přípravek	Dávka	Účinná látka
1	Kontrola	-	-
2	Kabuki	0,8 l/ha	pyraflufen-ethyl
3	Kabuki + DAM + Toil	0,8 l/ha + 10 l/ha + 0,5 %	pyraflufen-ethyl + DAM + adj.
4	Kabuki + Toil + Flexi	0,8 l/ha + 0,5 % + 0,75 l/ha	pyrflufen-ethyl + adj. + lepidlo
5	Basta 15	2,5 l/ha	glufosinate-NH4
6	Reglone	4 l/ha	diquat-dibromid
7	Spotlight + Dash HC	1 + 1 l/ha	carfentrazone-ethyl + adj.

Tab. 2: Hodnocení vlivu desikantů, resp. desikační účinek v procentech na listy a tobolky lnu v roce 2020

2020		listy			tobolky			sklizeň			
	Přípravek	2.8.	6.8.	13.8.	31.7.	6.8.	13.8.	t/ha	vlhkost	HTS	klíčivost
1	Kontrola	0,0c	2,2d	**93,3c**	0,0c	2,2d	44.7d	1,3a	**23,0a**	5,56a	95,2a
2	Kabuki	8,0b	20,3c	**98,0b**	3,5c	20,3c	69,3c	1,3a	14,6b	5,56a	96,1a
3	Kabuki + DAM + Toil	15,4a	29,5b	**98,0b**	10,5b	29,5b	**82,7b**	1,4a	**9,5c**	5,65a	95,4a
4	Kabuki + Toil + Flexi	5,0b	14,3c	**96,9b**	5,0c	24,5c	63,3c	1,6a	**9,8c**	5,55a	95,8a
5	Basta	16,6a	44,5a	**100a**	32,0a	44,5a	**92,7a**	1,6a	**8,2d**	5,56a	95,6a
6	Reglone	18,9a	50,2a	**100a**	38,0a	50,5a	**100a**	1,5a	**7,9d**	5,55a	95,8a
7	Spotlight + Dash HC	15,3a	46,8a	**100a**	35,2a	47,5a	**95,8a**	1,5a	**8,3d**	5,55a	94,9a

Tab. 3: Hodnocení vlivu desikantů, resp. desikační účinek v procentech na listy, stonky a tobolky lnu v roce 2021

2021		listy				stonky				tobolky			
	Přípravek	31.7.	2.8.	5.8.	9.8.	31.7.	2.8.	5.8.	9.8.	31.7.	2.8.	5.8.	9.8.
1	Kontrola	35,5b	55,4b	80,2b	85,5b	1,5a	1,9a	2,6a	5,25b	21,0a	21,0a	64.7d	**100a**
2	Kabuki + Toil	64,7a	84,0a	**89,3a**	**100a**	1,8a	2,5a	35,9c	49,5a	22,1a	22,1a	75,3c	**100a**
3	Kabuki + DAM + Toil	64,8a	85,2a	**92,3a**	**100a**	1,6a	2,3a	48,2b	53,5a	25,0a	25,0a	**89,7b**	**100a**
4	Kabuki + Toil + Flexi	65,0a	86,3a	**91,5a**	**100a**	1,7a	2,4a	36,3c	50,0a	23,0a	23,0a	75,6b	**100a**
5	Basta	67,3a	87,2a	**95,3a**	**100a**	1,9a	3,0a	44,5a	52,7a	25,0a	25,5a	**98,4a**	**100a**
6	Reglone	68,4a	91,3a	**97,1a**	**100a**	2,3a	3,0a	50,5a	65,0a	27,2a	27,5a	**100a**	**100a**
7	Spotlight + Dash	67,6a	89,2a	**94,8a**	**100a**	2,0a	3,2a	47,5a	55,8a	26,2a	26,5a	**99,2a**	**100a**

Tab. 4: Sklizňové hodnocení pokusu ve lnu z roku 2021 vlhkost a klíčivost (%), HTS (g)

	2021	sklizeň			
	Přípravek	**t/ha**	**vlhkost**	**HTS**	**klíčivost**
1	Kontrola	2,3a	14,6b	5,98a	84,8a
2	Kabuki + Toil	2,4a	12,2a	6,06a	86,0a
3	Kabuki + DAM + Toil	2,4a	11,9a	5,98a	85,3a
4	Kabuki + Toil + Flexi	2,5a	13,3ab	6,06a	86,0a
5	Basta	2,4a	11,6a	6,03a	85,4a
6	Reglone	2,4a	10,7a	5,96a	85,1a
7	Spotlight + Dash	2,4a	11,3a	5,97a	85,2a

Tab. 5: Hodnocení vlivu desikantů, resp. desikační účinek v procentech na listy, stonky a květy svazenky vratičolisté v roce 2020

	2020	listy			stonky			květy		
	Přípravek	**2.8.**	**6.8.**	**13.8.**	**2.8.**	**6.8.**	**13.8.**	**2.8.**	**6.8.**	**13.8.**
1	Kontrola	0,0e	22,5d	60,3b	1,0d	12,2d	85,3c	0,0e	42,5d	80,1b
2	Kabuki	13,5d	55,4c	**90,2a**	24,9b	45,3b	**99,5ab**	16,5d	65,5c	**100a**
3	Kabuki + DAM + Toil	19,1c	68,2b	**98,3a**	35,4a	58,9a	**100a**	22,5c	79,0b	**100a**
4	Kabuki + Toil + Flexi	14,1d	61,8c	**97,2a**	12,1c	32,6c	**99,0b**	17,0d	67,0c	**100a**
5	Basta	40,1a	86,2a	**99,2a**	35,1a	61,5a	**100a**	44,0a	97,0a	**100a**
6	Reglone	45,1a	87,2a	**100a**	37,8a	62,6a	**100a**	50,0a	98,0a	**100a**
7	Spotlight + Dash	38,7a	83,6a	**98,4a**	36,7a	60,4a	**100a**	42,3a	96,5a	**100a**

Tab. 6: Sklizňové hodnocení pokusu ve svazence vratičolisté z roku 2020 vlhkost a klíčivost (%), HTS (g)

	2020	sklizeň			
	Přípravek	**t/ha**	**vlhkost**	**HTS**	**klíčivost**
1	Kontrola	0,30a	18,6b	2,4a	78,2a
2	Kabuki	0,33a	15,9a	2,2a	82,4a
3	Kabuki + DAM + Toil	0,32a	**12,3a**	2,3a	79,1a
4	Kabuki + Toil + Flexi	0,39a	**16,3a**	2,4a	76,5a
5	Basta	0,33a	**15,9a**	2,5a	80,1a
6	Reglone	0,33a	**15,4a**	2,2a	81,3a
7	Spotlight + Dash	0,34a	**16,2a**	2,3a	82,2a

Tab. 7: Hodnocení vlivu desikantů, resp. desikační účinek v procentech na listy, stonky a květy svazenky vratičolisté v roce 2021

	2021	listy				stonky				květy			
	Přípravek	**5.8.**	**7.8.**	**10.8.**	**14.8.**	**5.8.**	**7.8.**	**10.8.**	**14.8.**	**5.8.**	**7.8.**	**10.8.**	**14.8.**
1	Kontrola	38,6c	42,4b	56,3b	62,4b	38,4b	39,4b	41.2b	50.6b	22,0c	32,0b	55,5b	75,5b
2	Kabuki + Toil	65,4b	**92,6b**	**97,4a**	**100a**	**98,7a**	**99,9a**	**100a**	**100a**	39,8b	50,8a	**99,8a**	**100a**
3	Kabuki + Toil 2x	65,2b	**97,4a**	**100a**	**100a**	**98,5a**	**99,9a**	**100a**	**100a**	42,6b	50,4a	**100a**	**100a**
4	Kabuki + Toil + Flexi	66,5b	**95,4b**	**98,4a**	**100a**	**98,3a**	**100a**	**100a**	**100a**	38,7b	49,6a	**98,8a**	**100a**
5	Basta	76,3a	**100a**	**100a**	**100a**	**99,9a**	**100a**	**100a**	**100a**	44,6b	52,8a	**100a**	**100a**
6	Reglone	82,9a	**100a**	**100a**	**100a**	**100a**	**100a**	**100a**	**100a**	50,6a	55,6a	**100a**	**100a**
7	Spotlight + Dash	78,4a	**100a**	**100a**	**100a**	**99,9a**	**100a**	**100a**	**100a**	43,4b	52,2a	**100a**	**100a**

Tab. 8: Hodnocení vlivu desikantů, resp. desikační účinek v procentech na listy, stonky a květy svazenky vratičolisté v roce 2021

	2021	sklizeň			
	Přípravek	**t/ha**	**vlhkost**	**HTS**	**klíčivost**
1	Kontrola	0,48a	13,3b	1,8a	66,0a
2	Kabuki + Toil	0,47a	12,0a	1,7a	71,7a
3	Kabuki + Toil 2x	0,48a	11,4a	1,7a	69,3a
4	Kabuki + Toil + Flexi	0,49a	11,9a	1,8a	67,0a
5	Basta	0,48a	11,3a	1,8a	68,2a
6	Reglone	0,48a	11,1a	1,8a	69,3a
7	Spotlight + Dash	0,47a	11,4a	1,8a	67,6a

Diskuze

Po restrikci způsobené nařízením Komise EU 2018/1532 vůči přípravku Reglone (dikvát) nebude použití zmíněného přípravku ve lnu s jistotou do budoucna dále možné. Tato látka byla široce využívána v evropských státech v přípravku Reglone jako desikant (Mutch 1984, Schulz 1992) a v současnosti za tuto látku není žádná náhrada. Při sklizni lnu na semeno je ale prakticky nezbytné použití desikantu. V minulosti došlo k rapidním propadu pěstebních ploch přadného lnu, kde aplikací desikantu s DAMem může dojít ke snížení kvality vlákna (Šmirous et al. 2015). Tato technologie regulace dozrávání bude moci být použita především u semenářských porostů lnu. Celková plocha lnu je v ČR okolo 1500 ha (Šmirous et al 2021). Ve výsledcích účinnosti použitých desikantů (v tabulkách 2-4) je statisticky průkazné, že pro použití pyraflufen-ethylu je vhodné tuto aplikaci zahájit ovšem minimálně 14 dní před sklizní. Teprve poté tento desikant (pyraflufen ethyl se smáčedlem) účinkuje uspokojivě a může způsobit snížení vlhkosti sklizených semen. Přirozené dozrávání svazenky vratičolisté je velice pozvolné, proto i zde je možné použít desikanty k ukončení vegetace. V tabulkách 5-8 je přesvědčivě uvedeno, že použití látky pyraflufen-ethylu je nutné rovněž zahájit minimálně 14 dní před sklizní (při BBCH 85). Využitelnost pyraflufen-ethylu k desikaci svazenek bylo potvrzeno i v práci Kubíkové et al (2021), jež vedlo k minoritní registraci této účinné látky do porostů svazenky vratičolisté.

Závěr

Pro dosažení nižší vlhkosti sklizených semen a eliminaci plevelů před sklizní semenných porostů lnu a svazenky je často nezbytné použití desikantů. U lnu i svazenky se doposud využíval přípravek s účinnou látkou dikvát (Reglone), který je v současnosti možno použít pouze na výjimku UKZÚZ. V současné době se jeví jako jediná náhrada přípravek s účinnou látkou pyraflufen-ethyl (Kabuki) při použití se smáčedlem a DAMem.

Poděkování

Příspěvek byl zpracován za podpory Ministerstva zemědělství, QK21010332 a institucionální podpora MZE-RO-1721 a RO-10/18

Literatura

De Muth, James E. (2006). Basic Statistics and Pharmaceutical Statistical Applications (2nd ed.). Boca Raton, FL: Chapman and Hall/CRC. pp. 229–259.

Ellis J. M., Shaw D. R., Barrentine W. L. (1998): Herbicide Combinations for Preharvest Weed Desiccation in Early Maturing Soybean (Glycine max). Weed Technology 12 (1): 157-165

Kubíková Z., Smejkalová H., Kolaříková K. (2021): Ošetření semenných porostů jetelovin a dalších pícnin – Svazenka. Agromanuál 2021(5): 18-22.

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

Mutch D. R., Penner D., Roggenbuck F., Chase R. W. (1984): The use of additives, temperature, and plant position to increase efficacy of dinoseb for potato (Solanum tuberosum) vine desiccation. American Potato Journal 61: 577–586.

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

Schulz M. (1992): Soybean desiccation - diquat, ethephon and windrowing. http://www.regional.org.au/au/asa/1992/poster/new-technologies/p-03.htm

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

Šmirous P., Bjelková M., Souček J. (2015): Metodická příručka pro pěstování olejného lnu. 55s.

Šmirous P., Bjelková M., Keprt V. (2021): Sklizeň lnu bez desikace. Úroda 2021(7): 48-50.

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

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Šafář, Ph.D.
Agritec Plant Research, s.r.o.
Zemědělská 16
+420 776 748 289, safar@agritec.cz

Pôdne vlastnosti a esenciálne oleje v plodoch borievky

Soil characteristics and essential oils in juniper berries

Vargová V. [1], Kováčiková Z. [1], Pangyová E. [2], Baxa S.[2], Dimitrov F.[3]

[1]NPPC – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva Banská Bystrica
[2] NPPC – Výskumný ústav potravinársky, Odbor technologických inovácií a spolupráce s praxou
[3]NPPC – Výskumný ústav potravinársky, Odbor chémie a analýzy potravín

Abstrakt
Cieľom výskumu bolo preskúmať pôdne vlastnosti a obsah esenciálneho oleja v plodoch borievky obyčajnej (*Juniperus communis* L.). Sledované boli výskumné lokality s rôznou nadmorskou výškou: Kišovce (667 m n. m.), Ostrá hora (568 m n. m.), Chrámec (185 m n. m.) a Iliaš (440 m n. m.). Na väčšine lokalít sa pôda vyznačovala neutrálnou pôdnou reakciou s vysokým obsahom humusu a dusíka (N), nízkym až veľmi nízkym obsahom fosforu (P), dobrým až vysokým obsahom draslíka (K) a veľmi vysoký obsah horčíka (Mg). Pôdna reakcia na lokalite Chrámec bola veľmi kyslá. Obsah éterických olejov sa pohyboval od 1,1 % na lokalite Iliaš do 2,2 % na lokalite Chrámec a Ostrá hora. Pôdna reakcia vykazovala strednú pozitívnu koreláciu s obsahom α-pinénu (r = 0,5079). Obsah esenciálneho oleja mal negatívnu strednú koreláciu s obsahom α-pinénu (r = -0,5005) a sabinénu (r = -0,3450).
Kľúčové slová: *Juniperus communis* L., nadmorská výška, pôdna reakcia, esenciálny olej, α-pinén

Abstract
The aim of the research was to review soil characteristics as well as on essential oil content in the Juniper berries (*Juniperus communis* L.) was found. The following research sites with different altitude were monitored: Kišovce (667 m a.s.l.), Ostrá hora (568 m a.s.l.), Chrámec (185 m a.s.l.) and Iliaš (440 m a.s.l.). In most locations, the soil was characterized by a neutral soil reaction, with a high content of humus and nitrogen (N), a low to very low content of phosphorus (P), a good to a high content of potassium (K) and a very high content of magnesium (Mg). The soil acidity was very high at the Chrámec. The content of essential oils ranged from 1.1 % in the locality of Iliaš to 2.2 % in the locality Chrámec and Ostrá hora. The soil reaction showed a medium positive correlation with the content of α-pinene (r = 0.5079). The essential oils content had a negative medium correlation with the content of α-pinene (r = -0.5005) and sabinen (r = -0.3450).
Keywords: *Juniperus communis* L., altitude, soil reaction, essential oil, α-pinene

Úvod

Borievky rastú v širokej ekologickej amplitúde, čiže v rôznych nadmorských výškach s rôznymi pôdnymi typmi (Cooper *et al*., 2012). Rod *Juniperus* patrí do čeľade *Cupressaceae*, skupiny nahosemenných rastlín (*Gymnospermeae*). *Juniperus* má asi 60 druhov vždyzelených stromov alebo kríkov, široko rozšírených na severnej pologuli, v Európe vrátane ostrovov Stredomoria, Severnej Ameriky a východnej Afriky (Adams, 2011). V našich podmienkach sa najčastejšie nachádza na ťažko prístupných lokalitách. Borievka obyčajná je málo konkurenčný ihličnatý vždyzelený ker s tvrdými, pichľavými ihlicami v trojpočetných praslenoch. Vyskytuje sa tam, kde je dostatok svetla, je nenáročná na pôdu a vlahu. Thomas *et al*. (2007) uvádza, že uprednostňuje suché pôdy, kamenisté podložie a vlhké podmienky obýva zriedkavo. Je to

dvojdomá rastlina. Samičia rastlina produkuje mäsité šišky (galbulae, označované ako bobule, pre ich mäsitú textúru), ktoré majú spočiatku zelenú farbu a za 2 – 3 roky pri dozrievaní majú výraznú modrú farbu (Ward, 2010). Plody borievky obyčajnej sa používajú na výrobu destilátov, likérov, sirupov a iných produktov. Ďalej sa borievka využíva v kozmetickom, potravinárskom a farmaceutickom priemysle na získavanie éterických olejov. Pri výrobe alkoholických nápojov vzniká ako druhý komerčný produkt borievkový olej, ktorý sa využíva najmä vo farmaceutickom priemysle. Nízka koncentrácia borievkového oleja v alkoholických nápojoch (max. 0,006%) nespôsobuje žiadne nepriaznivé účinky na zdravie človeka, avšak pri farmaceutických aplikáciách sa toxicita borievkového oleja môže zvyšovať v dôsledku oxidačných procesov. Zloženie éterického oleja z plodov borievok je veľmi variabilné, je závislé od zemepisného pôvodu rastlín, od pôdnoklimatických podmienok, štádia zrelosti, veku rastliny, spôsobu ošetrenia. Rovnako je rôznorodá aj výťažnosť oleja získaného z plodov borievok. Množstvo oleja získaného destiláciou vodnou parou sa pohybuje od 0,5 % hmot. až do 3,8 % hmot. (Falasca *et al*., 2016; Angioni *et al.*, 2003; Zheljazkova *et al*., 2018). Aj Šalamon a Petruška (2017) uvádzajú, že podmienky biotopov a vývojové štádiá rastlín majú vplyv na kvalitatívne zloženie a množstvo éterických olejov. Éterický olej nesie zodpovednosť za typickú arómu a chuť borievok. Cieľom príspevku je porovnanie pôdnej reakcie, agrochemických vlastností pôdy a obsahu esenciálneho oleja v plodoch borievky obyčajnej z rôznych lokalít.

Materiál a metódy

V období rokov 2017 – 2020 sme vykonali monitoring lokalít s hromadným výskytom borievky obyčajnej: Kišovce (667 m), Ostrá hora (568 m), Iliaš (440 m) a Chrámec (185 m). Lokality sa nachádzajú v nadmorskej výške od 185 do 667 m nad morom. Teplú agroklimatickú oblasť, okrsok T7 (teplý, mierne vlhký, s chladnou zimou) s teplotou v januári ≤ -3 °C a dlhodobým úhrnom zrážok 600 mm reprezentuje lokalita Chrámec. Do mierne teplej agroklimatickej oblasti, agroklimatického okrsku M7 (mierne teplého silne vlhkého vrchovinového) s dlhodobým ročným úhrnom zrážok 795 mm a priemernou ročnou teplotou vzduchu 8,1 °C patrí lokalita Iliaš. Agroklimatický okrsok M2 (mierne teplého, mierne vlhkého, so studenou zimou, dolinového) charakterizuje lokalitu Ostrá hora. Chladnú agroklimatickú oblasť, okrsok C1 (mierne chladného, veľmi vlhkého) s teplotou v júli ≥ 12 °C až < 16 °C a dlhodobým ročným úhrnom zrážok 955 mm predstavuje lokalita Kišovce. Pôdne vzorky sme odoberali v jesennom období (október) z hĺbky 0 – 150 mm. Z odobratých pôdnych vzoriek sme stanovili pH v KCl, C_{ox}, N, P, K a Mg (podľa Vyhlášky MPRV SR Zz. č. 151/2016), z ktorých sme určili štatistickú významnosť rozdielu jednotlivých lokalít metódou analýzy rozptylu ANOVA pomocou Tukeyovho testu na hladine významnosti 0,05 a na určenie vzájomných vzťahov bol použitý Pearsonov korelačný koeficient. Zber plodov sme realizovali v októbri a novembri.

Stanovenie obsahu esenciálnych olejov

Stanovenie bolo prevedené hydrodestiláciou vodnou parou na zariadení na stanovenie silíc. K 25 g plodov bolo pridané 150 cm^3 destilovanej vody. Hydrodestilácia sa vykonala v priebehu 1 h.

GC-MS analýza esenciálneho oleja.

Zariadenie GC- Agilent technologies 6890N a MS- agilent technologies 5973

Podmienky: Kolona HPINNOWAX agilent technologies rozmery: 30m x 0,25mm x 0.5mikrometra; Nosný plyn: Helium tlak 85,5 kPa; Konštantný prietok: 1,5 ml/min, Teplotný program: 40 °C, 1 min, 5 °C/min do 250 °C; 250 °C, 2 min; Injektor: Split 10:1, Teplota injektora: 250 °C; Detektor: MSD; ionizacia: EI 70 eV; Scan mód; hmotnostný rozsah:

29 – 250 m/z; Solvent delay: 2,5 min; Teplota MS zdroja 230 ºC. Knižnica na identifikáciu píkov NIST14.

Výsledky a diskusia

Dostupnosť živín v pôde sa môže meniť aj vplyvom zrážok, teploty, pôdneho typu a pôdnej reakcie (Maathuis, 2009). Lokalita Kišovce sa nachádza v katastrálnom území obce Hôrka pri Poprade, mala neutrálnu pôdnu reakciu (pH 6,94) so stredným obsahom humusu (21,60 g.kg^{-1} C_{OX}) a dusíka (Tab. 1). Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola nízka, s vyhovujúcim obsahom prijateľného draslíka (252,82 mg.kg^{-1}) a horčíka (287,65 mg.kg^{-1}). Neutrálnu pôdnu reakciu (pH 6,63 – 6,77) sme zaznamenali na lokalite Ostrá hora, ktorá sa nachádza v katastrálnom území obcí Spišské Podhradie a Žehra. Obsah humusu v pôde bol stredný až vysoký (22,50 – 57,60 g.kg^{-1} Cox) a rovnako aj zásoba dusíka bola vysoká. Nízky obsah sme zaznamenali pri zásobe fosforu. Obsah prijateľného draslíka (181,48 – 262,33 mg.kg^{-1}) bol vyhovujúci až dobrý. Zásoba horčíka sa pohybovala od vyhovujúceho obsahu až po veľmi vysoký. Na stanovišti Chrámec, ktorý sa nachádza v okrese Rimavská Sobota, bola pôdna reakcia silne (pH 4,65) až slabo kyslá (pH 6,57). Obsah humusu bol nízky (11,30 – 19,70 g.kg^{-1} C_{OX}). Zásoba dusíka a fosforu bola nízka, rovnako aj zásoba draslíka bola nízka až dobrá (206,81 mg.kg^{-1}). Obsah prijateľného horčíka osciloval od 530,76 – 675,77 mg.kg^{-1}, tj. veľmi vysoký.

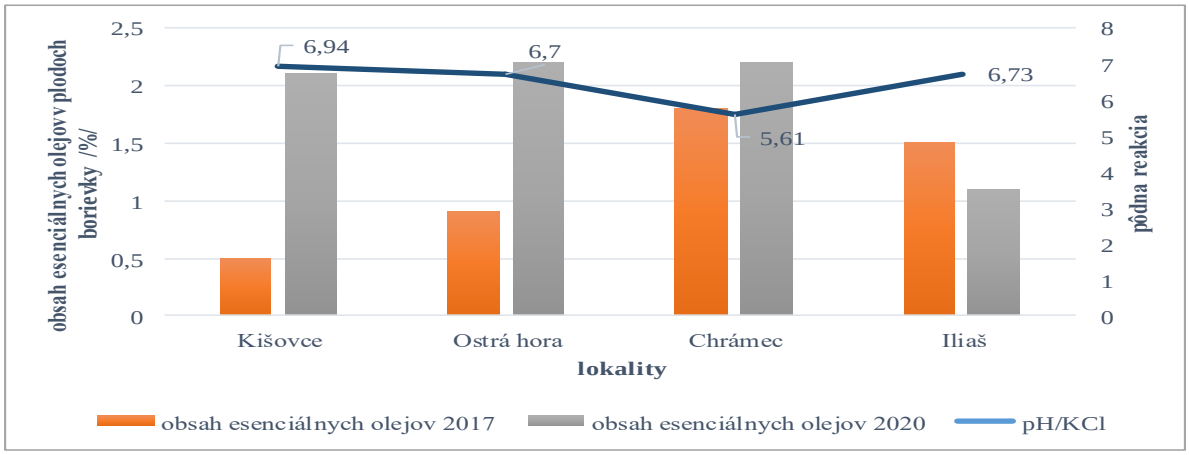
Tab 1: Agrochemické vlastnosti pôdy na jeseň 2020

Lokalita	**pH/KCl**	**Cox g.kg^{-1}**	**N g.kg^{-1}**	**P mg.kg^{-1}**	**K mg.kg^{-1}**	**Mg mg.kg^{-1}**
Kišovce	6,94^{a}	21,60^{a}	2,19^{a}	1,34^{a}	252,82^{a}	287,65^{a}
Ostrá hora	6,70^{a}	40,05^{a}	4,72^{a}	1,59^{a}	221,91^{a}	355,55^{a}
Chrámec	5,61^{a}	15,50^{a}	1,61^{a}	1,18^{a}	184,52^{a}	603,27^{ab}
Iliaš	6,73^{a}	44,16^{a}	3,07^{a}	2,31^{a}	337,89^{a}	1167,86^{ab}
F-ratio	*0,29*	*6,02*	*6,69*	*14,28*	*0,81*	*30,33*
P-value	*0,8763*	*0,2955*	*0,2812*	*0,1955*	*0,6841*	*0,1351*

Rozdielne indexy znamenajú štatisticky preukazné rozdiely medzi úrovňami faktorov (Tukey t-test, P = 0,05).

Iliaš je lokalita v západnej časti mesta Banská Bystrica s neutrálnou pôdnou reakciou (pH 6,73), s vysokým obsahom humusu (44,16 g.kg^{-1} C_{OX}) a dusíka (3,07 g.kg^{-1}). Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola nízka. Obsah draslíka bol vysoký s veľmi vysokým obsahom prijateľného horčíka (1167,86 mg.kg^{-1}). Naše pôdy sú dobre zásobené horčíkom čo potvrdzujú aj naše zistenia (Kobza *et al.*, 2010). Vysoký obsah humusu, prijateľného dusíka, draslíka a horčíka v pôde súvisí s pasením zvierat, čím sa zvyšujú zásoby živín v pôde (Tab. 1).

Graf 1: Pôdna reakcia a obsah esenciálneho oleja (EO) v plodoch *J. communis* L. v roku 2017 a 2020



Esenciálny olej z plodov borievky je väčšinou tvorený monoterpénmi (asi 58%), hlavne α-pinénom, β-myrcénom a sabinénom (Duke *et al*., 2002). Zloženie borievkového oleja (chemo typy) preskúmal Lawrence už v roku 1987. Hlavné zložky esenciálnych olejov sú uvedené v tabuľke 2. Získané esenciálne oleje mali svetlú farbu s výraznou borievkovou arómou. V prevažnej miere sú tvorené monoterpénmi, ktoré predstavujú 59,9 % na lokalite Chrámec až 63,1 % na lokalite Ostrá hora, zo všetkých identifikovaných zložiek v získanom esenciálnom oleji. Dominantným monoterpénom v esenciálnom oleji je α-pinén (od 277,7 µl/ cm^3 do 365,9 µl/ cm^3), ktorý sa vyznačuje výraznou borovicovou arómou a drevitou chuťou. V poradí druhým monoterpénom je β-myrcén (od 66,8 µl/ cm^3 do 133,5 µl/ cm^3), ktorý senzoricky prispieva k drevitej a korenistej aróme. Zo sesquiterpénov (35,2 – 42,5 %) je majoritne zastúpený germakrém-D, charakteristický výraznou drevitou arómou (od 90,8 µl/ cm^3 do 196,8α µl/ cm^3). V priebehu dozrievania plodov borievok sa mení pomerný obsah monoterpenoidov a sesquiterpénov. Obsah sesquiterpénov sa pozvoľna zvyšuje a obsah α-pinénu sa znižuje. Falasca *et al*. (2016) uvádzajú, že s dozrievaním plodov sa zvyšuje obsah germakrému-D a dominantným sesqiuterpénom sa stáva v mesiaci november.

Tab 2: Hlavné zložky esenciálního oleja (%) v plodoch *J. communis* L.

Lokalita/ zložky	Kišovce	Ostrá hora	Chrámec	Iliaš
Monoterpény (%)	62,0	63,1	59,9	54,5
Sesquiterpény (%)	35,5	35,2	39,4	42,5
Iné (%)	2,5	1,7	0,7	3,0

V plodoch borievok nazbieraných v roku 2020 bol obsah esenciálnych olejov (EO) vyšší ako v roku 2017, okrem lokality Iliaš (Tab. 3). Najvýraznejšie zvýšenie v obsahu esenciálnych olejov sme zaznamenali v borievkach z lokality Kišovce, kde bol nárast obsahu esenciálnych olejov až 4-násobný. Na lokalite Ostrá hora bol jeho obsah 2,2 %, čo predstavuje 2,4-násobné zvýšenie. Podobný obsah esenciálnych olejov 1,8 – 2,2 % bol nameraný na lokalite Chrámec. Takmer rovnaké výsledky uvádzajú aj Šalamon a Petruška (2017) s obsahom esenciálneho oleja 0,9 – 1,6 % v roku 2016 na uvedenej lokalite.

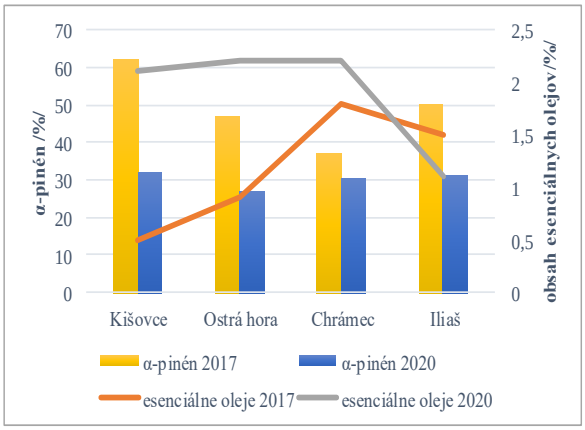
Tab 3: Porovnanie obsahu α-pinénu, sabinénu a β-myrcénu v esenciálnom oleji z plodov *J. communis* L. v roku 2017 a 2020

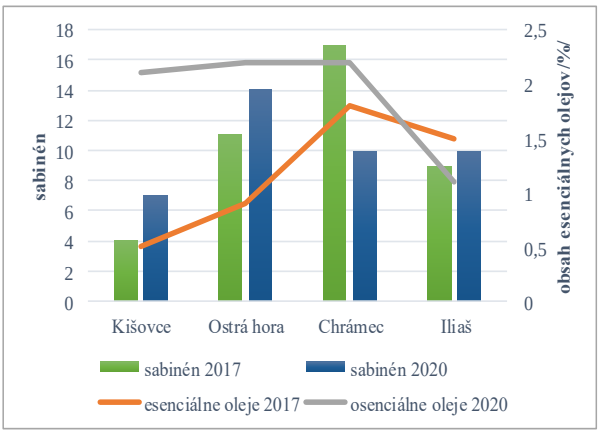
Lokalita	Esenciálne oleje		Majoritné monoterpenické zložky esenciálneho oleja z plodov *J. communis* L. (rel. %)					
	2017	2020	α-pinén 2017	α-pinén 2020	sabinén 2017	sabinén 2020	β-myrcén 2017	β-myrcén 2020
Kišovce	0,5±0,1	2,1±0,3	62±1,2	32,1±0,6	4±0,1	7±0,1	13±0,3	13±0,3
Ostrá hora	0,9±0,1	2,2±0,3	47±0,7	27,7±0,6	11±0,1	14±0,1	12±0,3	7±0,3
Chrámec	1,8±0,2	2,2±0,3	37±0,7	30,1±0,6	17±0,3	10±0,2	10±0,2	13±0,3
Iliaš	1,6±0,1	1,1±0,1	50±1,0	30,7±0,6	9,0±0,2	10±0,2	17±0,3	12±0,2
r_{pH}		*0,0449*		*0,5079*		*-0,2346*		*-0,0390*
r_{EO}				*-0,5005*		*-0,3450*		*-0,2934*

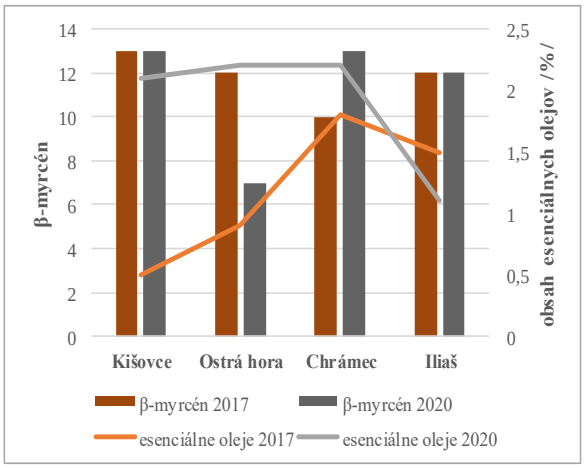
r_{pH} – Pearsnov korelačný koeficient pre vzťah medzi pôdnou reakciou a obsahom EO a jeho majoritných zložiek,
r_{EO} – Pearsnov korelačný koeficient pre vzťah medzi obsahom EO a jednotlivých majoritných zložiek

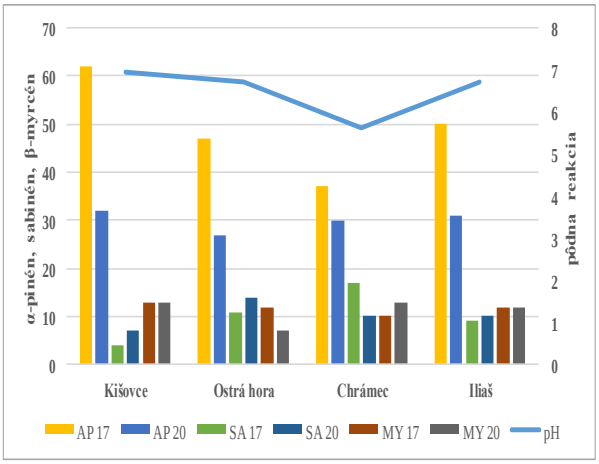
Obsah α-pinénu závisí od obsahu esenciálnych olejov, to znamená, že s vyšším obsahom esenciálnych olejov v plodoch sa mení kvantitatívne zloženie zložiek esenciálneho oleja, čo sa výrazne prejavilo práve v obsahu α-pinénu. V plodoch nazbieraných v roku 2017 na lokalite Kišovce bol stanovený obsah esenciálnych olejov 0,5 % a súčasne bol relatívny obsah α-pinénu 62 %. V roku 2020 sa zvýšil obsah EO na 2,1 %, ale relatívny obsah α-pinénu bol len 32 % (Graf 2). Pearsnov korelačný koeficient ukázal strednú pozitívnu koreláciu medzi pôdnou reakciou a obsahom α-pinénu (r = 0,5079) a slabú negatívnu koreláciu medzi obsahom sabinénu (r = -0,2346). Pôdna reakcia k ostatným parametrom vykazovala nízky stupeň závislosti. Obsah esenciálneho oleja vykazoval zápornú strednú koreláciu s obsahom α-pinénu (r = -0,5005) a sabinénu (r = -0,3450), bez štatistickej preukaznosti (Tab. 3).

Graf 2: Obsah esenciálnych olejov (EO) a α-pinénu (AP), sabinénu (SA) a β-myrcénu (MY) (%) v roku 2017 a 2020









V roku 2020 bol obsah α-pinénu výrazne nižší pri porovnaní s rokom 2017 (Tab. 3) so signifikantným potvrdením ($P < 0,05$) a osciloval v rozmedzí od 27,7 až 32,1 %, zatiaľ čo v roku 2017 sa pohyboval od 37 do 62 %. Šalamon, Petruška (2017) uvádzajú mierne vyšší obsah α-pinénu (37 – 48 %) v plodoch borievky z lokality Chrámec. Nesignifikantne vyšší obsah α-pinénu sme zistili na lokalitách s neutrálnou pôdnou reakciou. Pôdna reakcia k ostatným parametrom vykazovala nízky stupeň závislosti.

Obsah sabinénu v esenciálnych olejoch v roku 2020 nekoreloval s rokom 2017 (Graf 2). Najvyšší obsah sabinénu bol na lokalite Chrámec (17 %), pričom v roku 2020 bol jeho obsah nižší o 42 %. Obsah β-myrcénu v obidvoch rokoch s výsledkami takmer koreloval. Výnimkou bola lokalita Ostrá hora, kde v roku 2020 bolo jeho obsah nižší o 58 %. Rozdiel v zisteniach môže byť spôsobený klimatickými podmienkami v jednotlivých rokoch.

Medzi nestabilné monoterpény patria najmä sabinén, β-pinén, α-pinén, D-limonén (Tisserand, 2014). Oxidáciou týchto monoterpénov sa stráca biologická účinnosť esenciálneho oleja. Borievkový olej preukázal inhibíciu rastu *S. aureus* (MIC 4,75 µl/ cm^3) a *E. coli* (MIC 16,8 µl/ cm^3) a pozitívne prispieva ku tvorbe protizápalových faktorov, má protiplesňové, antivírusové a antioxidačné vlastnosti (Raina, 2019; Darwish, 2020). Z dôvodu nestability monoterpénov je veľmi dôležitý postup pri izolácii esenciálnych olejov. Pri hydrodestilácii má vplyv na výťažnosť pomer medzi obsahom plodov a obsahom vody a za optimálny pomer bol definovaný pomer 1 : 6 (Milojevič, 2008).

Záver

Lokality s výskytom borievky obyčajnej (*J. communis* L.) sa nachádzali v rozdielnych nadmorských výškach (185 – 667 m) a pôdy mali s neutrálnou (Kišovce, Ostrá hora, Iliaš) až silne kyslou pôdnou reakciou (Chrámec, pH 4,65). Pôdy boli charakteristické vysokým obsahom humusu, dusíka, nízkym až veľmi nízkym obsahom prijateľného fosforu, s dobrým až vysokým obsahom draslíka a veľmi vysokým obsahom horčíka. Okrem lokality Chrámec, ktorý mal deficitnú zásobu všetkých prvkov. Pôdna reakcia vykazovala strednú pozitívnu koreláciu s obsahom α-pinénu ($r = -0,5079$). Obsah esenciálnych olejov bol v rozpätí od 1,1 % na lokalite Iliaš do 2,2 % na lokalite Chrámec a Ostrá hora. Negatívne so stredným stupňom závislosti koreloval obsah esenciálneho oleja s obsahom α-pinénu ($r = -0,5005$) a sabinénu ($r = -0,3450$).

Poďakovanie

Tento príspevok bol spracovaný vďaka podpore projektu APVV-19-0471 „*Využitie potenciálu borievky (*Juniperus communis *L.) v potravinárskom priemysle"*.

Literatura

Adams, R. P. (2011): Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. Bloomington, Vancouver, BC, Canada: Trafford Publishing, 2011, pp, 436.

Angioni, A. - Barra, A. - Russo, M.T. - Coroneo, V. - Dessi, S. - Cabras, P. (2003): Chemical composition of the essential oils of *Juniperus* from ripe and unripe berries and leaves and their antimicrobial activity. J. Agric. Food Chem, 2003, 51, p. 3073-3078.

Cooper, F. - Stone, RE. - McEvoy, P. - Wilkins, T. - Reid, N. (2012): The conservation status of juniper formations in Ireland. 1st Edition, Irish Wildlife Manuals, 2012, 63, p. 1-224.

Darwish., R. S. *et al.* (2020): Efficacy-directed discrimination of the essential oils of three *Juniperus* species based on their in-vitro antimicrobial and anti-inflammatory activities. Journal of Ethnopharmacology, 2020, 259, 112971.

Duke, J. A. - Bogenschultz-Godwin M. J. - DuCellier, J. - Duke, P. A. - Handbo (2002): Book of Medicinal Herbs. 2nd ed. Boca Raton, London, New York, Washington D.C.: CRC Press, 2002.

Falasca, A. - Caprari, C. - Felice, V. - Fortini, P. - Saviano, G. - Zollo, F. - Iorizzi, M. (2016): GC-MS analysis of the essential oils of *Juniperus communis* L. berries growing wild in the Molise region: Seasonal variability and in vitro antifungal activity. Biochemical Systematics and Ecology, 2016, 69, p.166-175. https://doi.org/10.1016/j.bse.2016.07.026

Kobza, J. *et al.* (2010): Aktuálny stav a vývoj obsahu fosforu, draslíka a horčíka v poľnohospodárskych pôdach Slovenska. In Agrochémia, 50 (1), 2010, p. 3-8.

Lawrence, B. M. (1987): Progress in essential oils-Juniper berry oil. Flavours and Fragrances, 1987, 12, p. 59-61.

Maathuis, F. (2009): Physiological function of mineral macronutrients. In Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12 (3), p. 250-258.

Milojevič, S.Z. *et al*. (2008): Kinetics of distillation of essential oil from comminuted ripe juniper (*Juniperus communis* L.) berries Biochemical Engineering Journal, 2008, 39, 547–553.

Raina, R. *et al.* (2019): Potential of *Juniperus communis* L. as a nutraceutical in human and veterinary medicine. Heliyon, 2019, 5, e02376.

Solmonson, L. S. (2012): Gin: A Global History. Reaktion Books, 2012, pp. 167.

Šalamon I. - Petruška P. (2017): Quality of juniper essential oil (Oleum Juniperi) in the South slovakia and its curative and industrial utilization. Indian J. Pharmaceut. Edu. and Res., 2017, 51, vol. 3, p 136-140.

Tisserand, R. - Young, R (2014): Essential oil composition Chapter 2 In Book Essential oils safety, second edition, 2014, pp 780.

Thomas, PA. - El-Barghathi, M. - Polwart, A. (2007): Biological flora of the british isles: *Juniperus communis* L. J. Ecol., 95(6): 1404-1440. Ward LK. (2010). Variation in ripening years of seed cones of Juniperus communis L., Watsonia, 2010, 28 (1), p. 11-9.

Zheljazkova, Valtcho D. - Kacaniova, M. - Dinchevad, I. - Radoukovae, T. - Semerdjievaf, I. B. - Astatkieg, T. -, Sclegelh, V. (2018): Essential oil composition, antioxidant and antimicrobial activity of the galbuli of six juniper species. Industrial Crops & Products, 2018, 124, p. 449–458.

Kontaktní adresa:

Ing. Vladimíra Vargová, Ph.D.
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva
Mládežnícka 36
974 21 Banská Bystrica
+421 48 31 00 6865 +421 911278051
vladimira.vargova@nppc.sk

Foto 1 Detailný záber na plody borievok

Trávne porasty s výskytom borievky obyčajnej

Grasslands with occurrence of juniper

Vargová V., Kováčiková Z.

Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva Banská Bystrica

Abstrakt

Cieľom výskumu bolo zhodnotenie floristického zloženie, kvality fytomasy a pôdnych vlastností lokalít s hromadných výskytom borievky obyčajnej v rôznych nadmorských výškach: Ostrá hora (568 m n. m.), Kišovce (667 m n. m.) a Liptovská Lúžna (903 m n. m.). Pôdy boli charakteristické vyšším obsahom humusu a dusíka. Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola na vyhovujúcej úrovni, obsah draslíka bol dobrý až vysoký a obsah horčíka veľmi vysoký. Trávne porasty s výskytom borievky boli špecifické vyšším percentuálnym zastúpením trávnych druhov. Druhy z floristickej skupiny ostatných lúčnych bylín a leguminóz mali v porastoch minimálne percentuálne zastúpenie. Z hľadiska hodnotenia kvality trávnej fytomasy bola koncentrácia dusíkatých látok (NL) na nízkej úrovni. Obsah fosforu (P) a sodíka (Na) bol nízky. Koncentrácia vápnika (Ca) bola v požadovaných hodnotách prijateľného rozpätia pre potreby zvierat.

Klúčové slová: borievka obyčajná, trávny porast, pôdna reakcia, botanické zloženie, kvalita

Abstract

The aim of the research was to evaluate the floristic composition, quality of phytomass and soil properties of localities with mass occurrence of juniper at various altitudes: Ostrá hora (568 m a.s.l.), Kišovce (667 m a.s.l.) and Liptovská Lúžna (903 m a.s.l.). The soils were characterized by a higher content of humus and nitrogen. The supply of acceptable phosphorus in the soil was at a convenient level, the content of potassium was good to high and the content of magnesium was very high. Grasslands with juniper were specific for a higher percentage of grass species. Species from the floristic group of other meadow herbs and legumes had a minimum percentage in the grass. In terms of assessing the quality of grass phytomass, the concentration of nitrogenous substances (NL) was low. The content of phosphorus (P) and sodium (Na) was low. The calcium (Ca) concentration was within the required values of an acceptable range for the needs of the animals.

Key words: *Juniperus communis* L., grassland, soil reaction, botanical composition, quality

Úvod

Borievka obyčajná – *Juniperus communis* L., rod *Juniperus* patrí do čeľade cyprusovité (*Cupressaceae*), skupiny nahosemenných rastlín (*Gymnospermeae*). Je to stále zelený ker, často aj viackmeňový ihličnatý strom (do 12 m) so sivastou kôrou a ľahkým, jemne vláknitým drevom. Má tuhé, pichľavé, sivé ihlicovité listy a dvojdomé kvety. Plody sú guľaté trojsemenné dužinaté šišky označované ako galbulus, tiež šištičkovité bobule – borievky. Je to dvojdomá rastlina. Mäsité šišky produkuje samičia rastlina, ktoré majú spočiatku zelenú farbu a za 2 - 3 roky pri dozrievaní majú výraznú modrú farbu (Ward, 2010). Rod *Juniperus* má okolo 60 druhov vždyzelených stromov alebo kríkov, široko rozšírených v celom miernom pásme severnej pologule, v Európe vrátane ostrovov Stredomoria, Severnej Ameriky a východnej Afriky (Adams, 2011), čiže tvorí viac geografických rás. Cooper *et al*. (2012) uvádza, že

populácie borievok rastú v širokej ekologickej amplitúde, v rôznych nadmorských výškach a v širokej škále pôdnych typov. V našich podmienkach sa najčastejšie nachádza na ťažko prístupných lokalitách, tam kde je predovšetkým dostatok svetla, je extrémne nenáročná na pôdu a vlahu. Thomas *et al*. (2007) uvádza, že uprednostňuje suché pôdy, kamenisté podložie a vlhké podmienky obýva zriedkavo. Z hľadiska areálu jej rozšírenia možno povedať, že je najrozšírenejším ihličnanom na svete, a to aj napriek tomu, že je z domácich drevín najmenej konkurencieschopná. Pôvodne borievka rástla iba tam, kde extrémne podmienky prostredia (sucho a veľký nedostatok živín) nedovolili rásť iným drevinám. Väčšie rozšírenie dosiahla hlavne vďaka odlesňovaniu človekom (Jankovič a Čaboun, 2017). Na Slovensku sa borievka rozšírila spontánne na pastvinách a lúkach odlesnených počas valašskej kolonizácie. Odborníci uvádzajú, že ešte v polovici minulého storočia bola borievka obyčajná u nás hojne rozšírená ako neoddeliteľná súčasť našich trvalých trávnych porastov. Po ústupe pastvy však mnohé pasienky začali zarastať ďalšími drevinami a priestor pre svetlomilnú borievku sa začal výrazne zmenšovať. K jej úbytku významne prispelo aj tzv. čistenie pasienkov a lúk od náletových drevín. Veľmi podobná situácia bola aj vo viacerých ďalších európskych krajinách a aj preto boli porasty borievky obyčajnej zaradené medzi biotopy európskeho významu. Doterajšie zistenia z mapovania lokalít hromadného výskytu borievok potvrdzujú predpoklad, že vitálne porasty borievok vhodné pre produkciu plodov je možné najefektívnejšie obhospodarovať ako agrolesnícke systémy v kombinácii s pasením hospodárskych zvierat. Bez zámerného manažmentu hrozí v blízkej budúcnosti väčšine produkčných borievkových porastov zánik prostredníctvom prirodzenej sukcesie týchto plôch ďalšími drevinami. Výnimkou sú porasty borievok na extrémnych stanovištiach, ktoré neumožňujú sukcesiu ostatných drevín.
Cieľom príspevku bolo zhodnotenie floristického zloženia, kvality fytomasy a pôdnych vlastností lokalít s hromadným výskytom borievky obyčajnej nachádzajúcej sa v rôznych nadmorských výškach.

Materiál a metódy

Monitoring trávnych porastov s výskytom borievky obyčajnej sme realizovali na lokalitách Ostrá hora, Kišovce a Liptovská Lúžna. Vykonali sme floristické zhodnotenie trávneho porastu, odber rastlinných vzoriek a vzoriek pôdy. Pomocou redukovanej projektívnej dominancie podľa Malocha (1953) sme analyzovali floristické zloženie hlavných floristických skupín tráv, leguminóz, ostatných lúčnych bylín a prázdnych miest. Odobrali sme priemerné vzorky zelenej fytomasy (cca 500 g) na stanovenie produkcie sušiny podľa STN 47 7007. Pôdne vzorky na chemické analýzy sme odoberali z hĺbky 0 - 150 mm. Z odobratých priemerných vzoriek sa stanovili pH/KCl, obsah organického uhlíka, fosfor, draslík a horčík. Rozbor pôd sa robil podľa Vyhlášky MPRV SR Zz.č.151/2016, ktorou sa ustanovujú podrobnosti o agrochemickom skúšaní pôd a o skladovaní a používaní hnojív.

Výsledky a diskusia

Monitorované lokality Ostrá hora, Kišovce a Liptovská Lúžna sa nachádzajú vo vyšších nadmorských výškach, od 568 m do 903 m n. m. Do agroklimatickeho okrsku M2 (mierne teplej a mierne vlhkej oblasti, so studenou zimou, jedná sa o typ kotlinovej klímy) zaraďujeme Ostrú Horu (568 m n. m.). Chladnú agroklimatickú oblasť, okrsok C1 (mierne chladného, veľmi vlhkého) s teplotou v júli ≥ 12 ^{o}C až < 16 ^{o}C a dlhodobým ročným úhrnom zrážok 955 mm predstavuje lokalita Kišovce (667 m n. m.). Lokalita Liptovská Lúžna (903 m n. m.) reprezentuje chladnú klimatickú oblasť s priemernou ročnou teplotou menšou ako 16 ^{o}C . Sú tu zastúpené všetky tri okrsky - mierne chladný, chladný horský a studený horský (tabuľka 1).

Tabuľka 1: Lokality s výskytom borievky obyčajnej

Lokalita	Nadmorská výška (m)	Zem. šírka	Zem. dĺžka
Liptovská Lúžna	903	48,9430556	19,3616667
Kišovce	667	49,0294444	20,3827778
Ostrá hora	568	48,9944444	20,7722222

Lokalita Liptovská Lúžna, nachádzajúca sa 7 km za obcou, sa vyznačovala extrémne kyslou (pH 4,48) až slabo kyslou pôdnou reakciu (pH 6,59). Obsah humusu bol v rozpätí 26,40 - 42,30 $g.kg^{-1}$ C_{ox}, čo predstavuje stredný až vysoký obsahom. Koncentrácia dusíka bola vysoká až veľmi vysoká. Zásoba fosforu v pôde bola na veľmi nízkej úrovni (1,38 - 2,19 $mg.kg^{-1}$), s vyhovujúcim obsahom draslíka (od 93,07 do 155,72 $mg.kg^{-1}$) a vysokým až veľmi vysokým obsahom horčíka (240,06 - 790,96 $mg.kg^{-1}$). Peeters (2004) uvádza, že pôdna reakcia, spolu s dostupnosťou živín, vlhkosťou pôdy a typom hospodárenia, patrí medzi faktory ovplyvňujúce zloženie trávneho porastu. Trávny porast s hromadným výskytom borievok bol zložený najmä z tráv, ktoré mali 82 - 85 %-né zastúpenie. Podiel druhov z floristickej skupiny bylín bol 18 % a leguminózy mali len minimálny výskyt. Z trávnych druhov v poraste dominovali *Briza media* L., *Deschampsia caespitosa* (L.) P. Beauv., *Festuca rubra* L., *Bromus erectus* L., *Agrostis stolonifera* L. Ostatné lúčne byliny s dominantným postavením v poraste boli *Hypericum perforatum L., Colchicum autumnale* L., *Galium molugo* L., *Cirsium eriophorum* L. a *Alchemilla vulgaris* L. Produkcia sušiny sa pohybovala od 2,97 do 3,76 $t.ha^{-1}$. Obsah vlákniny sa pri jednotlivých odberoch pohyboval v intervale od 245,28 do 284,87 $g.kg^{-1}$ (tabuľka 2). Dusíkaté látky sú jedným z rozhodujúcich ukazovateľov výživnej hodnoty vyprodukovanej fytomasy. Kvalita fytomasy bola nepostačujúca, s obsahom dusíkatých látok od 80,10 - 96,70 $g.kg^{-1}$ a nízkou koncentráciou fosforu (1,55 - 2,03 $g.kg^{-1}$). Na odberovom mieste č. 4 koncentrácia dusíkatých látok dosiahla hodnotu 129,80 $g.kg^{-1}$ a obsah fosforu bol dobrý (2,97 $g.kg^{-1}$). Z hľadiska potrieb zvierat bola koncentrácia postačujúca. Z krmovinárskeho hľadiska najlepšie vyhovuje obsah draslíka na úrovni 10 - 15 $g.kg^{-1}$ sušiny. Koncentrácia K bola v uvedenom rozpätí a v štvrtom odbere dokonca požadovaný obsah prevyšovala. Odporúčaná koncentrácia vápnika sa pohybuje v intervale od 4 do 11 $g.kg^{-1}$ (Holúbek *et al*., 2007). Hodnoty boli v rozpätí 7,64 - 11,13 $g.kg^{1}$. Obsah horčíka bol vysoký, pohyboval sa v rozpätí od 3,59 do 4,82 $g.kg^{-1}$. Potreba prežúvavcov je len 2 g horčíka na kilogram sušiny (Labuda, 1982; Novák, 2008). Beever *et al.* (2000) uvádza rozpätie pre množstvo horčíka v sušine 1,20 až 2 $g.kg^{-1}$, Kováč (2005) od 1,50 do 2 $g.kg^{-1}$.

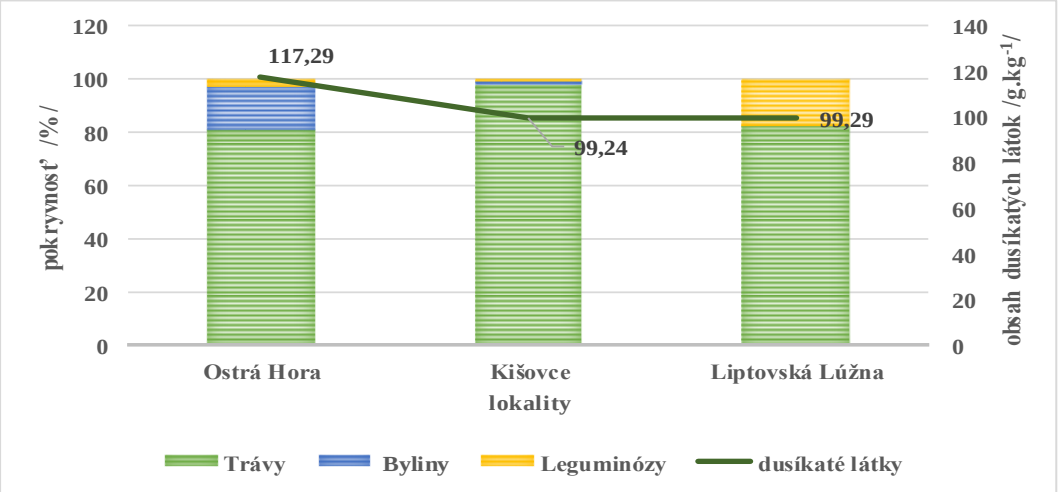
Tabuľka 2: Obsah organických a minerálnych látok v sušine na sledovaných lokalitách

Lokalita	Odber / P. č.	Vláknina	Popol	NL	P	K	Ca	Mg	Na
		$g.kg^{-1}$							
Liptovská Lúžna	1	272,73	78,69	96,70	2,03	17,32	8,64	3,96	0,31
	2	284,87	78,89	80,10	1,66	15,62	8,11	3,59	0,31
	3	256,81	83,33	90,35	1,55	16,11	7,64	3,93	0,31
	4	245,28	97,86	129,80	2,97	25,80	11,13	4,82	0,34
Ostrá hora	1	252,60	122,13	117,67	1,99	16,07	13,21	2,43	0,34
	2	241,81	126,16	116,91	2,33	19,60	11,16	2,91	0,34
Kišovce	1	296,12	114,02	99,29	1,66	14,14	7,86	2,02	0,26

Pôdna reakcia na lokalite Ostrá hora, ktorá sa nachádza v katastrálnom území obcí Spišské Podhradie a Žehra, bola neutrálna s hodnotou pH 6,63 až 6,77. Obsah humusu v pôde bol pri

jednotlivých odberoch stredný (22,50 g.kg^{-1}) až vysoký (57,60 g.kg^{-1}). Rovnako aj zásoba dusíka bola veľmi vysoká (3,12 až 6,32 mg.kg^{-1}). Obsah prijateľného fosforu v pôde bol nízky. Pri zásobe draslíka (181,48 - 262,33 mg.kg^{-1}) sme zistili vyhovujúcu až dobrú koncentráciu. Obsah horčíka v pôde sa pohybovala od vyhovujúceho až po veľmi vysoký (136,95 – 574,95 mg.kg^{-1}). Trávny porast na lokalite Ostrá hora mal 81 až 83 % -nú pokryvnosť trávnych druhov. Percentuálne zastúpenie bylín bolo 16 % a leguminózy mali opäť len minimálne zastúpenie (1-3 %). Z trávnych druhov v poraste dominovali *Festuca pratensis* L., *Festuca rubra* L., *Nardus stricta* L., *Deschampsia caespitosa* (L.) P. Beauv., *Arrhenatherum elatius* L. a *Briza media* L. Z floristickej skupiny leguminóz sa v poraste vyskytovali *Trifolium repens* L. a *Vicia tenuifolia* L.. Z bylinných druhov boli v poraste zastúpené *Cirsium arvense* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Salvia pratensis* L., *Tragopogon orientalis* L., *Daucus carota* L. a *Leontodon autumnalis* L. Produkcia sušiny bola zo všetkých sledovaných najnižšia, dosiahla úroveň len 1,17 t.ha^{-1} sušiny. Prijateľné rozpätie dusíkatých látok v 1 kg sušiny sa pohybuje od 110 - 250 g.kg^{-1}. Na danej lokalite bol obsah dusíkatých látok pre zvieratá takmer vyhovujúci (116,91 - 117,67 g.kg^{-1}). Obsah fosforu je na nízkej úrovni (1,99 - 2,33 g.kg^{-1}), pretože odporúčaná koncentrácia pre zvieratá sa pohybuje nad 3,0 g.kg^{-1} v sušine nadzemnej fytomasy. Obsah draslíka, vápnika a horčíka prevyšoval požadované hodnoty prijateľného rozpätia pre potreby zvierat. Pre priamu výživu zvierat však boli stále vyhovujúce. Koncentrácia sodíka bola nízka (tabuľka 2). Všeobecne sa však deficit sodíka dopĺňa lyzmi pre zvieratá, ktoré sa umiestňujú na pasienok.

Graf 1: Floristické zloženie na sledovaných lokalitách



Tretia monitorovaná lokalita Kišovce, sa nachádza za obcou, v katastrálnom území obce Hôrka pri Poprade. Vyznačovala sa neutrálnou pôdnou reakciu (hodnota pH 6,94). Obsah humusu mal hodnotu 21,60 g.kg^{-1} C_{ox}, čo charakterizuje stredný obsah. Koncentrácia dusíka (1,34 g.kg^{-1}) bola malá. Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola nízka, s vyhovujúcim obsahom prijateľného draslíka (252,82 mg.kg^{-1}) a horčíka (287,65 mg.kg^{-1}). Z fytocenologického hľadiska bol trávny porast na sledovanej lokalite Kišovce tvorený predovšetkým trávnymi druhmi a tie mali až 98 %-né zastúpenie. Z nich dominovali *Arrhenatherum elatius* L. a *Bromus erectus* L. V poraste sme evidovali aj výskyt leguminóz a tie zastupovala hlavne *Vicia tenuifolia* L. Zaznamenali sme nízku produkciu sušiny, len 1,39 t.ha^{1}. Obsah dusíkatých látok bol nízky (99,29 g.kg^{-1}) a z hľadiska potreby pre zvieratá atakoval spodnú hranicu optimálnych hodnôt. Veľmi nízku koncentráciu sme zaznamenali aj pri fosfore (1,66 g.kg^{-1}) a draslíku, ktorá je pre zvieratá

nepostačujúca. Na danej lokalite bola zaznamenaná najnižšia koncentrácia draslíka (14,14 $g.kg^{-1}$). Obsah vápnika bol vyhovujúci, ale koncentrácia horčíka (2,02 $g.kg^{-1}$) a sodíka bola veľmi nízka (0,26 $g.kg^{-1}$).

Záver

Trávne porasty s výskytom borievky obyčajnej (*J. communis* L.) sa nachádzali vo vyšších nadmorských výškach (568 - 930 m). Sledované lokality sa vyznačovali extrémne kyslou až neutrálnou pôdnou reakciou. Pôdy boli charakteristické vyšším obsahom humusu a dusíka. Výnimku predstavuje len lokalita Kišovce. Zásoba prijateľného fosforu v pôde bola na vyhovujúcej úrovni, obsah draslíka bol dobrý až vysoký a obsah horčíka veľmi vysoký. Na základe našich zistení môžeme konštatovať, že rozdielna nadmorská výška a agrochemické vlastnosti pôdy nemajú vplyv na výskyt borievky obyčajnej na trávnom poraste. Trávne porasty s výskytom borievky boli špecifické vyšším percentuálnym zastúpením trávnych druhov. Druhy z floristickej skupiny ostatných lúčnych bylín a leguminóz mali v porastoch minimálne percentuálne zastúpenie. Z hľadiska hodnotenia kvality trávnej fytomasy bola koncentrácia N-látok na nízkej úrovni. Obsah fosforu a sodíka bol nízky. Koncentrácia vápnika bola v požadovaných hodnotách prijateľného rozpätia pre potreby zvierat.

Poďakovanie

Táto publikácia vznikla vďaka podpore Agentúry na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy APVV-19-0471 "Využitie potenciálu borievky (*J. communis* L.) v potravinárskom priemysle."

Literatúra

Adams, R. P. 2011. Junipers of the World: The Genus *Juniperus*. Bloomington, Vancouver, BC, Canada: Trafford Publishing, 2011, pp, 436.

Beever, D. E., N., Gill, M. 2000. The Feeding value of Grass and Grass Prodducts. In Hopkins, A. (ed.) Grass : Its production and utilization. 3rd edition. Oxford : Blackwell Science, 2000, pp. 104 - 195.

Cooper, F., Stone, R., Mcevoy, P., Wilkins, T., Reid, N. 2012. The conservation status of juniper formations in Ireland. 1st Edition, Irish Wildlife Manuals, 2012, 63: 1-224.

Holúbek, R., Jančovič, J., Gregorová, H., Novák, J., Ďurková, E. 2007. Krmovinárstvo – manažment pestovania a využívania krmovín. 1. vyd. Nitra : SPU, 2007, 420 s.

Jankovič, J., Čaboun, V. 2017. Poznatky z mapovania borievkových porastov na Slovensku. In: Dlhodobý ekologický výskum a monitoring lesov, zborník recenzovaných príspevkov z konferencie 7. - 8. november, NLC Zvolen, S.67-71.

Kováč, L. 2005. Koncentrácia minerálnych látok vo viacročných krmovinách na VSN. In Realizáciou poznatkov vedy a výskumu k trvalo udržateľnému poľnohospodárstvu. Michalovce : VÚRV - ÚAe, 2005, s. 289 - 293.

Labuda, J. 1982. Výživa kŕmenie hospodárskych zvierat. Bratislava: Príroda. 1982, 488 s.

Maloch, M. 1953. Krmovinárstvo. II. diel. Bratislava : SPN, 1953, 616 s.

Novák, J. 2008. Obnova pasienkov na Karpatských salašoch. Bratislava : NOI - ÚVTIP, 2008, 200 s.

Peeters, A. 2004. Wild and Sown Grasses, Profiles of Temperate Species Selection : Ecology Biodiversity and Use. Rome and Oxford : FAO and Blackwell Publishing, 2004, 311 p.

Thomas, Pa., El-Barghathi, M., Polwart, A. 2007. Biological flora of the british isles: *Juniperus communis* L. J. Ecol., 95 (6): 1404 - 1440.

Ward, Lk. 2010.Variation in ripening years of seed cones of *Juniperus communis* L., Watsonia. 2010; 28 (1):11 - 9.

Kontakt:
Ing. Vladimíra Vargová, Ph.D.
Národné poľnohospodárske a potravinárske centrum – Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva
Mládežnícka 36, Banská Bystrica 974 21
+421 48 31 00 6865 +421 911278051, vladimira.vargova@nppc.sk

Foto 1: Lokalita Ostrá hora

Foto 2: Lokalita Liptovská Lúžna

Testování fyziologických parametrů genetických zdrojů trav pro projekt TAČR „genofondy pro města a krajinu“

Testing of physiological parameters of grass genetic resources for the project TAČR „Germplasms for cities and landscaping“

Vítámvás P.[1], Holubec V.[1], Raab S.[2], Vymyslický T.[3], Hlásná Čepková P.[1]

[1] Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha
[2] OSEVA PRO s.r.o., odštěpný závod Výzkumná stanice travinářská Rožnov – Zubří
[3] Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko

Abstrakt
V souvislosti s globálním oteplováním nabývá na významu zeleň ve městech. Snižuje teploty v intravilánu, infiltruje dešťovou vodu, pohlcuje prachové znečištění, absorbuje hluk, ale podílí se i na zabudovávání uhlíku do rostlinných pletiv a produkci kyslíku fotosyntézou. Tramvajové pásy představují nejvíce stresové prostředí a pro přežití rostlin a standardní ozelenění hyne během krátké doby. Vybrané druhy trav sebrané z extrémních stanovišť v ČR byly testovány na odolnost suchu v kontrolovaných podmínkách klimaboxu. U rostlin byly změřeny fyziologické parametry a izolovány dehydriny. Při snížení půdní vodní kapacity (PVK) na 50 % po třech týdnech rostliny vykazovaly rozdílný přírůstek regenerované nadzemní biomasy a osmotického potenciálu, mírné snížení fluorescence chlorofylu a čisté fotosyntézy. Byly detekovány kvalitativní i kvantitativní změny v akumulaci dehydrinů ve vzorcích rostlin vystavených suchu. Nejlépe si poradily s nedostatečnou zálivkou testované genotypy *Briza media* a *Anthoxanthum odoratum*.
Klíčová slova: Městská zeleň, tramvajové pásy, zatravňování, stresové faktory, fyziologické parametry, sucho.

Abstract
In the context of global warming, greenery in cities is becoming increasingly important. It lowers intravian temperatures, infiltrates rainwater, absorbs dust pollution, absorbs noise, but also participates in carbon incorporation into plant tissues and oxygen production through photosynthesis. Tram tracks represent the most stressful environment and for plant survival and standard greening perish in a short time. Selected grass species collected from extreme habitats in the Czech Republic have been tested for drought resistance in controlled conditions. In plants, physiological parameters were measured and dehydrins isolated. When soil water capacity (SWC) was reduced to 50% after three weeks, the plants showed a different increase in regenerated above-ground biomass and osmotic potential, a slight reduction in chlorophyll fluorescence and pure photosynthesis. Qualitative and quantitative changes in the accumulation of dehydrins in samples of plants exposed to drought have been detected. The tested genotypes *Briza media* and *Anthoxanthum odoratum* were best handled with insufficient watering.
Keywords: City green, tram belts, grassing, stress factors, physiologic parameters, drought.

Úvod

Tramvajové tratě v mnoha evropských městech jsou lemovány trávním porostem, což je praxe, která pravděpodobně začala v 80. letech 20. století, aby přinesla zeleň zpět do městského prostoru a zároveň poskytla obyvatelnou zónu pro četný hmyz a bezobratlé živočichy. Zelené pruhy poskytují řadu výhod pro jakoukoli městskou oblast, např. snižování teploty v intravilánu, poskytují propustnou plochu pro dešťovou vodu, která infiltruje, snižuje znečištění a absorbují hluk generovaný broušením kovových kol na kovových drahách. Zelené

trasy jsou v Evropě stále populárnější a lze je vidět téměř ve všech velkých evropských městech od Barcelony po Frankfurt, Milán, St-Etienne a Štrasburk. Dle dostupných informací mnoho německých měst má zazeleněné tramvajové tratě, v Berlíně jejich délka dosahuje 36 km. K trendu ozeleňování tramvajových tratí přistoupila řada měst v dalších evropských zemí (Holandsko, Velká Británie, Polsko). V současnosti běžně používané travní směsi nejsou odolné vůči klimatickým změnám, extrémním výkyvům počasí a dlouhým expozicím sucha a horka, které jsou časté zvláště v tramvajových pásech obvykle obklopených asfaltem či betonem. Proto trávy rychleji usychají, jsou nahrazovány odolnými pleveli a neplní svoji ekologickou ani estetickou funkci. V Praze je zeleň v tramvajovém pásu z finančních i logistických důvodů převážně nezavlažovaná a tedy genotypy v travní směsi musí vystačit se srážkami, které zachytí půda v cca 20 cm hlubokém korytu, více srážek je efektivně odváděno drenážním systémem pro zabránění degradace tramvajové tratě. V ČR není dostatečně široké spektrum kulturních odrůd pro ozeleňování, které by byly potřeba pro zátěžové a speciální podmínky měst, pro rekultivace v extrémním prostředí a pro měnící se klimatické podmínky. Absence planých genetických zdrojů vedla k zahájení sběrové expediční činnosti v botanicky bohatých a různorodých oblastech ČR (Holubec a Vymyslický, 2014). Od roku 1990 bylo uskutečněno 28 sběrových expedic. Celkem bylo sebráno 5129 vzorků, z toho největší podíl tvoří trávy (1920 položek) a druhy z čeledi *Fabaceae* (1354 položek). Významnou položku tvoří rovněž luční dvouděložné druhy jako komponenty bohatých luk (Vymyslický a Holubec, 2017). Po zhodnocení sebraných materiálů bylo do kolekcí genové banky zařazeno přes tisíc genetických zdrojů trav, jetelovin a dalších dvouděložných druhů, které tvoří potenciál pro využití při ozeleňování (GRIN Czech, 2021).

Projekt „Genofondy pro města a krajinu“ řeší ozeleňování tramvajových tratí či dalších dopravních staveb a k tomu účelu testuje vybrané rostlinné druhy právě z kolekcí Genové banky, které mohou díky své odolnosti vůči extrémním teplotním výkyvům či klimatickým změnám prodloužit funkčnost a životnost výsadby. Vybrané genotypy je nutné testovat vůči daným stresům (např. sucho) pro co nejpřesnější odlišení reakce rostlin a tolerance či citlivosti vůči stresu. V tomto příspěvku přinášíme první výsledky získané z hodnocení suchovzdornosti vybraných trav.

Materiál a metody

Odnože vybraných trav (*Avenula pubescens, Briza media, Lolium perenne, Bromus erectus, Poa compressa, Anthoxynthum odoratum*) evidovaných v informačním systému genetických zdrojů GRIN Czech byly připraveny ve výzkumné stanici OSEVA PRO pro potřeby fyziologických testování. Tyto odnože byly nasázeny do klíčidel (Substrát B) a aklimatizovány (teplota 24 °C, 16h fotoperioda) pod dostatečnou zálivkou 14 dní.

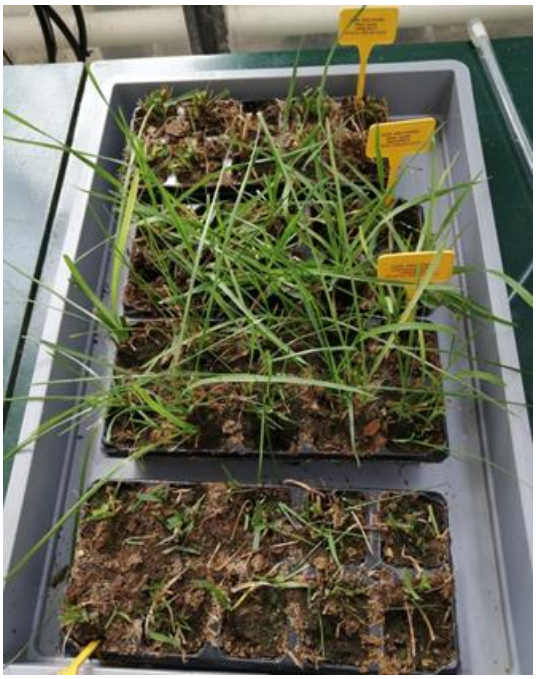
Poté byla jedna polovina rostlin zastřižena (Obrázek 1) listy využity pro kontrolní měření a následně byly rostliny vystaveny poloviční zálivce po dobu tří týdnů.

U rostlin byly změřeny morfologické parametry (hmotnost čerstvé nadzemní biomasy). Dále byly měřeny fyziologické parametry dle manuálů výrobce - fluorescence chlorofylu (FluorPen; PSI), fotosyntéza (LCpro+; BioScientific), osmotický potenciál (HR 33T Dew Point Micrometer; Wescor). Izolace a analýza dehydrinů pomocí hybridizace s anti-dehydrin protilátkou byla provedena dle Vítámvás et al. 2019. Výsledky alespoň tří biologických opakování byly porovnány pomocí základních statistických metod (MS Excel a Statistica v. 13.3).

Výsledky a diskuse

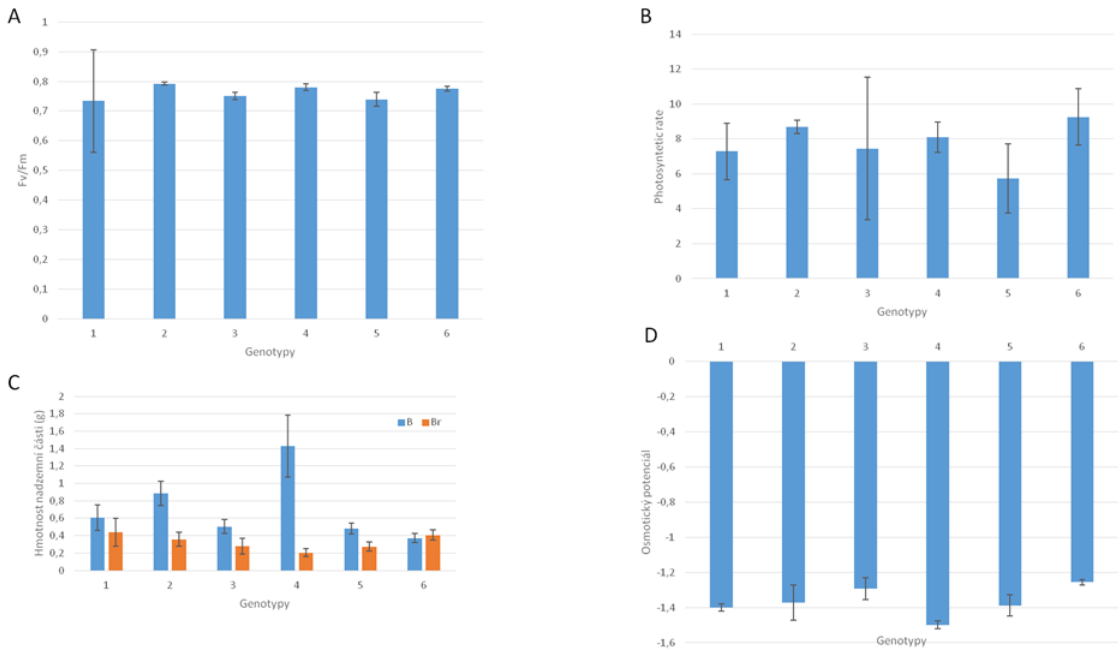
Během aklimatizace trávy až na *B. media* nevykazovaly známky stresu či poškození. Bohužel *B. media* po dvoutýdenní plné zálivce vykazovala odumření cca 30 % trsů rostlin, které tak

postupně seschly – tj. podmínky experimentu tomuto rostlinnému druhu nevyhovovaly (Obrázek 1).



Obrázek 1: Ukázka ořezaných a neořezaných trav, které byly vystavené suchu. V horní části snímku jsou zdokumentovány i odumřelé trsy trávy *B. media*.

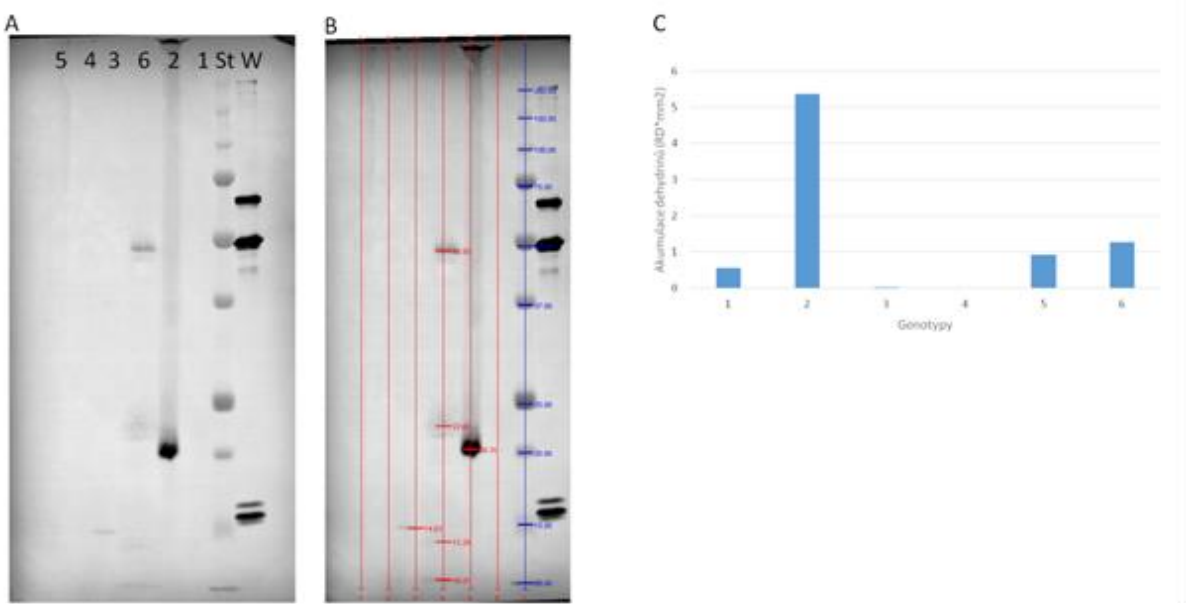
Po třech týdnech zalévání na cca 50 % PVK rostliny vykazovaly mírné snížení fluorescence chlorofylu (Fv/Fm; Obrázek 2A), čisté fotosyntézy (Obrázek 2B), rozdílný přírůstek regenerované nadzemní biomasy (Obrázek 2C) a osmotického potenciálu (Obrázek 2D).



Obrázek 2: Fyziologické parametry testovaných trav. A) Fluorescence chlorofylu, B) fotosyntéza, C) biomasa neořezaných rostlin (B) a regenerovaná biomasa ořezaných

rostlin (Br), D) osmotický potenciál listů trav. 1 – *Avenula pubescens*, 2 – *Briza media*, 3- *Lolium perenne*, 4 - *Bromus erectus*, 5 – *Poa compressa*, 6 – *Anthoxynthum odoratum*.

Podařilo se také detekovat kvalitativní i kvantitativní změny v akumulaci dehydrinů ve vzorcích rostlin vystavených suchu (Obrázek 3).



Obrázek 3. Analýza dehydrinů
A) imunoblot – proteiny vázající protilátku proti K-segmentu dehydrinů, B) analýza molekulové hmotnosti dehydrinů programem Quantity One (Bio-Rad), C) relativní akumulace dehydrinů v extraktech listů. St- Precision Plus All Blue Prestained Protein Standards (Bio-Rad), W – pozitivní kontrola z listů pšenice. 1 – *Avenula pubescens*, 2 – *Briza media*, 3- *Lolium perenne*, 4 - *Bromus erectus*, 5 – *Poa compressa*, 6 – *Anthoxynthum odoratum*

Nejvýznamnější rozdíly mezi testovanými druhy byly nalezeny u nárůstu nadzemní biomasy a akumulace dehydrinů v listech. Nejhorší parametry v reakci na testované podmínky nedostatečné zálivky vykazoval druh *B. erectus*, který na druhou stranu vykazoval nejvyšší přírůstky během období plné zálivky, tj. řadí se mezi plýtvače (Kosová et al. 2019). Navíc *B. erectus* vykazoval nejmenší přírůstky biomasy po zastřižení a vystavení suchu (Obrázek 1C). *B. media* také akumulovala po vystavení suchu nejvíce dehydrinů. Druhou nejvyšší akumulaci dehydrinů vykazoval genotyp *A. odoratum*. Trend akumulace dehydrinů u testovaných trav po vystavení abiotickému stresu se zdá být obdobný jako u dříve zkoumaných kulturních stepních trav (pšenice, ječmeny) vystavených např. chladu (Vítámvás et al. 2019, 2020). Vyhodnocení všech testovaných parametrů tedy ukazuje, že nejlépe si poradily s nedostatečnou zálivkou genotypy *B. media* a *A. odoratum*, ale u *B. media* mohly mít rostliny pravděpodobně více vlhkosti v půdě díky 30% redukci rostlin během aklimace a proto se dokázaly lépe aklimovat na následující sníženou zálivku.

Závěr

Díky vybraným morfologickým a fyziologickým parametrům jsme byli schopni srovnat růst a fotosyntetickou kondici testovaných genotypů vystavených suchu. Navíc kvalitativní i kvantitativní změny mezi genotypy v akumulaci dehydrinů ukazují na možné využití dehydrinů jako markerů suchovzdornosti i v mezidruhovém srovnání různých trav. V našem experimentu genotypy trav *B. media* a *A. odoratum* vykazovaly nejlepší přizpůsobení suchu, zatímco B. *erectus* vykazoval typické znaky pro plýtvače vodou (rychlý růst v kontrolních podmínkách, pomalý v suchu, nejnižší osmotický potenciál a nedetekovatelnou akumulaci dehydrinů).

Dedikace

Článek byl napsán díky finanční podpoře TA ČR: SS01020023.

Použitá literatura

GRIN Czech, 2021. Genetické zdroje rostlin v České republice (gzr.cz)

Holubec V., Vymyslický T., 2014. Sběry planých druhů, krajových odrůd a možnosti jejich využití ve šlechtění. Věd. příl. Čas. Úroda 12: 27-34.

Kosová K., Vítámvás P., Klíma M., Prášil I.T., 2019. Breeding drought-resistant crops: GxE interactios, proteomics and pQTLS. Journal of Experimental Botany 70 (10), 2605-2608.

Vítámvás P., Kosová K., Musilová J., Holková L., Mařík P., Smutná P., Klíma M., Prášil I.T., 2019. Relationship between dehydrin accumulation and winter survival in winter wheat and barley grown in the field. Frontiers in Plant Science 10, 7.

Vítámvás P., Prášil I.T., Vítámvás J., Klíma M., 2021. Relationship between WCS120 Protein Family Accumulation and Frost Tolerance in Wheat Cultivars Grown under Different Temperature Treatments. Plants, 10, 1114

Vymyslický T., Holubec V. 2017. Collecting of plant genetic resources in the Czech Republic. In: Conference proceedings „135 Years of Agricultural Science in Sadovo and 40 Years of the Institute of Plant Genetic Resources – Sadovo" 29.-30.5.2017, Plovdiv, Bulgaria, 34–40.

Kontaktní adresa:

Mgr. Pavel Vítámvás, Ph.D.
Výzkumný ústav rostlinné výroby v.v.i.
Drnovská 507
161 06 Praha
E-mail: vitamvas@vurv.cz

Mikrobiální aktivita erozně-akumulačních ploch černozemní oblasti

Microbial activity of eroded-accumulative parts of plots in chernozem´s area

Vlček V., Pospíšilová L.

Mendelova univerzita v Brně, ústav Agrochemie

Abstrakt

Práce hodnotí bazální a substrátem indukovanou respiraci na půdních typech vzniklých na erozně-akumulačních plochách v černozemní oblasti v Jihomoravském kraji. U obou variant byla průměrná bazální respirace nízká. Byl zjištěn jak nedostatek fyziologicky využitelného dusíku, tak i nízký obsah lehce rozložitelných organických látek na obou variantách pokusu (eroze, akumulace). Hodnoty vzájemného poměru využitelného uhlíku a dusíku jsou nicméně v průměru dobré díky vysoké stabilitě organických látek. U obou variant je tak pouze zčásti využívána reální schopnost mikroorganismů mineralizovat organické látky, které začnou být časem omezeně dostupné mikrobiálnímu rozkladu. Rozdíly byly statisticky průkazné pouze u bazální respirace (soubor eroze-akumulace); množství lehce rozložitelných organických látek (soubor jaro-podzim) a stability organických látek (soubory eroze-akumulace a jaro-podzim).
Klíčová slova: respirace, regozem, koluvizem

Abstract

The paper evaluates basal and substrate induced respiration of different soil types formed on eroded-accumulative plots in chernozem´s are in the South Moravian Region. Mean values of basal soil respiration were low. Lack of physiologically usable nitrogen and easily available organic matter in both variants (erosion and accumulation) was determined. However, the values of their ratio was good, which could be explain by high stability of organic substances. The potential of microorganisms to mineralize organic substances is not efficient in both variants, which may cause limitation of intensity of microbial decomposition over the time. The differences were statistically significant only for basal respiration (data-set erosion-accumulation); amount of easily degradable organic substances (data-set spring-autumn) and stability of organic substances (both data-sets).
Key words: respiration, regosols, coluvisol

Úvod

Půdní respirace poměrně úzce souvisí s výživou rostlin a úrodností půdy. Mineralizace organických sloučenin je provázena rozkladem substrátu na CO_2 a jednoduché anorganické sloučeniny, přičemž intenzita mineralizace závisí na množství a kvalitě organické hmoty, její struktuře (tj. přístupu kyslíku), půdní reakci, zrnitosti a mnohých dalších fyzikálních a chemických vlastnostech půdy (Steiner et al. 2007; Luo a Zhou 2006; Ward et al. 2017).

Bazální (základní) respiraci zpravidla měříme jako množství uvolněného oxidu uhličitého za nějaký čas, přičemž toto množství může charakterizovat aktivitu půdních mikroorganismů. Na straně jedné tak sice můžeme na vyšší množství uvolněného CO_2 při této respiraci nahlížet kladně, jako na pozitivní schopnost mikroorganismů znovu-zpřístupňovat vázané živiny. Na straně druhé, rychlá respirace může vést k rychlému vyčerpání organické hmoty a mineralizaci. Vysoké hodnoty uvolněného CO_2 tak mohou naznačovat stres (Luo a Zhou 2006). V této souvislosti se mluví rovněž o tzv. priming (aktivační) efektu, neboli nastartování (aktivaci) společenstva a to zpravidla vyššími vstupy organických látek nebo minerálních hnojiv, pouhým mechanickým zpracováním půdy nebo jejím vysoušením a zpětným ovlhčováním apod.

(Bastida F., et al. 2019). Mezi negativní důsledky pak paradoxně patří například poruchy v dostupnosti dusíku, fosforu a některých dalších živin (Kuzyakov a kol. 2000). Cílem práce bylo zhodnotit bazální a substrátem indukovanou respiraci, tj. odezvu mikrobiálního společenstva na přísun lehce rozložitelných organických látek ve formě glukózy a na přísun lehce dostupného dusíku ve formě síranu amonného. Sledování probíhalo na různých půdních typech vzniklých na erozně- akumulačních plochách v černozemní oblasti Jihomoravského kraje.

Materiál a metody

Lokalitu Bošovice tvoří půdní blok 4701 s celkovou výměrou 119,84 ha, při průměrné sklonitosti 6,65°. Dle LPIS je u tohoto pozemku uváděno 61,23 ha jako erozně neohrožených, 54,73 ha jako mírně ohrožených a 3,88 ha jako silně ohrožených. Podloží lokality je tvořeno převážně horninami ždánicko-hustopečského souvrství (ždánické pískovce a hustopečské slíny). Nižší polohy oblasti jsou překryty mocnými překryvy spraší a sprašových hlín. Lokalita náleží do klimatické oblasti T2 (teplá, mírně suchá) - nejbližší klimatologická stanice ve Slavkově u Brna (212 m n. m.) uvádí průměrnou roční teplotu vzduchu 8,8°C a průměr ročních srážek 544 mm (obojí za normálové období 1961–1990).

Půdní typ, klasifikovaný na kontrolních (ne-erodovaných) plochách je představen černozemí karbonátovou, antropickou, hlinitou, vytvořenou z eolického sedimentu spraš (dle WRB 2014/2015 klasifikováno jako Haplic Kastanozems (Loamic, Aric) až Haplic Chernozem Amphi-Siltic).

Erozní plochy byly klasifikovány jako regozem karbonátová, eubazická (RGce´) písčitohlinitá až hlinitá z eolického sedimentu spraš (dle WRB 2014/2015 jako Hypereutric Regosols (Loamic, Ochric) až Amphi-someric Kastanozem (Loamic)).

Akumulační plochy byly klasifikovány jako koluvizem karbonátová, oglejená, eubazická (KOcge´), ze středně těžkých substrátů až černozem karbonátová, akumulovaná, hlinitá (dle WRB 2014/2015 jako Hypereutric Calcaric Colluvic Regosols (Loamic) až Colluvic Regosols Loamic).

Vzorky byly odebírány z ornice (0.00–0.15 m) v dubnu a říjnu 2019, 2020 a 2021. Z každé varianty (eroze, akumulace) bylo v jeden termín odebráno 7 vzorků. Metodika bazální a substrátem indukované respirace je podrobně uvedena v Pospíšilová a kol. (2016).

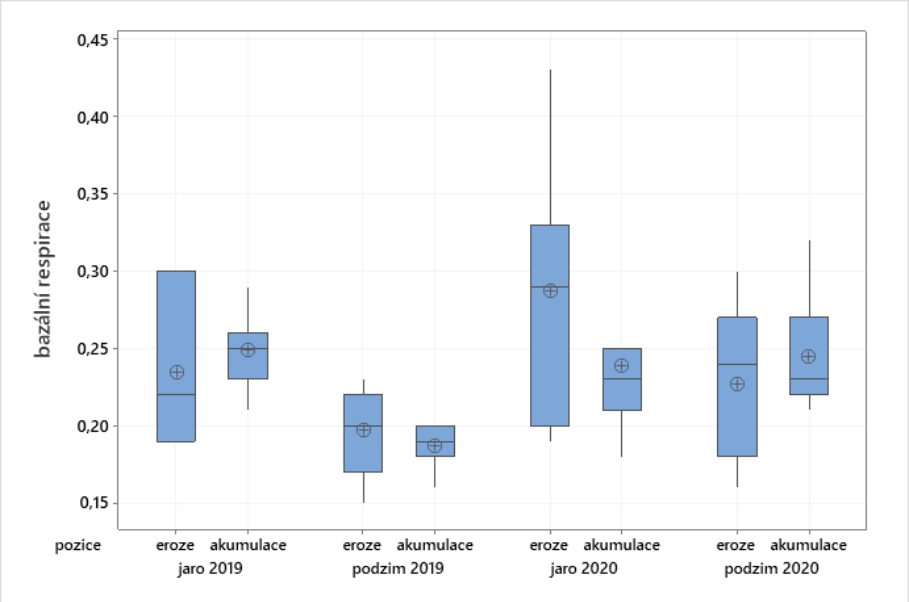
Výsledky a diskuze

Hodnoceny byly hodnoty pro: bazální respiraci (B), fyziologickou využitelnost dusíku (N/B) - zvýšené hodnoty znamenají sníženou přístupnost dusíku pro mikroorganismy, tj. tato hodnota nám udává, kolik mají k dispozici dusíku pěstované rostliny a kolik odčerpají mikroorganismy. Množství lehce rozložitelných organických látek (G/B) - podobně jako u fyziologické využitelnosti dusíku indikují vyšší hodnoty větší nedostatek lehce rozložitelných organických látek. Vzájemný poměr využitelného uhlíku a dusíku v půdě (G/N) - jako ideální poměr lze označit hodnotu 5. Stabilita organických látek (NG/B) - zvýšené hodnoty značí vyšší stabilitu, tento parametr popisuje, do jaké míry je u mikroorganismů využito jejich potenciální schopnosti mineralizovat organické látky k jejich skutečné mineralizaci (Foukalová, Brtnický, Pokorný 2007, Pospíšilová a kol. 2016).

Všechny hodnoty ***bazální respirace (B)*** lze označit jako nízké. Průměrně byla bazální respirace na erozních plochách 0,24±0,06 mg CO_2.100 g^{-1} za hodinu; na akumulačních plochách ve

stejném období 0,23±0,03 mg CO_2.100 g^{-1} za hodinu. Mezi hodnotami bazální respirace na plochách eroze a akumulace je za celé sledované období statisticky průkazný rozdíl, rozdíl mezi hodnotami v jarním a podzimním období však statisticky průkazný není (viz tabulka 1 a 2),

Obrázek 1: krabicový graf bazální respirace (v mg CO_2/100g za hodinu) u jednotlivých variant. Zobrazen je průměr, IQR a variační rozpětí hodnot. Za povšimnutí stojí velké variační rozpětí hodnot erozních ploch (eroze) vůči plochám akumulace (akumulace)



Tabulka 1: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl bazální respirace mezi erozními a akumulačními plochami

	eroze	*akumulace*
Stř. hodnota	0.236428571	0.229642857
Rozptyl	0.003808995	0.001640608
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	2.321696364	
P(F<=f) (1)	0.016272507	
F krit (1)	1.904822988	

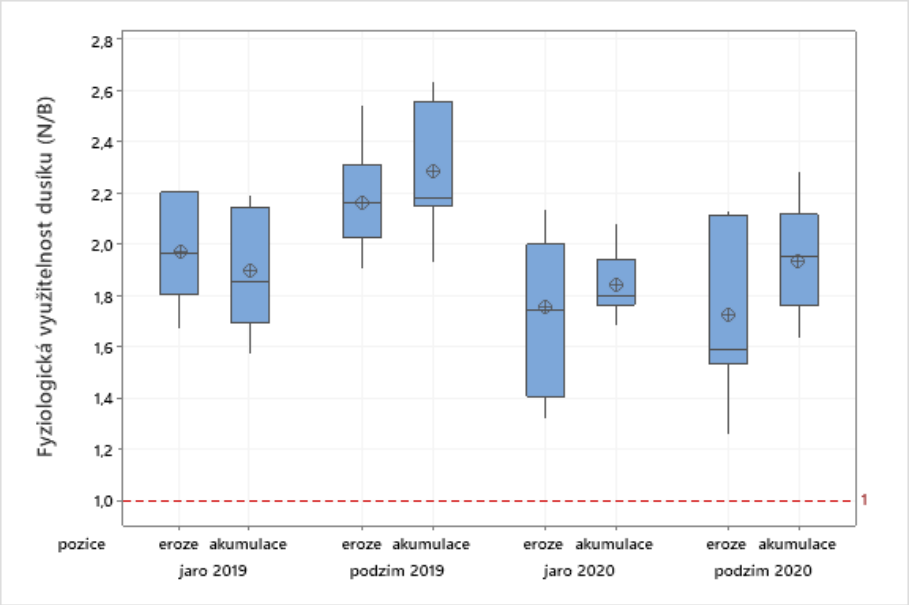
Tabulka 2: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl bazální respirace v jarním a podzimním období.

	jaro	*podzim*
Stř. hodnota	0.252142857	0.213928571
Rozptyl	0.003024868	0.001691402
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	1.788378822	
P(F<=f) (1)	0.068622573	
F krit (1)	1.904822988	

Fyziologická využitelnost dusíku (N/B) je poměrně vysoká 1,90±0,06 na erozních plochách a 1,99±0,05 na akumulačních plochách, v obou případech se jedná o nízkou využitelnost dusíku, na akumulačních plochách je tento nedostatek vyšší. Rozdíl však není statisticky průkazný. Jako statisticky neprůkazný vyšel rovněž rozdíl mezi výsledky období jaro-podzim (tabulka 3 a 4). Čím je hodnota N/B vyšší, tím klesá fyziologická využitelnost půdního dusíku. Pokud je

v půdě dostatek využitelného dusíku, jakýkoliv přídavek dusíku respiraci nezvyšuje a hodnota N/B je blízká 1 (viz Obrázek 2) (Pospíšilová 2016).

Obrázek 2: krabicový graf fyziologické využitelnosti dusíku (N/B) u jednotlivých variant
Zobrazen je průměr, IQR a variační rozpětí hodnot. Čím je hodnota N/B vyšší, tím více klesá fyziologická přístupnost půdního dusíku. Pokud je v půdě dostatek využitelného dusíku bývá hodnota N/B blízká 1 (červená referenční linka v grafu)



Tabulka 3: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl fyziologické využitelnosti dusíku (N/B) mezi erozními a akumulačními plochami

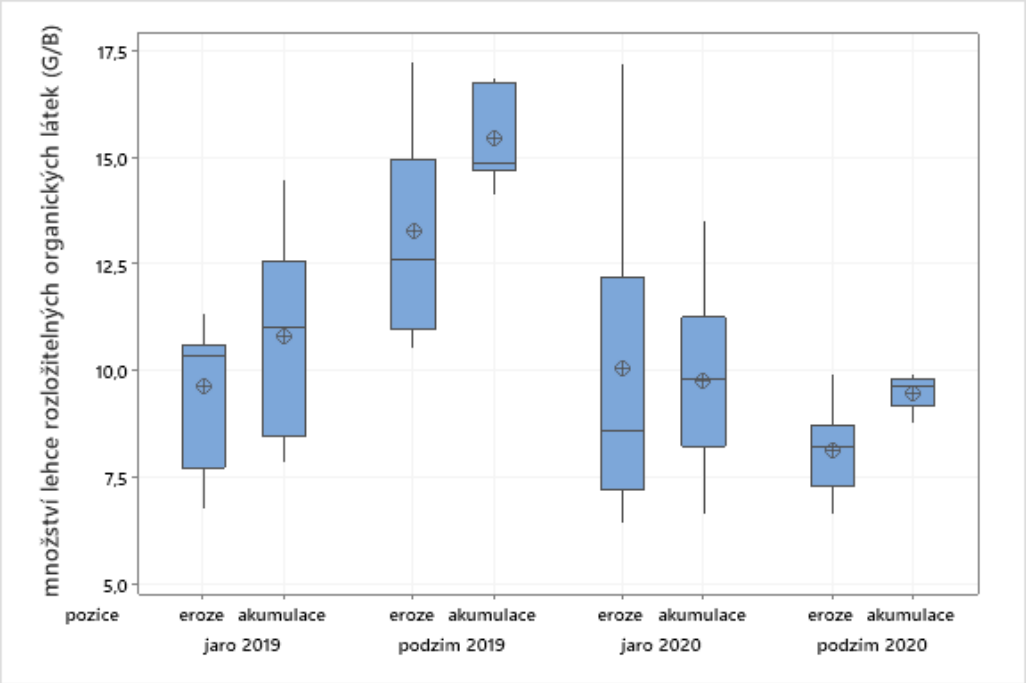
	eroze	*akumulace*
Stř. hodnota	1.901771945	1.988014002
Rozptyl	0.096068536	0.072963225
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	1.316670639	
P(F<=f) (1)	0.239764664	
F krit (1)	1.904822988	

Tabulka 4: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl fyziologické využitelnosti dusíku (N/B) v jarním a podzimním období

	jaro	*podzim*
Stř. hodnota	1.863636892	2.026149055
Rozptyl	0.052663672	0.106530491
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	0.494353038	
P(F<=f) (1)	0.036293505	
F krit (1)	0.524983164	

Obdobně se chovají i hodnoty ***množství lehce rozložitelných organických látek (G/B)***, které hodnotíme jako velmi vysoké (10,07±0,49) v jarním období; 11,58±0,62 v podzimním období respektive 10,28±0,57 na erozních plochách a 11,37±0,56 na akumulačních plochách. Na obou sledovaných plochách (eroze-akumulace) tedy chybí mikroorganismům jak dusík, tak lehce dostupná organická hmota (obrázek 3). Mezi jarními a podzimními výsledky je statisticky významný rozdíl, mezi výsledky ploch eroze – akumulace není (viz tabulka 5 a 6).

Obrázek 3: krabicový graf množství lehce rozložitelných organických látek (G/B), podobně jako u fyziologické využitelnosti dusíku (N/B), čím je hodnota vyšší, tím více klesá množství rozložitelnost organických látek. Zobrazen je průměr, IQR a variační rozpětí hodnot



Tabulka 5: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl množství lehce rozložitelných organických látek (G/B) mezi erozními a akumulačními plochami

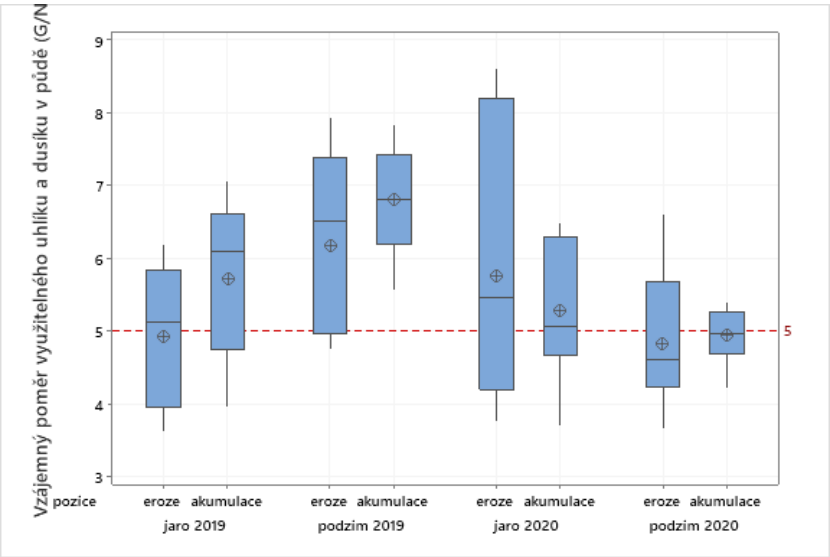
	eroze	*akumulace*
Stř. hodnota	10.27514787	11.37193686
Rozptyl	9.00178174	8.84654756
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	1.017547431	
P(F<=f) (1)	0.482142341	
F krit (1)	1.904822988	

Tabulka 6: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl množství lehce rozložitelných organických látek (G/B) v jarním a podzimním období

	jaro	*podzim*
Stř. hodnota	10.07158403	11.5755007
Rozptyl	6.671530286	10.62778161
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	0.62774439	
P(F<=f) (1)	0.116380486	
F krit (1)	0.524983164	

Vzájemný poměr využitelného uhlíku a dusíku v půdě (G/N) je v průměru 5,42±0,24 v jarním období; 5,69±0,23 v podzimním období respektive 5,43±0,26 na erozních plochách a 5,69±0,21 na akumulačních plochách (obrázek 3). Variační rozpětí je v jarním období a na akumulačních plochách menší. Test rozptylu není ani v jednom případě statisticky průkazný (tabulka 7 a 8). Jako ideální poměr lze označit hodnotu 5. Tento poměr lze najít i v půdní mikrobiální biomase (Šantrůčková a kol. 2018).

Obrázek 4: krabicový graf vzájemného poměru využitelného uhlíku a dusíku v půdě (G/N). Uhlík se využívá v mikrobiálním společenstvu vždy ve větším rozsahu než dusík, tzn. při vyrovnaném fyziologickém poměru obou těchto prvků je poměr G/N roven 5 (červená referenční linka). Při nižších hodnotách než 5, jsou půdní mikroorganismy lépe vyživovány organickými látkami než dusíkem, při vysokých hodnotách je tomu naopak (Foukalová, Brtnický, Pokorný 2007). Zobrazen je průměr, IQR a variační rozpětí hodnot



Tabulka 7: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl vzájemného poměru využitelného uhlíku a dusíku v půdě (G/N) mezi erozními a akumulačními plochami

	eroze	*akumulace*
Stř. hodnota	5.428136538	5.689470081
Rozptyl	1.920245804	1.217286938
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	1.577480004	
P(F<=f) (1)	0.121324403	
F krit (1)	1.904822988	

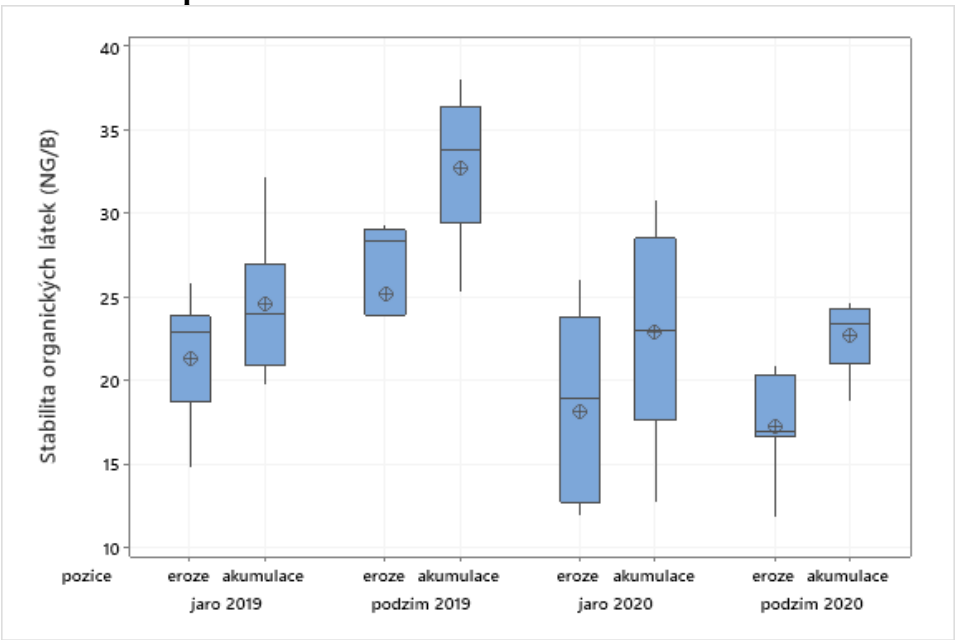
Tabulka 8: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl vzájemného poměru využitelného uhlíku a dusíku v půdě (G/N) v jarním a podzimním období

	jaro	*podzim*
Stř. hodnota	5.424199731	5.693406888
Rozptyl	1.673663346	1.461703402
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	1.14500886	
P(F<=f) (1)	0.363755574	
F krit (1)	1.904822988	

Stabilita organických látek (NG/B) je v průměru 21,70±1,01 v jarním období; 24,44±1,36 v podzimním období respektive 20,43±1,10 na erozních plochách a 25,71±1,13 na

akumulačních plochách (obrázek 5). Variační rozpětí je v jarním období a na erozních plochách menší. Rozdíly mezi erozními a akumulačními respektive mezi jarním a podzimním období jsou statisticky průkazné (tabulka 9 a 10).

Obrázek 5: krabicový graf stability organických látek (NG/B), zobrazen je průměr, IQR a variační rozpětí hodnot



Tabulka 9: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl stability organických látek (NG/B) mezi erozními a akumulačními plochami

	eroze	*akumulace*
Stř. hodnota	20.42833759	25.7088985
Rozptyl	33.81782436	36.00820327
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	0.939170003	
P(F<=f) (1)	0.43583543	
F krit (1)	0.524983164	

Tabulka 10: Dvouvýběrový F-test pro rozptyl stability organických látek (NG/B) v jarním a podzimním období

	jaro	*podzim*
Stř. hodnota	21.69992664	24.43730944
Rozptyl	28.70010882	51.69906048
Pozorování	28	28
Rozdíl	27	27
F	0.555137919	
P(F<=f) (1)	0.066244944	
F krit (1)	0.524983164	

Závěr

V práci byla hodnocena funkční odezva mikrobiálního společenstva na variantách eroze a akumulace na původně černozemní lokalitě Bošovice v průběhu jarního období roku 2019 a 2020 a podzimních období 2019 a 2020. Mezi variantami existují rozdíly, v některých případech statisticky průkazné. Lze konstatovat že:

- U všech variant je fyziologická využitelnost dusíku (N/B) vysoká, tj. existuje nižší přístupnost dusíku pro mikroorganismy, velmi pravděpodobně bude proto dusík limitujícím prvkem, který navíc na erozních plochách nebývá zachycen porostem z důvodu jeho horší vzcházivosti,
- u obou variant lze pozorovat, že hodnoty obsahu lehce rozložitelných organických látek (G/B) jsou velmi vysoké, tzn., že v agrosystému chybí jak dusík, tak lehce dostupná organická hmota pro mikroorganismy,
- i přes tato negativní zjištění, se v průměru pohybovaly hodnoty vzájemného poměru využitelného uhlíku a dusíku v půdě (G/N) okolo ideální hodnoty 5,
- stabilita organických látek (NG/B) je nejvyšší u varianty akumulace, tj. u mikroorganismů se pouze zčásti využívá jejich reálné schopnosti mineralizovat organické látky a ty začínají být málo dostupné vůči mikrobiálnímu rozkladu.

Literatura

Bastida F. et al., 2019: Global ecological predictors of the soil priming effect. Nature Communications vol. 10, Article number: 3481.

Foukalová J., Brtnický M., Pokorný E., 2007: Monitoring of Selected Biological Proprieties of Chernozems in South Moravia Region . Sledování vybraných biologických vlastností černozemí v oblasti jižní Moravy. Konference MendelNet´ 07 Agro.

Kuzyakov Y., Friedel J.K., Stahr K., 2000: Review of mechanisms and quantification of priming effects. Soil Biology & Biochemistry. 32 (11–12): 1485–1498. doi:10.1016/S0038-0717(00)00084-5.

Luo Y., Zhou X., 2006: Soil Respiration and the Environment. Academic Press, Elsevier. ISBN 13: 978-0-12-088782-8.

Pospíšilová L., Vlček V., Hybler V., Hábová M., Jandák J., 2016: Standardní analytické metody a kritéria hodnocení fyzikálních, agrochemických, biologických a hygienických parametrů půd. Mendelova univerzita v Brně. Folia Univ. Agric. et Silvic. Mendel. Brun. ISSN 1803-2109; IX, 2016,3.

Steiner Ch., Rodrigues de Arruda M., Teixeira W. G., Zech W., 2007: Soil respiration curves as soil fertility indicators in perennial central Amazonian plantations treated with charcoal, and mineral or organic fertilisers. Tropical Science, Vol. 47(4): 218–230.

Šantrůčková H., Kaštovská E., Bárta J., Miko L., Tajovský K., 2018: Ekologie půdy. České Budějovice, JČU 259 s., ISBN 978-80-7394695-1.

Ward D., Kirkman K., Hagenah N., Tsvuura Z., 2017: Soil respiration declines with increasing nitrogen fertilization and is not related to productivity in long-term grassland experiments. Soil Biology and Biochemistry, vol. 115: 415–422.

Poděkování

Práce vznikla s podporou projektu Ministerstva zemědělství České republiky ZEMĚ QK 1810233: Kvantifikace dopadu hospodaření na erozi, kvalitu půd a výnosy pěstovaných plodin s návrhem pěstebních technologií šetrných k životnímu prostředí.

Kontaktní adresa:

Ing. Vítězslav Vlček, Ph.D.
Mendelova univerzita v Brně, AF, ÚAPMV
Zemědělská 1, 613 00 Brno
e-mail: xvlcek1@mendelu.cz

Technologické postupy zvyšující koncentraci bílkovin v produktech odvozených z výlisků olejnin

Technological approches increasing protein concentration in products derived from oilseed cakes

Bárta J.[1], Bártová V. [1], Jarošová M. [1], Jarošová E. [1]

[1]Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta

Abstrakt

Příspěvek se zabývá hodnocením koncentrace bílkovin pomocí prosévání, alkalické extrakce a isoelektrické precipitace na vstupní mouce připravené z výlisků semen lnu (*Linum usitatissimum* L.) a ostropestřce mariánského (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.). Bylo zjištěno, že prosévání vzniklá velikostní frakce pod 250 μm má vyšší výtěžnost bílkovin oproti produktům mokrého procesu, a sice 53,5 % (len) resp. 69,3 % (ostropestřec mariánský) v relaci ke vstupní mouce. Nejvyšší koncentrace bílkovin byla nalezena v obou isoelektrických precipitátech, v případě lnu se jednalo 63,5 % a v případě ostropestřce o 79,0 %. Posloupné koncentrační kroky obecně mírně zvyšovaly obsah celkových polyfenolů (TPC). Několikanásobně vyšší TPC (až 5,9 x) byl nalezen u produktů připravených z výliskové mouky ostropestřce mariánského.

Klíčová slova: výliskové mouky, bílkoviny, len, ostropestřec mariánský

Abstract

The contribution deals with the evaluation of protein concentration by sieving, alkaline extraction and isoelectric precipitation on input flour prepared from flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) and milk thistle (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.) cakes. The size fraction below 250 μm (derived by sieving) was found to have a higher protein yield compared to wet process products, namely 53.5 % (flax) and 69.3% (milk thistle) in relation to input flour. The highest concentration of proteins was found in both isoelectric precipitates, in the case of flax it was 63.5% and in the case of milk thistle it was 79.0%. The successive concentration steps generally increased the total polyphenols content (TPC). Several times higher TPC (up to 5.9 times) was found in products prepared from milk thistle.

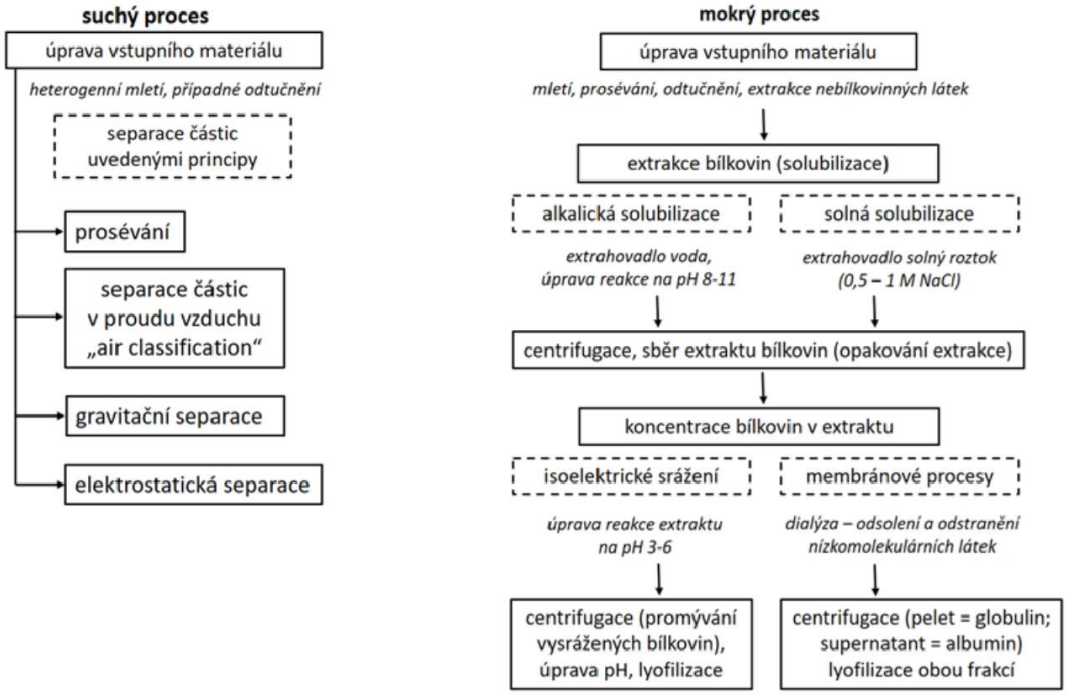
Keywords: oilseed cake meals, proteins, flaxseed, milk thistle

Úvod

Bílkoviny výlisků olejnin představují snadno dostupný zdroj kvalitních rostlinných bílkovin (Kotecka-Majchrzak et al., 2020). Narůstající populace lidí, ve vyspělých státech snaha harmonizovat a optimalizovat výživu lidí z pohledu zdravotních benefitů, redukce zatížení životního prostředí prostřednictvím efektivního využití přírodních zdrojů a odpadů ze zpracovatelského průmyslu jsou hlavní důvody proč uvažovat o vyšším uplatnění výlisků či extrahovaných šrotů ve výživě člověka a ve výrobě potravin. Semena resp. plody (nažky) olejnin mohou obsahovat 16 – 50 % bílkovin, majoritně jde o zásobní formy globulinů případně o vodorozpustné albuminy (Chéreau et al., 2016; Prandi et al., 2019; Kotecka-Majchrzak et al., 2020; Bárta et al., 2021).

Odstraněním oleje v průběhu lisování či extrakce se zvyšuje relativní zastoupení bílkovin ve výliscích či šrotech a může se tak pohybovat v rozpětí 20 - 60 % (podle druhu). Většina výliskových mouk, získaných pomletím výlisků (šrotů), je sama o sobě uplatnitelná v lidské

výživě či potravinářských aplikacích (Chéreau et al., 2016; Bárta et al., 2021). Pro některé potravinářské aplikace, např. specifické uplatnění funkčních vlastností bílkovin jako jsou pěnivost či emulgační schopnost, je ale zapotřebí vyšší obsah bílkovin (dusíkatých látek) a nižší zastoupení doprovodných látek v koncentrátu (Moure et al., 2006). Pro produkci koncentrátů bílkovin semenných mouk mohou být využity dva základní procesy – suchý a mokrý (Pelgrom, 2015; Chéreau et al., 2016). Suchý proces zahrnuje jednodušší technologické operace, je provozně levnější, ale obvykle se dosahuje nižších koncentrací bílkovin. Naopak mokrý proces je technologicky náročnější a nákladnější, lze však s ním dosáhnout vyšších hodnot koncentrování bílkovin (Bárta et al., 2021). Detaily jsou uvedeny v tabulce 1.
Cílem příspěvku bylo porovnat účinnost vybraných způsobů koncentrace bílkovin na modelových výliskových moukách lnu *(Linum usitatissimum*) a ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*).



Obr. 1: Procesy koncentrování bílkovin ze semenných mouk (výlisků) luskovin a olejnin [Upraveno podle autorů Murru, Calvo (2020), Pelgrom (2015) a Hadnađev et al. (2017)]. *Převzato z publikace Bárta a kol. (2021).*

Materiál a metody

Semenné výlisky ze zpracování semen olejného lnu a ostropestřce mariánského lisováním oleje za studena byly získány ze společnosti AGRO-EL spol. s r.o., Znojmo. Do dalšího zpracování byly odtučněné výlisky skladovány ve tmě při teplotě 4°C ve vakuovaných obalech. ***Výlisková mouka*** byla z obou druhů výlisků připravena pomletím výlisků na nožovém mlýnu Grindomix GM 200 (Retsch, Německo) po dobu 1 minuty a při 10 000 otáčkách/minutu.
Velikostní frakce mouky pod 250 µm (P250) byla získána jako propad vážkově prosévané výliskové mouky přes síto s oky 250 µm.
Alkalický extrakt byl připraven extrakcí bílkovin smícháním frakce P250 s vodou v poměru 1:6 (w/v); mícháním směsi po dobu 30 minut; následné úpravě reakce na pH 10 pomocí 2M

NaOH; opětovném mícháním směsi po dobu 30 minut; následné centrifugaci (4500 ot./min., 20°C, 10 minut) a zachycení extraktu (supernatantu); promytím peletu deionizovanou vodou (1 objemový díl) a následnou centrifugací (stejné podmínky jako výše) – 2x opakováno; spojením zachyceného extraktu a promyvů do jedné frakce, úprava reakce na pH 7 (2M HCl), zamrazení extraktu a vysušení pomocí lyofilizace (0,420 mbar, -50°C, 72 h).

Isoelektrický precipitát (sraženina) byl připraven srážením bílkovin v kyselém prostředí. První fáze přípravy je totožná s přípravou výše uvedeného alkalického extraktu, neprovádí se úprava reakce na pH 7, ale úprava reakce na hodnotu pH 4,5 (2M HCl). Následně byla provedena centrifugace (4500 ot./min., 20°C, 10 minut), byl odstraněn supernatant, bílkovinná sraženina (pelet) byla rozpuštěna v 1 objemovém dílu vody a zároveň byla upravena reakce směsi na pH 7. Zamrazením vzorku a následnou lyofilizací (0,420 mbar, -50°C, 48 h) byla získána finální podoba precipitátu.

Obsah bílkovin byl stanoven a vyjádřen jako dusíkaté látky pomocí přístroje Rapid N Cube (Elementar, Německo), který pracuje na principu modifikované Dumasovy metody (stanoven dusík a přepočet na N látky byl proveden pomocí koeficientu 6,25).

Hmotnostní výtěžek byl stanoven relativně v % (vztaženo k množství vstupní výliskové mouky) pomocí principu vážkové analýzy. S využitím znalosti obsahu dusíkatých látek byl pomocí principu vážkové analýzy relativně stanoven ***výtěžek bílkovin*** v % (vztaženo k množství dusíkatých látek ve vstupní výliskové mouce).

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

Všechny analýzy byly prováděny ve třech opakováních. Získaná data byla statisticky vyhodnocena pomocí programu STATISTICA CZ, verze 12 (StatSoft, Inc.).

Výsledky

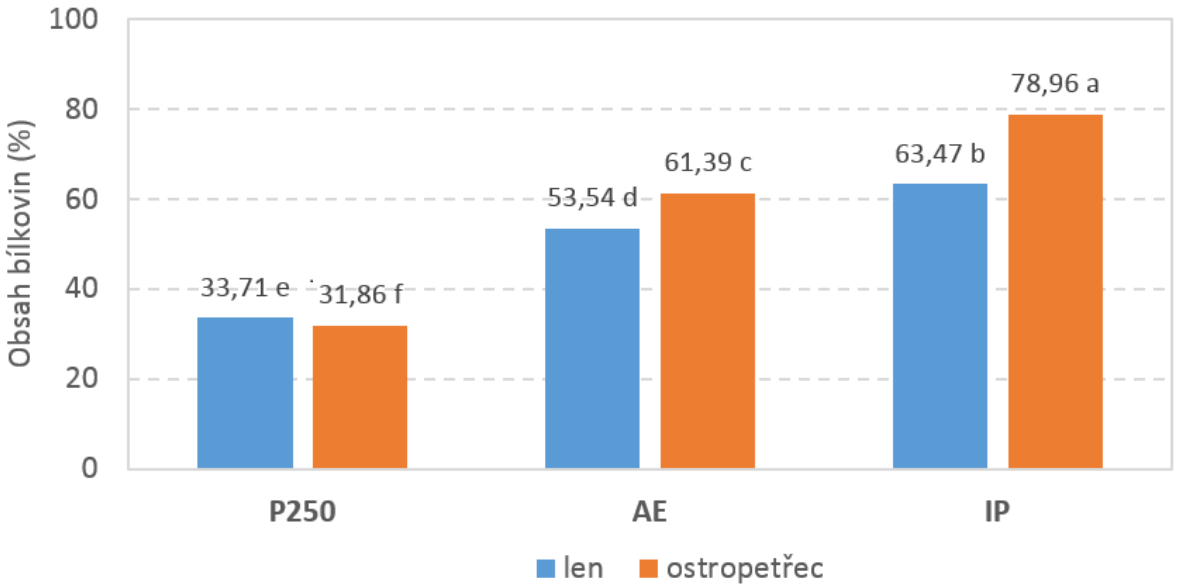
Zjištěné hodnoty hmotnostních výtěžků a výtěžků bílkovin u koncentračních produktů návazně provedených technologických koncentračních postupů jsou shrnuty v tabulce 1. Podíl velikostní frakce P250 ve vstupní výliskové mouce připravené z obou olejnatých druhů se blížil 50 %. Výtěžek bílkovin ve vztahu k vstupní výliskové mouce byl u frakce P250 vyšší u ostropestřce (téměř 70 %) než u lnu. Hmotnostní výtěžnost koncentračních produktů i výtěžnost bílkovin klesala ve směru posloupnosti koncentračních operací.

Tabulka 1: Hmotnostní výtěžek a výtěžek bílkovin u koncentračních produktů v relaci k vstupní výliskové mouce lnu a ostropestřce mariánského (vyjádřeno v %)

druh	parametr	koncentrační produkt		
		frakce pod 250 µm (P250)	alkalický extrakt (AE)	isoelektrický precipitát (IP)
len	hmotnostní výtěžek	45,15 B	16,75 C	4,75 E
	výtěžek bílkovin	53,49 b	31,53 d	10,6 e
ostropestřec	hmotnostní výtěžek	49,06 A	13,11 D	2,03 F
	výtěžek bílkovin	69,31 a	35,7 c	7,1 e

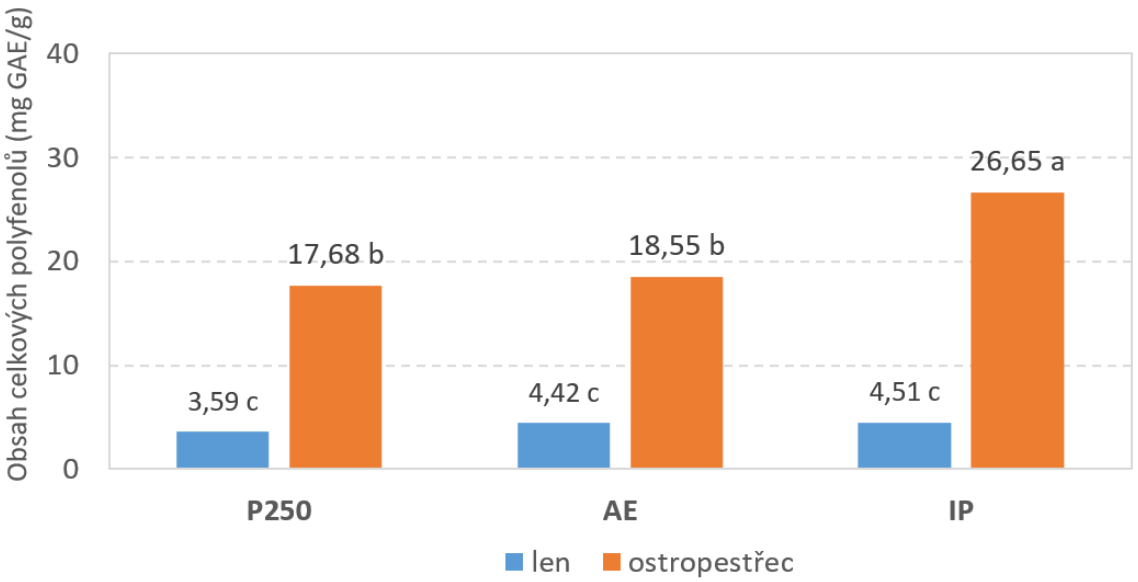
Rozdílná písmena (velká pro parametr hmotnostní výtěžek, malá pro parametr výtěžek bílkovin) u hodnot znamenají statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti P<0,05 (Fisher LSD test).

Obr. 2: Obsah bílkovin (N x 6,25) v % v produktech odvozených z výliskových mouk lnu a ostropestřce mariánského



Rozdílná malá písmena u hodnot znamenají statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti P<0,05 (Fisher LSD test).
Pozn.: P250 – velikostní frakce pod 250 µm; AE – alkalický extrakt, IP – isoelektrický precipitát

Obr. 3: Obsah celkových polyfenolů (mg GAE/g) v produktech odvozených z výliskových mouk lnu a ostropestřce mariánského



Rozdílná malá písmena u hodnot znamenají statisticky průkazný rozdíl na hladině významnosti P<0,05 (Fisher LSD test).
Pozn.: P250 – velikostní frakce pod 250 μm; AE – alkalický extrakt, IP – isoelektrický precipitát; GAE – ekvivalenty gallové kyseliny

Obsah bílkovin se u obou druhových materiálů zvyšoval ve směru posloupnosti koncentračních operací (Obr. 2). Nejvyšší zastoupení bílkovin bylo nalezeno v isoelektrickém precipitátu ostropestřce (téměř 79 %). Z prezentovaných dat je patrný vyšší koncentrační efekt alkalické extrakce a isoelektrické precipitace u ostropestřce než u lnu. Co se týče zastoupení celkových polyfenolů v hodnocených koncentračních produktech (Obr. 3), tak jsou zcela zřejmé několikanásobně vyšší hladiny celkových polyfenolů u produktů připravených z ostropestřce. U ostropestřce měl isoelektrický precipitát statisticky průkazně vyšší obsah celkových polyfenolů než frakce P250 a alkalický extrakt. U lněných produktů byly rozdíly mezi koncentračními produkty statisticky neprůkazné.

Diskuze

Prezentované výsledky ukazují celkem zřetelně koncentrační účinnost hodnocených technologických postupů na modelových materiálech dvou olejnatých druhů lnu a ostropestřce. V případech kdy postačuje obsah bílkovin na úrovni kolem 30 - 40 % v získaném produktu, tak se jeví prosévání jako jednoduchá snadno proveditelná operace vedoucí k výraznému zvýšení obsahu bílkovin. To se výrazněji ukázalo u ostropestřce, kdy obsah bílkovin ve vstupní výliskové mouce byl 22,56 % a prosévání se u velikostní frakce pod 250 μm zvýšil na 31,86 %, zatímco u lnu se jednalo v obdobném případě o nižší navýšení obsahu bílkovin z 28,46 % ve výliskové mouce na 33,71 %. Významnou výhodou prosévání je skutečnost, že se jedná o „suchý proces“ a že materiál není „namočen“ a není potřeba jej sušit, což je u „mokrého procesu“ (zahrnující v této práci prezentovanou samotnou alkalickou extrakci a kombinaci alkalické extrakce s isoelektrickou precipitací) nezbytné, jak potvrzují literární informace (Pelgorm, 2015; Bárta et al. 2021).
Rozdílné výsledky mezi materiály obou olejnatých druhů pramení nejen z odlišného celkového obsahu dusíkatých látek, ale taktéž z jejich rozdílné stavby. Lněné semeno je pravé semeno, zatímco u ostropestřce se zpracovává na olej celý plod - nažka. Nažka má slupku (oplodí), která obsahuje větší zastoupení vlákniny a nižší zastoupení dusíkatých látek. Rozdílná je i tvrdší struktura, takže při mletí dochází k tvorbě rozdílně velkých fragmentů (oplodí tvoří větší fragmenty s nižším obsahem dusíkatých látek), které lze následným prosetím (nebo např. větrným tříděním) vzájemně odseparovat tak, že vzniká jemnější frakce s vyšším obsahem bílkovin a hrubší frakce s která má naopak vyšší obsah vlákniny, avšak nižší obsah bílkovin. Obdobné chování lze předpokládat i u dalších olejnatých druhů, u nichž je zpracovávána celá (neloupaná) nažka jako jsou např. slunečnice, světlice či konopí (Murru, Calvo, 2020; Bárta et al., 2021).
Pokud je potřeba vyššího obsahu bílkovin ve finálním produktu, pak se zřejmě nelze vyhnout technologickým postupům, které jsou zahrnuty v „mokrém“ procesu. Jak uvádí řada autorů (Rodrigues et al., 2012; Chéreau et al., 2016; Hadnađev et al., 2017), nejběžnější je kombinace alkalické extrakce a isoelektrické precipitace. Při samotné alkalické extrakci dochází k převodu většiny bílkovin do rozpustného stavu a zároveň k oddělení nerozpustných složek (pomocí centrifugace). Nedochází však k oddělení většiny nebílkovinných rozpustných látek. To by měla řešit navazující isoelektrická precipitace, při které dochází k úpravě pH na hodnotu, která

odpovídá hodnotám isoelektrických bodů majoritní globulinové frakce bílkovin a v této oblasti (pH < 7) dochází k vysrážení (precipitaci) takovýchto bílkovin.
Z prezentovaných výsledků obou druhových materiálů je patrné, že pokud je dostačující obsah bílkovin na úrovni 50 – 60 % může být za dostačující techniku považována alkalická extrakce navazující na efekt předchozího prosévání a nemusí být prováděno srážení bílkovin. Lze uvažovat, že v rámci zpracování výlisků olejnin na koncentráty bílkovin budou vznikat různé poměry frakcí, které budou obohacené o odlišné skupiny látek. Kromě bílkovin se bude jednat o frakce obohacené vlákninou a polyfenoly (Ancuta, Sonia, 2020). Polyfenoly jsou nositeli antioxidační aktivity (Lachman et al., 2006), která je pozitivně hodnocena, avšak na druhé straně mohou polyfenoly interagovat s bílkovinami v průběhu některých technologických operací (zejména za alkalických podmínek) a mohou tak např. zhoršovat výslednou barvu (tmavé odstíny) produkovaných bílkovinných koncentrátů (Salgado et al., 2011). Tyto problémy ještě nejsou zcela vyřešeny a je zapotřebí se jim věnovat v dalším výzkumu.

Závěr

Smyslem příspěvku bylo modelově demonstrovat rozdílný charakter použitého vstupního materiálu (semeno versus nažka) a taktéž rozdíly provázející „suché“ a „mokré“ technologické postupy koncentrace bílkovin ze semenných/plodových materiálů. Potvrdila se rozdílná efektivita technologických operací v interakci se zpracovávaným druhovým materiálem. V případě situace, kdy postačuje koncentrace bílkovin v produktu na úrovni 30 – 60 %, mohou být technologické operace jako prosévání a alkalická extrakce dostatečným prostředkem k zajištění uvedené hladiny obsahu bílkovin.

Poděkování

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

Literatura

Ancuta P., Sonia A. (2020): Oil Press-Cakes and Meals Valorization through Circular Economy Approaches: A Review. Applied Sciences 10: 7432. doi:10.3390/app10217432.

Bárta J., Bártová V., Jarošová M., Švajner J. (2021): Bílkoviny výlisků olejnin, jejich izolace a možnosti uplatnění. Chemické Listy, 115: 472-480.

Chéreau D., Videcoq P., Ruffieux C., Pichon L., Motte J.-C., Belaid S., Ventureira J. Lopez M. (2016): Combination of existing and alternative technologies to promote oilseeds and pulses proteins in food applications. Oilseed & fats Crops and Lipids 23: D406.

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.

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, First published: 06 July 202, https://doi.org/10.1002/jsfa.10643.

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.

Moure A., Sineiro J., Domínguez H., Parajo J. C. (2006): Functionality of oilseed protein products: A review. Food Research International 39: 945–963.

Murru M., Calvo C. L. (2020): Sunflower protein enrichment. Methods and potential applications. Oilseeds and fats, Crops and Lipids, 27: 17.

Pelgrom P. J. M. (2015): Dry fractionation for sustainable production of plant protein concentrates. PhD thesis. Wageningen University, Wageningen, 202 p. (ISBN 978 94 6257 235 5)

Prandi B., Faccini A., Lambertini F., Bencivenni M., Jorba M., Van Droogenbroek B., Bruggeman G., Schöber J., Petrusan J., Elst K., Sforza S. (2019): Food wastes from agrifood industry as possible sources of proteins: A detailed molecular view on the composition of the nitrogen fraction, amino acid profile and racemisation degree of 39 food waste streams. Food Chemistry 286: 567-575.

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.

Salgado P. R., Molina Ortiz S. E., Petruccelli S., Mauri A. N. (2011): Sunflower protein concentrates and isolates prepared from oil cakes have high water solubility and antioxidant capacity. Journal of the American Oil Chemists' Society 88: 351–360.

Kontaktní adresa:

doc. Ing. Jan Bárta, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta
Katedra rostlinné výroby
Na Sádkách 1780
370 05 České Budějovice
Telefon: +420 387772922
E-mail: barta@zf.jcu.cz

Analýza nutričně významných látek u vybraných genotypů ředkve seté

Analysis of nutritionally important compounds in selected genotypes of radish

Béres T.[1], Sestrienková A.M.[1], Krchňák M.[1], Novotná K.[1], Kopecký P.[2]

[1]Univerzita Palackého v Olomouci
[2]Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha

Abstrakt
V kontrolovaných podmínkách bylo pěstováno 16 genotypů ředkve seté (*Raphanus sativus* L.) z kolekce firmy Moravoseed CZ a.s. Následná chemická analýza byla zaměřena na obsah nutričně významných látek za fyziologických podmínek, ale i za podmínek abiotického a biotického stresu. Metodami kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní detekcí a odpařovací detekcí rozptylu světla byly stanoveny obsahy glukosinolátů a cukrů. Spektrofotometrickými metodami pak obsah celkových antokyanů, fenolů, flavonoidů a antioxidační kapacita. Výsledky této pilotní studie budou pro jednotlivé genotypy v následujícím období rozšířené o ty z dalších pěstebních cyklů.
Klíčová slova: Ředkev setá, glukosinoláty, cukry, antokyany, stres

Abstract
Sixteen genotypes of radish (*Raphanus sativus* L.) from the collection of Moravoseed CZ a.s. were cultivated in controlled environment. Subsequent chemical analysis was focused on nutritionally important compounds. The levels of these compounds are compared in plants grown under physiological conditions with those grown under biotic and abiotic stress. Glucosinolates and sugars are analysed via liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometric and evaporative light scattering detectors, respectively. Total anthocyanins, phenolic compounds, flavonoids and antioxidant capacity are determined spectrophotometrically. The results of this pilot study will be extended upon additional growth cycles.
Keywords: Radish, glucosinolates, sugars, anthocyanins, stress

Úvod

Ředkev setá je celosvětově známá kořenová zelenina z čeledi Brasssicaceae. V našich podmínkách se konzumují zejména bulvy; ty nabývají kulovitého, oválného až protáhlého tvaru (Kopecký et al. 2020). Ke konzumaci ředkviček vybízejí jednak jejich senzorické vlastnosti, jež zahrnují ostrou, štiplavou, ale zároveň sladkou chuť a též široké spektrum biologicky účinných přírodních látek s pozitivními účinky na lidské zdraví. V lidovém léčitelství se extrakty z nadzemních i podzemních částí ředkve používali k léčení žaludečních potíží, infekcí močových cest, zánětu jater, srdečných chorob a také vředů. Studie na různých modelech přinášejí výsledky naznačující antimikrobiální, protinádorové, antioxidační a dokonce anxiolytické (tedy úzkost potlačující) účinky ředkví. Jednotlivé složky ředkve se v současnosti zkoumají i v souvislosti s prevencí rozvoje civilizačních onemocnění jakými jsou diabetes, hypertenze či chronický zánět (shrnuto v Manivannan et al. 2019). Početné epidemiologické studie ukazují na souvislost mezi konzumací košťálové zeleniny a sníženým výskytem nádorů střev a konečníku (shrnuto ve Verkerk et al. 2009).
Obsahové látky odpovědné za biologické účinky jsou kromě jiných glukosinoláty a fenolové látky, zahrnující i antokyany. Glukosinoláty jsou z chemického hlediska β-thioglukosidy N-hydroxysulfáty a jejich biosyntéza (zejména postranního řetězce, jež významně ovlivňuje

fyzikálně-chemické, ale i biologické vlastnosti) vychází z několika aminokyselin (methionin, tryptofan, tyrozin, fenylalanin). Biologickou aktivitu vykazují zejména produkty reakce katalyzované enzymem myrozinázou, která štepí glukosinoláty m.j. na isotiokyanáty, indoly či nitrily. K jejich tvorbě dochází mechanickým poškozením pletiva. Různé košťáloviny se odlišují glukosinolátovým profilem. Ředkve se vyznačují vysokým podílem glukorafasatinu a navíc mají v porovnání s brokolicí vyšší účinnost v konverzi glukosinolátu na izotiokyanáty. Kromě toho je v porovnání s brokolicí nenáročná na pěstování (např. přímý výsev, krátká vegetační doba, malé nároky na tepelný a světelný požitek atd.; Kopta a Pokluda, 2013). Rafasatin, produkt hydrolýzy, má přímý protinádorový účinek, který je ještě zesílen přítomností jiných přírodních látek. Obsah glukosinolátů je částečně ovlivněn vývojovým stádiem a též environmentálními faktory, jakými jsou klima, či pěstební podmínky. Profil glukosinolátů a jejich obsah je do velké míry dán geneticky, i proto má místo mezi cíli šlechtění. (Yi et al. 2016).

Antokyany jsou podskupinou flavonoidů a ty patří mezi fenolové látky. Bulvám ředkví dávají charakteristickou barvu. Z pohledu lidské výživy představují důležité antioxidanty, jež jsou úzce spjaté s prevencí chronických onemocnění kardiovaskulárního systému či nádorových onemocnění (Benvenuti et al. 2016).

Důležitým parametrem kvality ředkví ovlivňujících jejich chuť a výživovou hodnotu je obsah jednoduchých cukrů (zejména glukózy, fruktózy a sacharózy).

Cílem pilotní studie bylo porovnání odrůd ředkví z kolekce firmy Moravoseed z pohledu obsahu nutričně významných látek (glukosinolátů, fenolových látek a malých cukrů) ve fyziologických podmínkách ale také za biotického (napadení patogenem *Plasmodiophora brassicae*) či abiotického (teplotního) stresu.

Materiál a metody

Osivo jednotlivých genotypů bylo pro pokusy v podmínkách abiotického a biotického stresu vyseto do agroperlitu (Profi-Grow, Česká republika). Ředkve byly zasety do sadbovačů o rozměrech 3 x 3 cm. Naklíčené rostliny byly pravidelně zalévány roztokem hnojiva Kristalon Start (AGRO CS, Česká republika) v koncentraci 1 $g.l^{-1}$ vody tak, aby byla dosažena stabilní hladina zálivky o výšce 1 cm. Inkubace probíhala v kontrolovaných podmínkách fytotronu (PSI Instruments, Česká republika) při teplotě 23 °C den/15 °C noc, fotoperiodě 16 h den/8 hod noc a intenzitě osvitu 82 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$.

Pro pokusy s biotickým stresem byli ředkve ihned po zasetí zality inokulem (tj. suspenzí trvalých spor *P. brassicae*), připraveným z nádorů odebraných z rostlin na infekčním poli se směsnou populací patogenu (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. Pro pokusy s abiotickým stresem (teplem) byla teplota zvýšena na 35 °C po dobu 72 hodin 45 dní po výsevu. Kontrolní rostliny byly pěstované v zahradnickém substrátu (Zahradnický substrát A pro výsev, Rašelina a.s., Česká republika) ve výsevních miskách o rozměru 300 x 400 mm.

Z každého kultivaru kontrolních i stresovaných ředkví bylo po dosažení konzumní zralosti náhodně vybraných 10 rostlin. Bulvy byly oddělené od zbytku rostliny a případných nádorů, očistěné, nakrájené s ohledem na co nejmenší mechanické poškození a lyofilizované po dobu 96 hodin při tlaku 0,31-0,01 mbar. Suchý materiál byl ručně rozetřen v třecí misce a následně homogenizován oscilačním kulovým mlýnem po dobu 3 min při frekvenci vibrací 27 Hz a uskladněn v 15 a 50 ml kyvetách utěsněných parafilmem.

Obsah glukosinolátů byl stanoven modifikovanou metodou LC-MS převzatou od Glauser et al. (2012). Obsah sacharidů byl stanoven modifikovanou metodou HPLC-ELSD převzatou od O'Donoghue et al. (2004). Celkový obsah antokyanů byl stanoven pH diferenční metodou dle

Lee et al. (2005), fenolových látek Folin-Ciocalteuovou spektrofotometrickou metodou dle Waterhouse (2003) a flavonoidů dle metody Woisky a Salatino (1998).

Výsledky

V genotypech ředkve seté firmy Moravoseed, jež byly infikovány Plasmodiophorou, bylo metodou ultravysoceúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní detekcí (UHPLC-MS/MS) identifikováno 7 glukosinolátů. Jsou to glukorafanin, glukorafenin, glukoalysin, glukoerucin, glukorafasatin, glukobrasicin a 4-methoxy glukobrasicin. Tab. 1 znázorňuje profil identifikovaných glukosinolátů.

Tab. 1: Profil glukosinolátů identifikovaných metodou UHPLC-MS/MS v genotypech ředkví firmy Moravoseed vystavených biotickému stresu; + glukosinolát identifikován; - glukosinolát neidentifikován.

	Gluko-rafanin (GRA)	Gluko-rafenin (GRE)	Gluko-alysin (GAS)	Gluko-erucin (GER)	Gluko-rafasatin (GRH)	Gluko-brasicin (GBC)	4-methoxy Gluko-brasicin (4MGBS)
Genotyp							
Faraon	-	+	-	-	+	+	+
Ester	-	+	-	-	+	-	+
Ria	-	+	-	-	+	+	+
Věra	-	+	-	+	+	+	+
Stela	-	+	-	+	+	+	+
Lada	+	+	+	-	+	+	+
Lidka	-	+	-	-	+	+	-
Slovana	+	+	+	+	+	+	+
Rampouch	+	+	-	+	+	+	+
Poloneza	+	+	-	-	+	+	+
Albena	+	+	+	+	+	+	+
SU VB	+	+	-	+	+	+	+
Viola	+	+	-	-	+	-	+
Zlata	-	-	-	+	+	+	+
Diana	+	+	+	+	+	+	+
Felicia	+	+	+	-	+	+	+

Nejbohatší profil glukosinolátů po napadení Plasmodiophorou vykazovali odrůdy Slovana, Albena a Diana. Naopak, odrůdami s úzkým spektrem glukosinolátů za podmínek biotického stresu se jeví být Ester a Lidka. Kvantitativní analýza kontrolních rostlin ukázala, že nejvíc zastoupeným glukosinolátem v ředkvičkách je glukorafasatin (Tab. 2). Jeho obsah se pohyboval v rozmezí 332 až 40874 nmol.g^{-1} suché hmoty. Nejvyšší koncentrace byla zaznamenána v genotypech Felicia a Faraon. Nejnižší naopak v genotypu Poloneza (Tab. 2). Co se týče změn obsahu glukosinolátů vlivem biotického či abiotického stresu, nelze z výsledků pilotního experimentu vyvodit jednoznačné trendy směrem k poklesu ani nárůstu hladin.

Nutriční hodnotu a senzorický profil do velké míry ovlivňuje přítomnost malých sacharidů. Hladina sacharózy v bulvách ředkví byla relativně nízká. Obsah vyšší než 10 mg.g^{-1} suché hmoty byl zaznamenán pouze pro odrůdy Zlata a Ester. Nejvyšší obsah glukózy (53 mg.g^{-1})

vykazovaly odrůdy Zlata a Slovana. Co se týče obsahu fruktózy, hodnot přes 30 $mg.g^{-1}$ dosáhly odrůdy Viola, Slovana a Lada.

Tab. 2.: Kvantitativní zastoupení glukorafasatinu v jednotlivých kontrolních genotypech ředkví firmy Moravoseed. Vyjádřeno v $nmol.g^{-1}$ suché hmoty; n = 3.

Genotyp	Obsah glukorafasatinu (GRH)	Celkový obsah GLS
Faraon	37650,57± 318,67	40439,60
Ester	795,41 ± 18,63	795,41
Ria	790,51 ± 34,86	790,51
Věra	1645,97 ± 60,56	1847,31
Stela	4562,33 ± 62,77	5461,65
Lada	1249,98 ± 42,95	1249,98
Lidka	4230,64 ± 30,42	4891,29
Slovana	13244,87 ± 199,09	14703,59
Rampouch	540,17 ± 24,00	540,17
Poloneza	332,49 ± 6,21	332,49
Albena	5015,76 ± 56,82	5329,68
SU VB	27104,10 ± 284,30	28366,81
Viola	18328,21 ± 168,34	19100,57
Zlata	20160,76 ± 232,19	20973,94
Diana	14647,19 ± 111,47	17805,30
Felicia	40874,11 ± 557,48	43579,80

Genotypy s nejvyšším obsahem celkových antokyanů (TAC – total antocyanin content) byly Faraon a Stela. Většina genotypů reagovala na stres teplem zvýšením hladiny antokyanů (Graf 1). Celkový obsah fenolů byl vysoký u genotypů Ria, Věra, Poloneza a Felicia. Obecným trendem reakce většiny genotypů na teplotní a biotický stres bylo zvýšení hladin fenolových látek. Celkový obsah flavonoidů vyjádřen ekvivalenty kvercetinu byl shledán výrazný v případě genotypů Faraon a Felicia. Celkový obsah flavonoidů, podobně jako celkový obsah antokyanů a fenolových látek, vykazoval vyšší hodnoty v případě rostlin stresovaných teplem.

Diskuze

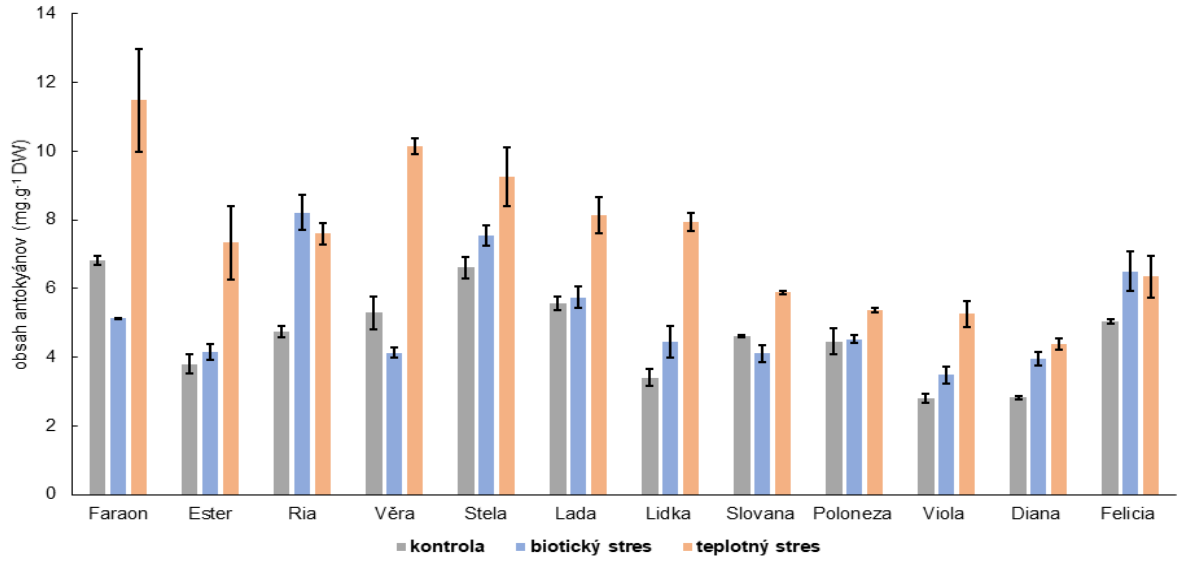
Chemickým profilováním, byla napříč bioticky stresovanými genotypy zjištěna přítomnost sedmi glukosinolátů. Publikace Yi *et al*. (2016) a Kim *et al*. (2013) uvádí identifikaci 12 glukosinolátů. Rozdíl je pravděpodobně dán odlišností zkoumaných genotypů, fyziologického stavu, ale i použitím metody LC-MS pro přímou detekci, na rozdíl od metody nepřímé, založené na enzymatickém štěpení glukosinolátů a následném stanovení metodou HPLC-UV.

Kvantifikace kontrolních rostlin potvrdila dominantní zastoupení glukorafasatinu, což je v souladu s uvedenými publikacemi. Práce Yi *et al*. (2016) uvádí obsahy tohoto významného glukosinolátu o cca polovinu nižší v porovnání s našimi výsledky, což může být vysvětleno odlišnostmi genotypů, kultivačních podmínek či metodou stanovení. Mezi jednotlivými genotypy byly shledány výrazné rozdíly v obsahu glukorafasatinu. Hladiny se pohybují v řádu stovek až desetitisíců $nmol.g^{-1}$ suché hmoty. Publikace Yi *et al*. (2016) takhle široký interval hodnot rovněž připouští.

Celkový obsah antokyanů je v souladu s literaturou Nutriční hodnotu a senzorický profil do velké míry ovlivňuje přítomnost malých sacharidů. Hladina sacharózy v bulvách ředkví byla

relativně nízká. Obsah vyšší než 10 mg.g^{-1} suché hmoty byl zaznamenán pouze pro odrůdy Zlata a Ester. Nejvyšší obsah glukózy (53 mg.g^{-1}) vykazovaly odrůdy Zlata a Slovana. Co se týče obsahu fruktózy, hodnot přes 30 mg.g^{-1} dosáhly odrůdy Viola, Slovana a Lada., kde autoři uvádí hodnoty v jednotkách až desítkách mg.g^{-1} suché hmoty ekvivalentů pelargonidin-3-glukosidu, resp. cyanidin-3-glukosidu. Obsah celkových fenolových látek rovněž koresponduje s údaji z literatury (Singh et al. 2017).

Graf 1.: Celkový obsah antokyanů v kontrolních a stresovaných genotypech; TAC genotypů Faraon-Poloneza byl vyjádřen v mg.g^{-1} suché hmoty ekvivalentu pelargonidin-3-glukosidu, Viola-Felicia ekvivalentu cyanidin-3-glukosidu; n = 3



Závěr

Cílem této práce bylo srovnat genotypy ředkve seté z kolekce firmy Moravoseed z pohledu obsahu nutričně významných látek ze skupiny glukosinolátů, sacharidů a fenolových látek. Rozdíly mezi genotypy byly pozorovány jak ve fyziologických podmínkách, tak i za podmínek biotického a abiotického stresu. Jedná se o pilotní experiment a po doplnění biologických opakování a statistickém vyhodnocení by data z chemické analýzy mohla přispět k popisu jednotlivých genotypů a být brána v potaz při selekci do šlechtitelského programu.

Literatura

Benvenuti, S., Bortolotti, E., Maggini, R., 2016. Antioxidant power, anthocyanin content and organoleptic performance of edible flowers. Scientia Horticulturae, 199: 170–177.

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.

Glauser, G., Schweizer, F., Turlings T. C. J., Reymond, P., (2012). Rapid profiling of intact glucosinolates in Arabidopsis leaves by UHPLC-QTOFMS using a charged surface hybrid column. Phytochemical analysis, 23: 520-528.

Jiang, W., Zhou, X., 2019. Hydrolysis of radish anthocyanins to enhance the antioxidant and antiproliferative capacities. Food Chemistry, 294: 477–485.

Kim, S. J., Uddin, M. R., Park, S. U., 2013. Glucosinolate accumulation in three important radish (*Raphanus sativus*) cultivars. Australian Journal of Crop Science, 7: 1843–1847.

Kopecký, P., Hýbl, M., Petrželová, I., Duchoslav, M., 2020. Odolnost vybraných genotypů ředkvičky vůči nádorovitosti kořenů brukvovitých. Úroda, 12: 93–98.

Kopta, T., Pokluda, R., 2013. Yields, quality and nutritional parameters of radish (*Raphanus sativus*) cultivars when grown organically in the Czech Republic. Horticultural Science, 40:16-21.

Lee, J., Durst, R. W., Wrolstad, R. E., Barnes, K. W., Eisele, T., Giusti, M. M., Haché, J., Hofsommer, H., Koswig, S., Krueger, D. A., Kupina, S., Martin, S. K., Martinsen, B. K., Miller, T. C., Paquette, F.; Ryabkova, A., Skrede, G., Trenn, U., Wightman, J. D., 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. Journal of AOAC International, 88: 1269–1278.

Manivannan, A., Kim, J-H., Kim, D-S., Lee, E-S., Lee, H-E., 2019. Deciphering the Nutraceutical Potential of Raphanus sativus – A Comprehensive Overview. Nutrients, 11: 402.

O`Donoghue, E. M., Somerfield, S. D., Shaw, M., Bendall, M., Hedderly, D., Eason, J., Sims, I. 2004. Evaluation of carbohydrates in Pukehoke Longkeeper and Grano cultivars of *Allium cepa*. Journal of Agricultural and Food Chemistry 52: 5383–5390.

Park, C. H., Baskar, T. B., Park, S.-Y., Kim, S.-J., Valan Arasu, M., Al-Dhabi, N.A., Kim, J.K., Park, S.U., 2016. Metabolic Profiling and Antioxidant Assay of Metabolites from Three Radish Cultivars (*Raphanus sativus*). Molecules, 21: 157.

Singh, B. K., Koley, T. K., Karmakar, P., Tripathi, A., Singh, B., Singh, M., 2017. Pigmented radish (*Raphanus sativus*): Genetic variability, heritability and interrelationships of total phenolics, anthocyanins and antioxidant activity. Indian Journal of Agricultural Sciences, 87, 1600–1606.

Verkerk, R., Schreiner, M., Krumbein, A., Ciska, E., Holst, B., Rowland, I., De Schrijver, R., Hansen, M., Gerhäuser, C., Mithen, R., Dekker, M., 2009. Glucosinolates in Brassica vegetables: the influence of the food supply chain on intake, bioavailability and human health. Molecular Nutrition & Food Research, 53: S219-265.

Waterhouse, A. L., 2003. Determination of Total Phenolics. In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.

Woisky, R. G., Salatino, A., 1998. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. Journal of Apicultural Research, 37: 99–105.

Yi, G., Lim, S., Chae, W. B., Park, J. E., Park, H. R., Lee, E. J., Huh, J. H. 2016. Root Glucosinolate Profiles for Screening of Radish (*Raphanus sativus* L.) Genetic Resources. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 64: 61–70.

Zhang, Z., Sun, C., Yao, Y., Mao, Z., Sun, G., Dai, Z., 2019. Red anthocyanins contents and the relationships with phenylalanine ammonia lyase (PAL) activity, soluble sugar and chlorophyll contents in carmine radish (*Raphanus sativus* L.). Horticultural Science, 46: 17–25.

Poděkování

Výsledek vznikl s pomocí podpory projektu MZe QK1910070.

Kontakt:

Mgr. Tibor Béres, Ph.D.
Univerzita Palackého v Olomouci
Šlechtitelů 27
783 71 Olomouc
+420731742220, tibor.beres@upol.cz

Vliv odrůdy, stanoviště a ročníku na extrakt a barvu karamelového sladu

Effects of the variety, site and year on extract and color of caramel malt

Hartman I.

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Brno

Abstrakt

Ze vzorků odrůd ječmene Bojos, Malz, Sebastian a Xanadu pěstovaných v šesti pokusných lokalitách ve sklizňových ročnících 2014 až 2016 byl v laboratorních podmínkách vyroben karamelový slad. Extrakt sladu se pohyboval od 72,5 do 84 % a barva sladiny od 88 do 267 jednotek EBC. Nejvyšší průměrná hodnota barvy sladiny 173 j. EBC byla zjištěna u odrůdy Xanadu, tato hodnota se statisticky průkazně odlišovala od zbývajících odrůd. Rozdíly v obsahu extraktu byly mezi odrůdami statisticky průkazné. Nejvyšší průměrný obsah extraktu 80,3 % byl stanoven u odrůdy Malz. Rozdíly v obsahu extraktu a barvě sladiny mezi hodnocenými lokalitami byly statisticky průkazné. Rozdíly mezi jednotlivými sklizňovými roky byly u barvy sladiny statisticky neprůkazné u extraktu statisticky průkazné.

Klíčová slova: Odrůda, karamelový slad, barva sladu

Abstract

Caramel malt was produced under laboratory conditions from samples of Bojos, Malz, Sebastian, and Xanadu barley varieties grown at six experimental sites in harvest years of 2014 to 2016. Malt extract ranged from 72.5 to 84% and malt color from 88 to 267 EBC units. The highest average color value of wort of 173 EBC units was found for Xanadu, this value differed statistically significantly from the remaining varieties. The differences in extract content were statistically significant between the varieties. The highest average extract content of 80.3 % was found in Malz. The differences in extract content and color of wort between the sites were statistically significant. The differences between the harvest years were not statistically significant for malt color and statistically significant for extract.

Keywords: Variety, caramel malt, malt color

Úvod

Hodnoty barvy sladu plzeňského typu (světlý slad) a její závislost na odrůdě sladovnického ječmene je poměrně dobře prostudována. Výsledná barva karamelového sladu, který na rozdíl od světlého sladu prochází procesem pražení, bude na odrůdových vlastnostech pravděpodobně také závislá, ale tyto souvislosti nebyly dosud podrobněji studovány. Bez těchto znalostí je obtížné nastavit procesní parametry při výrobě karamelového sladu tak, aby bylo možné v praxi dosahovat standardně požadované barvy.

Karamelový slad se vyrábí ze zeleného sladu pražením v bubnovém pražiči. Karamelový slad má vysoký obsah aromatických a barevných složek. Vyrábí se z dobře rozluštěného zeleného sladu s vysokým obsahem štěpných produktů sacharidů a proteinů. Po skončeném pražení je endosperm zrna sklovitý a průsvitný.

Karamelizace cukrů je proces, při kterém vznikají až hnědočerné amorfní produkty různého složení nazývané karamel. Karamel vzniká záhřevem cukrů na teploty vyšší než 120 °C, zpravidla 150–190 °C, nejvýše však 240 °C. Karamel obsahuje vedle vysokomolekulárních i celou řadu nízkomolekulárních látek. Jedná se hlavně o nezreagované sacharidy, kyseliny (zejména kyselinu pyrohroznovou), anhydridy cukrů, deriváty furanu, pyranu a fragmenty cukrů. Nízkomolekulární látky jsou hlavními prekursory reakcí vedoucí ke vzniku hnědých polymerních melanoidinů. Karamelizací nižších sacharidů se vytvářejí aromatické a barvící látky a mění se rovněž obsah látek koloidního charakteru, které mohou mimo jiné přispívat k lepší plnosti chuti piv a také k jejich vyšší pěnivosti (Basařová 2015; Velíšek, Hajšlová 2009).

Cílem příspěvku bylo vyhodnotit vliv odrůdy stanoviště a ročníku na extrakt a barvu karamelového sladu a posoudit vliv vlastností zrna ječmene na extrakt a barvu karamelového sladu.

Materiál a metody

Pro sladování byly použity vzorky čtyři odrůd (Bojos, Malz, Sebastian, Xanadu) jarního ječmene z šesti pokusných stanovišť (Horažďovice, Jaroměřice nad Rokytnou, Staňkov, Chrastava, Krásné Údolí a Stupice) ze sklizňových ročníků roku 2014 až 2016.
Vzorky ječmene o hmotnosti 0,5 kg byly sladovány v laboratorní mikrosladovně fy KVM (ČR). Máčení probíhalo ve skříňové máčírně. Teplota vody a teplota vzduchu byla udržována na hodnotě 14 °C. Délka namáček 1. den - 4 hodiny, 2. den 6 hodin. Třetí den byl obsah vody ve vymáčeném ječmeni upraven namáčkou nebo dokropením tak, aby ječmen obsahoval 43 % vody. Klíčení probíhalo ve skříňovém klíčidle při teplotě 14 °C. Celkový čas máčení a klíčení byl 144 hodin.

Vzorek zeleného sladu byl zcukřován v PE sáčku po dobu tří hodin při teplotě 75 °C. Pražení zcukřeného sladu o hmotnosti 300 g bylo prováděno v pražičce na kávu GENE CAFÉ CBR-101 (dodavatel 4coffee s.r.o.). Pražení probíhalo po dobu 1 hodiny při teplotě 130 °C. Po skončení pražení bylo v pražičce provedeno ochlazení vzorku na teplotu 80 °C (cca 3 až 4 minuty) a poté byl vzorek rozprostřen na filtrační papír. Po vychladnutí na laboratorní teplotu byly ze vzorku odstraněny kořínky v laboratorní odkličovačce. Pražení každého vzorku bylo provedeno ve třech opakováních.

Analýzy ječmene a sladu byl provedeny podle metodiky EBC (EBC 2009). Statistické hodnocení bylo provedeno metodou analýzy rozptylu s následným testováním statistické významnosti rozdílů středních hodnot pomocí Tukeyova testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ a proveden odhad komponent rozptylu. Vztah mezi parametry ječmene a sladu byl hodnocen pomocí Pearsonova koeficientu korelace. K statistickému vyhodnocení byl použit statistický software REML 3.5

Výsledky a diskuse

Vlhkost vzorků ječmene se v roce 2014 pohybovala od 12,0 do 15,7 %, obsah dusíkatých látek v ječmeni se pohyboval v rozsahu od 8,2 do 11,8 %, obsah škrobu od 62,6 do 68,0 % a klíčivost od 98,0 do 100 %. Extrakt vyrobených vzorků karamelového sladu se pohyboval od 77,7 do 83,9 % a barva sladiny od 112 do 267 jednotek EBC. Nejvyšší průměrná hodnota barvy sladiny byla zjištěna u odrůdy Xanadu (190 j. EBC), která se jako jediná, statisticky významně lišila od zbývajících třech odrůd (Bojos 161, Malz 157, Sebastian 156 j. EBC). Rozdíly v obsahu extraktu mezi hodnocenými odrůdami byly také statisticky průkazné. Nejvyšší obsah extraktu byl zjištěn u odrůdy Malz (80,5 %) nejnižší u odrůdy Bojos (79,8 %)

V roce 2015 se vlhkost vzorků ječmene pohybovala od 11,2 do 13,6 %, obsah dusíkatých látek v ječmeni se pohyboval v rozsahu od 8,5 do 12,5 %, obsah škrobu od 62,0 do 66,9 % a klíčivost od 85 do 100 %. Extrakt karamelového sladu se pohyboval od 76,1 do 84,0 % a barva sladiny od 117 do 181 jednotek EBC. Nejvyšší průměrná hodnota barvy sladiny byla stejně jako v roce 2014 zjištěna u odrůdy Xanadu (163,7 j. EBC), ale tento rozdíl nebyl statisticky průkazný. Nejnižší hodnota barvy sladiny byla zjištěna u odrůdy Malz (153,1 j. EBC). Rozdíly v obsahu extraktu byly mezi odrůdami statisticky průkazné. Nejvyšší průměrný obsah extraktu byl zjištěn u odrůdy Malz (81,2 %), nejnižší pak u odrůdy Bojos (79,1 %).
Vlhkost vzorků ječmene se v roce 2016 pohybovala od 11,8 do 15,2 %, obsah dusíkatých látek v ječmeni se pohyboval v rozsahu od 8,9 do 14,5 %, obsah škrobu od 58,3,0 do 64,2 % a klíčivost od 92 do 100 %. Extrakt vyrobených vzorků karamelového sladu se pohyboval od

72,5 do 82,3 % a barva sladiny od 88 do 236 jednotek EBC. Nejvyšší průměrná hodnota barvy sladiny byla stejně jako v roce 2014 i 2015 zjištěna u odrůdy Xanadu (164,2 j. EBC), nejnižší u odrůdy Sebastian (153,7 j. EBC). Rozdíly v barvě sladu i obsahu extraktu mezi hodnocenými odrůdami nebyly statisticky průkazné. Nejvyšší průměrný obsah extraktu byl zjištěn u odrůdy Malz (78,6 %), nejnižší pak u odrůdy Bojos (77,4 %).

Hodnoty průměrné barvy sladiny a extraktu u jednotlivých faktorů za celé období hodnocení jsou uvedeny v tabulce 1. Nejvyšší průměrná hodnota barvy sladiny byla zjištěna u odrůdy Xanadu (173,0 j. EBC), která se statisticky průkazně odlišovala od zbývajících odrůd. Dále následovala odrůda Bojos (160,7 j. EBC), Malz a Sebastian (obě 155,9 j. EBC). Rozdíly v obsahu extraktu v sušině byly mezi odrůdami rovněž statisticky průkazné. Nejvyšší průměrný obsah extraktu byl zjištěn u odrůdy Malz (80,3 %), Sebastian (79,7 %), Xanadu (79,6 %) a Bojos (78,9 %). Rozdíly v obsahu extraktu a barvě sladiny mezi hodnocenými lokalitami byly taktéž statisticky průkazné. Rozdíly mezi jednotlivými sklizňovými roky byly u barvy sladiny statisticky neprůkazné, u extraktu průkazné. Mikyška a Psota (2017) také zjistili při hodnocení světlého sladu vyrobeného z ječmene námi hodnocených odrůd nejvyšší průměrný obsah extraktu u odrůdy Malz a nejvyšší hodnotu barvy sladiny u odrůdy Xanadu.

Tab. 1: Průměrné hodnoty extraktu a barvy karamelového sladu s vyznačením statistické průkaznosti

Ukazatel	Extrakt v sušině (%)		Barva (j. EBC)	
Odrůda	Průměr	Sm. odchylka	Průměr	Sm. odchylka
Bojos	78,89 [a]	2,14	160,74 [a]	26,46
Malz	80,26 [c]	2,15	155,89 [a]	25,66
Sebastian	79,72 [b, c,]	1,97	155,89 [a]	22,94
Xanadu	79,60 [b]	2,14	172,96 [b]	30,61
$D_T(0,05)$	0,63		11,24	
Rok				
2014	80,52 [a]	1,36	166,67 [a]	32,01
2015	80,32 [a]	1,75	158,44 [a]	15,51
2016	78,01 [b]	2,27	159,01 [a]	30,92
$D_T(0,05)$	0,50		8,87	
Lokalita				
Staňkov	77,75 [a]	2,12	137,11 [a]	24,29
Horažďovice	78,58 [a, b]	2,77	166,11 [b]	19,27
Jaroměřice n. R.	78,99 [b, c]	1,75	160,58 [b]	25,76
Krásné Údolí	79,60 [c, d]	1,25	170,77 [b]	16,26
Chrastava	80,45 [d, e,]	1,52	163,97 [b]	38,44
Pusté Jakartice	80,83 [e]	1,45	173,72 [b]	27,33
Stupice	81,13 [e]	1,44	157,33 [b]	17,04
$D_T(0,05)$	0,96		17,09	

Vztahy mezi technologickými parametry ječmene a karamelového sladu jsou uvedeny v tabulce 2 (hodnoty statisticky průkazné jsou zvýrazněny červeně). Korelační koeficienty ukazují na pozitivní korelaci mezi obsahem škrobu v ječmeni a obsahem extraktu ve sladu a barvou sladiny. Korelace mezi obsahem dusíkatých látek v ječmeni a obsahem extraktu ve sladu a barvy sladiny byla negativní. Vyšší obsah dusíkatých látek způsobuje snížení obsahu látek, které se podílejí na tvorbě extraktu (Li et al 2008). Obdobné zjištění o negativním vlivu obsahu

dusíkatých látek v ječmeni na obsah extraktu uvádějí pro světlý plzeňský slad Hartman (2013) a Dráb et al (2013). Na rozdíl od našich zjištění uvádí Hartman (2013) slabou pozitivní korelaci mezi obsahem dusíkatých látek a barvou sladiny světlého sladu.

Tab. 2: Korelační matice parametrů ječmene a karamelového sladu

Parametr	Extrakt sladu	Barva sladiny	Obsah NL	Obsah škrobu	Klíčivost
Extrakt sladu	1,0000	0,2068	-0,7660	0,7812	-0,1341
Barva sladiny	0,2068	1,0000	-0,3208	0,3616	-0,0174
Obsah NL	-0,7660	-0,3208	1,0000	-0,8447	0,0427
Obsah škrobu	0,7812	0,3616	-0,8447	1,0000	-0,1579
Klíčivost	-0,1341	-0,0174	0,0427	-0,1579	1,0000

Na základě analýzy komponent rozptylu byl obsah extraktu ve sladu nejvíce ovlivněn ročníkem (34,5 %), ostatními faktory (33,3 %), stanovištěm (27,1 %) a nejméně odrůdou (5,1 %). Vliv odrůdy na barvu sladiny byl velmi malý (7,0 %). Největší podíl připadal na ostatní faktory (74,9 %).

Závěr

Nejvyšší průměrná hodnota barvy sladiny byla zjištěna u odrůdy Xanadu, která se statisticky průkazně odlišovala od zbývajících hodnocených odrůd. Rozdíly v obsahu extraktu byly mezi odrůdami statisticky průkazné. Nejvyšší průměrný obsah extraktu byl zjištěn u odrůdy Malz (80,3 %). Korelace mezi obsahem dusíkatých látek v ječmeni a obsahem extraktu ve sladu a barvy sladiny byla negativní. Na základě analýzy komponent rozptylu byl obsah extraktu ve sladu nejvíce ovlivněn ročníkem, dále pak ostatními faktory, stanovištěm a nejméně odrůdou. Vliv odrůdy na barvu sladiny byl velmi malý. Největší podíl připadal na ostatní nevysvětlené faktory.

Dedikace

Příspěvek byl zpracován s podporou Ministerstva zemědělství ČR v rámci institucionální podpory MZE-RO1920.

Použitá literatura

Basařová a kol., 2015. Sladařství, teorie a praxe výroby sladu. Havlíček Brain Team, Praha, 648 s., ISBN 978-80-87109-47-2

Dráb, Š., Psota, V., Frančáková, H., Sachambula, L., Hartmann, J., Tokár, M., 2013. The dependence of malt quality on the variety and year. Kvasny Prum., 59(7–8): 181–189.

EBC Analysis Committee 2009. Analytica-EBC. Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag, Nürnberg, ISBN 3-418-00759-7

Hartman, I. 2013 The effect of technological characters of barley grain on malt quality. Kvasny Prum., 59(10–11): 284–287.

Li, Y., Schwarz, P. B., Barr, J. M., Horsley, R. D., 2008. Factors Predicting Malt Extract within a Single Barley Cultivar. Journal of Cereal Science, 48(2): 531–538.

Velíšek, J., Hajšlová, J., (2009): Chemie potravin 1. OSSIS, Tábor, 602 s., 978-80-86569-15-2

Mikyška, A., Psota, V. 2017. Brewing Trials of Barley Varieties Registered in the Czech Republic. Kvasny Prum., 63(5): 248–260. DOI: 10.18832/kp201726

Kontaktní adresa:

Ing. Ivo Hartman, Ph.D.

Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s.,

Mostecká 7, 614 00 Brno

hartman@beerresearch.cz, tel.: 545 214 110 / 25

Nutriční a bioaktivní látky v naklíčených semenech vybraných druhů plodin

Nutritional and bioactive components in sprouted seed of selected crop species

Hlásná Čepková P.[1], Viehmannová I.[2], Janovská D.[1], Jágr M.[1], Dvořáček V.[1]

[1] Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Praha
[2] Fakulta tropického zemědělství, ČZU v Praze

Abstrakt
U naklíčených semen 15 druhů plodin byl hodnocen obsah celkových bílkovin, obsah celkových fenolických látek, antioxidační aktivita a obsah vybraných fenolických látek. U naklíčených semen luštěnin a brukvovité zeleniny byl zaznamenán nárůst obsahu celkových bílkovin v rozmezí od 0,03 % do 5,86 % sušiny ve srovnání s nenaklíčenými semeny. Chromatografická separace po extrakci zkoumaných analytů vedla k identifikaci a kvantifikaci osmi typů flavonoidů. Klíčení mělo za následek podstatné zvýšení všech flavonoidů zjištěných ve většině vzorků. U vzorků pohanka bio, sójových bobů a rukoly byl zaznamenán nejvyšší nárůst obsahu celkových fenolických látek (2,18 % až 3,41 % v sušině) po naklíčení. Ze všech provedených analýz je zřejmé, že klíčení má pozitivní vliv na jedlá semena a zrna. Výsledky této studie prokázaly, že klíčení lze použít jako efektivní a přirozenou techniku ke zvýšení nutriční hodnoty a bioaktivních složek jedlých semen.
Klíčová slova: bílkovina, brukvovitá zelenina, flavonoidy, naklíčení, luštěniny, obiloviny, semena

Abstract
The aim of this study was to investigate the effect of sprouting of selected important grains and seeds of 15 plant species. The extracts from the non-sprouted (dry) seeds and their sprouts (germinated seeds) were analysed and assessed for the crude protein, total phenolic content, antioxidant activity and flavonoid contents. Sprouted legumes and cruciferous vegetables recorded an increase in their crude protein content (0.03% to 5.86% of dry matter) as compared to their non-sprouted counterparts. Sprouting resulted in a significant increase in the amounts of flavonoids detected in most samples. Chromatographic separation after the extraction of the analytes of the interest led to the identification and quantification of eight types of flavonoids. Buckwheat bio (organic), soybeans and rocket showed the highest increase in content of total phenolics after sprouting (2.18% to 3.41% of dry matter). There were significant differences in total phenolic content between the sprouted and non-sprouted samples. From all the analyses carried out, it is evident that sprouting has an effect on the edible seeds and grains. The results of this study have proved that sprouting can be used as an effective and natural technique to enhance the nutritional value and bioactive components of edible seeds and grains.
Key words: cereals, cruciferous vegetables, flavonoids, germination, legumes, protein, seeds

Úvod

Spotřebitelé v poslední době hledají přírodní, „zdravé“, levné a dostupné potraviny (Robertson et al. 2002; Gabriel et al. 2007; Peñas et al. 2009). Naklíčená semena jsou čerstvým, funkčním a nutričním zdrojem potravin, které jsou pro zdravé stravování stále populárnější (Ebert 2015; Kyriacou et al. 2016). Naklíčená semena bývají považována za hodnotný zdroj bílkovin, sacharidů, minerálů, vitamínů a antioxidantů (Robertson et al. 2002; Gabriel et al. 2007; Peñas et al. 2009). Několik epidemiologických studií potvrdilo, že konzumace naklíčených semen může pomoci ochránit organismus před chronickými nemocemi a rakovinou (Bellostas et al.

2007; Yang et al. 2013). Nakličování semen má též potenciál přispívat k zabezpečení výživy ve městech, protože semena lze snadno nakličovat i ve vnitřních prostředích, kde je půda často limitujícím faktorem (Ebert 2015). Na evropských trzích je snadno dostupná celá řada produktů z naklíčených semen, mezi nejoblíbenější patří ty z vojtěšky, fazole mungo a ředkvičky. Konzumují se často syrové nebo mírně předvařené v salátech a sendvičích nebo jako předkrmy (Weiss a Hammes 2003). Potravinářský průmysl především v Evropě a Severní Americe v posledních letech stále častěji uvádí na trh produkty z naklíčených semen, mezi nejoblíbenější patří snídaňové cereálie, pečivo, těstoviny, občerstvení a nápoje. V asijsko-pacifickém regionu se jedná především o výrobky ve formě nápojů (Lemmens et al. 2019). Cílem této studie bylo zjistit vliv nakličování na vybrané nutriční a bioaktivní obsahové látky v semenech 15 druhů rostlin.

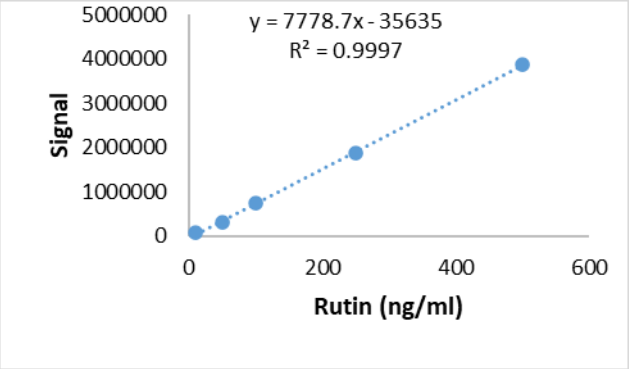
Materiál a metody

V rámci této studie bylo hodnoceno celkem 28 vzorků, které zahrnovaly 15 rostlinných druhů (Tabulka 1). Suchá semena byla propláchnuta destilovanou vodou a poté ponořena do destilované vody po dobu 24 hod. Nakličování probíhalo 3 až 5 dny při pokojové teplotě a 18°C na filtračním papíře. Naklíčené vzorky byly poté lyofilizovány a uchovány v mrazáku (-18°C) k dalším analýzám. Vzorky 4 směsí komerčně zakoupených již naklíčených semen (vzorky č. 23-26) a semena určená k naklíčení (vzorky č. 27 a 28) byla analyzována pouze v naklíčených formách.

Přibližně 10 g vzorku všech variant bylo namleto, lyofilizováno a připraveno pro následné analýzy. U vzorků byla stanovena sušina podle standardní metody ČSN (2001). Obsah celkových bílkovin (CB) u každého vzorku byl stanoven Kjeldahlovou metodou za použití faktoru 6,25 (ČSN, 2012).

Obsah fenolických látek byl stanovován ze vzorku 0,1 g namletého/lyofilizovaného rostlinného materiálu. Vzorek byl extrahován v 5 ml extrakčního roztoku (metanol:voda:kys.mravenčí - 80:14:6) a dále ředěn 50% MeOH. K analýzám fenolických látek byl použit chromatografický systém (Dionex UltiMate 3000 UHPLC systém, Dionex Softron GmbH, Německo). Detekce byla provedena na tandemovém hmotnostním spektrometru QExactive Orbitrap (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, MA, USA) vybaveném elektrosprejovou ionizací (HESI) a vyhodnocovacím softwarem Trace Finder 4.1. Kvantifikace analytů v extraktu byla dosažena metodou kalibrační křivky (Obrázek 1).

Ke stanovení celkového obsahu polyfenolů byla použita spektrofotometrická metoda s použitím Folin-Ciocalteuova činidla podle modifikovaného protokolu (Holašová et al. 2002). Všechny vzorky byly analyzovány ve třech opakováních.



Obrázek 1: Příklad kalibrační křivky na rutin

Data získaná z experimentů byla statisticky vyhodnocena pomocí analýzy rozptylu (ANOVA) a testu Tukey's Honest Significant Difference (HSD) v softwaru STATISTICA 12.0 CZ. Statistické rozdíly mezi hodnocenými druhy byly významné na úrovni $p \leq 0,05$.

Tabulka 1: Přehled analyzovaných vzorků

Číslo vzorku	Rostlinný druh	Komerční název	Země původu	Výrobce/ poskytovatel	Popis vzorku	Typ produkce
Semena k naklíčení						
1	*Chenopodium quinoa*	Bio quinoa černá	Bolívie	Country Life	Černá semena	Ekologická
2	*Chenopodium quinoa*	Bio quinoa červená	Peru	Bio nebio	Rezavě červená semena	Ekologická
3	*Amaranthus caudatus*	Bio amarant	Země mimo EU	Sunfood	Světle žlutá semena	Ekologická
4	*Amaranthus caudatus*	Amarant Bio	ČR	Genová banka	Světle žlutá semena	Ekologická
5	*Fagopyrum esculentum*	Pohanka	ČR	Pro-Bio	Trojhranné hnědé nažky	Ekologická
6	*Fagopyrum esculentum*	Pohanka Bio	Země mimo EU	DM drogerie	Trojhranné hnědé nažky	Ekologická
7	*Fagopyrum esculentum*	Pohankové kroupy	Čína	Country Life	Trojhranné hnědé nažky	Ekologická
8	*Medicago sativa*	Bio vojtěška	Itálie	Country Life	Zelenohnědá semena	Ekologická
9	*Glycine max*	Sojové boby	Čína	Pro-Bio	Ovalná sv. hnědá semena	Ekologická
10	*Cicer arietinum*	Cizrna	Itálie	Bio nebio	Světle žlutá semena	Ekologická
11	*Vigna radiata*	Mungo	Čína	Country Life	Malá zelená semena	Ekologická
12	*Lens culinaris*	Červená čočka	Turecko	Country Life	Červenohnědá semena	Ekologická
13	*Lens culinaris*	Tmavě zelená čočka	Kanada	Country Life	Tmavě zelená semena	Ekologická
14	*Lens culinaris*	Velkosem. zelená čočka	Turecko	Country Life	Velká zelená semena	Ekologická
15	*Trigonella foenum graceum*	Pískavice řecké seno	Itálie	Healthy day	Malá hnědá semena	Ekologická
16	*Medicago sativa, Vigna radiata*	Mix Bio	Itálie	Healthy day	Směs vojtěšky a fazolí mungo	Ekologická
17	*Hordeum vulgare*	Ječmen odr.´Amistar´	Polsko	Flower factory	Hnědá semena	Nespecifikováno
18	*Hordeum vulgare*	Ječmen odr. ´Casino´	Polsko	Flower factory	Hnědá semena	Nespecifikováno
19	*Triticum aestivum*	Pšenice odr. ´Astrid´	ČR	Genová banka	Hnědá semena	Nespecifikováno
20	*Eruca sativa*	Rukola	Polsko	Flower factory	Drobná, hnědá semena	Nespecifikováno
21	*Brassica oleraceae var. italica*	Brokolice	Itálie	Healthy day	Drobná černo-rezavá semena	Ekologická
22	*Raphanus sativus*	Ředkev	Itálie	Healthy day	Drobná sv. béžová semena	Ekologická
Zakoupené naklíčené semena/ mix naklíčených semen						
23	*Medicago sativa, Raphanus sativus, Eruca sativa*	Čerstvé klíčky vojtěšky, ředkvičky, rukoly	ČR	Happy eat	Směs naklíčených semen	Ekologická
24	*Brassica oleraceae* var. *italica*	Naklíčená semena brokolice	ČR	Happy eat		Ekologická
25	*Cicer arietinum, Lens culinaris, Raphanus sativus, Triticum aestivum, Trigonella foenum graceum*	Protein mix čerstvě naklíčných semen	ČR	Happy eat	cizrna, tmavězelná čočka, světle zelená čočka, pšenice, ředkvička, pískavice	Ekologická
26	*Vigna radiata*	Čerstvě naklíčená semena fazole mungo	ČR	Happy eat		Ekologická
27	*Helianthus annus*	Naklíčená lyofilizovaná semena slunečnice	Produkt EU	Iswari Superfood		Ekologická
28	*Fagopyrum esculentum, Helianthus annus, Chenopodium quinoa*	Mix naklíčených semen pohanky, slunečnice a quinoi	Produkt EU	Iswari Superfood		Ekologická

Výsledky a diskuse

Z laboratorních analýz bylo zjištěno, že naklíčená semena luštěnin a brukvovité zeleniny mají vysoký obsah celkových bílkovin (CB). Vzorky bio vojtěšky, sóji a rukoly měly mezi naklíčenými vzorky nejvyšší celkový obsah bílkovin 42,71 %, 39,67 % a 36,13 % v sušině (Tabulka 2).

Tabulka 2: Obsah celkových bílkovin (% v sušině) u naklíčených vzorků

Číslo vzorku	Název vzorku	Obsah celkových bílkovin v naklíčných semenech (%) v sušině*	Změna v obsahu celkových bílkovin mezi naklíčenými a nenaklíčenými semeny (%)
1	Bio quinoa černá	$15{,}57 \pm 0{,}18^{ab}$	0,31
2	Bio quinoa červená	$14{,}81 \pm 2{,}18^{ab}$	−3,71
3	Bio amarant	$16{,}33 \pm 1{,}27^{b}$	−1.32
4	Amarant Bio	$16{,}28 \pm 0{,}33^{b}$	0,47
5	Pohanka	$13{,}25 \pm 0{,}76^{ab}$	1,28
6	Pohanka Bio	$14{,}65 \pm 1{,}64^{ab}$	−2,83
7	Pohankové kroupy	$15{,}16 \pm 0{,}19^{ab}$	0,10
8	Bio vojtěška	$41{,}28 \pm 1{,}71^{g}$	2,86
9	Sojové boby	$39{,}33 \pm 0{,}50^{fg}$	0,68
10	Cizrna	$21{,}59 \pm 0{,}22^{c}$	0,03
11	Mungo	$25{,}30 \pm 0{,}64^{cd}$	1,07
12	Červená čočka	$28{,}14 \pm 0{,}22^{de}$	0,37
13	Tmavě zelená čočka	$27{,}18 \pm 0{,}31^{de}$	0,32
14	Velkosemenná zelená čočka	$28{,}34 \pm 0{,}42^{de}$	0,62
15	Pískavice řecké seno	$29{,}12 \pm 0{,}73^{e}$	0,56
16	Mix Bio	$29{,}77 \pm 2{,}35^{e}$	4,07
17	Ječmen odr.´Amistar´	$12{,}93 \pm 0{,}20^{ab}$	−0,18
18	Ječmen odr. ´Casino´	$12{,}39 \pm 0{,}52^{a}$	0,81
19	Pšenice odr. ´Astrid´	$11{,}91 \pm 0{,}19^{a}$	−0,31
20	Rukola	$35{,}75 \pm 0{,}45^{f}$	0,76
21	Brokolice	$21{,}82 \pm 0{,}31^{c}$	0,53
22	Ředkev	$29{,}05 \pm 5{,}16^{de}$	5,86

V tabulce jsou uvedeny průměrné hodnoty±směrodatná odchylka.

*horní indexy v podobě různých písmen (a-h) označují statisticky významné rozdíly na hladině $p \leq 0{,}05$.

(-) zaporné hodnoty představují snížení obsahu celkových bílkovin u naklíčených semen v porovnání s nenaklíčenými.

Tři vzorky obilovin pšenice „Astrid“, ječmene „Casino“ a ječmene „Amistar“ s hodnotami 11,75 %, 12,79 % a 12,84 % v sušině zaznamenaly nejnižší celkový obsah CB mezi naklíčenými vzorky. Vzorky pseudoobilovin obecně také zaznamenávaly relativně nižší obsah CB (12,95 % až 16,51 %) v porovnání s luštěninami a brukvovitou zeleninou. Nicméně, nakličování výrazně neovlivnilo obsah celkových proteinů u vzorků, nárůst obsahu CB díky nakličování se zvýšil o 2-5 %. Literatura dokonce uvádí, že nakličování může obsah bílkovin např. u fazolí mungo snižovat (Ebert et al. 2017). Obsah flavonoidů detekovaný ve vzorcích naklíčených semen je uveden v tabulce 3. Tři odrůdy *Fagopyrum esculentum* zaznamenaly mezi naklíčenými vzorky nejvyšší zastoupení flavonoidů, pouze kempferol nebyl u vzorků pohanky detekován. U vzorku munga a směsi klíčků se podařilo také detekovat 6 flavonoidů. U vzorků cizrny, červené čočky, ječmene „Amistar“ a pšenice „Astrid“ nebyly přítomny sledované flavonoidy nebo jejich obsah byl pod hranici detekce.Především u pseudoobilovin došlo naklíčením ke zvýšení obsahu všech detekovaných flavonoidů. Kyselina chlorogenová

byla detekována ve všech odrůdách *Fagopyrum esculentum*, u kterých byla zaznamenána v nejvyšší hladině 160,19 µg/g v suš. mezi naklíčenými vzorky. Naklíčená pohanka měla také nejvyšší obsah isoorientinu (2 209,65 µg/g v suš.). Čerstvě naklíčená semena brokolice (1,88 µg/g v suš.) a vzorek bio quinoi červené (0,67 µg/g v suš.) měly nejvyšší obsah kempferolu, což koresponduje s výsledky publikovanými ve studiích Pasko et al. (2008) a Shields (2017). Naopak u vzorku bio amarantu byl zaznamenán nejnižší obsah isokvercitrinu (0,31 µ/g v suš.). Kvercetin byl detekován v nejvyšším množství u pohanky (7,25 µg/g v suš.) a v nejnižším množství u pohanky bio (0,25 µg/g). U vzorku pohanky byly zaznamenány maximální (1,48 µg/g v suš.) a minimální (0,64 µg/g v suš.) hodnoty kvercitrinu. Z naklíčených vzorků opět pohanka zaznamenala nejvyšší obsah rutinu (1 358,05 µg/g v suš.) a vitexinu (858,4 µg/g v suš.). Pohanka je známa vysokým obsahem fenolických látek (rutinu, vitexinu a isoorientinu), které díky klíčení mohou být ještě navýšeny (Zielinska et al. 2007, Nemzer 2019)

Tabulka 3: Obsah vybraných flavonoidů detekovaný ve vzorcích naklíčených semen

Číslo vzorku	Název vzorku	Chlorogenová kyselina (µg/g v suš.)	Isoorientin (µg/g v suš.)	Isokvercitrin (µg/g v suš.)	Kempferol (µg/g v suš.)	Kvercetin (µg/g v suš.)	Kvercitrin (µg/g v suš.)	Rutin (µg/g v suš.)	Vitexin (µg/g v suš.)
1	Bio quinoa černá	N	N	0,9	<LOQ	0,52	N	12,15	N
2	Bio quinoa červená	N	N	2,10	0,67	5,78	N	18,10	N
3	Bio amarant	N	N	0,31	N	<LOQ	N	7,17	N
4	Amarant Bio	N	N	N	N	N	<LOQ	26,30	N
5	Pohanka	160,19	2 209.65	29,91	<LOQ	7,25	1,48	1 358,05	858,4
6	Pohanka Bio	0,31	1,29	3,8	<LOQ	0,25	0,73	150,4	1,64
7	Pohankové kroupy	0,34	1,42	3,9	<LOQ	0,32	0,64	133,01	1,84
8	Bio vojtěška	N	N	35,48	0,42	5,03	N	10,09	N
9	Sojové boby	N	N	N	0.42	<LOQ	N	N	0.3
10	Cizrna	N	N	<LOQ	N	N	N	N	N
11	Mungo	N	51,95	8,00	0,56	6,01	N	7,68	457,3
12	Červená čočka	N	N	N	N	<LOQ	<LOQ	N	N
13	Tmavě zelená čočka	3,56	N	N	N	N	0,79	N	N
14	Velkosemenná zelená čočka	0,27	N	N	N	<LOQ	<LOQ	N	N
15	Pískavice řecké seno	N	769,41	N	N	N	N	N	769,18
16	Mix Bio	N	4,11	116,33	N	7,19	<LOQ	6,72	160,26
17	Ječmen odr.´Amistar´	<LOQ	<LOQ	N	N	<LOQ	N	N	N
18	Ječmen odr. ´Casino´	<LOQ	0,42	0,61	N	<LOQ	N	<LOQ	N
19	Pšenice odr. ´Astrid´	N	<LOQ	N	N	N	N	<LOQ	N
20	Rukola	<LOQ	N	4,84	<LOQ	0,54	N	<LOQ	N
21	Brokolice	N	N	N	0,18	N	N	N	10,09
22	Ředkev	N	N	N	N	N	N	N	30,41
Čerstvá naklíčná semena nebo mix semen zakoupená v obchodě									
23	Čerstvé klíčky vojtěšky, ředkvičky, rukoly	3,75	N	1,86	0,37	0,95	<LOQ	2,32	N
24	Naklíčená semena brokolice	N	N	N	1,88	<LOQ	N	N	N
25	Protein mix čerstvě naklíčných semen	N	1,20	0,56	N	<LOQ	<LOQ	N	4,32
26	Čerstvě naklíčená semena fazole mungo	N	1,22	0,31	N	<LOQ	N	1,20	24,04
27	Naklíčená lyofilizovaná semena slunečnice	10 339,35	N	0,73	N	<LOQ	N	N	N
28	Mix naklíčených semen pohanky, slunečnice a quinoi	2 871,75	0,68	1,14	<LOQ	0,37	<LOQ	65,44	0,29
LOQ=0,25 µg/g									
N - nedekováno									

Z naklíčených obilovin byly v ječmenu „Casino“ jedinými detekovanými flavonoidy isoorientin a isokvercitrin. U vzorku ječmene „Casino“ bylo naměřeno nejnižší množství isoorientinu mezi naklíčenými vzorky (0,42 µg/g v suš.).
V naklíčeném vzorku č. 16 (směs vojtěšky a fazolí munga) byl detekován nejvyšší obsah isokvercitrinu (116,33 µg/g v suš.). Naopak v naklíčených sójových bobech byl zjištěn nízký obsah vitexinu (0,30 µg/g v suš.). U tří naklíčených vzorků brukvovitých zelenin (vzorek č 20 - 22) byly detekovány maximálně 2 druhy flavonoidů ze 7 sedmi testovaných. U vzorku brokolice byla naměřena minimální hodnota kempferolu (0,18 µg/g v suš.) mezi naklíčenými vzorky. U směsí čerstvých klíčků bylo detekováno velmi vysoké množství kyseliny chlorogenové (vzorek č. 28, 2 871,75 µg/g v suš.) a vzorku slunečnice (10 339,35 µg/g v suš.), což bylo publikováno i v Cevallos-Casals a Cisneros-Zevallos (2010).
Obsah celkových polyfenolů po naklíčení semen se významně lišil s ohledem na testované druhy a odrůdy. U vzorků pohanky bio, sójových bobů a rukoly byl zaznamenán nejvyšší nárůst celkových polyfenolů při nakličování (3,41 %, 2,39 % a 2,18 %). Podobné výsledky, kdy vzorky pohanky, sojových bobů a rukoly měly výrazně vyšší obsah celkových polyfenolických látek, byly publikovány ve studiích Alvarez-Jubete et al. (2010) a Cevallos-Casals a Cisneros-Zevallos (2010). Naopak po naklíčení došlo ke snížení obsahu celkových polyfenolů u vzorků ječmene „Casino“, bio quinoi červené a velkosemenné zelené čočky o 0,44 %, 0,29 % a 0,14 %. Antioxidační aktivita byla vyšší u všech naklíčených vzorků. Vzorky, které zaznamenaly nejvyšší nárůst antioxidační aktivity po naklíčení, jsou uvedeny od nejvyšších naměřených hodnot: ředkev > brokolice > pohanka > raketa > bio quinoa černá > mungo > bio vojtěška. Výjimku představovaly vzorky pšenice „Astrid“ a ječmene „Casino“. Naopak nejvyšších hodnot antioxidační aktivity dosáhly naklíčené vzorky fazolí mungo (233,40 TE/100g v suš.) a pohanky (232,87 mg TE/100g v suš.)
V této studii bylo potvrzeno, že mezi druhy, které vykazují vysokou antioxidační aktivitu, patří druhy z čeledi Brassicaceae díky přítomnosti glukosinolátů v semeni a listech (Manchali et al. 2012).

Závěr

Z výsledků této studie je zřejmé, že naklíčení obecně zvyšuje obsah bioaktivních složek (flavonoidy, TPC a antioxidační aktivity) jedlých zrn a semen. Rostlinné druhy, jako je pohanka, amarant, quinoa, mungo, vojtěška a brukvovitá zelenina lze jednoznačně považovat za bohaté zdroje přírodních bioaktivních složek, jejichž obsah se v důsledku nakličování významně navýší.

Poděkování

Tato práce byla finančně podpořena výzkumným záměrem MZe ČR RO0418, Národním programem konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin a agrobiodiverzity 6.2.5/51834/2017-MZE-17253) a Interní grantovou agenturou (IGA) FTZ ČZU v Praze (Projekt č. 20213114).

Literatura

Aguilera Y, Liébana R, Herrera T, Rebollo-Hernanz M, Sanchez-Puelles C, Benítez V, Martín-Cabrejas MA. 2013. Effect of illumination on the content of melatonin, phenolic compounds and antioxidant activity during germination of lentils (*Lens culinaris* L.) and Kidney Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry 62: 10736–10743.

Alvarez-Jubete L, Wijngaard H, Arendt EK, Gallagher E. 2010. Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. Food Chemistry 119: 770–778.

Bellostas N, Kachlicki P, Sørensen JC, Sørensen H. 2007. Glucosinolate profiling of seeds and sprouts of *B. oleracea* varieties used for food. Scientia Horticulturae 114: 234–242.

Česká statní norma (CSN) EN ISO 662. Živočišné a rostlinné tuky a oleje - Stanovení vlhkosti a těkavých látek. 2001.

Česká statní norma (CSN) 5983-1 (467035), C. S. N. C.-. Krmiva - Stanovení obsahu dusíku a výpočet obsahu hrubého proteinu - Část 1: Kjeldahlova metoda. 2012.

Gabriel AA, Berja MC, Estrada AMP, Lopez MGAA, Nery JGB, Villaflor EJB. 2007. Microbiology of retail mung bean sprouts vended in public markets of National Capital Region, Philippines. Food Control 18: 1307–1313.

Ebert A. 2015. High value specialty vegetable produce. Handbook of vegetables 2: 119–143.

Ebert AW, Chang CH, Yan MR, Yang RY. 2017. Nutritional composition of mungbean and soybean sprouts compared to their adult growth stage. Food Chemistry 237: 15–22.

Herr I, Büchler MW. 2010. Dietary constituents of broccoli and other cruciferous vegetables: Implications for prevention and therapy of cancer. Cancer Treatment Reviews 36: 377–383.

Holasova M., Fiedlerova V. Smrcinova H., Orsak M., Lachman J., Vavreinova S. 2002. Buckwheat - the source of antioxidant activity in functional foods. Food Research International, 35 (2-3), 207-211.

Lemmens E, Moroni AV, Pagand J, Heirbaut P, Ritala A, Karlen Y, Le KA, Van den Broeck HC, Brouns FJPH, De Brier N, Delcour JA. 2019. Impact of cereal seed sprouting on its nutritional and technological properties: A critical review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 18: 305–328.

Manchali S, Chidambara Murthy KN, and Patil BS. 2012. Crucial facts about health benefits of popular cruciferous vegetables. Journal of Functional Foods, 4: 94-106.

Nemzer B, Lin Y, Huang D. 2019. Antioxidants in sprouts of grains. 55–68 in Feng H, Nemzer B, DeVries JW, editors. Sprouted grains nutritional value, production and applications. Elsevier, Amsterdam.

Paśko P, Bartoń H, Zagrodzki P, Gorinstein S, Fołta M, Zachwieja Z. 2009. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. Food Chemistry 115: 994–998.

Peñas E, Gómez R, Frías J, Vidal-Valverde C. 2008. Application of high-pressure treatment on alfalfa (*Medicago sativa*) and mung bean (*Vigna radiata*) seeds to enhance the microbiological safety of their sprouts. Food Control 19: 698–705.

Robertson LJ, Johannessen GS, Gjerde BK, Loncarevic S. 2002. Microbiological analysis of seed sprouts in Norway. International Journal of Food Microbiology 75: 119–126.

Shields M. 2017. Chemotherapeutics. Pharmacognosy 295–313.

Weiss WP, Hammes. 2003. Thermal seed treatment to improve the food safety status of sprouts. Journal of Applied Botany 77: 152–155.

Yang Y, Meier F, Ann Lo J, Yuan W, Lee Pei Sze V, Chung H-J, Yuk H-G. 2013. Overview of recent events in the microbiological safety of sprouts and new intervention technologies. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 12: 265–280.

Zielinska D, Szawara-Nowak D, Ornatowska A, Wiczkowski W. 2007. Use of cyclic voltammetry, photochemiluminescence, and spectrophotometric methods for the measurement of the antioxidant capacity of buckwheat sprouts. Journal of Agricultural and Food Chemistry 55: 9891–9898.

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

Predikce výživných hodnot kukuřice přímo na poli

Prediction of nutritional values of maize directly in the field

Jambor V[1], Janoušek J[2], Marcoň P[2], Dohnal P[2], Raichl P[2], Synková H[1], Loučka R[3]

[1]NutriVet, s.r.o. Pohořelice
[2]Vysoké učení technické v Brně, FEKT
[3]Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha Uhříněves

Abstrakt
Cílem výzkumu bylo stanovit korelace mezi daty získanými prostřednictvím multispektrálního zobrazování a pomocí chemické analýzy. Vybraný porost kukuřice byl skenován s využitím multispektrální kamery umístěné na dronu. Z naměřených hodnot kamerou byly vytvořeny mapy odrazivostí, ze kterých byly počítány vegetační indexy. Míra korelace byla velmi silná u obsahu sušiny pro všechny sledované vegetační indexy. Největší citlivost hodnot odrazivosti byla dosažena v červeném spektru, naopak nejmenší rozlišovací schopnost ze sledovaných vegetačních indexů byla získána v zeleném spektru. Výhodou dálkového snímání je přehled o celém poli ve srovnání s odběrem vzorku pro chemický rozbor z vybraného místa na poli.
Klíčová slova: multispektrální kamera; vegetační index; nutriční analýza, korelace

Abstract
The aim of the research was to determine the correlations between the data obtained by multispectral imaging and by chemical analysis. The selected maize crop was scanned using a multispectral camera placed on a drone. Reflectance maps were created from the values measured by the camera, from which the vegetation indices were calculated. The degree of correlation was very strong in dry matter content for all monitored vegetation indices. The highest sensitivity of reflectance values was achieved in the red spectrum, on the contrary, the lowest resolution from the monitored vegetation indices was obtained in the green spectrum. The advantage of remote sensing is an overview of the entire field in comparison with the sampling for chemical analysis from a selected place in the field.

Keywords: multispectral camera; vegetation index; nutritional analysis; correlation

Úvod

V zemědělství narůstá trend používání stále sofistikovanějších metod k získání lepších výsledků. Nové technologie pomáhají přizpůsobit pěstební operace aktuálním lokálním podmínkám stanoviště a podnebí, přičemž zásadou je provádět pěstební a jiné zásahy na správném místě, se správnou intenzitou a ve správný čas. Je to velký rozdíl proti tomu, jak jsou porosty v současné době posuzovány. Prvotní je fyzická obhlídka porostu na několika místech několikrát během vegetace, a hlavně v předpokládané době sklizně. Obhlídku dělá většinou agronom, někteří agronomové podkládají svoje senzorické hodnocení ještě chemickým rozborem vybraného vzorku porostu. Touto metodou ovšem nelze postihnout stav vegetace na celém pozemku.
V některých podnicích začali pro hodnocení sušiny a dalších chemických ukazatelů výživné hodnoty využívat spektrometrii v blízkočervené oblasti (NIRS). Při sklizni píce řezačkou se s využitím NIRS sledují parametry řezanky, především a zatím téměř výhradně se však sleduje obsah sušiny (Islam a Garcia, 2014). Systém palubního terminálu sbírá v nastavených intervalech data ze senzorů stroje. Závisí hlavně na nastavení palubního počítačového systému,

který je zodpovědný za sběr informací o pracovních podmínkách stroje na sklizeň píce, standardizované zpracování dat, přenos dat a v reálném čase jejich vyhodnocení. Signály ze senzorů slouží k třídění, analýze, ověření, uchování a poté přes sériový port k systému přenosu dat. Systém má v kabině řezačky vlastní displej, který umožňuje zobrazit informace v reálném čase i ve formě grafů a tabulek, aby řidič mohl zkontrolovat pracovní podmínky stroje. I když je možné pomocí NIRS získat kromě informací o obsahu sušiny i několik dalších ukazatelů, včetně stravitelnosti NDF, hodnocení se zatím soustřeďuje téměř výhradně na obsah sušiny (Han a kol., 2020).

Důležité informace nejen o množství vyrobených krmiv, ale i o jejich výživné hodnotě lze získat mapováním stavu vegetace pomocí leteckého snímkování. Lze říci, že použití leteckého snímkování ultralehkým bezpilotním prostředkem s multispektrální kamerou k monitorování porostu za účelem stanovení optimální doby sklizně, případně pro zjištění výživných hodnot či stravitelnosti je stále ještě novinkou, se kterou se zemědělská praxe ještě seznamuje. Pořízení snímků porostu z daného pozemku z výšky přináší ve většině případů zajímavé informace a souvislosti, kterých si při obchůzce nebo jednorázového odběru vzorků, byť i z několika míst, jen stěží povšimneme. Podstatou využití multispektrální kamery je skutečnost, že půda a vegetační pokryv odráží s rozdílnou intenzitou (popř. i vyzařuje) elektromagnetické záření. Odrazivost je závislá jak na druhu a stavu rostlin, tak na jejich hmotě. Multispektrální skener umožňuje snímat současně záření u několika vybraných vlnových délek, a to v celém rozsahu od viditelného spektra až po oblast tepelného záření.

Tento článek má cíl ve hledání korelací mezi chemickou analýzou kukuřice ze vzorků přímo na daném poli a výsledků, získaných ze stejného pole skenováním multispektrální kamerou v průběhu fotogrametrického cyklu UAV. Článek je zaměřen na odhalení dosud neprozkoumaných vztahů mezi nutričními parametry, získanými chemickou analýzou a vegetačními indexy, získanými zpracováním údajů z multispektrální kamery.

Materiál a metody

Vzorky kukuřice hybridu LG Apotheos FAO 500 byly odebírány na pozemku (souřadnice 49,1472789 N, 16.7701758 E) v blízkosti obce Prace (Obr. 1) v Jihomoravském kraji. Pro chemické analýzy bylo použito 10 vzorků ve třech opakováních. Vzorky byly chemicky analyzovány v laboratoři firmy NutriVet s.r.o. v Pohořelicích metodami podle AOAC (2016). Ve stejnou dobu jako odběr vzorků pro chemické analýzy byl zároveň porost skenován s využitím multispektrální kamery MicaSense RedEdge, umístěné na dronu DJI Matrice 600 Pro. Kamera funguje v 5 úzkých spektrálních pásmech a každý ze senzorů má rozlišení 1280 × 940 pixelů. Pro vytvoření letové trasy byla využita aplikace Pix4D Capture (2021).

Pro vyhodnocení výsledků byly vybrány 3 vegetační indexy: NDVI, NDRE a GNDVI (Huang a kol., 2021). Pro skenování byla přednastavena automatická sekvence režimu fotografování, založená na přesné poloze dronu. Obrázky byly uloženy na paměťové kartě spolu s metadaty, obsahujícími konkrétní umístění GPS, kde byly snímky pořízeny. Důležité bylo, že kamera obsahuje světelný senzor, resp. modul pro korekci expozice při různých intenzitách světla; senzor tak automaticky upravuje expozici fotoaparátu podle úhlu dopadajících paprsků a jas. Abychom kompenzovali odrazivost, kalibrovali jsme senzory před každým letem pořízením snímků panelu kalibrace šedi s uvedením známých parametrů (obr 3c). Panel zajišťuje, že obrázky zůstanou stabilní bez ohledu na světelné podmínky.

Obr. 1 Lokalita, kde pokus probíhal

Obr. 2 Detail zájmové oblast vizualizované v Pix4D Capture.

Obr. 3 UAV v provozu;

Obr. 4 Multispektrální kamera;

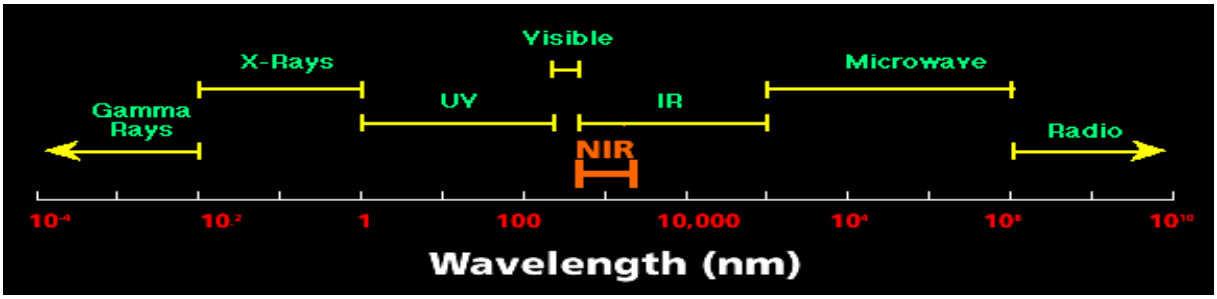
Obr.5 Kalibrační panel

Míra korelace byla specifikována prostřednictvím vypočteného korelačního koeficientu, který může mít hodnotu od −1 do +1. Pokud se koeficient rovná nule, pak neexistuje lineární vztah mezi monitorovaným parametrem a odrazivostí nebo indexu vegetace. Za středně silnou korelaci je považovány hodnoty od 0,4 po 0,6 a za velmi silnou nad 0,8.

Aby bylo možné rozhodnout, zda jsou korelační koeficienty dostatečně velké, bylo nutné vypočítat jejich statisticky podložený význam. Statisticky významná hodnota byla vypočtena podle Studentova t-rozdělení, se stupni volnosti n - 2. Při hledání statisticky významné hodnoty jsme vybrali úroveň významnosti 2% a pak kritická hodnota Studentova t-rozdělení se rovnala 3,143. Pokud je koeficient vyšší než kritická hodnota, korelaci lze považovat za statisticky významnou.
Pro výpočty byl použit program Statistica 10 (StatSoft, Tulsa, OK, USA), jednofaktorová analýza ANOVA, Tukey test a korelační analýza.

Výsledky a diskuse
V tab. 1 jsou výsledky korelační analýzy. Všechny změřené průměrné hodnoty odrazivostí spektrálních pásem (blue, green, red, red-edge, NIR) a vypočítané hodnoty vegetačních indexů (NDVI, NDRE and GNDVI) byly korelovány s průměrnými nutričními hodnotami z jednotlivých odběrů zjištěnými laboratorními rozbory odebraných vzorků rostlin.
Nejvyšší korelace (vyšší než 0,9) byla nalezena u hodnot sušiny pro indexy NDVI, NDRE a GNDVI, a v červeném spektru také u obsahu škrobu a stravitelnosti organické hmoty. U obsahu škrobu a stravitelnosti organické hmoty byla také zároveň velmi silná korelace nad 0,8 pro indexy NDVI a NDRE. V zeleném a červeném spektru byla velmi vysoká korelace také pro výnos sušiny. Z těchto skutečností můžeme usoudit, že silné korelace jsou použitelné pro předpovídání výnosu organické hmoty. Vyhodnocené korelace v jednotlivých úzkých spektrálních pásmech vedou k předpokladu silné korelace v červeném pásmu, které výrazně koreluje se všemi stanovenými nutričními hodnotami. Naopak nejslabší hodnoty korelačního koeficientu se nacházejí ve spektrálním pásmu NIR. Ani v jednom případě nebyly ve spektrálním pásmu NIR dosaženy středně silné hodnoty korelace. Domníváme se, že to je způsobeno vzdáleností kamery od snímaného objektu. V současné době jsou totiž spektrometry NIRS konstruovány na těsný kontakt čidla spektrometru se skenovaným objektem. Tento problém byl částečně eliminován současným skenováním multispektrální kamerou s čtyřmi různými vlnovými délkami, tedy pro barvu modrou 475 nm, zelenou 560 nm, červenou 668 nm a red-edge 717 nm. Near infrared bylo nastaveno na 840 nm. Tyto vlnové délky odpovídají stupnici převzaté z materiálů firmy Dinamica Generale (schéma 1).

Schéma 1: NIR v celém spektru vlnových délek



Stárnutí vegetace způsobuje pokles hodnot NDVI (Marino a Alvino, 2020). NDVI využívá červený pás, který je intenzivně absorbován horními částmi celkového povrchu rostliny. Nižší úrovně rostliny tak nepřispívají výrazně ke skutečnému měření, což zhoršuje korelaci mezi NDVI a výnosem rostlin. Tento efekt nabývá na významu u vysokých rostlin, které nesou více vrstev listů, k nim patří i kukuřice. Podle nižší korelace u NDF a SNDF lze usuzovat, že sklizeň proběhla v pozdější fázi zralosti, kdy už byly některé listy žluté. Podobný výzkum u kukuřice uskutečnili Herrmann a kol. (2020). Multispektrální kamerou, namontovanou na dronu, hodnotili u kukuřice výnos a fenologii (časový průběh periodicky se opakujících životních fází

rostlin. Největší citlivost hodnot odrazivosti byla dosažena v červeném spektru, naopak nejmenší rozlišovací schopnost ze sledovaných vegetačních indexů byla získána v zeleném spektru.

Tab. 1: Korelační koeficienty (%) mezi daty z multispektrálního snímání a chemické analýzy

Ukazatel	Spektrum					Vegetační indexy		
	Blue	Green	Red	Red-edge	NIR	NDVI	NDRE	GNDVI
Obsah sušiny [%]	0,80	0,86	0,87	0,69	0,01	-0,92	-0,92	-0,90
Škrob [% v suš.]	0,78	0,88	0,91	0,77	0,27	-0,88	-0,87	-0,75
NDF (% v suš.)	-0,60	-0,76	-0,81	-0,71	-0,39	0,72	0,70	0,58
SNDF (%)	0,61	0,48	0,64	0,52	0,26	-0,56	-0,38	-0,46
SOH (%)	0,70	0,84	0,91	0,77	0,33	-0,86	-0,80	-0,65
Výnos sušiny (t/ha)	0,70	0,82	0,84	0,74	0,36	-0,76	-0,77	-0,65

Kde NDF = neutrální detergentní vláknina, SNDF = stravitelnost NDF, SOH = stravitelnost organické hmoty. Spektrum Blue (pro barvu modrou) má vlnovou délku 475 nm, Green (zelenou) 560 nm, Red (červenou) 668 nm, red-edge 717 nm, NIR 840 nm. NDVI = Normalizovaná diference vegetačního indexu), NDRE = Normalizovaná diference pro index red-edge a GNDVI = Green normalizovaná diference vegetatačního indexu pro zelenou barvu.

K vyhodnocení statistické významnosti korelační koeficienty, použili jsme Studentův t-test s použitím hladiny významnosti 2 %; tomu odpovídá kritická hodnota Studentova T 3,143.

Tab. 2: Statistická významnost korelačních dat získaných multispektrálním zobrazováním a pomocí chemické analýzy

Ukazatel	Spektrum					Vegetační indexy		
	Blue	Green	Red	Red-edge	NIR	NDVI	NDRE	GNDVI
Obsah sušiny [%]	3,32	4,15	4,25	2,34	0,03	5,74	5,90	5,08
Škrob [% v suš,]	3,08	4,43	5,21	2,93	0,68	4,62	4,26	2,79
NDF (% v suš,)	1,85	2,90	3,43	2,48	1,04	2,54	2,38	1,74
SNDF (%)	1,87	1,34	2,04	1,51	0,66	1,67	1,01	1,26
SOH (%)	2,42	3,85	5,44	2,91	0,84	4,19	3,30	2,10
Výnos sušiny (t/ha)	2,40	3,57	3,83	2,71	0,94	2,87	2,95	2,07

Legenda stejná jako v tab. 1

Závěr

Experiment se zabýval mapováním stavu kukuřice pomocí leteckého snímkování multispektrální kamerou a porovnáním vypočtených vegetačních indexů s chemickými analýzami vzorků porostu. Z provedeného experimentu je zřejmé, že korelace mezi vybranými chemickými ukazateli zkoumaného hybridu kukuřice a parametry získanými z multispektrálního snímkování jsou silné, zejména u obsahu sušiny.
Podrobnější informace jsou uvedeny v práci Janoušek a kol. (2021).

Poděkování

Příspěvek vznikl za podpory projektu QK1810137.

Literatura

AOAC (2016): Official methods of analysis of AOAC international, 20th edition. (https://www.techstreet.com/standards/official-methods-of-analysis-of-aoac-international-20th-edition-2016?product_id=1937367#product)

Bausch, W.C., Halvorson, A.D., Cipra, J. (2008): Quickbird satellite and ground-based multispectral data correlations with agronomic parameters of irrigated maize grown in small plots. Biosyst. Eng., 101, 306–315, doi:10.1016/j.biosystemseng.2008.09.011.

Herrmann, I., Bdolach, E., Montekyo, Y., Rachmilevitch, S., Townsend, P.A., Karnieli, A. (2020): Assessment of maize yield and phenology by drone-mounted superspectral camera. Precis. Agric. 21, 51–76, (doi:10.1007/s11119-019-09659-5)

Han, S., Pang, Z., Wang, L., Wang, F., Li, Y., Mao, W. (2020): Research and application of Netty based condition monitoring system for forage harvesting machine IOP Conf. Ser.: Mater. China Sci. Eng. 782 052041, on-line.

Huang, S., Tang, L., Hupy, J.P., Wang, Y., Shao, G. (2021): A commentary review on the use of normalized difference vegetation index (NDVI) in the era of popular remote sensing J. Forestry Res. J. For. Res. 32(1), 1–6. (https://doi.org/10.1007/s11676- 020-01155-1)

Islam, M., Garcia, S. (2014): Prediction of dry matter yield of hybrid forage corn grown for silage. Crop. Sci. 54, 2362–2372, (doi:10.2135/cropsci2013.10.0710)

Janoušek, J., Jambor, V., Marcoň, P., Dohnal, P., Synková, H., Fiala, P. (2021): Using UAV-Based photogrammetry to obtain correlation between the vegetation indices and chemical analysis of agricultural crops. Remote Sens. 13, 1878-1898. (https://doi.org/10.3390/rs13101878)

Marino, S. a Alvino, A. (2020): Agronomic Traits Analysis of Ten Winter Wheat Cultivars Clustered by UAV-Derived Vegetation Indices. Remote Sens. 12, 249, doi:10.3390/rs12020249.

Pix4Dcapture (2021): Free Drone Flight Planning Mobile App. (https://www.pix4d.com/product/pix4dcapture)

Kontaktní adresa:

Ing. Radko Loučka, CSc.
VÚŽV v.v.i., Přátelství 815
104 00 Praha Uhříněves
Telefon: 731650836
e-mail: loucka.radko@vuzv.cz

Hodnocení stability a možnosti ovlivnění přídavkem dl-alfa-tokoferolu u lněného a konopného oleje

Evaluation of linseed and hemp oil stability and its influence by the fortification with DL-alpha tocopherol

Jarošová E.[1], Jarošová M.[1], Kyselka J.[2], Bárta J.[1], Lorenc F.[1], Bártová V.[1], Kobes M.[1]

[1] Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta
[2] Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav mléka, tuků a kosmetiky

Abstrakt

Oxidační změny u olejů jsou nežádoucím procesem. Jejich stabilita se odvíjí hlavně od skladby mastných kyselin, obsahu antioxidantů, přítomnosti kyslíku a skladovacích podmínek. Konopný a lněný olej jsou zdrojem pro tělo nezbytných nenasycených mastných kyselin, které zároveň zvyšují nestabilitu těchto olejů. V tomto příspěvku byl zkoumán vliv přídavku antioxidantu (DL-alfa-tokoferolu) o koncentraci 2g/l a 4g/l do oleje ihned po vylisování na následný průběh skladování oleje. U konopného oleje byl prokázán pozitivní efekt fortifikace tokoferolem. U lněného oleje způsobuje fortifikace tokoferolem jeho rychlejší oxidaci.

Klíčová slova: konopný olej, lněný olej, tokoferol, oxidační stabilita, doba skladování

Abstract

Oxidative changes in oils are an undesirable process. Their stability depends mainly on the composition of fatty acids, the content of antioxidants, the presence of oxygen and storage conditions. Hemp and linseed oil are a source of unsaturated fatty acids necessary for the body which also increase the instability of these oils. In this study, the effect of the fortification with antioxidant (DL-alpha-tocopherol) at a concentration of 2 g / l and 4 g / l to the oil immediately after pressing on the subsequent course of oil storage was investigated. For hemp oil has been shown the positive effect of tocopherol addition. In the case of linseed oil, fortification with tocopherol causing faster oxidation.

Keywords: hemp oil, linseed oil, tocopherol, oxidative stability, storage time

Úvod

Semena minoritních olejnin, kam patří mimo jiné len (*Linum usitatissum* L.) a konopí seté (*Cannabis sativa* L.) se díky svým nutričním vlastnostem a pozitivnímu vlivu na lidské zdraví dostávají do popředí zájmu spotřebitelů. Oleje ze semen těchto plodin jsou bohatým zdrojem pro tělo nezbytných nenasycených mastných kyselin a k tomu obsahují další důležité látky jako fytoestrogeny či fytosteroly.

Aby lidské tělo fungovalo naplno, musí být v rovnováze příjem Omega-3 a Omega-6 polynenasycených mastných kyselin. Ideální je poměr 1:1, ale v toleranci je až poměr 1:5. polynenasycenými kyselinami jsou Omega-3 (n-3) a Omega-6 (n-6), které se nazývají esenciálními čili pro naše tělo nezbytné (Simopoulos, 2002; Hamidioglu, 2019). Na druhou stranu právě tuky obsahující vyšší množství nenasycených mastných kyselin podléhají během skladování velice snadno nežádoucí oxidaci. Oxidované esenciální mastné kyseliny mají antimetabolický účinek, působí proti účinku původních esenciálních mastných kyselin. U oxidovaných esenciálních mastných kyselin se vytrácí jejich nutriční a pro člověka fyziologicky prospěšný účinek. V zachování stability a kvality (pozitivních výživových vlastností) olejů je oxidace klíčovým faktorem. Při oxidačním žluknutí dochází k oxidaci dvojných vazeb nenasycených mastných kyselin, zejména kyseliny linolové a linolenové. Oxidace může probíhat dvojím způsobem, a to buď jako autooxidace adicí vzdušného kyslíku, nebo jako oxidace katalyzovaná enzymy lipoxygenasami. Tyto produkty žluknutí mají negativní vliv na

senzorické vlastnosti olejů a jsou i zdravotné nežádoucí (Kalač, 1999; Schmidt, 2011). Autooxidace uhlovodíkového řetězce mastných kyselin a jiných uhlovodíků je radikálová řetězová reakce, která probíhá ve třech stupních: iniciace, propagace a terminace. Za běžných teplot oxidují nenasycené mastné kyseliny a jejich náchylnost k oxidaci roste s počtem dvojných vazeb (Velíšek, Hajšlová, 2009).
Během skladování dochází u rostlinných olejů k jejich degradaci a zhoršení jejich organoleptických vlastností. U olejů obsahujících polynenasycené mastné kyseliny dochází k oxidaci několikanásobně (až 20x) rychleji, než je tomu u mononenasycených mastných kyselin (Raikos et al., 2015). Hlavní vliv na tvorbu nežádoucích produktů oxidace v rostlinných olejích mají teplota a světlo. Vhodně zvolený způsob uskladnění může výrazně zpomalit degradaci olejů. Často bývají oleje uchovávány v tmavých skleněných lahvích, které chrání obsah proti světlu. Stabilita olejů souvisí s jeho odolností vůči budoucím změnám. Úroveň oxidace v počátečních fázích po otevření dává nedostatečnou informaci o pozdějším chování oleje. Z tohoto důvodu, je hodnocení stability oleje vůči oxidaci považováno za důležitou charakteristiku. Přidáním vhodných antioxidantů lze docílit zvýšení odolnosti vůči autooxidaci a tím i prodloužení nutriční kvality olejů (Prescha et al., 2014). Antioxidant můžeme definovat jako látku, která je schopná chránit proti oxidaci, a to již při nízkých koncentracích. Zpomalují oxidační proces nebo inhibují propagační autokatalyticku oxidaci tuků (Teh et al., 2014). Přírodní antioxidanty jsou zastoupené v různých formách – jako fenoly, flavonoidy, kumariny, xantany, lignany, tininy, kurkuminy, tokoferoly, lykopen a betakaroten. (Pokorný, 1991; Taghvaei et al., 2015). Důležitým požadavkem při výběru vhodného antioxidantu je teplotní stabilita během zahřívání. Bylo prokázáno, že většina přírodních antioxidantů (extrahovaných s rostlin) má větší antioxidační aktivitu a teplotní stabilitu než syntetické antioxidanty (Taghvaei et al., 2013). Cílem bylo vyhodnotit oxidační stabilitu lněného a konopného oleje a ovlivnění oxidační stability s přídavkem antioxidantu DL-alfa-tokoferolu.

Materiál a metody
Pro skladovací experiment byly vybrány dvě odrůdy konopí setého USO 31(jednodommá odrůda) a Finola (dvoudommá odrůda) a dvě odrůdy lnu setého olejného Libra (hnědosemená, vysoký obsah kys. α-linolenové) a odrůda Amon (žlutosemenná, nízký obsah kys. α-linolenové). Vzorky semen konopí setého byly získány od společnosti „HEMP PRODUCTION CZ, s.r.o." a semena lnu setého olejného byla vypěstována a sklizena na experimentálním pozemku v Českých Budějovicích. K získání čerstvého oleje byl použit kuchyňský lis (Yoda, Čína). Následně byl vylisovaný olej ponechán v lednici do druhého dne, aby dekantovaly případné nečistoty na dno. Po usazení byl k olejům přidán antioxidant čistý **DL-alfa-Tokoferol** (CAS 10191-41-0) od společnosti „Dr. Ladislav Hoffmann" v dávce 2 g/l a 4 g/l. Olej byl následně rozlit ve třech opakování do tmavých skleněných lahviček a uskladněn při pokojové teplotě bez přístupu světla. Olej po vylisování byl označen jako **A**. Následující odběry po 4 měsících byly označeny jako **B** a po 8 měsících **C**.
Stanovení **peroxidového čísla** bylo prováděno podle předepsané metodiky v normě ISO 3960. Do 250 ml Erlenmeyerovy baňky byl navážen na analytických vahách 1g vzorku oleje, který byl následně rozpuštěn v 50 ml směsi kyselina octová : isooktan (3:2, v/v). Poté bylo přidáno 0,5 ml nasyceného roztoku KI (175 g/100 ml). Následovalo třepání po dobu 1 minuty a přidání 100 ml deonizované vody a 6 kapek škrobového mazu (1 g/100ml). Vzorek byl titrován thiosíranem sodným z fialového zbarvení do mléčného zákalu. Peroxidové číslo bylo vypočítané podle následující rovnice:

$$P\check{C}(mEqO_2/kg) = \frac{(V - V_0) * c_{thio} * F * 1000}{m}$$

V = objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci vzorku (ml)
V_0 = objem odměrného roztoku spotřebovaný na slepý pokus (ml)
C_{thio} = molární koncentrace odměrného roztoku Na_2SO_4 (mol/l)
F = faktor odměrného roztoku
m = navážka vzorku (g)

Kyselost oleje byla stanovena titrací vzorku oleje, který byl po navážení 2 g do 250 ml Erlenmeyerovy baňky rozpuštěn ve 40 ml směsi ethanol/diethylether (1:1, v/v). K rozpuštěnému vzorku bylo přidáno 10 kapek indikátoru fenolftaleinu (1% alkoholový roztok) a tato směs byla titrována roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,1 mol/l do slabě růžového zbarvení, které vydrží alespoň 10 sekund (Bockisch, 1998). Číslo kyselosti bylo vypočítáno dle následující rovnice:

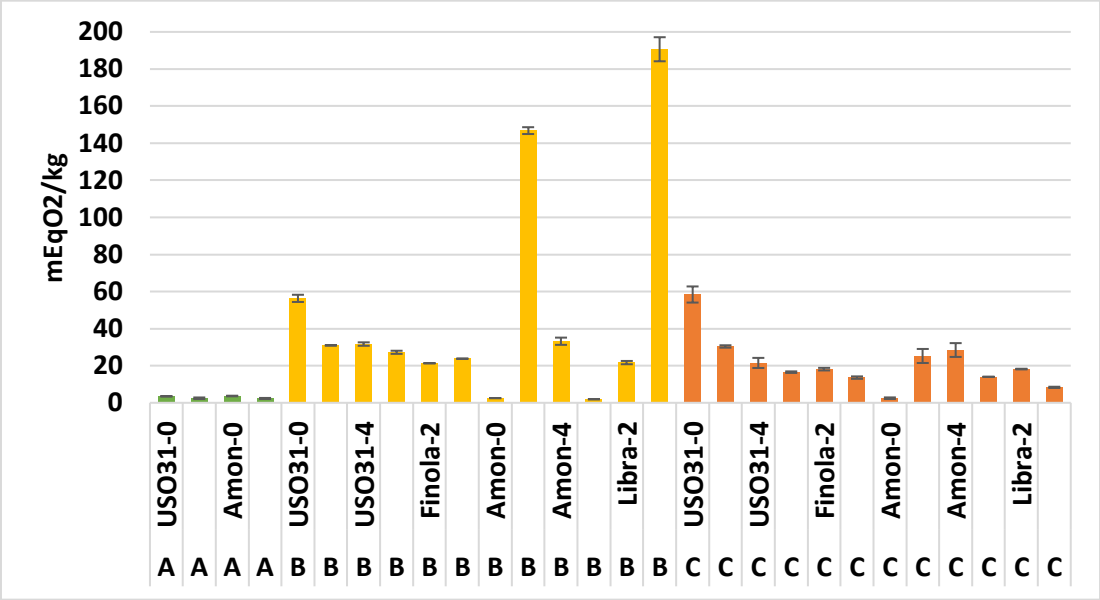
$$\check{C}K\left(mg\frac{KOH}{g}\right) = \frac{(a - b) * c * 56{,}1}{m}$$

a = objem odměrného roztoku spotřebovaný na titraci (ml)
b = objem odměrného roztoku spotřebovaný na slepý pokus (ml)
c = molární koncentrace odměrného roztoku NaOH (mol/l)
m = navážka vzorku (g)

Ke stanovení **indukční periody** byl použit přístroj Rancimat 743 (software Rancimat 743 1.0). Principem je stanovení změny elektrické vodivosti demineralizované vody, do které jsou absorbovány sekundární oxidační produkty lipidů, jako je kyselina mravenčí. Vzorek (2,5 ± 0,012 g) byl probubláván vzduchem o průtoku 20 l/h a oxidován za definovaných podmínek. Zkumavka se vzorkem byla umístěna ve vyhřívaném bloku při 120°C. Inflexní bod oxidační křivky se nazývá indukční perioda. Čím delší je indukční perioda, tím stabilnější je vzorek. Termín oxidační stabilita označuje odolnost olejů a tuků vůči oxidaci (metrohm.com).

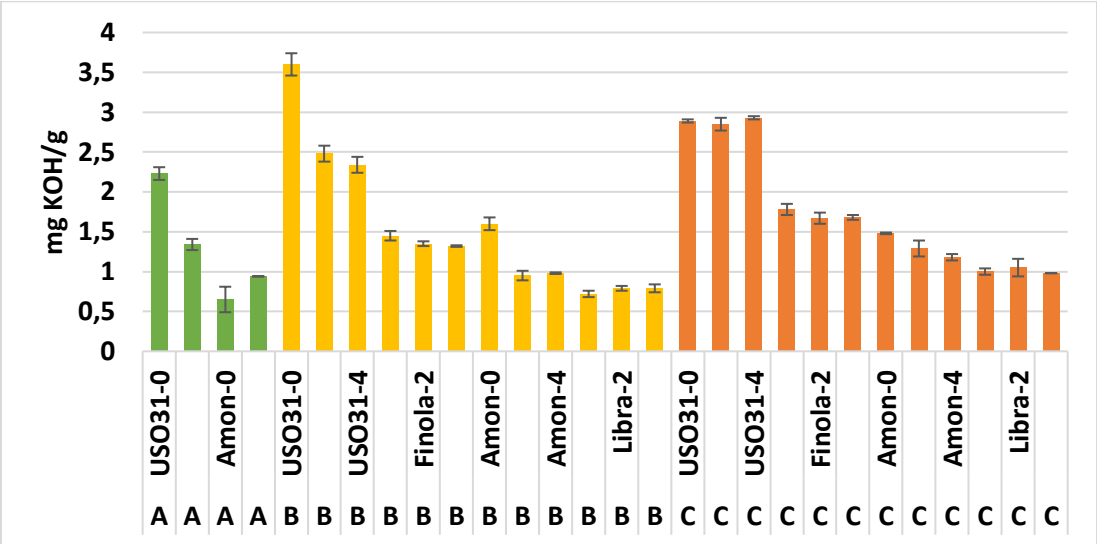
Výsledky a diskuze

Výsledné průměrné hodnoty peroxidového čísla oleje jsou zobrazeny na obrázku č.1. V čase **A** (krátce po vylisování oleje) jsou hodnoty u všech variant dle očekávání velmi nízké. V čase **B** (po 4 měsících skladování) byla u odrůdy USO31 hodnota peroxidového čísla nižší u obou variant s přídavkem tokoferolu (mezi koncentracemi nebyl významný rozdíl). Obdobný trend se ukázal i u odrůdy Finola. U lněného oleje naopak přídavek tokoferolu významně přispěl k oxidaci u oleje vylisovaného ze semen odrůdy Libra a Amon. U odrůdy Amon bylo nejvyšší peroxidové číslo při koncentraci 2g/l a u odrůdy Libra při koncentraci 4g/l.
V čase **C** (po 8 měsících skladování) byla u odrůdy USO 31 hodnota peroxidového čísla nejnižší u fortifikace tokoferolem 4g/l. U odrůdy Finola nebyly významné rozdíly. U obou odrůd lněného oleje došlo ke snížení peroxidového číslo oproti odběru v čase B. U odrůdy Amon bylo vyšší peroxidové číslo oproti kontrole a varianty s tokoferolem se příliš nelišily. U odrůdy Libra bylo peroxidové číslo nejnižší u fortifikace 4g/l (Wagner a Elmadfa, 2000).
Na obrázku č. 2 je znázorněno stanovení kyselosti oleje. Je z něj patrné, že nejvyšší hodnoty jsou od počátku u konopného oleje u odrůdy USO 31. Fortifikace antioxidantem nezpůsobuje významné rozdíly.



Obr. 1: Peroxidové číslo konopného a lněného oleje bez přídavku a s přídavkem DL-alfa-tokoferolu

Pozn. 0 – bez přídavku tokoferolu, 2 – přídavek tokoferolu 2g/l, 4 – přídavek tokoferolu 4g/l,
A – založení experimentu v čase 0, B – po 4 měsících, C – po 8 měsících; úsečky uvnitř sloupců grafu představují směrodatné odchylky.



Obr. 2: Číslo kyselosti konopného a lněného oleje bez přídavku a s přídavkem DL-alfa-tokoferolu

Pozn. 0 – bez přídavku tokoferolu, 2 – přídavek tokoferolu 2g/l, 4 – přídavek tokoferolu 4g/l, A – založení experimentu v čase 0, B – po 4 měsících, C – po 8 měsících; úsečky uvnitř sloupců grafu představují směrodatné odchylky.

Výsledné hodnoty indukční periody byly automaticky vyhodnoceny softwarem (software Rancimat 743 1.0) v hodinách. V tabulce č.1 jsou uvedeny průměrné hodnoty ze třech opakování. V čase 0 nebyla měřena indukční perioda u vzorků s fortifikací DL-alfa-tokoferolem a je v tabulce č.1 označena písmenem N.

Nejdelší indukční perioda (IP) byla naměřena na počátku u odrůdy Amon (nízký obsah kys. α-linolenové), zatímco nejnižší u odrůdy Libra (vysoký obsah kys. α-linolenové). To je v souladu s odlišnou skladbou mastných kyselin u těchto odrůd olejného lnu. Vliv antioxidantu po 4 měsících skladování olejů neměl pozitivní efekt na vývoj indukční periody (pouze u odrůdy Finola byla IP mírně delší oproti kontrole). U konopného oleje byla po 8 měsících delší IP u variant s fortifikací 4g/l u obou odrůd. U lněného oleje měly varianty s fortifikací kratší IP než kontrola.

Tab. 1: Indukční perioda (h) konopného a lněného oleje bez přídavku a s přídavkem DL-alfa-tokoferolu na přístroji Rancimat

		0 měsíc	4 měsíc	8 měsíc
Konopí USO 31	původní surový olej	1,88	1,76	0,77
	fortifikace 2 g α-TK/dm³	N	1,00	0,32
	fortifikace 4 g α-TK/dm³	N	0,41	0,95
Konopí Finola	původní surový olej	1,89	1,03	0,14
	fortifikace 2 g α-TK/dm³	N	1,28	0,32
	fortifikace 4 g α-TK/dm³	N	0,57	0,90
Len Amon	původní surový olej	2,70	2,01	2,25
	fortifikace 2 g α-TK/dm³	N	0,95	2,06
	fortifikace 4 g α-TK/dm³	N	2,01	2,13
Len Libra	původní surový olej	0,34	0,13	0,13
	fortifikace 0,2 g α-TK/dm³	N	0,17	0,17
	fortifikace 0,4 g α-TK/dm³	N	0,00	0,00

Pozn: N - neměřeno

Výsledky u lněného oleje poukazují na nevýhody použití varianty fortifikace alfa-tokoferolem na jeho oxidační stabilitu. Wagner a Elmadfa, 2000, popisuje vhodnost respektive nevhodnost účinku přidaného tokoferolu (v závislosti na jeho variantě) na oxidační stabilitu lněného oleje. Výsledky pro IP u lněného oleje ukazují negativní vliv vyšší koncentrace zejména u γ-tokoferolu.

Závěr

Mnoha výzkumy již bylo prokázáno, že nejvhodnější způsob skladování pro udržení oxidační stability je v podmínkách chladu okolo 4°C. V reálných podmínkách běžné domácnosti jsou však oleje skladovány často při pokojové teplotě. Skladovací podmínky této studie tak byly zvoleny, aby korelovaly s očekávanou situací podmínek skladování u běžného spotřebitele. Cílem bylo porovnat možný vliv fortifikace antioxidantem (DL-alfa-tokoferol) u zkoumaných olejů na jejich oxidační stabilitu. Peroxidové číslo a indukční perioda indikovaly během skladování lépe probíhající změny v oleji než číslo kyselosti oleje. Výsledky vykazují odlišnosti mezi vybranými druhy olejů a také jejich odrůdami a je z nich zřejmá důležitost výběru odrůdy pro dlouhodobé skladování olejů. U konopného oleje byl zaznamenán pozitivní efekt zpomalení oxidace pomocí antioxidantu zejména pro odrůdu USO 31. U obou variant lněného oleje byl prokázán negativní vliv antioxidantu na jeho oxidační stabilitu. Koncentrace tokoferolu 2 g/l, která se běžně využívá v olejích dostupných na trhu, se u lněného oleje neukázala jako vhodná,

jelikož obohacení oleje přispělo k jeho rychlejší oxidaci. To ukazuje na neuniverzálnost použití přídavku α-tokoferolu jako antioxidantu a rovněž důležitost zvolené koncentrace tokoferolu pro jednotlivé druhy oleje a dále vliv jejich odrůdy (odlišné skladby mastných kyselin).

Dedikace

Příspěvek vznikl v rámci řešení výzkumného projektu MZe NAZV QK1910302.

Použitá literatura

Bockisch, M. (1998). Fats and oils handbook. Champaign, Ill: AOCS Press.Chapter 9 - Analytical Methods 803-808.

Hamidioglu, I., A. Salaseviciene, G. Zaborskiene. (2019). Effects of natural herbal extracts on hemp (Cannabis Sativa L.) oil quality indicators. Foods and Raw Materials. 35-41,ISSN 2308-4057. doi:10.21603/2308-4057-2019-1-35-41

Měření oxidační stability v přírodních olejích a tucích | Metrohm. Object moved [online]. Copyright © Metrohm Česk [cit. 17.10.2021]. Dostupné z: https://www.metrohm.com/cs-cz/produkty/mereni-stability/rancimat/

Prescha A., M.Grajzer, M. Dedyk, H. Grajeta. (2014). The Antioxidant Activity and Oxidative Stability of Cold-Pressed Oils. Journal of the American Oil Chemists' Society. 91. 1291-1301. 10.1007/s11746-014-2479-1.

Pokorný, J. (1991). Natural antioxidants for food use. Trends in Food Science & Technology 2, 223-227, ISSN 09242244. doi:10.1016/0924-2244(91)90695-F

Raikos, V., V. Konstantinidi, G.Duthie. (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. doi 10.1111/ijfs.12896.

Schmidt, Š. (2011). Antioxidanty a oxidačné zmeny tukov v potravinách. Bratislava: Nakladateľstvo STU. Edícia monografií. ISBN 978-80-227-3491-2.

Simopoulos, A. P. (2002). The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. Biomedicine a pharmacotherapy, 56.8: 365-379.

Taghvaei, M., S. M. Jafari. (2013). Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. Journal of Food Science and Technology. 52.

Taghvaei, M., S. M. Jafari. (2015). Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives. Journal of Food Science and Technology. 52(3), 1272-1282. ISSN 0022-1155. doi:10.1007/s13197-013-1080-1.

Teh, S. S., A. Bekhit, J. Birch. (2014). Antioxidative Polyphenols from Defatted Oilseed Cakes: Effect of Solvents. Antioxidants. 3. 67-80. 10.3390/antiox3010067.

Velíšek, J. a J. Hajšlová. (2009). Chemie potravin. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 580 s. ISBN 978-80-86659-15-2.

Wagner, K. H., I. Elmadfa. (2000). Effects of tocopherols and their mixtures on the oxidative stability of olive oil and linseed oil under heating. European Journal of Lipid Science and Technology. 102: 624-629.

Kontaktní adresa:

Ing. Eva Jarošová
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta – katedra rostlinné výroby
Na Sádkách 1780, 370 05 České Budějovice
email: jarose02@zf.jcu.cz

Kvalita píce vojtěšky seté v podmínkách sucha

Quality of forage of alfalfa in drought condition

Lang J.[1], Nedělník J. [1], Loučka R. [2], Jambor V.[3]

[1]Zemědělský výzkum, spol. s r. o. Troubsko
[2]Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. Praha
[3]NutriVet Pohořelice

Abstrakt
Na lokalitě Troubsko byla zjišťována kvalita píce vojtěšky seté v suchých a teplých letech 2018 – 2020. Vojtěška byla sklízena třikrát ročně ve fázi butonizace. Bylo zjištěno, že sucho a teplo snižuje kvalitu píce formou předčasného stárnutí rostlin: dochází ke zvýšení obsahu sušiny, ke zvýšení obsahu neutrálně a acido detergentní vlákniny, při poklesu dusíkatých látek. V suchých letech je potřeba časovat sklizeň i na základě obsahu sušiny, nejen na základě růstové fáze rostliny. Obsah sušiny by neměl překročit 20 % podílu.
Klíčová slova: vojtěška, sucho, kvalita

Abstract
Forage quality was determined at locality Troubsko in dry and warm years 2018-2020. Alfalfa was harvested three times per year in the phase of butonisation. It was found that drought and warm conditions worsen biomass quality due to early senescence of plants. Dry matter content increase, neutral and acido-detergent fiber increase, nitrogen element content decrease. In dry years harvest date have to be properly selected - not only basing on growth phase, but also on dry matter content. Dry matter content should not exceed 20 %.
Keywords: alfalfa, drought, quality

Úvod

Vojtěška setá (*Medicago sativa* L., *Fabaceae*) pochází ze Střední Asie, odkud se na naše území se dostala v 17 století, ale hojněji se začínala využívat až na počátku dvacátého století. V současnosti je vojtěška dlouhodobě nejpěstovanější vytrvalou pícninou v České republice na orné půdě (ČSÚ, 2021). Dříve bývala pícninou teplých oblastí, s oteplováním klimatu však zasahuje v současné době i do vyšších nadmořských poloh. Běžně se s ní setkáváme v polohách kolem 600 m n. m. Nicméně limitním faktorem pro optimální růst a vývoj není teplota, ale půdní podmínky. Vojtěška vyžaduje hluboké půdy, je velmi citlivá na vyšší obsah skeletu v půdě, na vyšší hladinu spodní vody a vyžaduje množství vápníku a s tím související hodnotu pH, jehož optimum je v rozmezí 6,8-7,2. Vojtěška nejlépe roste při denních teplotách 15 – 25 °C, v noci by neměla klesat pod 10 °C (Jamriška a kol., 1998). Vojtěška snáší sušší podmínky, až 2/3 vody získává z hlubších vrstev.

Výživná hodnota vojtěšky je ovlivňována řadou faktorů. Mezi důležité faktory řadíme stáří porostu, pořadí seče, vegetační fázi, teplotou a také množstvím dešťových srážek v průběhu vegetace. U starších porostů můžeme očekávat přirozeně vyšší podíl vlákniny podobně jako u narůstajícího počtu sklizní v roce. Také vyšší teploty v průběhu vegetace ovlivňují obsah vlákniny resp. jednu ze složek vlákninového komplexu a to neutrálně detergentní vlákniny (NDF) v buněčných stěnách. Jejím nárůstem se obvykle snižuje stravitelnost organické hmoty. V případě vodního deficitu dochází nejen ke snížení výnosů, ale také ke snížení kvality, která je způsobena větší lignifikací pletiv (Míka a kol., 1997). Stravitelnost živin je ovlivněna jak obsahem vlákniny (podílem ligninu a obsahem celulózy), tak obsahem sekundárních

metabolitů, zejména fenolových látek (Scechovic, 1990, Kalač a Míka, 1997). Nejdůležitějším zdrojem energie u vojtěšky jsou listy. Jejich nejvyšší podíl na rostlině je ve fázi butonizace. Podle Skládanky a kol. (2014) může být ve fázi butonizace na roslině dosažen stejný podíl listů a lodyh. Tato fáze je relativně krátká, trvá 5 až 7 dní. V této fázi generativního vývoje je u vojtěšky dosažena nejvyšší koncentrace stravitelných živin a právě do této fáze časujeme sklizeň. Později se výrazně zvyšuje obsah vlákniny, snižuje se obsah dusíkatých látek a celkově obsah využitelné energie.

Materiál a metody

Na lokalitě Troubsko (Jižní Morava) byla v provozních podmínkách pěstována vojtěška setá odrůda Holyna. Porost byl založen v roce 2017, rok 2018 byl první užitkový. Kontinuálně od roku 2018 do roku 2020 byly odebírány vzorky vojtěšky a 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 dusíkaté látky (N-látky). Vzorky vojtěšky byly každoročně odebírány v termínech provozních sklizní ve fázi butonizace a v každém roce proběhly tři sklizně.

Lokalita Troubsko patří do řepařské výrobní oblasti, s nadmořskou výškou 270 m, průměrnou roční teplotou 8,6 °C, ve vegetaci (duben – září) 14,8 °C. Roční suma srážek činí 547 mm, ve vegetaci 346 mm. Poslední dekáda se vyznačuje značnými teplotními a srážkovými výkyvy. V letech trvání pokusu se počasí dá charakterizovat v roce 2018 jako mimořádně teplé a silně suché, v roce 2019 jako mimořádně teplé a vlhkostně normální, rok 2020 byl mimořádně teplý a vlhký. Přesné teplotní a srážkové údaje jednotlivých měsíců, půlroků a roků uvádí Tab. č. 3. Hodnocení počasí bylo provedeno dle Kožnarové a Klabzuby (2002). Pro podrobnou představu o srážkách a teplotách slouží Tab. č. 2 s kumulativními hodnotami k jednotlivým sklizním. Statistické hodnocení kvality vojtěšky (Tab. č. 4) bylo provedeno metodou analýzy variance (ANOVA $P<0.05$) s následným hodnocením Tukeyovým testem.

Tab. č. 2: Sumy teplot a srážek sečtené k termínu sklizní. 1.1.- 31. 3. jsou charakteristiky zimních a jarních měsíců, od 1. 4. se jedná o charakteristiky vegetačního období do 1. sklizně. Dále potom údobí mezi první a druhou a druhou a třetí sklizní.

rok	údobí	suma teplot [°C]	suma srážek [mm]
2018	1.1.-31.3.	67	56
	1.4.-10.5.	602	15
	11.5.-12.6.	638	49
	13.6.-27.9.	2155	159
2019	1.1.-31.3.	249,3	66,7
	1.4.-25.5.	617,2	77,1
	26.5.-28.6.	706,8	83,3
	29.6.-9.8.	861,7	77,8
2020	1.1.-31.3.	293,1	61,3
	1.4.-13.5.	449,9	40,3
	14.5.-3.7.	841	134
	4.7.-6.8.	641,5	93,5

Tab. č. 1: Termíny jednotlivých sklizní v letech 2018-2020

rok / pořadí sklizně	1. sklizeň	2. sklizeň	3. sklizeň
2018	10.5.	12.6.	27.9.
2019	25.5.	28.6.	9.8.
2020	13.5.	3.7.	6.8.

Tab. č. 3: Teplotní a srážkové hodnocení měsíců, půlroků a roků v letech 2018-2020

rok	2018				2019				2020			
ukazatel	teplota		srážky		teplota		srážky		teplota		srážky	
měsíc	průměr	hodnocení	suma	hodnocení	průměr	hodnocení	suma	hodnocení	průměr	hodnocení	suma	hodnocení
leden	1,9	2	33,4	0	-0,9	0	23,0	0	-0,2	1	8,5	-3
únor	-2,0	-1	10,8	-1	2,5	1	17,2	0	4,6	3	27,1	0
březen	2,1	0	12,4	-1	8,0	3	26,5	0	5,3	0	25,7	0
duben	14,5	3	10,7	-2	11,1	1	16,9	-1	9,9	0	20,3	0
květen	18,1	3	35,9	-1	12,2	-1	22,0	-2	12,6	0	65,4	0
červen	19,6	3	35,5	-1	22,0	3	65,4	0	18,0	1	87,2	0
červenec	21,6	2	39,7	0	20,4	2	60,4	0	19,5	2	59,0	0
srpen	22,8	3	15,0	-2	20,8	3	55,9	0	20,6	3	105,9	1
září	16,0	1	86,4	2	16,6	2	72,6	1	15,0	0	82,1	1
říjen	11,1	2	14,3	0	9,8	0	30,4	0	10,1	1	130,1	3
listopad	5,6	2	20,9	-1	6,8	3	40,1	0	4,5	1	23,4	-1
prosinec	1,5	1	25,3	0	2,0	2	42,9	1	2,4	2	36,8	0
duben-září	18,8	3	223,2	-1	17,2	3	293,2	0	15,9	1	419,9	1
celý rok	11,1	3	340,3	-2	10,9	3	473,3	0	10,2	3	671,5	1

Teplotní měsíc: -3 mimořádně studený, -2 silně studený, -1studený, 0 normální, 1 teplý, 2 silně teplý, 3 mimořádně teplý

Srážkový měsíc: -3 mimořádně suchý, -2 silně suchý, -1 suchý, 0 normální, 1 vlhký, 2 silně vlhký, 3 mimořádně vlhký

Výsledky a diskuze

Celý rok 2018 byl hodnocen jako mimořádně teplý a silně suchý, teplý půlrok (vegetační období duben – září) byl hodnocen jako mimořádně teplý a suchý. Při pohledu na jednotlivé měsíce byly únor a březen hodnoceny jako suché, duben jako mimořádně teplý a silně suchý (Tab. č. 3). Od začátku dubna do první sklizně (10. 5.) spadlo pouze 15 mm srážek, přičemž jenom dubnový normál pro tuto oblast je 33,1 mm. Ke druhé sklizni (12. 6.) spadlo pouze 49 mm srážek (Tab. č. 2), přičemž jenom květnový normál je 63,8 mm. Navíc měsíce květen a červen byly hodnoceny jako mimořádně teplé. Třetí sklizeň proběhla až koncem září, tedy po třech měsících. To je velmi neobvyklé. Nebýt zářijových srážek, ani by třetí sklizeň proběhnout nemohla. Souhra vysokých teplot a nedostatku srážek se projevila na celkové kvalitě píce a na zvýšeném obsahu přirozené sušiny. V první sklizni byl zjištěn obsah sušiny 23,04 %, ve druhé

sklizni 26,45 % a ve třetí sklizni 18,56 %. Pokles obsahu sušiny ve třetí sklizni je způsoben dostatkem vody z dešťových srážek. Nedostatek vody u prvních dvou sklizní se projevil i v obsahu NL, které byly ve srovnání se třetí sklizní statisticky průkazně nižší (19,76 %, resp. 18,29 %).

Obsah NDF je také v prvních dvou sklizních vysoký (46,91 %, resp. 47,51 %). Obsah ve třetí sklizni je statisticky průkazně nižší, a to 31,71 %. Obsah ADF je shodný s průběhem obsahu NDF, pouze s odlišným procentuálním zastoupením (Tab. č. 4). Obsahem popelovin spadá první a třetí sklizeň do jedné statistické skupiny, obsah ve druhé sklizni je průkazně nižší a to 9,10 %.

Rok 2019 je hodnocen jako mimořádně teplý a srážkově normální, stejně tak jako jeho teplejší půlrok (Tab. č. 3). Už toto hodnocení napovídá, že ve vegetaci spadlo více srážek, než v předchozím roce 2018 (Tab. č. 2). Sice teplotně nadprůměrné, ale srážkově normální předvegetační měsíce (leden – březen) zajistily dostatek vláhy pro lepší vývoj a kvalitu vojtěšky k první sklizni, i když měsíce duben a květen byly sušší. Obsah sušiny byl k první sklizni 16,48 %. Ve druhé seči obsah sušiny vzrostl na 23,53 %, což je průkazně vyšší hodnota ve srovnání s první sečí. Za nárůstem stojí nedostatek vláhy v měsících duben a květen, v kombinaci s červnovými vysokými teplotami. Ve třetí sklizni došlo k průkaznému poklesu obsahu sušiny na hodnotu 21,47 %. Za poklesem stojí srážkově normální měsíce červen a červenec, i když s vyššími teplotami, které vojtěšce, do jisté míry, prospívají. Podobný průběh mezi sklizněmi byl zjištěn i v obsahu NL. V první sklizni bylo zjištěno 23,03 % NL, průkazně více, než u druhé sklizně (21,03 %). Obsah NL ve třetí sklizni je 22,07 % a není průkazně odlišný mezi první a druhou sklizní. V obsahu NDF je nejnižší hodnota zjištěná u první sklizně (30,99 %), u dalších sklizní je hodnota průkazně vyšší (45,40, resp. 44,80 %), přičemž mezi druhou a třetí sklizní nebyl zjištěn rozdíl. Zastoupení ADF v sečích má podobný trend zastoupení obsahu NDF. V první sklizni je obsah nejnižší (24,22 %) ve druhé a třetí seči je obsah vyšší a to 34,45 a 34, 85 %. V obsahu popelovin má první seč statisticky průkazně nejvyšší zastoupení (12,41 %) ve srovnání s druhou sečí (10,36 %). Ve třetí seči bylo zjištěno 10,69 %.

Rok 2020 je hodnocen jako mimořádně teplý a vlhký. Teplejší půlrok je potom hodnocen jako teplý a vlhký (Tab. č. 3). V obsahu sušiny není mezi první a druhou sklizní statistický rozdíl. Ve třetí sklizni je potom obsah průkazně nižší a to 18,77 %. Obsah NL je v první sklizni 22,41 %, ve druhé sklizni 21,83 %, rozdíly jsou neprůkazné. Ve třetí sklizni je obsah NL průkazně vyšší a to 23,94 %. Obsah NDF je v první sklizni 36,57 %. Obsah v dalších dvou sklizních je průkazně vyšší a to 45,11 %, resp. 46,30 %. Podobný trend je i v obsahu ADF. V první sklizni bylo zjištěno průkazně méně ADF (27,47 %), než ve druhé (34,49 %) a třetí sklizni (34,37 %). V obsahu popelovin nebyl v roce 2020 zjištěn žádný průkazný rozdíl.

Sklizeň vojtěšky se časuje do fáze butonizace. Je to kompromis mezi kvalitou a výnosem sklízené píce. V této fázi je zastoupen vysoký podíl energie a stále vysoká stravitelnost organické hmoty a relativně vysoký výnos. Obsah sušiny bývá v této fázi značně variabilní, proto se sklizeň řídí spíše podle vývojové fáze rostliny. U vojtěšky bývá při sklizni obsah sušiny ve fázi butonizace obvykle v rozmezí 15,80 – 20,30 % (Zeman a kol., 1995; Třináctý a kol., 2013), se stárnutím rostliny sušina přirozeně narůstá. Radovic et al. (2009) ve své práci o významu a hodnocení vojtěšky uvádí sušinu na začátku kvetení 17,1 % ve fázi plného kvetení 23,4 %. Obsah sušiny, kromě genetického vlivu, pořadí sklizně a stáří porostu, ovlivňují také abiotické faktory (stresory), jako je nedostatek živin, světlo, horko, sucho a průmyslové emise (Procházka a kol., 1998). U vojtěšky je prokázáno, že při sklizni v pozdějších fázích (kvetení) se výrazně snižuje obsah organických živin (zejména NL) narůstá množství vlákniny, jejíž stravitelnost se snižuje. Míka a kol. (1997 a) zjistili, že případě vodního deficitu dochází k vyšší lignifikaci pletiv a tím ke snížení kvality píce. V našich měřeních jsme zjistili, že vlivem

sucha podpořeného vysokými teplotami dochází u vojtěšky v období butonizace k vyššímu nárůstu sušiny, než je pro tuto fázi obvyklé.

Dokládají to výsledky z roku 2018 a 2019, kdy v suchých údobích v roce 2018 (první a druhá sklizeň) se sušina ve fázi butonizace pohybovala v rozmezí 23,04 % - 26,45 % v závislosti na délce trvání deficitu vody. S vyšším množstvím sušiny došlo k navýšení podílu NDF, ADF a ke snížení podílu NL. K podobným závěrům přišli i Míka a kol. (1997 b), kteří zjistili, že vyšší teploty v průběhu vegetace zvyšují obsah NDF v buněčných stěnách a tím snižují stravitelnost organické hmoty. Ve třetí sklizni s dostatkem vody poklesl obsah sušiny 18,56 % a hodnoty NDF a ADF byly také nižší. Naopak, podíl dusíkatých látek vzrostl.

Ten samý jev v kvalitě se opakoval i v roce 2019 ve druhé a třetí sklizni při sušině 23,53 % resp. 21,47 % opět výrazně vzrostl podíl NDF i ADF ve srovnání se první sklizní při sušině 16,48 %. Vliv zkracujícího se dne ve třetí sklizni na dřívější stárnutí (Procházka akol., 1998) a s tím zhoršení kvality můžeme vyloučit termínem sklizně druhé (28.6.). Z uvedených výsledků vyplývá, že v suchých a teplých letech ve fázi butonizace při sušině 21,47 % došlo ke snížení kvality píce. Z výsledků nelze přesně určit bod zlomu v obsahu sušiny s ohledem na nízkou kvalitu, nicméně je jasné, že 21,47 % obsahu sušiny je již za tímto zlomem. Z výsledků lze tedy usuzovat, že zlomový bode nastává kolem 20 % obsahu sušiny.
Obsah popelovin vyjadřuje nespalitelnou část píce. V podstatě se jedná o obsah minerálnch látek, ale do této kategorie patří i nespalitelné části nečistot. To je důležitý parametr u pícnin, které zavadají na poli. Při sklizni, ale zvláště potom při sběru zavadlé píce, dochází různou mírou i k nechtěnému sběru i půdních částí (nejčastěji v případě krtinců), které jsou nositeli bakterií, způsobující zásadní hygienické problémy při konzervaci a při zkrmování. Obecně platí, že podíl popelovin nad 10 % je problematický, značí zvýšené znečištění a varuje hospodáře před potenciálními problémy při následném zpracování. Vliv počasí na obsah popelovin je nepřímý: může se jednat buď o zaprášené a nesmyté rostliny vlivem nedostatku deště, nebo o zvýšenou prašnost přeschlé půdy přímo při sklizni. Hodnocení kvality vojtěšky bylo provedeno na odrůdě Holyna a dá se předpokládat, že bude platné i pro jiné odrůdy. Přesné hodnoty pro každou odrůdu by se ale musely experimentálně odzkoušet.

Tab. č. 4: Statistické hodnocení vybraných kvalitativních parametrů vojtěšky v letech 2018-2020

rok	pořadí seče	sušina [%]	NDF [% sušiny]	ADF [% sušiny]	NL [% sušiny]	popel [% sušiny]
2018	1. seč	23,04 c-d	46,91 a	37,89 b	19,76 d-e	11,11 a-b
2018	2. seč	26,45 f	47,51 a	36,46 a-b	18,29 d	9,10 c
2018	3. seč	18,56 b	31,71 b	23,76 c	23,50 a,c	12,34 b
2019	1. seč	16,48 e	30,99 b	24,22 c-d	23,03 a,c	12,41 b
2019	2. seč	23,53 d	45,40 a	34,45 a-b	21,03 b	10,36 a
2019	3. seč	21,47 a	44,80 a	34,85 a-b	22,07 a,b	10,69 a-c
2020	1. seč	20,86 a	36,57 c	27,47 d	22,41 a-c	11,38 a-b
2020	2. seč	20,60 a	45,19 a	34,49 a-b	21,83 a-b	10,57 a
2020	3. seč	18,77 b	46,30 a	34,37 a	23,94 c	10,74 a-c

Písmena ve sloupcích v horním indexu zařazují varianty do skupin podle výsledků Tukeyova testu na hladině významnosti $P<0.05$.

Závěr

V našich oblastech se vojtěška setá stále řadí mezi nosné pícniny určené ke konzervaci. Je teplomilná, snáší přísušky. Nicméně i přes svůj hluboký kořenový systém mívá v suchých a teplých obdobích potíže a reaguje zrychleným stárnutím a snížením kvality píce. V běžných letech je stále dobré se řídit při sklizních fází vývoje (butonizace). V suchých navíc doprovázených vysokými teplotami je potřeba při časování sklizně přihlédnout i k obsahu sušiny a neřídit se pouze růstovou fází. Sušina by se měla pohybovat kolem 20 %. Při překročení této hranice dochází ke snížení kvality píce projevující se výrazným nárůstem vlákniny a snížení obsahu dusíkatých látek. Je potom na rozhodnutí hospodáře, zda bude mít vyšší výnos horší kvality, nebo sklidí méně, ale s vyšší kvalitou.

Poděkování

Výsledky byly získány v rámci řešení výzkumného projektu NAZV QK1810137.

Literatura

ČSÚ: Vojtěška setá, https://vdb.czso.cz/vdbvo2/faces/index.jsf?page=vystup-objekt&pvo=ZEM02A&z=T&f=TABULKA&skupId=346&katalog=30840&pvo=ZEM02A&evo=v545_!_ZEM02A2021_1#w=

Jamriška, P. a kol. (1998): Pestovanie ďatelinovín. Výzkumný ústav rastlinnej výroby, Piešťany. 68 s. ISBN 80-88720-04-4

Kalač, P., Míka, V.: Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech. Praha : ÚZPI, 1997. 317 s. : ISBN: 80-85120-96-8

Kožnarová, V., Klabzuba, J.: Doporučení WMO pro popis meteorologických, resp. Klimatologických podmínek definovaného období. Rostlinná výroba 2002: roč. 48, č. 4, s. 190 – 192.

Míka, V., Harazim, J., Kalač, P., Kohoutek, A., Komárek, P., Míka, V., Pavlů, V., Pozdíšek, J. (a): Kvalita píce. Praha: UZPI Praha, 1997, 227 s.

Míka, V., Kalač, P., 1997 (b): Přirozené škodlivé látky v rostlinných krmivech. Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha, s. 98–128.

Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J.: Fyziologie rostlin. Academia Praha 1998. ISBN 80-200-0586-2.

Radović, J., Sokolović, D., Marković, J.: Alfalfa- most important perennial forage legume in animal husbandry. Biotechnology in Animal Husbandry 25 (5-6), p 465-475, 2009 ISSN 1450-9156

Scechovic, J.: Vplyv roznych rastlinnych druhov na chemicke složenie a nutričnú hodnotu krmiva z prírodných trávných porastov. Agrochémia, 30, č. 9, 1990, s. 272–275.

Skládanka, J., a kol.: Pícninářství. Vydavatel: Mendelova univerzita v Brně, 2014, 368 s. ISBN 978-80-7509-111-6.

Zeman L. (ed.): Katalog krmiv (tabulky výživné hodnoty krmiv). Vydal VÚZV Pohořelice 1995. 465 s.

Kontaktní adresa:

Ing. Jaroslav Lang, Ph.D.
Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko
Zahradní 1
66441 Troubsko
email: lang@vupt.cz

Sladovnícka kvalita vybraných odrôd jačmeňa od 19. storočia po súčasnosť

Malting quality of selected barley varieties from the 19th century to the present

Némethová M.[1], Psota V. [2], Musilová M.[2], Babulicová M.[3], Ondrejovič M.[4]

[1]Ústav technologie potravin, Mendelova univerzita v Brně
[2] Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a. s, Brno
[3]NPPC – Výskumný ústav rastlinnej výroby, Piešťany, SR
[4]Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave, SR

Abstrakt
Skúmali sme 5 súborov odrôd jačmeňa: z prelomu 19. a 20. storočia, predvojnového obdobia, povojnového obdobia, vyšľachtené v 90. rokoch 20. storočia a súčasné. Obsah dusíkatých látok (NLb) a β-glukánov (BGw) v závislosti od času klesali. Najvyšší NLb mal Pudmerický pivovar – 18 %, najnižší IS Maltigo – 13,7 %. Najvyšší BGw mal Chlumecký – 1150 mg/l, najnižší IS Maltigo – 239 mg/l. Extrakt (E), dosiahnuteľný stupeň prekvasenia (DSP) a friabilita (F) narastali. Najnižší E mal Slovenský kvalitný – 69,8 %, najvyšší IS Maltigo – 81,6 %. Najvyšší DSP – 78,4 % mala Karmel, najnižší Slovenský 802 – 68,0 %. F bola najvyššia u IS Maltigo – 78,4 %, najnižšia u Krajovej Kolarovice – 38 %.
Kľúčové slová: sladovnícka kvalita, jačmeň jarný, staré odrody

Abstract
We examined 5 sets of barley varieties: from the turn of the 19th and 20th centuries, the pre-war period, the post-war period, bred in the 90s of the 20th century and the present. The content of nitrogenous substances (NLb) and β-glucans (BGw) decreased with time. P. pivovar had the highest NLb – 18%, the lowest IS Maltigo – 13.7%. The highest BGw had Chlumecký – 1150 mg/l, the lowest IS Maltigo – 239 mg/l. Extract (E), final attenuation (DSP) and friability (F) increased. The lowest E had S. kvalitný – 69.8%, the highest IS Maltigo – 81.6%. The highest DSP – 78.4% had Karmel, the lowest Slovenský 802 – 68.0%. F was the highest in IS Maltigo – 78.4%, the lowest in Krajová Kolarovice – 38%.
Keywords: malting quality, spring barley, old varieties

Úvod

Staré odrody jačmeňa sa i v dnešnej dobe môžu uplatniť vďaka niektorým špecifickým technologickým vlastnostiam alebo pre schopnosť adaptácie na určitý druh stresu. O kvalite starých odrôd je v súčasnosti dostupné malé množstvo informácií. Je predpoklad, že staré odrody disponujú vlastnosťami, ktoré by bolo možné uplatniť v súčasnosti pri šľachtení nových odrôd (Psota et al. 2009). Kvalita sladu sa hodnotí podľa úrovne modifikácie bunkovej steny cytolytickými enzýmami, modifikácie dusíkatých látok proteolytickými enzýmami a škrobnatých látok amylolytickými enzýmami (Psota a Ehrenbergerová 2008). Cieľom predloženej práce bolo zhodnotiť vybrané kvalitatívne ukazovatele vybraných odrôd jačmeňa.

Materiál a metódy

Vzorky starých odrôd jačmeňa boli získané v NPPC - VÚRV Piešťany v roku 2019. Vzorky odrôd jačmeňa boli sladované v mikrosladovacom zariadení KVM (Uničov, Česká republika). Pri sladovaní a analýze vzoriek boli použité metodiky MEBAK (2011), EBC Analysis Comitee (2010). Kvalita odrôd bola hodnotená pomocou ukazovateľa sladovníckej akosti – USJ (Psota a Kosař 2002).

Výsledky a diskusia

Súbory hodnotených odrôd zachytávajú šľachtiteľský progres, ktorým prešiel jarný jačmeň od krajových odrôd cez odrody vzniknuté cieleným výberom a následne krížením.

Odrody Krajová Kolarovice, Krajová z Orlovej, Krajová Starý Hrozenkov, Šumavský, Chlumecký, Stupický Staročeský a Zborovický Kargyn sú zástupcami krajových odrôd pestovaných na prelome 19. a 20. storočia. Radošinský 657, Nitriansky, Opavský Kneifel, Buciansky vznikli cieleným výberom v predvojnovom období. Odrody Slovenský kvalitný, Víglašský polojemný, Slovenský 802, Slovenský jemný, Slovenský dunajský trh, Radošinský Sladár, Pudmerický pivovar a Diosecký Kneifel vznikli krížením v povojnovom období. Odrody Jubilant, Kompakt, Expres boli vyšľachtené v 90 rokoch 20. storočia. Zástupcami súčasných odrôd sú Karmel a IS Maltigo.

Tab. 1: Súbor odrôd z prelomu 19. a 20. storočia

		USJ	NLb	E	RE45	K	DM	DSP	F	BGw
		9 - 1	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg/l
	Krajová Kolarovice	2,0	16,8	74,4	37,0	31,5	554	69,5	38	760
	Krajová z Orlovej	2,3	16,8	76,0	41,7	34,5	428	69,6	57	875
	Krajová St. Hrozenkov	2,3	16,2	76,4	42,5	34,7	289	73,6	41	719
1920	**Šumavský**	2,3	17,7	75,4	39,0	31,7	306	71,9	39	940
1902	**Chlumecký**	2,1	15,6	77,7	37,8	33,2	294	70,2	45	1150
1919	**Zborovický Kargyn**	2,1	16,0	77,1	37,8	33,5	300	73,1	56	792
1927	**Stupický Staročeský**	2,0	15,8	76,6	37,2	28,4	385	77,3	48	1040
	Priemer	2,1	16,4	76,2	39,0	32,5	365	72,2	46	897
	MIN	2,0	15,6	74,4	37,0	28,4	289	69,5	39	719
	MAX	2,3	17,7	77,7	42,5	34,7	554	77,3	57	1150

Skupinu najstarších odrôd tvoria krajové odrody, ktoré vznikali v priebehu 19. storočia a odrody vzniknuté na počiatku 20. storočia. Z výsledkov (*Tab. 1*) vyplýva, že vzorky mali z pohľadu dnešných požiadaviek na kvalitu sladovníckej akosti nedostatočné parametre (Psota a Kosař 2002). Obsah dusíkatých látok (NLb) by sa mal pohybovať v rozmedzí 9,5 – 11,7 %. Všetky odrody vykazujú vyššie hodnoty. Vyšší obsah NLb u týchto a iných starých odrôd jačmeňa zistili tiež Marečková et al. (2010). Cytolytické rozlúštenie charakterizujú parametre friabilita (F) a obsah β-glukánov v sladine (BGw). Minimálne hodnoty friability by mali predstavovať 79 %. Všetky odrody zo súboru majú friabilitu nedostatočnú. Obsah β-glukánov by mal byť čo najnižší, pod 250 mg/l. Všetky odrody v súbore majú obsah β-glukánov vyšší, čo nie je žiaduce. O úrovni proteolytického rozlúštenia informujú Kolbachovo číslo (K) a relatívny extrakt pri 45 ºC (RE45). Hodnoty Kolbachovho čísla by mali byť v rozmedzí 40 – 53 %. Výsledky naznačujú, že všetky odrody majú hodnoty nedostatočné. Relatívny extrakt má podľa USJ spadať do intervalu 35 – 53 %, čomu vyhovujú všetky odrody jačmeňa zo skúšaného súboru. Amylolytické rozlúštenie charakterizujú parametre extrakt (E), diastatická mohutnosť (DM), dosiahnuteľný stupeň prekvasenia (DSP). Podľa USJ by mal byť obsah extraktu vyšší než 81,5 %. Túto hodnotu neprekročili žiadne z uvedených odrôd. Ďalším znakom popisujúcim amylolytické rozlúštenie je diastatická mohutnosť. V súčasnosti je požadovaná minimálna hodnota pre DM 220 j.WK. U sledovaného súboru túto požiadavku spĺňajú všetky odrody. Pre dosiahnuteľný stupeň prekvasenia je požadovaná hodnota min. 79 %. Toto kritérium nespĺňa ani jedna odroda zo súboru. Podobnou úroveň sladovníckej kvality zistila Olšovská et al. (2018)

u prvej odrody, ktorá vznikla individuálnym výberom na území dnešnej Českej republiky v roku 1884.

Tab. 2 Súbor predvojnových odrôd sladovníckeho jačmeňa

		USJ	NLb	E	RE45	K	DM	DSP	F	BGw
		9 - 1	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg/l
1936	**Radošinský 657**	2,2	16,9	75,7	38,5	31,2	454	73,3	46	773
1938	**Nitriansky**	2,3	17,2	76,0	42,6	31,5	380	72,0	49	858
1939	**Opavský Kneifel**	2,2	17,3	75,4	43,3	32,8	273	73,3	45	898
1940	**Buciansky**	1,4	17,7	75,2	54,3	33,8	313	73,5	45	969
	Priemer	2,0	17,3	75,6	44,7	32,3	355	73,0	46	875
	MIN	1,4	16,9	75,2	38,5	31,2	273	72,0	45	773
	MAX	2,3	17,7	76,0	54,3	33,8	454	73,5	49	969

Žiadne odrody v tabuľke (*Tab. 2*) nevyhovujú požiadavkám na obsah dusíkatých látok. Z pohľadu USJ sú hodnoty vysoké. Prijateľné hodnoty friability, β-glukánov, dosiahnuteľného stupňa prekvasenia, extraktu, Kolbachovho čísla nevykazuje ani jedna odroda jačmeňa z vybraného súboru. Kritériá pre parametre relatívny extrakt pri 45 ºC a diastatickú mohutnosť spĺňajú všetky odrody. Kvalitu niektorých odrôd vzniknutých v predvojnovom období zachytili Psota a Sachambula 2010 a Psota et al. 2017.

Tab. 3: Súbor povojnových odrôd sladovníckeho jačmeňa

		USJ	NLb	E	RE45	K	DM	DSP	F	BGw
		9 - 1	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg/l
1946	**Slovenský kvalitný**	2,3	14,9	69,8	40,2	29,7	333	77,0	55	632
1946	**Víglašský polojemný**	2,2	16,5	75,5	42,2	31,2	269	72,1	42	1030
1946	**Slovenský 802**	2,3	17,6	75,7	40,7	30,0	512	68,0	43	943
1946	**Slovenský jemný**	1,4	16,4	76,3	34,5	33,3	280	73,7	51	944
1946	**Slovensky dunajský trh**	2,3	14,8	77,6	39,0	32,6	309	76,8	52	1080
1948	**Pudmerický pivovar**	2,3	18,0	75,7	42,5	32,1	557	73,2	48	527
1948	**Radošinký Sladár**	2,3	16,2	75,7	40,3	31,0	393	75,0	50	740
1948	**Diosecký Kneifel**	2,3	17,0	77,0	43,5	33,5	379	72,1	48	892
	Priemer	2,2	16,4	75,4	40,4	31,7	379	73,5	49	849
	MIN	1,4	14,8	69,8	34,5	29,7	269	68,0	42	527
	MAX	2,3	18,0	77,6	43,5	33,5	557	77,0	55	1080

Podľa výsledkov (*Tab. 3*) je obsah dusíkatých látok nevyhovujúci u každej odrody. V porovnaní s predchádzajúcimi hodnotami (*Tab. 1, Tab. 2*) má obsah dusíkatých látok klesajúci charakter. Parametre: extrakt, Kolbachovo číslo, dosiahnuteľný stupeň prekvasenia, friabilita, obsah β-glukánov v sladine sú z pohľadu USJ nevhodné. Kritériá pre parametre: relatívny extrakt pri 45 ºC a diastatická mohutnosť spĺňajú všetky odrody zo sledovaného súboru (Psota a Kosař 2002). I napriek vysokému obsahu NLb je možné vidieť stúpajúcu kvalitu u povojnových odrôd, obdobne bol tento progres zachytený v publikácii od Psotu et al. 2017.

Tab. 4: Súbor odrôd sladovníckeho jačmeňa vyšľachtených v 90. rokoch 20. storočia

		USJ	NLb	E	RE45	K	DM	DSP	F	BGw
		9 - 1	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg/l
1991	**Jubilant**	2,3	14,1	79,6	39,4	35,0	302	74,8	74	299
1995	**Kompakt**	2,2	14,9	79,5	38,5	37,1	381	73,9	75	277
1999	**Expres**	2,2	15,0	78,5	38,3	35,2	344	76,5	62	586
	Priemer	2,2	14,7	79,2	38,7	35,8	342	75,1	70	387
	MIN	2,2	14,1	78,5	38,3	35,0	302	73,9	62	277
	MAX	2,3	15,0	79,6	39,4	37,1	381	76,5	75	586

Výsledky (*Tab. 4*) vyhovujú požiadavkám USJ (Psota a Kosař 2002) v parametroch: relatívny extrakt pri 45 ºC, diastatická mohutnosť. Parametre: friabilita, obsah β-glukánov v sladine, extrakt, Kolbachovo číslo, dosiahnuteľný stupeň prekvasenia a obsah dusíkatých látok sú podľa USJ nedostatočné. Odrody uvedené v *Tab. 4* mali priemerne o 2-3 % nižší obsah dusíkatých látok v porovnaní s predchádzajúcimi odrodami (*Tab 1, Tab. 2, Tab. 3*). Súbor odrôd (*Tab. 4*) vykazuje výrazné zvýšenie priemernej hodnoty u extraktu – cca o 3 % v porovnaní s predchádzajúcimi skupinami odrôd (*Tab 1, Tab. 2, Tab. 3*). Priemerná hodnota β-glukánov v sladine klesá v porovnaní so staršími odrodami o 400 – 500 mg/l (*Tab 1, Tab. 2, Tab. 3*). Odroda Kompakt patrila k jedným z prvých odrôd s nízkym obsahom β-glukánov v sladine (Psota et al. 2002).

Tab. 5: Súbor súčasných odrôd sladovníckeho jačmeňa

		USJ	NLb	E	RE45	K	DM	DSP	F	BGw
		9 - 1	%	%	%	%	j.WK	%	%	mg/l
2010	**Karmel**	1,4	14,9	81,1	30,8	34,7	398	78,4	63	478
2018	**IS Maltigo**	2,7	13,7	81,6	37,9	40,8	476	76,1	78	239
	Priemer	2,0	14,3	81,4	34,4	37,8	437	77,3	71	359
	MIN	1,4	13,7	81,1	30,8	34,7	398	76,1	63	239
	MAX	2,7	14,9	81,6	37,9	40,8	476	78,4	78	478

Obe vzorky zo súboru súčasných odrôd sladovníckeho jačmeňa (*Tab. 5*) majú z pohľadu USJ (Psota a Kosař 2002) nevyhovujúce hodnoty u parametrov: dusíkaté látky v jačmeni, dosiahnuteľný stupeň prekvasenia, friabilita. Obe odrody vyhovujú požiadavke na diastatickú mohutnosť. Extrakt, obsah β-glukánov a Kolbachovo číslo u odrody IS Maltigo spĺňajú požiadavky na sladovnícky jačmeň. U odrody Karmel sa extrakt nachádza tesne pod hranicou prijateľnosti - 81,5 %. Kolbachovo číslo dosahuje pri odrode Karmel nízke hodnoty. Požiadavku na relatívny extrakt pri 45 ºC spĺňa iba odroda IS Maltigo. Odrody Karmel a IS Maltigo dosiahli v dobe registrácie za optimálneho obsahu NLb vynikajúcu sladovnícku kvalitu (Psota et al. 2010, 2018). V porovnaní súboru súčasných odrôd (*Tab. 5*) s ostatnými skupinami odrôd (*Tab. 1 - 4*) pozorujeme od minulosti po súčasnosť klesanie podielu dusíkatých látok v jačmeni a β-glukánov v sladine. Hodnota extraktu, dosiahnuteľného stupňa prekvasenia a friability v čase narastá.

Záver

Skúmali sme 5 súborov odrôd sladovníckeho jačmeňa: súbor odrôd z prelomu 19. a 20. storočia, predvojnového obdobia, povojnového obdobia, odrody jačmeňa vyšľachtené v 90. rokoch 20. storočia a súbor súčasných odrôd. Zaoberali sme sa parametrami súvisiacimi s cytolytickým rozlúštením zrna jačmeňa – friabilita, obsah β-glukánov v sladine, proteolytickým rozlúštením – relatívny extrakt pri 45 °C, Kolbachovo číslo, amylolytickým rozlúštením – extrakt v sušine sladu, dosiahnuteľný stupeň prekvasenia, diastatická mohutnosť. V rámci požiadaviek na sladovnícky jačmeň sa hodnotí aj obsah dusíkatých látok v zrne jačmeňa.

Významné zmeny u jačmeňa používaného na sladovnícke účely sme zaznamenali pri parametroch: obsah dusíkatých látok, extrakt, dosiahnuteľný stupeň prekvasenia, friabilita a obsah β-glukánov v sladine. Obsah dusíkatých látok v jačmeni bol u starších odrôd vyšší ako u súčasných. Najvyššiu hodnotu sme zaznamenali u odrody Pudmerický pivovar – 18 %, najnižšiu u odrody IS Maltigo – 13,7 %. Priemer hodnôt NLb všetkých odrôd predstavuje 16,2 %. Extrakt má stúpajúci charakter smerom k súčasnosti. Najnižší extrakt mala odroda Slovenský kvalitný – 69,8 %, najvyšší odroda IS Maltigo – 81,6 %. Priemerná hodnota extraktu sa pohybovala na úrovni 76,6 %. Dosiahnuteľný stupeň prekvasenia nadobúda u novších odrôd vyššie hodnoty, maximálna hodnota 78,4 % bola zaznamenaná u Karmel, minimálna hodnota u Slovenského 802 – 68,0 %,. Priemer predstavuje 73,5 %. Friabilita nadobúdala najvyššie hodnoty pri aktuálne pestovanej odrode IS Maltigo – 78,4 %, u novších odrôd nadobúda vyššie hodnoty. Najnižšiu friabilitu sme zaznamenali u odrody Krajová Kolarovice – 38 %. Priemerná hodnota je 52,0 %. Obsah β-glukánov v sladine je u starších odrôd vyšší ako u novších. Najvyšší bol u Chlumeckého – 1150 mg/l, najnižší u IS Maltigo – 239 mg/l. Priemer sa pohyboval na úrovni 768,4 mg/l. Pri ostatných parametroch (relatívny extrakt pri 45 °C, Kolbachovo číslo a diastatická mohutnosť) sme nezaznamenali zmeny. Z výsledkov analýzy vyplynulo, že zmeny v technologických vlastnostiach odrážajú šľachtiteľský progres.

Dedikácia

Prezentované výsledky boli získané v rámci projektu 304011P506 (program Interreg V-A SK-CZ).

Literatúra

EBC Analysis Committee. 2010: Analytica EBC. Nüremberg: Fachverlag Hans Carl, 794 p. ISBN 978-3-418-00759-5.

Marečková, J., Psota, V., Sachambula, L. 2010: Agronomic parameters and characteristics of old barley varieties under the conditions of forage production area, crop 2009. Kvasný Průmysl. 56(4), pp. 195-200.

MEBAK, 2011: Mitteleuropäischen Bautechnischen Analysen Kommission, Freising-Weihenstephan, Germany.

Olšovská, J., Mikyška, A., Čejka, P., Slabý, M., Psota, V. 2018: Study of technological properties of the historical barley variety Proskovcuv hanacky. Kvasný Průmysl. 64(4), pp. 167–172.

Psota, V., Ehrenbergerová, J. 2008: Ječmen. In Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisícletí. VÚPS: Praha, pp. 116–132. ISBN 798-80-86576-28-2.

Psota, V., Kosař, K. 2002: Malting quality index. Kvasný Průmysl, 48(6), pp. 142–148.

Psota, V., Sachambula, L. 2010: Malting quality of old barley varieties. Kvasný Průmysl. 56(4), pp. 240–246.

Psota, V., Sachambula, L., Svorad, M., 2010: Barley varieties registered in the Slovak Republic in 2010. Kvasny Prum. 56(9), pp. 367–372.

Psota, V., Svorad, M., Musilová, M., 2018: Barley varieties registered in the Slovak Republic after harvest 2017. Kvasný Průmysl. 64(3). pp. 111–116.

Psota, V., Hartmann, J., Sýkorová, Š., Loučková, T., Vejražka, K. 2009: 50 Years of Progress in Quality of Malting Barley Grown in the Czech Republic. Journal of the Institute of Brewing. 115(4), pp. 279–291.

Psota, V., Krajčovič, T., Križanová, K., Sachambula, L. 2017: History and progress of barley breeding in Sládkovičovo. Kvasný Průmysl. 63(2), pp. 70–80.

Psota, V., Ehrenbergerová, J., Havlová, P., Hartmann, J. 2002: Betaglucan content in caryopses, malt and wort of the selected spring barley varieties. Monatsschrift für Brauwissenschaft. 55(1/2), pp. 10–14.

Kontaktní adresa:

Ing. Michaela Némethová
Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta, Ústav technologie potravin
Zemědělská 1
613 00 Brno
+421 908 321 625, xnemeth1@mendelu.cz

Biochemická charakterizace laktobacilů z divokých a domácích prasat a vliv krmných směsí na jejich růst

Biochemical characterization of lactobacilli from wild and domestic pigs and the influence of feed mixtures on their growth

Pechar R.[1], Morávková M.[2], Kostovová I.[2], Babák V.[2], Staněk S.[3], Brychta A.[3]

[1]Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i
[2]Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Brno
[3]Mikrop Čebín a.s.

Abstrakt

Cílem studie bylo otestovat biochemické charakteristiky vybraných kmenů laktobacilů pomocí API testů a sledovat jejich růst v prostředí 6 různých kompletních krmných směsí pro odstavená selata. Testovány byly kmeny *Lactobacillus amylovorus, Limosilactobacillus mucosae* a *Lim. reuteri*, izolované z gastrointestinálního traktu divokých a domácích prasat. Fermentační a enzymové profily byly stanoveny celkem u 30 kmenů. Největší shodu v profilech utilizovaných substrátů vykazoval druh *L. amylovorus*, naopak největší variabilita v utilizaci substrátů byla pozorována u druhu *Lim. reuteri*. Z 9 kmenů *L. amylovorus* s prokázanou produkcí α-galaktosidázy byla pouze u 8 kmenů potvrzena přítomnost genu *melA* prostřednictvím celogenomového sekvenování. Na základě statistické analýzy nebyl prokázán vliv jednotlivých krmných směsí na růst testovaných kmenů, druhová závislost růstu laktobacilů v prostředí krmných směsí prokázána byla.

Klíčová slova: Probiotika, chov prasat, druhová a kmenová specificita.

Abstract

The aim of the study was to test the biochemical characteristics of selected strains of lactobacilli using API tests and to monitor their growth in the environment of 6 different complete feed mixtures for weaned piglets. Strains of *Lactobacillus amylovorus, Limosilactobacillus mucosae* and *Lim. reuteri*, isolated from the gastrointestinal tract of wild and domestic pigs were tested. Fermentation and enzyme profiles were determined in a total of 30 strains. The greatest agreement in the profiles of utilized substrates showed the species *L. amylovorus*, on the contrary the greatest variability in the utilization of substrates was observed in the species *Lim. reuteri*. Of the 9 *L. amylovorus* strains with proven α-galactosidase production, only 8 strains confirmed the presence of the *melA* gene by whole genome sequencing. Based on the statistical analysis, the influence of individual feed mixtures on the growth of the tested strains was not proven, the species dependence of the growth of lactobacilli in the environment of feed mixtures was proved.

Keywords: Probiotics, pig breeding, species and strain specificity.

Úvod

Jednou z možností, jak zlepšit zdraví prasat a jejich přírůstky může být aplikace preparátů obsahujících probiotické mikroorganismy. Tyto preparáty mají příznivý vliv na konverzi krmiva a mohou např. snižovat i emise amoniaku. Po zařazení probiotik do krmné dávky bylo dosaženo vyšší stravitelnosti a absorpce živin u odstavených selat, byla prokázána lepší stravitelnost proteinů, organické hmoty, ale i vlákniny. Vyšší stravitelnost živin je přikládána zvýšené enzymatické aktivitě, ta může být dána přímo produkcí enzymů probiotickými bakteriemi samotnými nebo nepřímo indukovanou změnou ve složení mikrobioty a následným zvýšením enzymatické aktivity způsobené ostatními bakteriemi obývajícími trávicí trakt. Ideálním zdrojem probiotických bakterií pro domácí prasata jsou jednak domácí prasata samotná, významný zdroj ale mohou představovat i prasata divoká. Mezi nejčastěji studované a používané mikroorganismy v probiotických preparátech pro prasata, patří laktobacily. Kmeny

laktobacilů mohou využívat širokou škálu substrátů a spektrum substrátů se může významně lišit mezi druhy i kmeny.
Cílem této studie bylo otestovat biochemické charakteristiky vybraných kmenů laktobacilů 3 druhů, tj. *Lactobacillus amylovorus, Limosilactobacillus mucosae a Lim. reuteri,* které byly nejčastěji izolovány z GIT domácích a divokých prasat a sledovat jejich růst v prostředí různých krmných směsí pro prasata. U *L. amylovorus* byla pro doplnění výsledků získaných biochemickými testy ověřována přítomnost genů kódujících α-galaktosidázu pomocí celogenomového sekvenování (WGS).

Materiál a metody
Bakteriální kmeny byly izolovány z GIT divokých a domácích prasat selektivními médii se suplementy za mikroaerofilních podmínek. Izoláty byly dále kultivovány za anaerobních podmínek v MRS broth médiu (VWR) při 37°C 24 - 72 h. Identifikace byla provedena pomocí MALDI-TOF MS Biotyper (Bruker Daltonik) a sekvenace genu pro 16S rRNA. Pro biochemickou analýzu bylo vybráno 30 kmenů od nejčastěji se vyskytujících druhů, tj. *L. amylovorus* (10), *Lim. mucosae* (10) a *Lim. reuteri* (10). U všech vybraných kmenů byly provedeny biochemické testy soupravami API 50 CH a rapid ID 32 A dle doporučení výrobce (Biomérieux).
Přítomnost genů α-galaktosidázy byla u izolátů *L. amylovorus* potvrzena analýzou bakteriálního genomu. Extrakce genomové DNA byla provedena pomocí Quick-DNA™ Fecal/Soil Microbe Microprep kitu (Zymoresearch). Vyizolovaná DNA byla zpracována Nextera Library preparation kitem na přípravu sekvenačních knihoven. Připravená knihovna byla následně sekvenována z obou konců (paired-end) na platformě NextSeq firmy Illumina (NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5). Hrubá sekvenační data byla trimována za použití programu Trimm galore s následným odstraněním readů nízké kvality programem Cutadapt, verze 0.6.6. Kvalita výsledných readů byla zkontrolována programem MultiQC. Bakteriální genomy byly poskládány do kontigů metodou *De novo assembly* za použití Unicycler v0.4.9b. Pro následnou anotaci bakteriálních genomů byl využit program PROKKA.
Testované krmné směsi (KKS) určené pro selata po odstavu se navzájem lišily deklarovaným obsahem základních surovin či dalších komponent. Variabilita byla zřetelná kvantitativní i kvalitativní, a to v obsahu použitých obilovin (zdroj sacharidů), rostlinných olejů, sójových či mléčných proteinů, a dále také minerálních látek, organických kyselin, vitaminů, stabilizátorů či konzervačních látek. Sterilizace testovaných krmných směsí byla provedena na urychlovači elektronů Mikrotron MT25 (25 kGy, 60 min.). Krmné směsi byly přidány do sterilního 5% MRS broth média. Inkubace mikroorganizmů v prostředí směsí probíhala při 37°C po dobu 24 h v anaerobních podmínkách. Poté byla každá kultura ředěna desítkovým ředěním a vyseta na MRS agar v duplikátu. Pro statistické vyhodnocení byl použit ANOVA F-test, Tukeyův HSD test a jednovýběrový Studentův test.

Výsledky
Stanovení fermentačních a enzymových profilů jednotlivých kmenů je uvedeno v tabulce 1 a 2. Z tabulky je patrné, že největší shodu v profilech utilizovaných substrátů vykazoval *L. amylovorus,* největší počet substrátů *Lim. mucosae*.
Přítomnost genu *melA* souvisejícícho s produkcí α-galaktosidázy byla potvrzena u 8 kmenů *Lbc. amylovorus* vykazujících produkci tohoto enzymu pomocí biochemických testů rapid ID 32 A. V jednom případě byla aktivita α-galaktosidázy prokázána biochemickým testem, ale WGS analýza jeho přítomnost nepotvrdila, v druhém případě pak byl výsledek obou postupů shodně negativní.

Tab. 1 Stanovení fermentačních profilů pomocí souprav testů API 50 CH (Biomérieux); hodnoty 1 - 10 udávají počet kmenů (z celkového počtu 10) s pozitivní reakcí.

Substrát	***L. amylovorus***	***Lim. mucosae***	***Lim. reuteri***
Erythriol	-	-	-
D-Arabinóza	-	1	-
L-Arabinóza	-	9	10
D-Ribóza	-	10	10
D-Xylóza	-	10	6
L-Xylóza	-	3	-
D-Adonitol	-	3	-
Methyl-βD-xylopyranosid	-	10	1
D-Galaktóza	10	10	10
D-Glukóza	10	10	10
D-Fruktóza	10	10	3
D-Mannóza	10	1	1
L-Sorbóza	-	-	-
L-Rhamnóza	-	-	-
Dulcitol	-	-	-
Inositol	-	-	-
D-Mannitol	-	-	-
D-Sorbitol	-	-	-
Methyl-αD-mannopyranosid	-	-	-
Methyl-αD-glukopyranosid	1	-	1
N-Acetylglukózamin	10	1	3
Amygdalin	4	6	2
Arbutin	4	6	1
Eskulin	10	9	2
Salicin	6	7	2
D-Celobióza	10	1	3
D-Maltóza	10	10	10
D-Laktóza	10	10	10
D-Melibióza	7	10	10
D-Sacharóza	10	10	10
D-Trehalóza	1	2	1
Inulin	-	-	1
D-Melecitóza	-	-	-
D-Raffinóza	9	9	10
škrob (AmiDon)	10	2	3
Glykogen	1	1	-
Xylitol	-	-	-
Gentiobióza	10	6	3
D-Turanóza	-	-	-
D-Lyxóza	-	-	-
D-Tagatóza	1	-	-
D-Fukóza	-	-	-
L-Fukóza	-	-	-
D-Arabitol	-	-	-
L-Arabitol	-	-	-
Glukonát draselný	-	10	3

2-ketoGlukonát draselný	-	-	-
5-ketoGlukonát draselný	-	8	-

Tab. 2 Stanovení enzymových profilů pomocí souprav testů rapid ID 32 A (Biomérieux); hodnoty 1 - 10 udávají počet kmenů (z celkového počtu 10) s pozitivní reakcí.

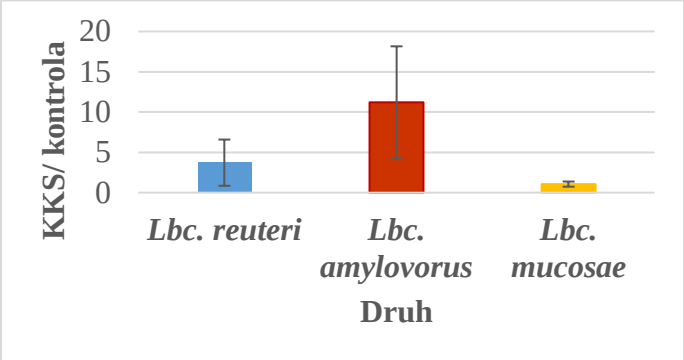
Enzymová aktivita	***L. amylovorus***	***Lim. mucosae***	***Lim. reuteri***
Ureáza (Močovina)	-	-	-
Arginin dihydroláza (L-arg.)	1	4	8
α-Galaktosidáza	9	10	5
β-Galaktosidáza	9	10	10
β-Galaktosidáza 6-fosfát	-	-	-
α-Glukosidáza	10	3	4
β-Glukosidáza	9	9	2
α-Arabinosidáza	1	2	-
β-Glukuronidáza	-	-	-
N-Acetyl-β-glukosaminidáza	-	-	-
fermentace Mannózy	10	5	-
fermentace Raffinózy	10	5	2
dekarboxyláza k. glutamové	10	9	10
α-Fukosidáza	-	-	-
redukce nitrátů	-	-	-
tvorba indolu (L-tryptofan)	-	-	1
Alkalická fosfatáza	-	5	1
Arginin arylamidáza	10	10	10
Prolin arylamidáza	10	9	2
Leucyl glycin arylamidáza	8	-	3
Phenylalanin arylamidáza	10	8	10
Leucin arylamidáza	10	10	10
Arylamidáza k. pyroglutamové	-	-	-
Tyrosin arylamidáza	10	8	9
Alanin arylamidáza	10	10	8
Glycin arylamidáza	10	8	7
Histidin arylamidáza	10	10	10
Arylamidáza glutamylu k. glutamové	2	-	-
Serin arylamidáza	10	9	9

V prostředí KKS rostly testované kmeny ve většině lépe než v kontrolním, čistém kultivačním MRS médiu (K). Krmné směsi tedy růst bakteriálních kmenů podporovaly. Pro každý kmen a každou KKS byl spočten poměr růstu kmenů v jednotlivých KKS vůči růstu
v K a tyto hodnoty byly zlogaritmovány. Na získaná data byla aplikována dvoufaktorová analýza variance druh (*L. amylovorus*, *Lim. mucosae* a *Lim. reuteri*) a směs (KKS1-KKS2). ANOVA neprokázala statisticky významný vliv KKS, a to ani v interakci s konkrétním bakteriálním druhem (obojí $P>0.05$; ANOVA F-test). Hodnoty poměrů KKS / K jsou statisticky významně ovlivněny pouze bakteriálním druhem ($P<0.01$; ANOVA F-test). Tukeyův HSD test následně prokázal statisticky významnou odlišnost průměrné hodnoty poměrů KKS / K mezi všemi třemi druhy laktobacilů ($P<0.01$; Tukeyův HSD test). Jednovýběrový Studentův test prokázal průměrný poměr statisticky významně vyšší než 1 pouze u druhů *L. amylovorus* a *Lim. reuteri* (obojí $P<0.01$; jednovýběrový Studentův test). Poměry KKS / K viz tab. č. 3; graf č. 1.

Tab. 3 Tabulka poměrů růstu kmenů v jednotlivých KKS vůči růstu v kontrolním médiu (K).

Druh	KKS / MRS	Interval spolehlivosti 95%
L. amylovorus	11,21	8,26 - 15,21
Lim. reuteri	3,72	2,55 - 5,42
Lim. mucosae	1,06	0,91 - 1,23

Graf 1 Poměry růstu kmenů v jednotlivých KKS vůči růstu v kontrolním médiu (K).



Diskuze

Výživa a konkrétně zastoupení jednotlivých sacharidů jsou klíčové pro složení a aktivitu střevní mikrobioty (Frese et al., 2015). K trávení živin v GIT prasat dochází působením endogenních enzymů zvířete a současně díky enzymové aktivitě přítomných mikroorganizmů. Nejvyšší aktivity mikrobiálních enzymů je dosahováno v tlustém střevě, kde dochází k fermentaci převážně rostlinných polysacharidů a oligosacharidů, k rozkladu bílkovin (nestrávené zbytky, trávicí enzymy) a dusíkatých látek. Enzymatická aktivita zprostředkovaná bakteriemi souvisí s konkrétním druhem (Vos et al., 2011), nicméně některé projevované vlastnosti mohou být i kmenově specifické. Na základě řady studií právě kmenová specificita bývá označována jako významná v různých ohledech (Durmic et al., 1998; Heo et al., 2013; Bertsch et al., 2020). Proto pro výběr probitických kmenů je potřeba zohlednit jak biochemické charakteristiky daného druhu, tak i kmene. V naší práci jsme sledovali jednotlivé biochemické charakteristiky izolátů tří druhů laktobacilů. Fermentační a enzymové profily prokazovaly nejenom jejich druhovou, ale i kmenovou specificitu, toto bylo potvrzeno i ve vztahu k různým KKS, kdy byly prokázány statisticky významně lišící se průměrné hodnoty poměrů KKS/Kontrola mezi všemi třemi druhy laktobacilů ($P<0.01$; Tukeyův HSD test), kdy *L. amylovorus* dosahoval nejlepších schopností růstu v daných směsích a naopak nejhoršího růstu v krmných směsích dosahoval *Lim. mucosae* (Tab. 3; graf 1). Zvýšený růst *L. amylovorus* je pravděpodobně spojený se složením krmných směsí, jejichž majoritními komponentami jsou pšenice a ječmen, které obsahují velké množství škrobu. Podle fermentačních a enzymových profilů získaných API testy mají všechny izoláty *L. amylovorus* schopnost utilizovat a štěpit škrob. Nestravitelné komponenty obilných krmných směsí jsou zejména celulózy a hemicelulózy, nerozpustné polysacharidy a arabinoxylany. Rozpustná vláknina zvyšuje viskozitu tráveniny v tenkém střevě a tím snižuje stravitelnost živin. Schopnost *L. amylovorus* štěpit celulózu (β-Glukosidázová aktivita) a D-celobiozu umožňuje vyšší stravitelnost prasetem nestravitelných polysacharidů. Využitelnost hemicelulóz je u *L. amylovorus* také doprovázena schopností utilizovat manózu a galaktózu, čímž se využití hemnicelulóz ještě navyšuje (Rada and Havlík,

2010). Velmi zajímavá byla také produkce enzymu α-galaktosidázy, který je zodpovědný za hydrolýzu rafinózy, což je hlavní galaktooligosacharid obsažený v cereáliích. Rafinóza není stravitelná monogastrickými zvířaty (Huynh et al., 2008). Gen produkující tento enzym byl u *L. amylovorus* potvrzen na základě WGS analýzy. V případě krmných směsí s různým zastoupením obilovin, mléčných proteinů, organických kyselin atd. pro odstavená selata, neměli jednotlivé směsi vůči kontrole statisticky významný vliv na růst jednotlivých kmenů či druhů. Tudíž výsledky této předběžné analýzy naznačují, že výběr krmné směsi pro selata nemá statisticky významný vliv na růst potenciálních probiotických bakterií (laktobacilů), ale podstatná se zdá volba vhodného kmene, vyhovujícího požadovaným parametrům.

Závěr

V naší studii byly stanoveny fermentační a enzymové profily celkem 30 kmenů laktobacilů druhů *L. amylovorus, Lim. mucosae* a *Lim. reuteri*, izolovaných z GIT divokých a domácích prasat. Profily získané biochemickými soupravami testů API se lišily nejenom na úrovni druhu, rozdíly byly zřejmé také na kmenové úrovni. Pokud byly následně studované izoláty zaočkovány do média s krmnými směsi určenými pro odstavená prasata, schopnost růstu se u jednotlivých druhů lišila. V testovaných krmných směsích nejlépe prosperoval druh *L. amylovorus.* Zároveň bylo zjištěno, že variabilita krmných směsí určených pro sledovanou kategorii prasat nemá již další vliv na počty laktobacilů. Výsledky této pilotní studie budou muset být dále ověřeny.

Poděkování

Studie byla vypracována v rámci projektu Ministerstva zemědělství NAZV QK1910351 a za institucionální podpory Ministerstva zemědělství MZE-RO0318 a MZE-RO0518.

Literatura

Bertsch A., Roy D., LaPointe G. 2020. Fermentation of Wheat Bran and Whey Permeate by Mono-Cultures of Lacticaseibacillus rhamnosus Strains and Co-culture With Yeast Enhances Bioactive Properties. Front. Bioeng. Biotechnol. 8:956.

Durmic Z., Pethick, D. W., Pluske, J. R. and Hampson D. J. 1998. Changes in bacterial populations in the colon of pigs fed different sources of dietary fibre, and the development of swine dysentery after experimental infection. J. Appl. Microbiol. 85:574-582.

Frese S.A., Parker K., Calvert C.C., Mills D.A. 2015. Diet shapes the gut microbiome of pigs during nursing and weaning. Microbiome 3:28.

Heo J.M., Opapeju F.O., Pluske J.R., Kim J.C., Hampson D.J., Nyachoti C.M. 2013. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. J.Anim. Physiol. Anim. Nutr. 97/2:207-237.

Huynh B.-L., Palmer L., Mather D.E., Wallwork H., Graham R.D., Welch R.M., Stangoulis J.C.R. 2008. Genotypic variation in wheat grain fructan content revealed by a simplified HPLC method. J. Cereal Science 48/2: 369-378.

Rada V., Havlík J. 2010. Enzymy ve výživě hospodářských zvířat. Výzkumný ústav živočišné výroby, ISBN 978-80-7403-065-9.

Vos P., Garrity G., Jones D., Krieg N.R., Ludwig W., Rainey F.A., Schleifer K.H., Whitman W. B. 2011. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes. Springer, New York.

Kontaktní adresa:

Mgr. Radko Pechar, Ph.D.
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v. v. i
Radiová 1285/7, 102 00 Praha 10 – Hostivař
tel.: 775 435 055, e-mail: radko.pechar@vupp.cz

Možnosti snížení obsahu soli v chlebu

Possibilities of salt content reduction in bread

Rysová J., Laknerová I.

Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.

Abstrakt

Nadměrná konzumace soli má podíl na rostoucím výskytu neinfekčních chorob. Hlavním zdrojem soli v potravě jsou v rozvinutých zemích průmyslově zpracované potraviny, včetně pekařských výrobků. Chléb a pečivo přispívají 34 - 40 % k celkovému příjmu soli. Bylo připraveno celkem 15 modelových vzorků pšenično-žitného chleba a chléb kontrolní. Tento modelový chléb obsahoval 30 % žitné mouky, v receptuře byl použit žitný kvas a droždí. Do chleba byla přidávána sušená zelenina, koření nebo čerstvé byliny s cílem maskovat snížení dávky soli v receptuře. Ve vzorcích byl stanoven obsah soli v rozmezí 1,0-1,2 %. Kontrolní vzorek obsahoval 1,4 % soli. Při senzorické analýze byly vzorky hodnoceny převážně jako méně slané, ale celkově byly hodnoceny příznivě. U některých chlebů byl nalezen synergický efekt slané chuti a přidané rostlinné složky.

Klíčová slova: chléb, sůl, byliny, koření, senzorická analýza

Abstract

Excessive salt consumption contributes to the increasing incidence of non-communicable diseases. The main source of salt in food in developed countries are industrially processed foods including bakery products. Bread and pastries contribute 34-40% to the total salt intake. A total of 15 model samples of wheat-rye bread and one control bread were prepared. This model bread contained 30% rye flour, rye sourdough and yeast were also used. Dried vegetable, spices or fresh herbs were added to the bread to mask the reduction of salt content in the recipe. The salt content in the samples was determined in the range of 1.0-1.2%. The control sample contained 1.4% salt. The sensory analysis was performed. The most samples were evaluated as less salty, but overal, they were evaluated favorably. A synergistic effect of salty taste and added plant ingredients was found in some breads.

Key words: bread, salt, herbs, spices, sensory analysis

Úvod

Kuchyňská sůl je nejstarší ochucovadlo a současně i nejvýznamnější zdroj sodných iontů pro lidský organismus. Doporučený denní příjem sodíku pro dospělého člověka je 500 mg/den, bezpečný denní příjem je 2 g Na, což odpovídá denní dávce 5 g chloridu sodného (EFSA 2009). Toto množství je však ve většině zemí významně překračováno, v ČR je podle údajů ČSÚ denní příjem soli kolem 15 g/den. Nadměrná konzumace soli má podíl na rostoucím výskytu neinfekčních chorob, které zkracují lidský život a jsou ekonomickou zátěží zdravotního systému. Jedná se zejména o hypertenzi a kardiovaskulární choroby, chronická omemocnění ledvin, osteoporózu a zvýšený výskyt rakoviny žaludku (OECD 2019, EK 2020). S těmito závěry část odborníků nesouhlasí a považuje zvýšený příjem soli spíše za marker nezdravého životního stylu s vysokým příjmem energie a nedostatkem pohybu (Hubáček 2018). Přesto se na mezinárodní úrovni prosadila v rámci reformulací potravin snaha o snížení příjmu soli. Například WHO doporučila do roku 2025 snížit příjem soli o 30 % (WHO 2013). Hlavním zdrojem soli v potravě jsou v rozvinutých zemích průmyslově zpracované potraviny a významný podíl v dennim příjmu soli zaujímají pekařské výrobky.

Chléb a pečivo přispívají 34 - 40 % k celkovému příjmu soli (Ruprich a kol. 2020, SZÚ 2018), protože jde o potraviny pravidelně konzumované ve značném množství. Podle studie (Ruprich a kol. 2006) byla v ČR spotřeba chleba u dospělých mužů 120 g a u žen 58 g/den, u seniorů starších 60 let byly tyto hodnoty ještě vyšší (muži 129 g a ženy méně - 76 g/den).
Snížit výrazně dávku soli v chlebu není jednoduché. Spotřebitelé mají své zvyklosti a preference a skokové snížení obsahu soli by neakceptovali. Postupné snižováné dávky soli o 20-30 % je technologicky možné a spotřebitelé se časem přizpůsobí. V praxi je možné použít jemněji mletou sůl, enkapsulované krystaly soli nebo nerovnoměrné rozložení soli ve výrobku. Další snížení obsahu soli již naráží na technologická omezení a může se projevit na kvalitě chleba. Přídavek soli do těsta upravuje rozpustnost bílkovin, kladně působí na viskoelastické vlastnosti těsta jako jsou pružnost nebo tažnost a podporuje v pšeničném těstě v průběhu hnětení vznik trojrozměrné sítě lepku. Sůl má vliv na rychlost kynutí těsta, objem a texturu chleba i na barvu výrobku po upečení (Silow a kol. 2016, Pasqualone a kol. 2019). Nedostatek slané chuti se řeší přídavky solí draslíku, hořčíku nebo vápníku nebo přídavky látek zvyšujících vjem slané chuti – nejčastěji jde o kvasničné hydrolyzáty, aminokyseliny a sladové extrakty (Jekle a kol. 2014). Méně slanou chuť chleba je možné částečně maskovat přídavky jiných surovin s výraznou chutí, jako je například koření (Codina a kol. 2021). Tato cesta je zajímavá tím, že se využívají čistě přírodní suroviny komplexního složení. Cílem naší práce bylo proto otestovat vliv přídavků sušené zeleniny, bylin a koření na celkovou senzorickou kvalitu modelového pšenično-žitného chleba se sníženým obsahem soli. Cílem bylo také zjistit, jak budou hodnotitelé reagovat na sníženou intenzitu slané chuti v kombinaci s výraznou chutí jiné složky chleba.

Materiál a metody

Pšeničná a žitná mouka chlebová, pohanková mouka a většina koření pocházely z maloobchodní sítě, sušená zelenina (kořen petržele, pastiňák, celer, křen), pískavice a římský kmín byly získány od firmy J.K. Food, s.r.o. Sušená ředkev byla zakoupena v Orientálních potravinách, čerstvé byliny - květ plané mrkve obecné (*Daucus carota*) a nať popence břečťanolistého (*Glechoma hederacea*) pocházely z volného sběru. Lyofilizované ředkvičkové klíčky byly připraveny v laboratořích VÚPP z čerstvých klíčků od firmy HAPPY EAT s.r.o. Sušené droždí pocházelo od firmy Lesaffre.
Na přípravu žitného kvasu byla použita startovací kultura LV1 Saf Levain od firmy Lesaffre. Ke 120 g žitné mouky bylo přidáno 0,6 g kultury a 180 ml vody. Směs byla inkubována při 37 °C po dobu 16 hodin. Další kultivace byla zajištěna přenesením 10 % čerstvého kvasu do nového substrátu.
Chléb byl pečen v domácí pekárně ETA Duplica Vital, program KLASIK. Základní receptura modelového chleba je uvedena v tabulce 1, u chlebů s přídavkem ochucujících složek byla snížena dávka soli o 20 %.
Senzorické hodnocení bylo prováděno panelem 10-12 školených hodnotitelů. Byla využívána stupnicová metoda s grafickou stupnicí (úsečka 100 mm). Součástí statistického vyhodnocení byl Shapiro-Wilkův test normality (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$), test odlehlosti výsledků podle Dean-Dixona ($Q_{krit11} = 0,412$; $Q_{krit10} = 0,437$ (na hladině významnosti $\alpha = 0,05$).
Obsah sodíku byl stanoven iontově selektivní elektrodou Ross Sure Sodium 8611 BNWF na přístroji Orion Versa Star a přepočten na obsah soli. Výsledky jsou průměrem dvou paralelních stanovení

Tab. 1: Receptura modelového pšenično-žitného chleba (údaje v gramech)

PŠM chlebová	200
ŽM chlebová	60
sůl	5
sušené droždí	1,5
kvas	60
voda	165

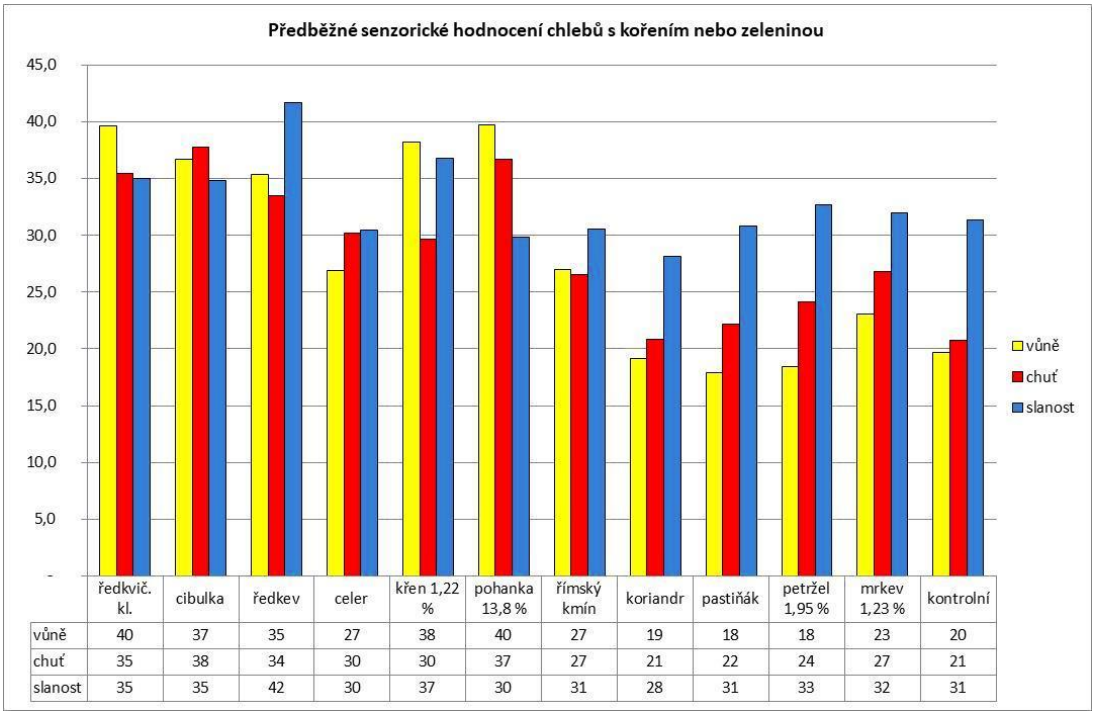
Výsledky a diskuse

V tabulce 1 je uvedena receptura pšenično-žitného chleba zakyseleného čerstvým žitným kvasem, k vykynutí byl využit přídavek sušeného droždí. Podíl žitné mouky v receptuře byl zvolen 30%, což odpovídá množství 20-40 % používané v konzumním chlebu. V podílu žitné mouky je započítána i mouka použitá na přípravu žitného kvasu. Sušené droždí bylo přidáno proto, že v moderních startovacích kulturách jsou dominantní bakterie mléčného kvašení produkující především kyselinu mléčnou a octovou, a proto je vývin plynu třeba zajistit přídavkem droždí. Jako základ byla zvolena dávka soli 1,76 % na mouku, to je na dolní hranici běžně udávaného množství 1,8-1,9 % (Sluková a Skřivan 2016, Skřivan 2019). V chlebech s přídavkem zeleniny nebo koření byla dávka soli snížena o 20 %. Výsledky obsahu soli v jednotlivých vzorcích chleba jsou uvedeny v tabulce 2.

Tab.2: Obsah soli ve vzorcích chlebů s kořením nebo bylinami (údaje v g/100 g čerstvého chleba, c.v. variační koeficient)

Přídavek složky	podíl aktivní složky (%)	sušina	sůl	prům. odch .	c.v. (%)
římský kmín	0,61	61,9	1,1	0,003	0,28
pastinák	1,00	60,4	1,1	0,012	1,11
petržel 1	1,00	62,2	1,1	0,030	2,72
petržel 2	1,95	58,0	1,1	0,030	2,74
celer	1,99	60,5	1,1	0,003	0,26
koriandr	0,51	60,0	1,1	0,021	1,92
pohanka 1	13,80	63,6	1,2	0,009	0,77
pohanka 2	15,80	61,1	1,1	0,008	0,81
křen 1	1,02	58,2	1,0	0,010	0,01
křen 2	1,22	62,0	1,1	0,004	0,32
mrkev květ	1,23	60,0	1,1	0,002	0,21
cibulka smažená	1,53	62,2	1,1	0,018	1,57
ředkvičkové klíčky	1,02	61,1	1,2	0,011	0,93
ředkev sušená	1,50	62,7	1,1	0,008	0,73
popenec čerstvý	0,51	61,3	1,2	0,019	1,61
kontrolní	-	60,3	1,4	0,170	0,12

Obsah soli v kontrolním chlebu byl 1,4 % a obsah soli ve vzorcích s přídavky rostlinné složky 1,0-1,2 %. Výsledky odpovídají obsahu soli stanoveném ve studii Rupricha kol. (2020), kdy se obsah soli ve 168 vzorcích chleba a pečiva pohyboval v rozmezí 0,93-2,5 %. Připravené vzorky by dokonce splnily hodnotu 1,2 %, kterou navrhla WHO v roce 2015 jako cílové doporučení pro Evropu v nutričním profilu pro chléb. Mezi přídavky zeleniny a koření byla navíc zařazena v množství 13,8 - 15,8 % pohanková mouka. Předpokládali jsme, že svou výraznou chutí může také ovlivnit vnímání intenzity slané chuti.
Senzorické hodnocení chlebů probíhalo ve dvou fázích. V první fázi šlo především o výběr vhodných surovin k ochucení chleba. Proto bylo provedeno pouze zjednodušené hodnocení vůně, chuti a intensity slané chuti. Na základě těchto prvních výsledků byly vybrány přídavky zeleniny a dalších složek k finálnímu senzorickému hodnocení. K těmto vzorkům byl přidán chléb s čerstvou natí popence, tato bylina nebyla v první fázi k dispozici. Výsledky předběžného senzorického hodnocení jsou uvedeny v grafu na obrázku 1.



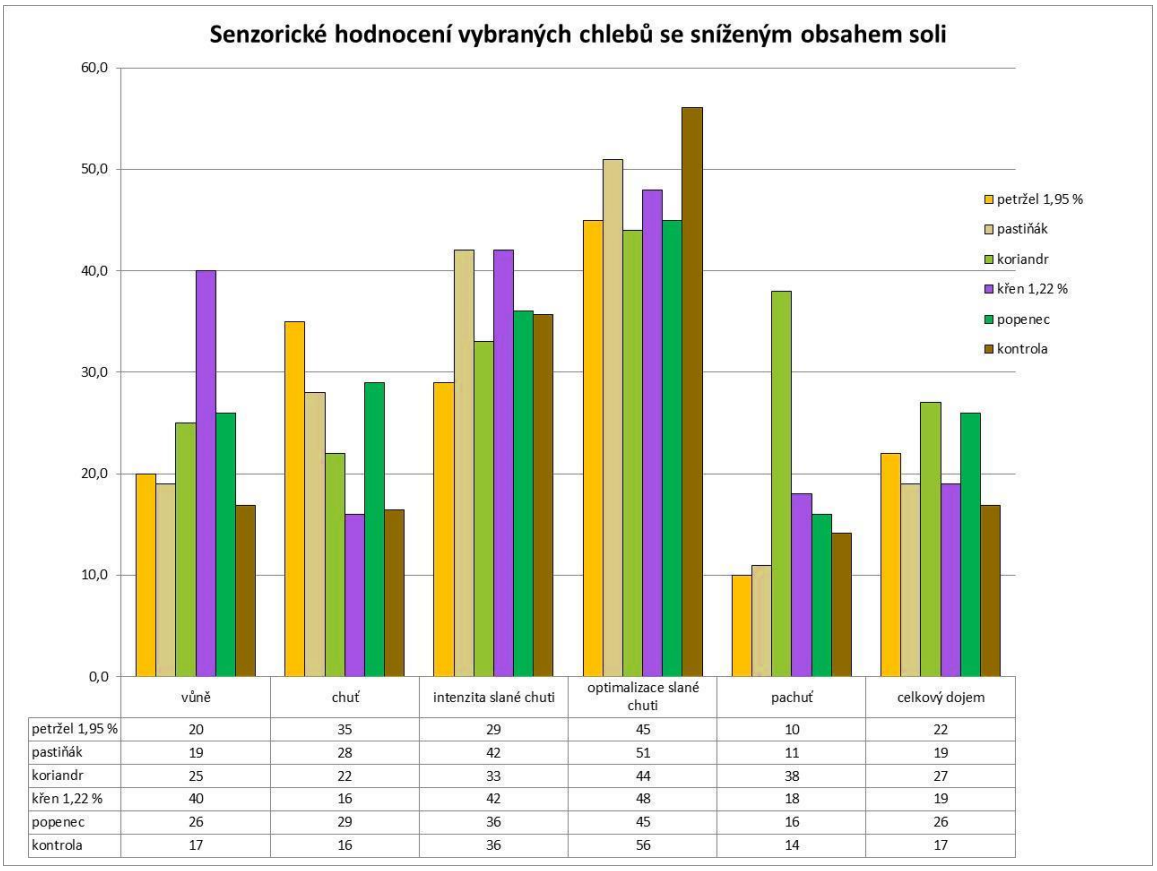
	ředkvič. kl.	cibulka	ředkev	celer	křen 1,22 %	pohanka 13,8 %	římský kmín	koriandr	pastiňák	petržel 1,95 %	mrkev 1,23 %	kontrolní
vůně	40	37	35	27	38	40	27	19	18	18	23	20
chuť	35	38	34	30	30	37	27	21	22	24	27	21
slanost	35	35	42	30	37	30	31	28	31	33	32	31

Obr.1: Předběžné senzorické hodnocení chlebů s bylinami nebo kořením
(příjemnost vůně, příjemnost chuti 0 = vynikající, 100 = velmi špatná; intenzita slané chuti (slanost) 0 = nepřítomna, 100 = velmi silná)

Hodnocení příjemnosti vůně a chuti pokusných chlebů bylo příznivé, protože žádný ze vzorků nepřekročil hranici 50 bodů (Obr. 2; stupnice: příjemnost vůně, příjemnost chuti 0 = vynikající, 100 = velmi špatná). Hodnoty těchto senzorických deskriptorů se pohybovaly v rozmezí 18 – 40 bodů. V případě chleba s přídavkem křenu byl zaznamenán menší objem chleba a hustší střídka, látky v křenu obsažené patrně působí inhibičně na droždí. To se shoduje s tím, že jsou v literatuře u křenu uváděny významné antimikrobní vlastnosti (Walters 2021). Vzhledem k hodnocení intenzity slané chuti byl přesto křen použit pro další ochucení. Intenzita slané chuti se pohybovala od 28 do 42 bodů (intenzita slané chuti 0 = nepřítomna, 100 = velmi silná). Vedle křenu vykazovaly vyšší intenzitu slané chuti i vzorky s dalšími brukvovitými zeleninami

(ředkev, ředkvičkové klíčky) a s cibulkou, ale ochucení bylo pro chléb příliš neobvyklé. Zklamáním bylo hodnocení chleba s pohankovou moukou. Přestože podíl pohanky nebyl příliš velký, její specifická chuť a vůně pro hodnotitele příliš přijatelná nebyla. Na základě předběžných výsledků senzorické analýzy byly vybrány suroviny pro další práci – sušený kořen petržele, pastiňák, křen, koriandr a dodatečně zařazená nať popence. Výsledky jsou uvedeny na obrázku 3.

Obr. 2: chléb s přídavkem kořene petržele (vlevo) nebo pastináku (vpravo)



	vůně	chuť	intenzita slané chuti	optimalizace slané chuti	pachuť	celkový dojem
petržel 1,95 %	20	35	29	45	10	22
pastiňák	19	28	42	51	11	19
koriandr	25	22	33	44	38	27
křen 1,22 %	40	16	42	48	18	19
popenec	26	29	36	45	16	26
kontrola	17	16	36	56	14	17

Obr. 3: výsledky senzorického hodnocení vybraných vzorků chleba s přídavky koření nebo sušené zeleniny

(příjemnost vůně, příjemnost chuti a celkový dojem 0 = vynikající, 100 = velmi špatný; intenzita vůně, intenzita slané chuti a intenzita pachuti 0 = nepřítomna, 100 = velmi silná; optimalizace slané chuti 0 = velmi slabá, 50 = optimální, 100 = velmi silná)

Přídavky sušené zeleniny byly relativně malé (1-2 %), ale mohly by se kladně projevit v trvanlivosti chleba. Sušená zelenina obsahuje množství vlákniny, která při zpracování těsta nabobtná a po upečení zadržuje vlhkost ve střídce chleba. Zpomalí se pronikání vlhkosti k povrchu chleba a tím se může zpomalit stárnutí chleba. Chléb byl upečený s využitím kvasu. Vzhledem k obsahu fermentací vzniklých organických kyselin bude mít dobrou mikrobiální stabilitu.

Výsledky podrobného senzorického hodnocení jsou velmi příznivé (Obr. 3). Chleby s petrželí nebo pastinákem měly velmi dobře hodnocenou vůni a nízkou intenzitu pachutí. Jak je patrné z obrázku 2, chléb s pastinákem měl navíc velmi dobrý objem. Tato skutečnost je dána zřejmě vyšším obsahem cukrů v pastináku (v čerstvém stavu 4,8 %) než v kořeni petržele (0,85 %). Ještě vyšší obsah cukrů udávají tabulky UDSA v křenu (7,99 %), v tomto případě je ale činnost kvasinek blokována fytoncidy. Chléb s přídavkem křenu byl typický méně příjemnou vůní, ale chuť byla hodnocena velmi dobře. Chuť koriandru jako ochucení chleba je pravděpodobně pro hodnotitele velmi nezvyklá, nicméně i zde bylo hodnocení celkového senzorického dojmu velmi příznivé. Popenec byl přidán do výběru dodatečně jako jediná čerstvá bylina, která poněkud nepříznivě ovlivnila chuť finálního výrobku. Celkový senzorický dojem byl u všech vzorků na úrovni nebo téměř na úrovni kontrolního chleba. Nižší intenzita slané chuti byla zaznamenána u přídavku petržele a koriandru, chuť chleba s pastinákem nebo křenem byla hodnocena jako více slaná než u kontrolního vzorku.

Při optimalizaci slané chuti dosáhl kontrolní vzorek 56 bodů, což odpovídá mírně vyšší slanosti než optimální. Jako optimální byla vyhodnocena slaná chuť u přídavku pastináku. Ostatní chleby se optimální hladině dosti přibližují, přesto by u nich hodnotitelé přivítali nepatrně vyšší dávku soli.

Závěr

Celkově je možné konstatovat, že chleby se sníženou dávkou soli a s přídavky sušené zeleniny, koření nebo bylin byly senzoricky hodnoceny velmi příznivě. Kontrolní chléb obsahoval 1,4 % soli, množství soli v ostatních vzorcích pak bylo stanoveno v rozmezí 1,0 – 1,2 % soli. Intenzita slané chuti byla u většiny vzorků hodnocena jako mírně nižší než by byla optimální hladina. Toto hodnocení odpovídá snížené dávce soli. V případě některých vzorků je možné pozorovat jistý synergický efekt mezi slanou chutí a chutí přidané rostlinné složky. V těchto vzorcích se tak potvrdilo, že přídavek čistě přírodní suroviny je použitelný pro zvýraznění slané chuti pečiva a pro konzumenty je takový přídavek přijatelný.

Poděkování

Práce byla provedena s podporou projektu Ministerstva zemědělství, institucionální podpora MZE-RO0318, za podpory výzkumné infrastruktury METROFOOD-CZ, grant MŠMT: LM2018100 a projektu NAZV QK1910103.

Literatura

Bhat S., Marklund M., Henry M.E., Appel L.J., Croft K.D., Neal B., Wu J.H.Y.2020 A Systematic Review of the Sources of Dietary Salt around the World. Adv Nutr., Vol. 11, p. 677–686.

Codina G.G.; Voinea A., Dabija A. 2021. Strategies for Reducing Sodium Intake in Bakery Products, a Review. Appl. Sci., Vol. 11, iss.7, p. 3093.

EK (2020). Dietary salt/sodium. Health Promotion and Disease Prevention: Nutrition: Salt. EU Science Hub [online]. Přístup září 2021. https://ec.europa.eu/jrc/en/health-knowledge-gateway/promotion-prevention/nutrition/salt

Hubáček J. A. 2018. Sůl kamenná. Nezavislý kauzalni rizikový faktor mortality/morbidity, nebo neškodný marker nezdraveho životniho stylu? Hypertenze & kardiovaskulárni prevence. Vol. 7, iss. 1, p. 50.

Jekle M.; Beck M.; Becker T. 2014. Sodium content in baked products. Baking+Biscuit , Vol. 6, p. 44-48.

OECD (2019). Česko: zdravotní profil země 2019, State of Health in the EUOECD Publishing, Paris/European Observatory on Health Systems and Policies, Brussels Přístup říjen 2021. https://www.oecd-ilibrary.org/books/czecrepublic?sortField=prism_publicationDate&sortDescending=true

Pasqualone A., Caponio F., Pagani M. A., Summo C., Paradiso V. M. 2019. Effect of salt reduction on quality and acceptability of durum wheat bread. Food Chem. Vol. 289, p. 575-581.

Ruprich J. a kol. 2020. Cíl nejen pro rok 2020: snížit obsah soli v dietě. Změňme chování, v Evropě patříme k nejhorším! CZVP-SZÚ. Přístup září 2021 http://www.szu.cz/uploads/CZVP/SUL_2020.pdf

Ruprich J., Pernicová H., Bischofová S., Řeháková J., Hornová J., Matulová D., Krbůšková M., Leciánová D., Řehůřková I. 2020. Sůl v pečivu. Technická zpráva Acta Hygienica Epidemiologica et Microbiologica . iss.2, p. 1-56.

Ruprich J., Dofková M., Řehůřková I., Slaměníková E., Resová D. 2006. Individuální spotřeba potravin - národní studie SISP04. CHPR-SZÚ Přístup říjen 2021 http://czvp.szu.cz/spotrebapotravin.htm.

Scientific Opinion of the Panel on Dietetic products, Nutrition and Allergies on a request from European Commission on the review of labelling reference intake values for selected nutritional elements.2009, EFSA J. 1008, p. 1-14.

Silow C., Zannini E., Axel C., Lynch K. M., Arendt E. K. 2016. Effect of salt reduction on wheat-dough properties and quality characteristics of puff pastry with full and reduced fat content. Food Res. Int., Vol. 89, p. 330-337.

Sluková M., Skřivan P. 2016 Chléb v minulosti i dnes. Přístup říjen 2021. https://www.zitnecentrum.cz/2016/04/27/chleb-v-minulosti-i-dnes/

Skřivan P., Sluková M., Jurkaninová L., Švec I. 2019. Chléb – nezpochybnitelný základ našeho stravování, synonymum pro jídlo jako takové. Tak tomu bylo po staletí. Až donedávna. Končí „doba chlebová“? Potravinářská revue, iss. 3, p. 18 - 21.

Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ČR ve vztahu k životnímu prostředí. Subsystém IV. Zdravotní důsledky zátěže lidského organismu cizorodými látkami z potravinových řetězců, dietární expozice. Odborná zpráva za rok 2018. Praha: Státní zdravotní ústav, 2019. Přístup říjen 2021. www.szu.cz/uploads/documents/chzp/odborne_zpravy/OZ_18/odborna_dieta_2018.pdf

USDA FoodData Central Přístup září 2021 https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/

Walters S. A.2021. Horseradish: A Neglected and Underutilized Plant Species for Improving Human Health. Horticulturae, Vol. 7, p. 167.

WHO (2013). Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020 Přístup září 2021.
https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/94384/9789241506236_eng.pdf;jsessionid=C98DA51FA66773E17C24AE39B0AAEE59?sequence=1

WHO (2015) WHO Regional Office for Europe nutrient profile model, The Regional Office for Europe of the World Health Organization. Přístup říjen 2021. https://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/publications/2015/who-regional-office-for-europe-nutrient-profile-model-2015

Kontaktní adresa:

Ing. Jana Rysová
Výzkumný ústav potravinářský Praha, v.v.i.
Radiová 7; 102 00 Praha 10, Hostivař
j.rysova@vupp.cz

Porovnání metod stanovení viskozity suspenzí základních obilných mouk

Comparison of methods for determining the suspensions viscosity of the basic cereal flour types

Švec I., Petríková E., Sluková M., Skřivan P.

Ústav sacharidů a cereálií, VŠCHT Praha

Abstrakt

Pro hodnocení průběhu mazovatění a odhadu amylolytické aktivity obilných mouk se tradičně využívá přístroj Amylograf, jehož novější alternativou je viskozimetr *Rapid Visco Analyser*. V obou případech se sice jedná o rotační viskozimetry, které se však odlišují konstrukcí měřicí zóny, množstvími testovaného vzorku (80,0 a 3,50 g mouky) a rozsahem měření (0-1.000 Brabenderových jednotek, resp. 0-70.000 mPa·s). Pro hladké mouky pšeničnou, žitnou chlebovou a žitnou celozrnnou byly pomocí obou přístrojů proměřeny řady 7 zvyšujících se navážek a pilotně posouzena zastupitelnost obou metod. Experimentálně byla potvrzena závislost viskozity moučných suspenzí na navážce podle polynomického rozvoje, přinejmenším podle kubické rovnice. V souboru 21 vzorků se potvrdily velmi těsné korelace amylografického maxima a *Peak Viscosity* jak s navážkou, tak mezi sebou navzájem (*r* = 0,818; 0,830 a 0,968; P = 99,9 %).
Klíčová slova: obilná a celozrnná mouka; viskozita; amylograf; RVA; korelační analýza

Abstract

The Amylograph and the newer alternative, the Rapid Visco Analyzer, are used to evaluate the pasting process and to estimate the amylolytic activity of cereal flours. These rotary viscometers differ in the measuring zone construction, the amounts of the tested sample (80.0 and 3.50 g of flour) and the measuring range (0-1,000 Brabender units, respectively 0-70,000 mPa·s). For fine milled wheat, rye bread, and wholegrain rye flours, rows of seven increasing weights were measured using both instruments, and the substitutability of both methods was evaluated on a pilot basis. The dependence of flour suspension viscosity on the flour dose is based on a polynomial sequence, at least according to the cubic one, which was confirmed experimentally. In a set of 21 samples, very tight correlations of Amylograph max. and Peak Viscosity were confirmed with flour dose and with each other (r = 0.818; 0.830 and 0.968; P = 99.9%).
Keywords: cereal wholemeal flour; viscosity; amylograph; RVA; correlation analysis

Úvod

Sledování viskozitního chování mouky a moučných směsí odpovídá technologickým potřebám pekárenských provozů, kdy míra zahuštění vodné suspenze vypovídá o zpracovatelnosti těsta jak ve smyslu potřebné výše recepturního přídavku vody, tak průběhu kynutí. Je obecně známo, že žitná chlebová mouky má přirozeně vyšší aktivitu hydrolytických enzymů, zejména tedy α-amyláz, než pšeničná hladká světlá či pšeničná hladká chlebová. V případě hladké mouky žitné celozrnné je však tato schopnost částečně oslabena vyšším podílem vlákniny, dnes prosazované pro její nutriční a zdravotní přínosy. Tyto benefity jsou shrnuty v tzv. „nutričním tvrzení“ „*Žitná vláknina přispívá k normální činnosti střev*“ (Nařízení Komise EU 432/2012). Další nutriční

tvrzení jsou schválena také pro pšeničné arabinoxylany a ječné či ovesné beta-glukany („*Beta-glukany přispívají k udržení normální hladiny cholesterolu v krvi*“).
Pro viskozitní měření se využívají rotační viskozimetry, klasicky Amylograf či Viskograf (Brabender, SRN) a méně častěji pak Promylograf (M. Egger, AT). Novějším přístrojem je pak Rapid Visco Analyser (RVA; Perten Instr., AUS). Amylograf a RVA se odlišují konstrukcí měřicí zóny, množstvími testovaného vzorku (80,0 a 3,50 g mouky, resp. 530,0 a 28,50 g vodné suspenze) a rozsahem měření (0-1000 uzančních Brabenderových jednotek, resp. 0-70000 mPa·s). Také výchozí teplota a doba měření je odlišná – 25 °C a 45 min, resp. 50 °C a 16 min. Programovatelný viskozimetr RVA je naproti tomu šířeji využitelný (Martines 2015) – základní balík přednastavených profilů měření umožňuje hodnocení mouk i ve smyslu kvality bílkovin (tzv. *Wheat Flour Ethanol Profile*), ale i kvasu či těstovin. V cereálním oboru však převažují výše zmíněné německé viskozimetry, proto v současnosti dostupné odborné literatuře není k dispozici větší počet studií řešících porovnatelnost dvojic metod, např. mikro-visko-amylograf – RVA (Dong a Jay-Lin, 2003), nebo amylograf – reometr (Pojić et al., 2013). Korelace mezi odpovídajícími si viskozitními znaky jsou vždy významné, ale mezi teplotními body křivek prokazatelně slabší. Matematické modelování viskozity v závislosti na navážce bramborového a žaludového škrobu provedli Haase et al. (1995), resp. Kim a Yoo (2009).
Cílem této práce bylo proměřit viskozitní chování hladkých mouk pšeničné světlé, žitné chlebové a žitné celozrnné pomocí amylografu a viskozimetru RVA. Výsledky obou zkoušek byly statisticky zpracovány a porovnány regresní a korelační analýzou.

Materiál a metody

Všechny tři typy testovaných hladkých mouk (pšeničné světlé T530, žitné chlebové T960 a žitné celozrnné T1700) byly dodány společností Mlýn Perner s.r.o. (Svijany, ČR) v roce 2020. Podle informací výrobce se testované vzorky mouk kromě podílu minerálních látek odlišují zejména v obsahu vlákniny (3,7; 9,0 a 16,0 %) a bílkovin (12,5; 7,5 a 11,2 %; https://pernerka.cz/sortiment/). Fyzikální vlastnosti škrobu jsou podmíněny geneticky a průběhem mletí zrna, ale odlišnosti ve fyzikálně-chemických vlastnostech mohou ovlivnit průběh viskozitních zkoušek.
Viskozitní zkoušky byly provedeny podle mezinárodních norem ICC 126/1 a ICC 162 pomocí Amylografu AS (Brabender, Duisburg, SRN) a RVA 4500 (Perten Instruments, Stockholm, SWE). Modelování viskozity suspenzí (*amylografického maxima* a *Peak Viscosity*) vycházelo z proměření sedmi postupně se zvyšujících navážek 20,0-30,0-…-80,0 g (resp. 0,875-1,313-…-3,500 g), kdy nejvyšší dávky odpovídají standardním množstvím pro tyto dvě zkoušky.
Statistické zpracování dat regresní a korelační analýzou bylo provedeno v programu Statistica v. 13 (Tibco, Palo Alto, USA).

Výsledky a diskuze

Amylografické hodnocení
Je známo, že velikost škrobových granulí čtyř základních obilovin (pšenice, žito, ječmen, oves) je v základu podobná, běžně se rozlišují větší A-frakce čočkovitých a menší B-frakce kulovi tých zrn (20-30, resp. 2-10 mikronů). V tomto směru je viskozitní chování vodných suspenzí ovlivněno aktivitou amyláz, přirozeně vyšší pro žitné mouky. V rámci vlastních experimentů se toto potvrdilo – jednak teploty počátku mazovatění *Tpoč* byly pro mouky T960 i T1700 nižší než pro T530, za druhé stejný trend byl pozorován pro maxima viskozity *AMA* (Tab. 1). Předpokládaný vliv vlákniny směrem k zahuštění suspenzí se rovněž potvrdil, pro všechny

Tab. 1: Amylografické hodnocení testovaných vzorků pšeničné a žitné mouky

Navážka mouky (g)	Pšeničná hladká (T530)		Žitná chlebová (T960)		Žitná celozrnná (T1700)	
	Tpoč (°C)	*AMA (BJ)*	*Tpoč (°C)*	*AMA (BJ)*	*Tpoč (°C)*	*AMA (BJ)*
20	79,9 cd	15 A	85,0 d	5 A	67,6 bc	40 AB
30	75,1 cd	50 ABC	85,6 d	18 A	67,0 bc	60 ABC
40	61,6 ab	165 ABCD	79,0 cd	25 A	58,0 ab	100 ABC
50	61,6 ab	300 BCDE	58,9 ab	55 ABC	56,5 ab	315 CDE
60	59,8 ab	425 DEF	55,3 ab	115 ABC	50,5 a	615 FG
70	61,0 ab	700 G	53,2 a	265 ABCDE	52,0 a	1030 H
80	55,9 ab	995 H	49,6 a	500 EFG	-*	> 1100 I

Tpoč - teplota počátku mazovatění; AMA - amylografické maximum

** - nelze vyhodnotit (amylografické maximum > 1100 BJ)*

a-d, A-I: hodnoty v odpovídajících si sloupcích, označené stejnými písmeny, nejsou statisticky odlišné (P = 95 %)

navážky T1700 byla viskozita min. dvojnásobná než pro T960 a standardní navážku 80 g žitné celozrnné již nebylo možno řádně vyhodnotit.

RVA hodnocení

Vlivem nižších navážek mouky a vyšší počáteční teplotě RVA testu jsou zjištěné hodnoty počátku mazovatění *PastTemp* podle předpokladu vyšší o 10-80 % než v případě

Tab. 2: RVA hodnocení testovaných vzorků pšeničné a žitné mouky

Navážka mouky (g)	Pšeničná hladká (T530)		Žitná chlebová (T960)		Žitná celozrnná (T1700)	
	PastTemp (°C)	*PeakVisc (mPa·s)*	*PastTemp (°C)*	*PeakVisc (mPa·s)*	*PastTemp (°C)*	*PeakVisc (mPa·s)*
0,875	93,5 f	25 A	92,9 ef	18 A	94,5 f	20 A
1,313	93,0 ef	69 AB	84,6 c	38 A	94,2 f	48 AB
1,750	92,1 ef	199 BCD	71,8 b	69 AB	93,6 f	112 AB
2,188	88,8 cde	419 EF	72,6 b	150 ABC	93,0 ef	310 CDE
2,625	87,3 cd	758 HI	69,4 ab	315 DE	90,6 def	658 GH
3,063	84,7 c	1128 J	71,1 ab	551 FG	88,9 cde	1339 K
3,500	67,7 a	1899 L	67,7 a	875 I	84,7 c	2328 M

PastTemp – teplota počátku mazovatění; PeakVisc – maximum viskozity

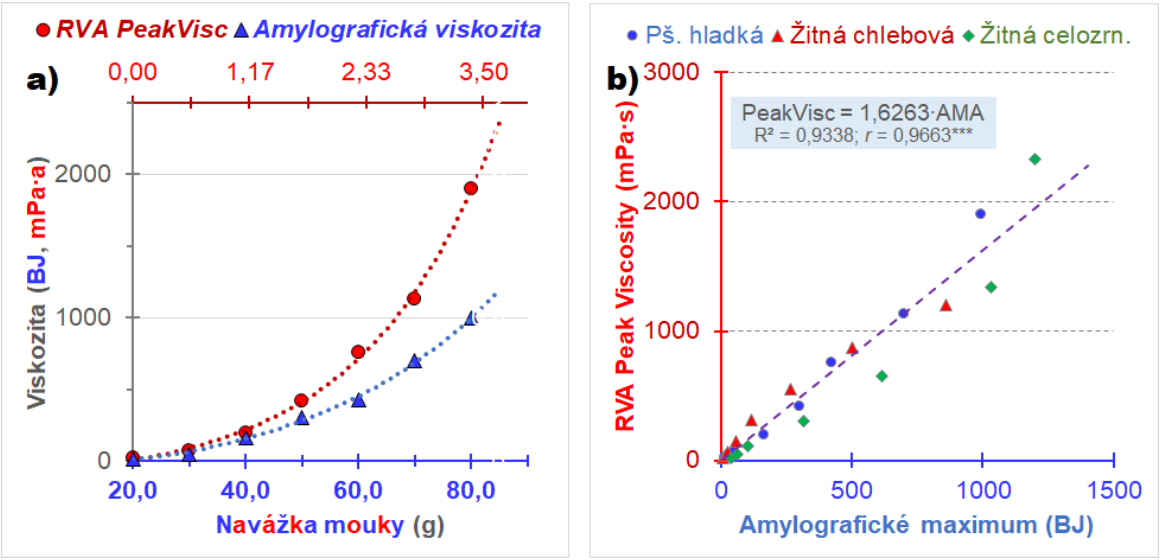
a-f, A-M: hodnoty v odpovídajících si sloupcích, označené stejnými písmeny, nejsou statisticky odlišné (P = 95 %)

amylografického testu. Podobně hodnoty *PeakVisc* jsou vyšší než maxima amylografické viskozity (o 10-260 %) s výjimkou čtyř nejnižších dávek vzorku T1700 (-50 až -2 %). Celkově nelze v rozdílech párů odpovídajících si znaků najít jednoznačný trend pro mouky T530 a T960, zatímco pro žitnou celozrnnou je tendence rostoucí (Tab. 2).

Korelační a regresní analýza

Korelační analýza v tomto směru ovšem jednoznačně potvrzuje nepřímý vztah teplot počátku viskozity suspenzí s navážkami mouky, stejně jako jednoznačnou vazbu mezi navážkou a maximy viskozity (r = 0,82 pro amylograf a r = 0,83 pro RVA, P = 99,9 %. Ve shodě s výše citovanou literaturou jsou korelace mezi amylografickým maximem–*PeakVisc* a teplotou maxima mazovatění–*PastTemp* velmi těsné (r = 0,97 a 0,74; P = 99,9 %), zatímco mezi *Tpoč* a *PastTemp* neprůkazná (Tab. 3).

V případě závislosti viskozit suspenzí na navážce se experimentálně potvrdila platnost tzv. *Einsteinovy rovnice*, popisující viskozitním chování disperzních systémů – jak pro amylogra-



Obr. 1: Vztah mezi parametry amylografické a RVA zkoušky.
a) navážkou, amylografickou viskozitou a *PeakVisc* pro pšeničnou hladkou (kubická regrese), b) maximy viskozity amylografické a RVA zkoušky (*PeakVisc*) pro pšeničnou hladkou, žitnou chlebovou a žitnou celozrnnou mouku (lineární regrese)

fickou, tak RVA maximum viskozity a vzorek T530 byl uplatněn polynom 4. řádu s koeficientem determinace R^2 = 0,9979 (Obr. 1a). Pro ostatní dvě mouky byly dvojice hodnot

Tab. 3: Korelace mezi amylografickými a RVA znaky

Viskozitní zkouška		RVA			*Navážka mouky*
		Past Temp	*Peak Time*	*Peak Visc*	
Amylograf	*Tpoč*	0,31	0,29	-0,59**	-0,81***
	Tmax	0,74***	0,58**	-0,05	-0,39
	AMA	-0,20	0,10	0,97***	0,82***
Navážka mouky		-0,60**	-0,32	0,83***	1,00

Amylografické znaky: Tpoč, Tmax – teplota počátku a maxima mazovatění; AMA - maximum amylografické viskozity

RVA znaky: Past Temp – teplota počátku mazovatění; Peak Time, Peak Visc – čas maxima a maximum viskozity

***, ***: párové korelace průkazné na hladině P = 99, resp. 99,9 %*

R^2 pro amylografická i RVA data vyšší (0,991-0,998). Z dat v tabulkách lze postřehnout, mazovatění vodné suspenze mouk probíhá jednoznačně rychleji během RVA zkoušky (přibližně 1,6×) – toto dokresluje lineární regrese (R^2 = 0,9338; Obr. 1b). Predikce *PeakVisc* pomocí polynomů 3. a 4. řádu jsou pak podle předpokladu přesnější (R^2 = 0,9535 a 0,9545), neboť se takto potlačují rozdíly obou maxim viskozit při vyšších navážkách mouky.

Závěr

Na souboru tří základních pekařských mouk byla prokázána možnost zastupitelnosti amylografické a RVA zkoušky. Predikce maxima viskozity RVA zkoušky (parametru *PeakVisc*) podle amylografického maxima pro sedm postupně rostoucích navážek mouk byla statisticky úspěšná, je však nutno použít min. kubickou rovnici (R^2 = 0,9545) a tento závěr pilotní studie verifikovat na rozsáhlejších souborech hladké mouk pšeničné, resp. žitných chlebové a celozrnné.

Použitá literatura

Martines M. (2015): Applications of the Rapid Visco Analyser (RVA) in the food industry: a broader view. Perten Science World 1: 14–19.

Dong S.S., Jay-Lin J. (2003): Comparison of starch pasting properties at various cooking conditions using the Micro Visco-Amylo-Graph and the Rapid Visco Analyser. Cereal Chem. 80(6): 745–749.

Pojić M., Hadnađev M., Dapčević Hadnađev T. (2013): Gelatinization properties of wheat flour as determined by empirical and fundamental rheometric method. Eur. Food Res. Technol. 237: 299–307.

Haase N.U., Mintus T., Weipert D. (1995): Viscosity Measurements of potato starch paste with the Rapid Visco Analyzer. Starch / Stärke 47(4): 123–126.

Kim W.W., Yoo B. (2009): Rheological behaviour of acorn starch dispersions: effects of concentration and temperature. Internat. J. Food Sci. Technol. 44(3): 503–509.

Kontaktní adresa:

Ing. Ivan Švec, Ph.D.
Ústav sacharidů a cereálií
VŠCHT Praha
Technická 5
166 28 Praha 6 – Dejvice
Ivan.Svec@vscht.cz

Název publikace:	**Aktuální poznatky v pěstování, šlechtění, ochraně rostlin a zpracování produktů**
Druh publikace:	**Vědecká příloha časopisu Úroda 12/2021**
Autoři publikace:	**Kolektiv autorů dle obsahu**
Editoři:	**Ing. Barbora Badalíková** **Ing. Jakub Prudil**
Náklad:	**5. 500 výtisků**
Forma:	**CD**
Vydal:	**Výzkumný ústav pícninářský, spol. s r.o. Troubsko** **Zemědělský výzkum, spol. s r.o. Troubsko** **a Úroda 12/2021**

ISSN 0139-6013