



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Aplikace selenu při pěstování sóji pro výrobu selenem obohaceného šrotu

Certifikovaná metodika

Lukáš Kaplan a kol.



Certifikovaná metodika byla zpracována v rámci řešení výzkumného projektu
**NAZV QK22010037 (*Implementace agronomických selenizačních postupů
při výrobě mléka a mléčných výrobků jako funkčních potravin*)**



Česká zemědělská univerzita v Praze

**Fakulta agrobiologie,
potravinových a přírodních zdrojů**

Foliární aplikace selenu při pěstování sóji pro výrobu selenem obohaceného šrotu

CERTIFIKOVANÁ METODIKA

Lukáš Kaplan a kol.

Certifikovaná metodika byla zpracována v rámci řešení výzkumného projektu **NAZV QK22010037 (*Implementace agronomických selenizačních postupů při výrobě mléka a mléčných výrobků jako funkčních potravin*)**

CERTIFIKOVANÁ METODIKA

Předkládaná metodika je doporučením pěstitelům, chovatelům a producentům krmiv pro optimalizaci selenizace a agrotechniky k dosažení vhodné hladiny selenu a jeho sloučenin v sójovém šrotu jako složky krmných směsí.

Dedikace: Ke zpracování certifikované metodiky bylo použito výsledků výzkumných aktivit realizovaných v rámci řešení výzkumného projektu **NAZV QK22010037 (Implementace agronomických selenizačních postupů při výrobě mléka a mléčných výrobků jako funkčních potravin)**

Kolektiv autorů:

Ing. Lukáš Kaplan, Ph.D.¹
Ing. Tomáš Mrština¹
Ing. Lukáš Praus, Ph.D.¹
Prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.¹
Prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., dr.h.c.¹
Doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D.²
Ing. Jaromír Ducháček, Ph.D.²
Ing. Filip Hlaváček³

Česká zemědělská univerzita v Praze

¹⁾ Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin

²⁾ Katedra chovu hospodářských zvířat

³⁾ Rodinná farma Ivo Hlaváček

Aplikace selenu při pěstování sóji pro výrobu selenem obohaceného šrotu

Lukáš Kaplan a kol.

Vydání první, listopad 2024

Vydavatelství: Česká zemědělská univerzita v Praze

Tisk: Powerprint s.r.o., Brandejsovo nám. 1219/1, 165 00 Praha Suchdol, www.powerprint.cz

Obálka: Ing. Filip Hlaváček

© Česká zemědělská univerzita v Praze

Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, FAPPZ ČZU v Praze

Kamýcká 129, 165 00 Praha – Suchdol

tel.: +420 224 382 754

<http://www.af.czu.cz>

ISBN 978-80-213-3430-4

Abstrakt

Předkládaná metodika je primárně určena pěstitelům sóji luštinaté v podmínkách ČR a provozovatelům krmivářských podniků, které produkují šroty. Předmětem certifikace je ověření přípravy a výroby sójových šrotů fortifikovaných selenem. Metodika byla ověřena při pěstování sóji v modelovém experimentu a posléze ve víceletých polních experimentech, při kterých byl selen aplikován na rostliny foliárně ve formě selenanu při optimalizaci agrotechnických postupů. Z výsledků vyplynulo, že implementace metodiky umožňuje efektivní obohacení sójových bobů selenem a výrobu šrotů s příznivými nutričními hodnotami, které jsou bezpečné jako krmivo pro široké spektrum zvířat. Biofortifikované sójové boby a šroty, včetně šrotů získaných extruzí, mohou při zachování výnosů rostlin sóji, srovnatelných s konvenčními pěstitelskými systémy, zvýšit jejich obchodní potenciál.

Klíčová slova: Sója luštinatá, selen, organická forma selenu, biofortifikace

Abstract

The presented methodology is primarily intended for soybean growers operating within the conditions of the Czech Republic and for feed industry operators producing soybean meal. The purpose of certification is to verify the preparation and production processes of selenium-fortified soybean meal. This methodology was validated first through a model experiment and subsequently in multi-year field trials, during which selenium, in the form of selenate, was applied foliarly to plants with consideration for optimising agronomic practices. The results indicate that implementing this methodology allows for effective selenium enrichment of soybeans and the production of meals with favourable nutritional values, which are safe as feed for a wide range of animals. Biofortified soybeans and soybean meals, including those produced through extrusion, can maintain soybean yields comparable to conventional farming systems, thus enhancing their commercial potential.

Keywords: *Glycine max*, selenium, organic form of selenium, biofortification

OBSAH

I. Cíl metodiky.....	- 1 -
II. Vlastní popis metodiky	- 2 -
1. Úvod.....	- 2 -
2. Modelový nádobový experiment.....	- 5 -
2.1. Metodické postupy	- 5 -
2.1.1. Založení a ošetřování nádobového experimentu	- 5 -
2.1.2. Metody stanovení celkového obsahu selenu	- 6 -
2.2. Zhodnocení výsledků modelového nádobového experimentu	- 7 -
3. Polní maloparcelkový experiment.....	- 7 -
3.1. Metodické postupy	- 7 -
3.1.1. Založení a ošetřování experimentu.....	- 7 -
3.1.2. Metody stanovení celkového obsahu selenu a obsahu jednotlivých forem selenu.....	- 9 -
3.2. Zhodnocení výsledků maloparcelkového polního experimentu	- 9 -
4. Zhodnocení sójových šrotů a šrotů po extruzi.....	- 11 -
4.1. Provozní polní experiment.....	- 11 -
4.2. Metody stanovení obsahů celkových prvků ve šrotech a šrotů po extruzi	- 12 -
4.3. Zhodnocení celkových obsahů prvků ve šrotech sóji před extruzí.....	- 13 -
4.4. Zhodnocení celkových obsahů prvků a nutričních vlastností po extruzi směsí šrotů jednotlivých variant pokusu	- 14 -
4.5. Zhodnocení výsledků jednotlivých variant šrotů po extruzi.....	- 16 -
III. Srovnání novosti postupů	- 21 -
IV. Popis uplatnění certifikované metodiky.....	- 21 -
V. Ekonomické aspekty.....	- 22 -
VI. Závěr	- 24 -
VII. Seznam použité související literatury	- 25 -
VIII. Seznam publikací, které předcházely metodice.....	- 25 -
IX. Dedikace.....	- 26 -
X. Ostatní náležitosti certifikované metodiky	- 26 -

I. Cíl metodiky

Biofortifikace plodin selenem může mít potenciál k obohacení agrárního produkčního segmentu, včetně pokrytí nutričních požadavků hospodářských zvířat, a vyznačuje se biologickou bezpečností, spolehlivostí, dlouhodobou udržitelností a jednoduchostí celého procesu. Selenizace může navíc příznivě ovlivnit růst rostlin, výnos a kvalitu produkce. Zájem o agronomickou biofortifikaci dokumentují početné studie v polních podmínkách věnované selenizaci významných plodin, např. kukuřici seté, pšenici seté, lilku bramboru, sóji luštinaté, řepce olejně aj. Aplikace Se do půdy ve formě selenanu (SeO_4)⁻² je nejrozšířenější a nejvíce prostudovanou metodou agronomické biofortifikace. Druhou metodou je foliární aplikace, přičemž zásadním faktorem, který ovlivňuje konečný výsledek, je správné načasování postřiku vzhledem k vývojové fázi porostu. Při správné aplikaci dojde k transformaci aplikované sloučeniny Se na organickou formu, která je následně transportována do generativních orgánů, kde se ukládá. Při špatném nastavení termínu foliární aplikace a aplikační dávky může být účinnost biofortifikace nižší, a to z důvodu nedostatečného času pro redistribuci organických sloučenin Se z listů floémem do generativních orgánů. Vývojová fáze v době postřiku dále ovlivňuje obsah netransformovaného anorganického Se v rostlině. Mezi obsahem Se v konzumních částech rostlin a množstvím foliárně aplikovaného Se platí lineární vztah, a proto lze dávky Se poměrně snadno optimalizovat.

Selen je esenciální stopový prvek ve výživě zvířat, který se podílí na zabezpečení řady životně důležitých biochemických procesů, nejčastěji ve formě tzv. selenoproteinů. V popředí zájmu jsou především antioxidační účinky sloučenin Se. Hlavním zdrojem Se pro zvířata je strava, avšak krmiva, zvláště rostlinného původu, jsou na Se velmi chudá a nemohou tak zabezpečit optimální denní příjem Se. Důvodem jsou nízké obsahy tohoto prvku vedoucí následně k jeho nízkým obsahům v rostlinné produkci. Suboptimální příjem selenu může představovat zvýšené riziko závažných onemocnění hospodářských zvířat. Řízená selenizace rostlin a produkce funkčních krmiv představuje spolehlivý nástroj navýšení denního příjmu Se zvířetem.

Cílem předkládané metodiky je optimalizace foliární aplikace selenu při pěstování sóji v provozních podmínkách. Produktem aplikace jsou selenizované (biofortifikované) sójové boby, které budou využity pro přípravu a výrobu šrotů jako krmiva. Jednotlivé dílčí cíle pak byly formulovány následovně: (i) ověřit foliární aplikaci selenu v modelovém nádobovém experimentu při pěstování sóji, (ii) na základě výsledků cíle (i) ověřit foliární aplikaci selenu

ve víceletém maloparcelkovém experimentu v polních podmínkách při pěstování sóji a stanovit výsledné zastoupení sloučenin Se v sójových bobech, (iii) ověřit aplikaci selenu v provozních podmínkách při pěstování sóji a dosažení dostatečné produkce selenizovaných bobů, (iv) příprava šrotů a ověření jejich nezávadnosti a nutričních vlastností po extruzi. Úspěšnost selenizace rostlin sóji luštinaté lze vyhodnotit na základě obsahu Se a jeho sloučenin v sójových bobech.

II. Vlastní popis metodiky

Předkládaná metodika je souhrnem poznatků o foliární aplikaci selenu při pěstování sóji pro výrobu nezávadného a nutričně bohatého sójového šrotu odvozeného ze selenizovaných sójových bobů, který může být využit pro výrobu krmných směsí. Důraz je kladen na hodnocení aplikace Se při pěstování sóji v polních podmínkách, i v přesném modelovém experimentu. Při aplikaci selenu v polních podmínkách bylo nezbytné stanovit a ověřit přesné načasování postřiku při agrotechnických postupech. Nezbytným předpokladem dosažení výsledků metodiky jsou chemické analýzy nejen sójových bobů, ale i vyrobených šrotů. Vedle bilance obsahů Se a jeho specií, jejichž biologicky přijatelné podíly v bobech i šrotech jsou důležité z hlediska výživy zvířat, bylo nezbytné ověřit také obsahy dalších prvků, zejména makroživin, mikroživin a rizikových prvků. V neposlední řadě bylo velmi důležité ověřit nutriční vlastnosti šrotů po extrudaci.

Na základě výsledků nádobových a především víceletých polních experimentů, včetně souvisejících výsledků chemických analýz, byl vyhodnocen vliv aplikace Se na transport a akumulaci Se v generativních orgánech rostlin sóji luštinaté. Metodika poskytuje ucelený návod na využití foliární aplikace selenu pro výrobu sójových šrotů a jsou v ní detailně popsány postupy, které byly použity v rámci řešení výzkumného projektu NAZV QK22010037 (*Implementace agronomických selenizačních postupů při výrobě mléka a mléčných výrobků jako funkčních potravin*).

1. Úvod

Sója luštinatá (*Glycine max* L.) jako jedna z nejdůležitějších bílkovinných plodin na světě může hrát vedoucí úlohu při řešení globální potravinové bezpečnosti (Zhan et al. 2019). Její výnosy byly od roku 1980, spolu s rýží, nejvíce ovlivněny změnou klimatu ve srovnání s pšenicí a kukuřicí (Lobell et al. 2011). Taková reakce na klimatické trendy může mít v nadcházejících desetiletích zásadní význam. To odůvodňuje více než 237% nárůst celosvětové

produkce sóji od roku 1990 do roku 2016 (Widmar 2017). Semena sóji obsahují přibližně 35 % bílkovin a používají se jako jedna ze složek kojenecké výživy, doplňků stravy a dalších druhů potravin. Její zpracovaný odpad se používá jako krmivo s vysokým obsahem bílkovin pro hospodářská zvířata (Yang et al. 2003).

Účinnost biofortifikace plodin selenem lze hodnotit bilancí celkového Se, tj. množstvím Se v aplikační dávce na stanovené zvýšení obsahu Se ve fortifikované biomase. Bilance celkového Se je však z hlediska benefitu pro konzumenty fortifikované biomasy nedostatečná. Je známo, že různé sloučeniny (specie) Se vykazují odlišnou biologickou účinnost a aktivitu, které jsou podmíněny snadností příjmu dané specie, její mobilitou v cílovém organismu, kompatibilitou s metabolickými drahami a fyziologickými účinky produktů metabolismu Se (Mehdi et al. 2013). Rozdílné chování (příjem, distribuce, akumulace) odlišných forem Se v rostlinách bylo opakovaně zdokumentováno ve studiích založených na fortifikace aplikací Se do půdy (Kikkert et al. 2013), foliární (Di et al. 2023) i hydroponickou (Kikkert a Berkelaar 2013) aplikací. Rozdílnou biologickou účinnost/aktivitu různých sloučenin Se je nezbytné uvažovat také na úrovni výživy hospodářských zvířat. V tomto ohledu vynikají zejména organické sloučeniny selenu (Se_{org}), jak dokládají přímé srovnávací studie z krmivářských pokusů. Tyto práce dokládají lepší využitelnost organických sloučenin Se ve srovnání s anorganickými. Agronomická biofortifikace polních plodin mikroživinami je jednou z možných strategií udržitelné produkce zdravých a na živiny bohatých potravin a krmiv (Cakmak & Kutman 2018).

Ukázalo se, že seleničitan i selenan jsou při listové aplikaci účinně a bezpečně absorbovány plodinami, a to rýží, pšenicí a salátem (Meenakshi et al. 2010), ale i sójou (Silva et al. 2023), cizrnou (Poblaciones et al. 2014), kukuřicí a fazolemi (Ngigi et al. 2019) a také řepkou (Gašparík et al. 2024).

Selen může být přidáván do stravy širokého spektra druhů hospodářských zvířat. Mohou být použity obě formy, a to seleničitan sodný nebo selenan sodný. Selen se přidává v množství 0,1 mg/kg v kompletním krmivu pro prasata, masný i mléčný skot, ovce, drůbež, králíky a mléčné kozy. Pro krůty může být selen podán ve formě tekutého koncentrátu v množství 0,2 mg/kg. Koním a ostatním zvířatům (zvířata v zoologických zahradách, laboratorní zvířata) lze podávat až do 0,1 mg/kg selenu v celkové stravě (Church a Pond 1989). Tabulka 1 pak dokumentuje doporučené obsahy makro a mikroprvků včetně Se pro jednotlivé kategorie drůbeže. Tabulka mimo jiné dokládá, že doporučené obsahy Se v krmné dávce jsou ve srovnání s ostatními mikroelementy velmi nízké.

Tab. 1: Doporučené obsahy živin v 1 kg krmné směsi u drůbeže (Zelenka et al. 2007)

Druh a typ zvířete	Obsah živiny (g)					Obsah živiny (mg)				
	N-látky	P	K	Ca	Mg	Fe	Zn	Cu	Mn	Se
Kuřata a kuřice nos.t.	155-200	4,0-4,9	4-6	10-21	0,6	60-70	60-70	6-8	70	0,2
Slepice nosného typu	162-182	3,8-4,1	6	37-39	0,6	60-65	60-70	8-10	70-90	0,2
Kuřata, kuřice, slepice, kohouti masného typu	130-200	3,8-4,5	4-9	10-30	0,5-1	40-60	80-100	8-10	80	0,2
Vykrmovaná kuřata	180-230	4,2-5,0	6,5	8,5-10	0,5	80	80-100	8	100	0,15-0,2
Vykrmované krůty a krocani	150-270	4,7-7,4	4-7	9,0-13,3	0,6	40-80	100-120	15-20	110-140	0,2
Odchov krůt	140-270	6,0-7,5	4-7	10,0-13,7	0,6	30-75	70-130	15-20	100-140	0,2
Chovné krůty a krocani	115-170	4,0-4,7	4	10-28	0,6	30-65	80-130	15-20	100-140	0,2
Kachna pekingská	150-220	3,6-4,8	6,5	9	0,5-0,6	50-80	700-100	6-8	60-100	0,15-0,2
Vykrmovaná kachna pižmová	165-210	3,7-4,3	6,5	9,5-10,5	0,5	60-80	80-100	6-8	70-90	0,15-0,2
Husy	130-220	3,0-3,5	6,5	8-10 (30)	0,5	80	80	8	60	0,15-0,2
Křepelky	195-245	2,2-4,7	4	9-10 (30)	0,5	60-100	80	6	70-90	0,2
Perličky	155-250	4-5	3	9-10 (35)	0,5	60	60-80	6-8	50-100	0,15
Bažant	150-260	4,0-7,5	4-6	11-28	0,5	60-80	90-120	10-15	90-120	0,3
Pštros africký	80-255	3,4-4,3	---	10-25	0,5	20-35	50-90	15	80-120	0,2-0,3

Při dávkování selenu do krmných dávek zvířat je třeba se vyhnout jeho nadbytku. Selen však není více toxický než některé jiné stopové prvky. Toxické hladiny selenu v celkové stravě pro prasata se pohybují v rozmezí 5–10 mg/kg, u kuřat 5–20 mg/kg, pro hovězí dobytek činí 8,5 mg/kg, koně 5–40 mg/kg a ovce 3 mg/kg. Většina z hospodářských zvířat vyžaduje selen v množství 0,1 mg/kg v celkové stravě (National Research Council, 1985). Výjimkou jsou krůty, které vyžadují 0,2 mg/kg a selata 0,3 mg/kg. Obecně však platí, že vyšší hladina proteinů, síry a arsenu částečně chrání organismus proti toxicitě zvýšených koncentrací selenu.

2. Modelový nádobový experiment

První část metodiky charakterizuje modelový nádobový experiment při pěstování sóji.

2.1. Metodické postupy

2.1.1. Založení a ošetřování nádobového experimentu

Nádobový vegetační experiment byl založen ve venkovní vegetační hale na České zemědělské univerzitě v Praze s řízeným zastřešováním. Nadmořská výška činí přibližně 280 m n. m. Zemina pro experiment byla odebrána z pozemku v Doudlebách nad Orlicí a je charakterizována jako černice modální (jílovitohlinitá).

Po vysušení na vzduchu byla zemina zhomogenizována sítem o velikosti ok 5 mm. Do každé nádoby o objemu 5 litrů bylo naváženo 5 kg zeminy. Každá varianta zahrnovala 4 opakování. Do každé nádoby se zeminou byl aplikován hnojivý roztok NPK (1 g N, 0,2 g P, 0,8 g K). Pro osetí každé nádoby osivem sóji byla použita odrůda 'Saatbau Aurelina'. Do každé nádoby bylo vyseto 6 semen a po vyklíčení se jednotilo na konečný počet čtyř rostlin na nádobu. Schéma pokusu znázorňuje tabulka č. 2, kde se ověřovaly různé formy Se a také ovlivnění příjmu těchto forem po přidání smáčedla Silwet (modifikovaný polyalkylenoxid heptamethyltrisiloxan) ve dvou aplikovaných dávkách, každá po 50 µg Se na nádobu. Aplikací doba byla dle stupnice fenologické fáze BBCH 60 (první květy rozkvetlé) a BBCH 70 (tvorba lusků).

Tab. 2: Schéma nádobového pokusu

Varianta	BBCH	Dávka Se
Kontrola (voda)	60 a 70	2x50 µg/ nádoba
Seleničitan sodný		
Seleničitan sodný + Silwet		
Selenan sodný		
Selenan sodný + Silwet		

Obr. 1: Sója v době 1. aplikace Se



Obr. 2: Sója v době 2. aplikace Se



Během vegetace byly rostliny zavlažovány na cca 60 % nasycení pórů zeminy vodou a ošetřovány proti chorobám a škůdcům. Při dosažení zralosti rostlin sóji byly sklizeny sójové boby, které byly poté usušeny při teplotě 35 °C.

2.1.2. Metody stanovení celkového obsahu selenu

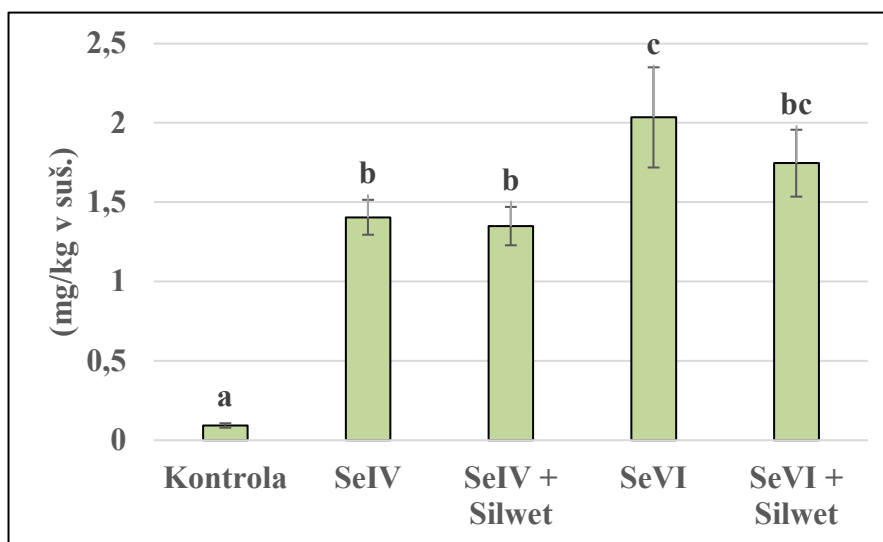
Sójové boby byly rozemlety v hmoždíři s tloučkem a homogenizovány sítem o velikosti ok 0,5 mm. Vzorky (400 mg) byly rozkládány směsí 65 % HNO₃ (8 ml) a 30 % H₂O₂ (2 ml) při 190 °C pomocí mikrovlnného systému (Ethos 1, MLS GmbH, Německo). Stanovení celkového Se ve vzorcích bylo provedeno hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS; Agilent 8900, Agilent Technologies Inc., USA) pracující v režimu H₂.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí jednoduché analýzy rozptylu (ANOVA) s následným vícenásobným porovnáváním s pomocí Tuckeyho HSD testu na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ pomocí programu Statistica 12.

2.2. Zhodnocení výsledků modelového nádobového experimentu

Graf č. 1 znázorňuje jednotlivé obsahy selenu v sójových bobech. Kontrolní varianta obsahovala 0,09 mg/kg Se. Obsahy Se ve variantách s foliárně aplikovaným Se byly statisticky významně vyšší. Varianty ošetřené seleničitanem sodným a seleničitanem sodným se smáčedlem Silwet obsahovaly v průměru za obě varianty 1,38 mg/kg Se a nebyl mezi nimi nalezen statisticky významný rozdíl. Varianta, u které se aplikoval selenan sodný, zaznamenala nejvyšší obsah Se 2,03 mg/kg, oproti variantě se selenanem sodným a smáčedlem to byl rozdíl 14 %. Smáčedlo v tomto případě nezlepšilo významně akumulaci selenu do sójových bobů. Mezi těmito variantami nebyl nalezen statisticky průkazný rozdíl. Experiment prokázal, že aplikace selenanu je vhodnější a semena sóji obsahovala vyšší koncentraci Se.

Graf 1: Obsah selenu v sójových bobech v sušině v nádobovém experimentu



Pozn.: varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

3. Polní maloparcelkový experiment

Druhá část metodiky charakterizuje víceletý polní maloparcelkový experiment při pěstování sóji na rodinné farmě Ivo Hlaváček.

3.1. Metodické postupy

3.1.1. Založení a ošetřování experimentu

Tříletý polní pokus byl založen v roce 2020 a pokračoval v letech 2021 a 2022 v v lokalitě Doudleby nad Orlicí (GPS 50°7'10.89''N, 16°15'4.595''E) ve východních Čechách, v nadmořské výšce přibližně 273 m n. m. Půda je charakterizována jako černice modální

(jílovitohlinitá) na sprašových hlínách, středně těžká, bez skeletu, s příznivými vláhovými poměry. Celkový obsah Se v této půdě byl zjištěn $0,03 \pm 0,01$ mg/kg.

Pro zpracování půdy a setí byl zvolen konvenční způsob obdělávání půdy a pěstování rostlin. Základní hnojení před setím bylo provedeno NPK 15-15-15 v dávce 100 kg/ha. Odrůda sóji 'Saatbau Bettina' byla vyseta koncem dubna a během vegetace ošetřena proti plevelům, chorobám a škůdcům.

Pokus byl založen na čtyřech parcelách o rozloze 25 m^2 ($5 \times 5 \text{ m}$). První ošetření byla kontrola, která byla v době aplikace Se ošetřena pouze pitnou vodou. Na parcelách ošetřených selenanem sodným bylo ve fázi BBCH 60 (první květy aplikováno 15, 40 a 100 g/ha Se. V roce 2022 byla do experimentálního plánu zařazena další fenologická fáze BBCH 20 (první viditelný sekundární výhon). Počasí v den aplikace bylo bezvětřné a postřik byl proveden v ranních nebo večerních hodinách, kdy nehrozilo nebezpečí úpalu a po dobu nejméně 24 hodin po aplikaci nespady žádné srážky. Roztok selenanu sodného (Sigma Aldrich, Německo) byl aplikován pomocí ručního zádového postřikovače SOLO. Celkový objem postřiku Se činil 5 l na parcelu. Porosty byly každý rok střídány. Rostliny byly sklizeny v polovině září. Z každé varianty byly sklizeny čtyři dílčí plochy o velikosti 1 m^2 . Čerstvé rostliny byly zváženy a poté usušeny při $35 \text{ }^\circ\text{C}$. Suché rostliny sóji byly rozděleny na boby a slámu a znovu zváženy.

Obr. 3: První postřik ve fázi BBCH 20



Obr. 4: Druhý postřik ve fázi BBCH 60

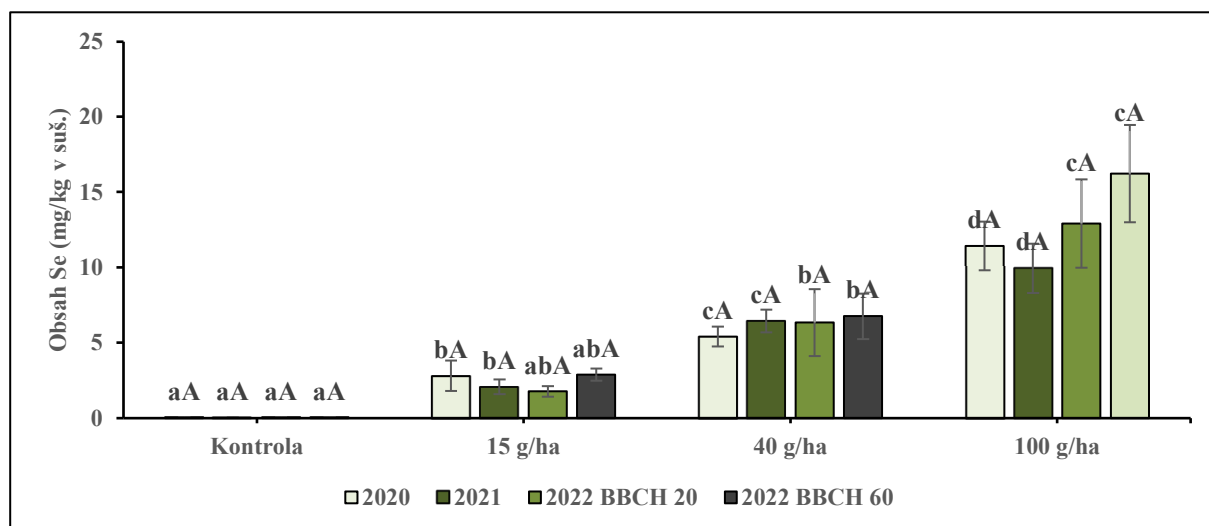


3.1.2. Metody stanovení celkového obsahu selenu a obsahu jednotlivých forem selenu

Metody stanovení celkového obsahu selenu jsou detailně popsány v kapitole 2.1.2. Pro stanovení sloučenin Se bylo třeba semena nejdříve zbavit tuku: Do 50ml polypropylenových zkumavek bylo naváženo 4 g vzorku a přidáno 20 ml n-hexanu. Vzorky byly třepány na vratné třepačce při 150 otáčkách za minutu po dobu 60 minut, odstředěny při 740×g po dobu 5 minut a poté byla odstraněna hexanová vrstva. Extrakce se opakovala třikrát, dokud horní vrstva nezůstala čirá. Zbytkové extrakční činidlo se nechalo vypařovat ze zkumavek v digestoři po dobu 24 h. Odtučněný prášek ze semen (200 mg) byl navážen do 15ml polypropylenových zkumavek. Vzorky byly předinkubovány s 5 ml 30 mmol/l Tris-HCl pufru (pH 7,25) v ultrazvukové lázni při 38 ± 2 °C po dobu 30 min. Následně byly vzorky doplněny 1 ml roztoku obsahujícího proteázu XIV ze *Streptomyces griseus* (10 mg/ml) a dalším 1 ml roztoku obsahujícího proteázu XXIII z *Aspergillus melleus* (10 mg/ml). Oba enzymy byly zakoupeny u společnosti Sigma Aldrich (Německo) a před použitím byly rozpouštěny v 30 mmol/l pufru Tris-HCl. Po homogenizaci na vortexovém míchadle (5 s) byly vzorky opět umístěny do ultrazvukové lázně a inkubovány po dobu 120 min za stejných podmínek. Poté byly zkumavky třepány na rotátoru (30 ot./min) po dobu 30 min, centrifugovány (2690×g) po dobu 5 min a filtrovány přes stříkačkový filtr (0,22 µm; acetát celulózy). Pro stanovení celkového Se (stanovení účinnosti extrakce) a sloučenin Se byla použita kombinovaná technika vysokotlaké kapalinové chromatografie a hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem (HPLC-ICP-MS).

3.2. Zhodnocení výsledků maloparcelkového polního experimentu

Graf 2: Obsah Se v bobech během tříletého maloparcelkového polního pokusu



Pozn.: varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti $\alpha = 0,05$.

Obsah Se v bobech v kontrolní variantě bez aplikace Se byl stabilní v rozmezí 0,04 až 0,09 mg/kg. Obsah Se v bobech byl významně ovlivněn aplikovanou dávkou selenanu. Nejvyšší obsah Se v bobech byl zaznamenán při nejvyšší aplikační dávce (100 g/ha) a u této varianty se také projevil největší vliv ročníku ve třech po sobě jdoucích letech (9,94–16,22 mg/kg Se). Nejvyšší obsahy Se v bobech byly zaznamenány v roce 2022, ale byly vyhodnoceny jako statisticky významné pouze pro aplikaci 100 g/ha Se. Obsah selenu v bobech v roce 2022 činil 1,76, 6,34 a 12,91 mg/kg u BBCH 20 a 2,88, 6,75 a 16,22 mg/kg u BBCH 60 po aplikaci 15, 40 a 100 g/ha Se. Mezi jednotlivými lety v rámci jednotlivých variant nebyly nalezeny statisticky významné rozdíly.

Tabulka č. 3 uvádí výsledky speciace Se v sójových bobech. Dominantní sloučeninou byl ve všech hodnocených vzorcích selenomethionin (SeMet). Zatímco při kontrolním ošetření byl obsah SeMet pouhých 0,08 mg/kg Se, při aplikaci 100 g/ha Se při BBCH 60 se zvýšil až na 15,69 mg/kg Se. Kvantifikovány byly také minoritní druhy Se, a to pouze v rostlinách ošetřených Se, jednalo se o selenocystin (SeCys₂) (0,12 – 0,43 mg/kg Se), seleničitan (Se^{IV}) (0,07 – 0,61 mg/kg Se) a selenan (Se^{VI}) (0,03 - 0,27 mg/kg Se). Je tedy zřejmé, že při zvolené aplikační dávce selenanu dochází k významné konverzi selenanu na organicky vázaný Se.

Silva et al. (2023) také zaznamenali některé minoritní sloučeniny Se v semenech sóji, jejichž suma byla zvláště nízká v poměru k SeMet po aplikační dávce 80 g/ha Se. Kromě sloučenin Se^{IV} a Se^{VI} zaznamenali i minoritní obsahy SeCys (detekovaný ve formě svého dimeru SeCys₂) a methylselenocystein (MetSeCys). V našem případě byl SeCys₂ kvantifikován v semenech (až 0,43 mg/kg Se) v závislosti na dávce selenanu, zatímco obsahy MetSeCys byly pod mezí detekce stanovení.

Tab. 3: Obsah specií Se v sójových bobech

Varianta dávka Se	Celkový Se (odtučněný)	SeCys ₂	MetSeCys	SeMet	Se ^{IV}	Se ^{VI}
	(mg/kg v suš.)					
Kontrola 0 g/ha	0,09 ^a	< 0,01	< 0,01	0,08 ^a	0,02 ^a	< 0,01
BBCH 20; 15 g/ha	3,15 ^b	< 0,05	< 0,05	1,73 ^b	< 0,05	< 0,05
BBCH 60; 15 g/ha	3,66 ^b	< 0,05	< 0,05	2,45 ^b	0,07 ^b	0,06 ^b
BBCH 20; 40 g/ha	7,06 ^c	0,14 ^a	< 0,05	4,78 ^c	0,19 ^c	< 0,05
BBCH 60; 40 g/ha	11,95 ^d	0,20 ^b	< 0,05	7,19 ^c	0,27 ^d	0,19 ^c
BBCH 20; 100 g/ha	8,08 ^c	0,12 ^a	< 0,10	5,91 ^d	0,27 ^d	< 0,10
BBCH 60; 100 g/ha	23,79 ^f	0,43 ^c	< 0,10	15,69 ^f	0,61 ^c	0,27 ^d

4. Zhodnocení sójových šrotů a šrotů po extruzi

4.1. Provozní polní experiment

V roce 2023 byl v Doudlebách nad Orlicí na rodinné farmě Ivo Hlaváček založen provozní polní pokus, ve kterém byly zvýšeny dávky selenanu na 50, 100 a 150 g/ha Se, které byly aplikovány ve fázi BBCH 60 (první květy rozkvetlé). Plocha, kde nebyl aplikován žádný selen byla kontrolní variantou. Aplikace byla provedena taženým postřikovačem Kverneland Ikarus A38 (viz. obrázek 5). Každá jednotlivá dávka byla aplikována na plochu 1000 m² s objemem aplikační směsi vody a selenanu sodného 600 litrů na ha (viz. obrázek 6). V tomto roce byl experiment sklizen sklízecí mlátičkou New Holland CX8080 (viz. obrázek 7). Po sklizni sójových bobů v Doudlebách nad Orlicí byly boby šrotovány kladívkovým šrotovníkem (viz. obrázek 8).

Obr. 5: Aplikace selenanu postřikovačem



Obr. 6: Plocha polního pokusu



Obr. 7: Sklizeň sóji



Obr. 8: Šrotovník (frakce 2 mm)



V získaných šrotech byly stanoveny celkové obsahy prvků a nutriční vlastnosti šrotů po extruzi ze všech variant provozního pokusu.

4.2. Metody stanovení obsahů celkových prvků ve šrotech a šrotů po extruzi

Celkové obsahy makroprvků a mikroprvků, včetně rizikových prvků, ve vzorcích šrotů byly stanoveny atomovou absorpční spektrometrií s plamenovou atomizací (F-AAS, Varian 280FS, Varian, Austrálie) a optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES, Agilent 720, Agilent Technologies Inc., USA), a to v mineralizátech po rozkladu vzorků na mokré cestě ve směsi HNO_3 (8 ml) a H_2O_2 (2 ml) při teplotě 190 °C v mikrovlnném zařízení (Ethos 1, Advance Microwave Digestion System). Stanovení celkového obsahu Se ve vzorcích šrotů je detailně popsáno v kapitole 2.1.2. Nutriční vlastnosti byly stanoveny následujícími metodami: Stanovení sušiny – vysoušení při 103 °C, sušárna UFB500 (Memmert), stanovení popelovin – spálení při 550 °C, muflová pec Lac, stanovení hrubého tuku – extrakce petroléterem, SER146 (Velp), stanovení hrubé vlákniny – dvoustupňová hydrolýza podle Henneberga a Stohmana, Ankom Fiber Analyzer 220 (Ankom), stanovení detergentní vlákniny – hydrolýza metodou podle Van Soesta, Ankom Fiber Analyzer 220 (Ankom), stanovení hrubého proteinu – analýza obsahu dusíku podle Kjeldahla s přepočítávacím koeficientem 6,25, Kjeltec 2400 (Foss), stanovení obsahu aminokyselin – sirmé aminokyseliny – oxidativní hydrolýza, středotlaká kapalinová chromatografie po ninhydrinové derivatizaci AAA400 (Ingos). Ostatní detekované aminokyseliny – kyselá hydrolýza, středotlaká kapalinová chromatografie po ninhydrinové derivatizaci, AAA400 (Ingos).

4.3. Zhodnocení celkových obsahů prvků ve šrotech sóji před extruzí

Tabulka č. 4 uvádí celkové obsahy sušiny a makroprvků v sójových šrotech. Obsah sušiny byl relativně podobný u všech variant a činil 94 %. U obsahů makroprvků je z tabulky patrný nárůst obsahů prvků se zvyšující se dávkou selenu u jednotlivých variant. Nejvyšší obsahy u všech prvků ve šrotech byly zjištěny ve variantě, kde byla aplikována dávka 150 g/ha Se. Z kationtů byl zjištěn celkově nejnižší obsah ve šrotech u vápníku (0,2–0,3 %), naopak nejvyšší obsah byl zjištěn u draslíku (1,8–1,9 %). Celkově, ze všech sledovaných makroprvků byl stanoven nejvyšší obsah u N (5,27 – 5,45 %).

**Tab. 4: Obsah sušiny a makroprvků ve šrotech
(celkové obsahy prvků v sušině)**

Vzorek dávka Se	Sušina (%)	N (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	S (mg/kg)
Kontrola 0	94,1	5,28	7031±165	18246±188	2870±55	3167±44	3140±34
50*	94,1	5,45	6925±176	18264±388	2761±125	3108±35	3271±46
100*	94,7	5,42	7156±231	18266±542	2873±181	3130±40	3460±39
150*	94,3	5,27	8010±95	19196±247	3032±68	3374±59	3706±96

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha.

Tabulka č. 5 uvádí celkové obsahy mikroprvků, včetně obsahů selenu. Nejvyšší obsahy z mikroprvků byly zjištěny u železa, naopak nejnižší obsahy pak u molybdenu (u toho mikroprvku byly zjištěny obsahy pod mezí detekce), což odpovídá běžnému zastoupení těchto prvků v semenech sóji. U obsahů zinku, manganu byl zjištěn podobný trend jako u makroprvků, tedy se zvyšující se dávkou selenu se zvyšoval také obsah těchto prvků ve šrotech. Sója, podobně jako v předcházejících experimentech reagovala velmi citlivě na aplikační dávku Se a její obsah v bobech byl více než stonásobný oproti kontrole na variantě ošetřené nejvyšší dávkou selenanu.

**Tab. 5: Obsah mikroprvků ve šrotech
(celkové obsahy prvků v sušině)**

Vzorek dávka Se	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Mo (mg/kg)	Se (mg/kg)
Kontrola 0	112±10	51±2	42±4	33±1	<0,6	0,29 ± 0,04
50*	102±0	55±1	41±2	34±1	<0,6	6,22 ± 0,17
100*	92±2	57±0	37±3	36±2	<0,6	12,7 ± 0,4
150*	108±2	61±1	38±0	40±2	<0,6	26,3 ± 2,2

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha.

Tabulka č. 6 uvádí celkové obsahy rizikových prvků. Nejvyšší obsah byl zjištěn u mědi a niklu, nejnižší hodnoty byly stanoveny u kadmia. U ostatních prvků byly zjištěné pod mezí detekce stanovení.

**Tab. 6: Obsah rizikových prvků ve šrotech
(celkové obsahy prvků v sušině)**

Vzorek dávka Se	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Ni (mg/kg)	As (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Al (mg/kg)
Kontrola 0	<1,0	<0,13	<0,6	5,6±0,8	<0,38	13±1	<6,0
50*	<1,0	0,64±0,11	<0,6	13±2	<0,38	11±0	<6,0
100*	<1,0	0,68±0,12	<0,6	19±2	<0,38	12±0	<6,0
150*	<1,0	<0,13	<0,6	23±0	<0,38	13±0	<6,0

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha.

Hodnocení obsahů rizikových látek v porovnání se Směrnicí Evropského Parlamentu a Rady 2002/32/ES ze dne 7. května 2002 o nežádoucích látkách v krmivech uvádí tabulka č. 7. Tato směrnice se vztahuje na nežádoucí látky v produktech určených ke krmení zvířat. Je zřejmé, že obsahy všech tří sledovaných prvků limitu bohatě vyhovují.

Tab. 7: Limity nežádoucích látek v krmivech

Prvek	Maximální obsah v mg/kg v krmivu s 12 % obsahem vlhkosti	Produkty určené ke krmení zvířat
Arsen	2	Krmné suroviny a kompletní krmiva
Olovo	10	Krmné suroviny
Kadmium	1	Krmné suroviny rostlinného původu

Pozn.: Charakteristika jednotlivých skupin dle účelu krmení

- 1) „krmnými surovinami“ se rozumí: různé produkty rostlinného nebo živočišného původu v přirozeném stavu, čerstvé nebo konzervované, produkty vzniklé jejich průmyslovým zpracováním a organické nebo anorganické látky obsahující doplňkové látky či nikoliv, které jsou určeny ke krmení zvířat orální cestou buď přímo jako takové či po úpravě, při přípravě krmných směsí nebo jako nosiče pro premixy
- 2) „kompletními krmivy“ se rozumí: směsi krmiv, které vzhledem ke svému složení pokrývají denní krmnou dávku

Zdroj: <https://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002L0032:20100302:CS:PDF>

4.4. Zhodnocení celkových obsahů prvků a nutričních vlastností po extruzi směsí šrotů jednotlivých variant pokusu

Ze získaných šrotů jednotlivých variant pokusu byla provedena extruze. Nejprve bylo provedeno namíchání směsí s přídatkem 5 % hm. vody, vztaženo na hmotnost materiálu (kukuřičného šrotu), pro nastavení extrudéru. Dalšími testovanými materiály byly šroty sójových bobů, pšeničného zrna a dle návrhu experimentu také čtyři směsi kukuřice/sójových bobů v poměru 1:1 dle jednotlivých variant získaných z polního pokusu. Extruze byla provedena na zařízení KE 19/25 laboratorní jednošnekový Kompakt extruder (Brabender, Německo). V průběhu procesu byly jednotlivé veličiny zapisovány a zpracovány, jak znázorňuje tabulka č. 8. Procesní parametry byly podle zkušeností zvoleny tak, aby docházelo

k maximálnímu pufování extrudátu, tedy co nejvyšší otáčky šnekovnice (150 otáček za min.), otáček dávkovacího šneku (15 otáček/min.) a teplota koncové zóny byla 150 °C. Vzhledem k horší granulometrii materiálu byla výstupní tryska extrudéru zvolena o průměru 4 mm a šnekovnice 1:2. Extruze pšeničného zrna, díky pravděpodobnému vysokému obsahu vlákniny a denuraci lepku, zastavila chod extrudéru a nebylo možné dál pokračovat. Po vyčištění extrudéru vyhořením byla provedena další extruze se směsí kukuřice a sóji ve stejném poměru (schéma viz tabulka č. 8). Výsledným produktem extruze byly granulky žluté barvy o velikosti zhruba 4 mm (viz. obrázek č. 10).

Tab. 8: Schéma extruze jednotlivých surovin

Vzorek dávka Se	Směs	T1 (°C)	T2 (°C)	T3 (°C)	T4 (°C)	Tlak (bar)
Kukuřice	100 %	51	91	122	153	20,2
Kukuřice + sója 0	1:1	50	90	118	153	20,2
Kukuřice + sója 50*	1:1	50	90	120	150	20,7
Kukuřice + sója 100*	1:1	50	89	120	150	20,3
Kukuřice + sója 150*	1:1	50	89	120	151	20,3

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha.

Obr. 9: Jednošnekový extruder



Obr. 10: Výsledný produkt extruze



4.5. Zhodnocení výsledků jednotlivých variant šrotů po extruzi

Tabulky č. 9 – 11 uvádějí celkové obsahy sušiny, makroprvků, mikroprvků a rizikových látek v sójových šrotech ve směsi s kukuřičným šrotem. Z tabulky č. 9 vyplývá obsah sušiny ve vzorcích, která se pohybovala na hladině v rozmezí 85 – 87 %. Nejnižší obsah dusíku byl zjištěn v kukuřičném šrotu, vyšší obsahy byly pak zaznamenány ve šrotech s příměsí sóji. Nejnižší obsahy byly zjištěny u vápníku na hladině v rozmezí 0,07 – 0,14 %. Přídavek sóji obohatil ve všech variantách šrot o živiny, celkově nejvyšší obsah živin v sóji ošetřené 150 g Se se mírně projevil i v produkovaných šrotech a obsah živin byl v něm mírně zvýšený.

**Tab. 9: Obsah sušiny a makroprvků ve šrotech po extruzi
(celkové obsahy prvků v sušině)**

Vzorek dávka Se	Sušina (%)	N (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Mg (mg/kg)	S (mg/kg)
Kukuřice	85,1	2,16	2702±28	2939±112	68,1±9,8	1069±99	691±36
Kukuřice + sója 0	88,9	3,26	3628±35	8451±96	1041±29	1734±120	1367±79
Kukuřice + sója 50*	85,9	3,15	3748±42	8850±115	1246±41	1754±78	1354±93
Kukuřice + sója 100*	87,4	3,19	3785±109	8832±63	1160±38	1738±132	1413±112
Kukuřice + sója 150*	87,6	3,21	3926±78	8896±82	1121±56	1743±96	1440±62

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha

Tabulka č. 10 uvádí celkové obsahy mikroprvků, včetně obsahů selenu. Nejvyšší obsahy z mikroprvků byly zjištěny u železa, naopak nejnižší obsahy pak u molybdenu (u tohoto mikroprvku byly zjištěny obsahy pod detekčním limitem). U obsahů zinku, manganu byl zjištěn podobný trend jako u makroprvků, tedy se zvyšující se dávkou selenu se zvyšoval také obsah těchto prvků ve šrotech. Přídavek soji významně ovlivnil nejen obsahy mikroživin oproti kukuřici, ale především obsah Se, který významně rostl s aplikovanou dávkou.

**Tab. 10: Obsah mikroprvků ve šrotech po extruzi
(celkové obsahy prvků v sušině)**

Vzorek dávka Se	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	B (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Mo (mg/kg)	Se (mg/kg)
Kukuřice	30,1±2,1	15,8±0,9	10,0±1,1	4,11±0,32	<0,6	0,09±0,00
Kukuřice + sója 0	57,2±4,8	25,7±1,2	23,7±0,6	12,2±0,9	<0,6	0,10±0,00
Kukuřice + sója 50*	56,7±3,5	29,9±1,6	26,3±0,7	13,8±0,8	<0,6	2,38±0,02
Kukuřice + sója 100*	48,2±1,5	30,1±2,8	23,8±1,2	14,4±0,2	<0,6	5,29±0,91
Kukuřice + sója 150*	43,5±3,9	29,9±1,9	24,9±1,1	14,0±0,6	<0,6	10,4±1,0

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha.

Tabulka č. 11 uvádí celkové obsahy rizikových prvků ve vzorcích šrotů po extruzi. Nejvyšší obsah byl zjištěn relativně podobný obsah u mědi ve vzorcích, kde směsi byly tvořeny se sójou, u obsahu niklu pak ve variantách, kde byla aplikována dávka 100 a 150 g Se/ha. U ostatních prvků byly zjištěné hodnoty pod detekcí.

**Tab. 11: Obsah rizikových prvků ve šrotech po extruzi
(celkové obsahy prvků v sušině)**

Vzorek dávka Se	Pb (mg/kg)	Cd (mg/kg)	Cr (mg/kg)	Ni (mg/kg)	As (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Al (mg/kg)
Kukuřice	<1,0	<0,13	<0,6	<0,6	<0,38	<0,6	<6,0
Kukuřice + sója 0	<1,0	<0,13	<0,6	<0,6	<0,38	3,75±0,2	<6,0
Kukuřice + sója 50*	<1,0	<0,13	<0,6	<0,6	<0,38	4,82±0,1	<6,0
Kukuřice + sója 100*	<1,0	<0,13	<0,6	2,61±0,05	<0,38	4,98±0,3	<6,0
Kukuřice + sója 150*	<1,0	<0,13	<0,6	4,60±0,01	<0,38	4,19±0,2	<6,0

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha.

Tabulky č. 12 – 17 znázorňují nutriční vlastnosti vzorků šrotů a obsahy aminokyselin před extruzí a po extruzi.

Z tabulky č. 12 vyplynul nejnižší obsah hrubého proteinu (obsah bílkovin) ve vzorcích šrotů před extruzí v kukuřičném šrotu, naopak nejvyšší obsahy hrubého proteinu ve šrotech byl zjištěn ve variantě, kde byla ke kukuřici přidána sója neošetřená selenem. Nižší obsahy byly zjištěny ve variantách, kde vstupní sójové šroty byly ošetřeny v dávkách 50 a 100 g Se/ha. Při dávce Se 150 g/ha byl obsah hrubého proteinu při aplikaci selenu nejnižší. Relativně podobné výsledky byly zjištěny u popelovin (hodnota anorganické hmoty). V rámci hodnocení obsahů hrubé vlákniny v jednotlivých šrotech, byl zjištěn nejnižší obsah v kukuřičném šrotu, vyšší a

relativně podobné hladiny hrubé vlákniny (v průměru 4,96 %) byly zjištěny ve šrotech kukuřice a sóji při dávkách 50, 100 a 150 g/ha. Z výsledků analýz neutrálně detergentní vlákniny (NDV), acidodetergentní vlákniny (ADV) a acidodetergentního ligninu (ADL) byl zjištěn jejich nejnižší obsah v kukuřičném šrotu, ve šrotech, kde byl aplikován Se byl zjištěn vyšší obsah. Při hodnocení obsahů hrubého tuku (součet všech tuků – živ. a rostl.) ve šrotech před extruzí byl zjištěn nejnižší obsah v kukuřičném šrotu, naopak nejvyšší obsahy tuků byly zjištěny ve šrotech ve směsi se sójou v průměru 17,4 % (řádově o 49 % vyšší).

Tab. 12: Nutriční vlastnosti vzorků šrotů před extruzí

Vzorek dávka Se	Hrubý protein (%)	Popeloviny (%)	Hrubá vláknina (%)	NDV (%)	ADV (%)	ADL (%)	Hrubý tuk (%)
Kukuřice	7,64	1,09	2,27	10,58	2,57	0,494	2,81
Kukuřice + sója 0	35,27	4,30	3,48	10,003	3,95	0,619	17,90
Kukuřice + sója 50*	33,09	4,34	4,98	10,78	6,79	0,718	17,90
Kukuřice + sója 100*	33,70	4,47	4,97	10,77	6,79	0,717	16,88
Kukuřice + sója 150*	31,70	4,40	4,94	10,77	6,74	0,715	16,99

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha. Neutrálně detergentní vláknina (NDV) (%), acidodetergentní vláknina (ADV) (%), acidodetergentní lignin (ADL) (%).

Tabulka č. 13 uvádí zhodnocení šrotů po extruzi. Z výsledků jednoznačně vyplynul pokles všech naměřených hodnot u všech sledovaných parametrů šrotů. Ve srovnání s hodnotami výsledků ve šrotech před extruzí bylo zjištěno následující: Obsah bílkovin (hrubého proteinu) byl nejnižší v kukuřičném šrotu, nejvyšší pak ve šrotech s příměsí sóji, kde vliv odstupňovaných dávek selenu nebyl nijak výrazný. Rozdíl poklesu obsahu bílkovin v kukuřičném šrotu a ve šrotech se sójou činil v průměru o 6,8 %. O ostatních parametřích byl trend relativně podobný.

Tab. 13: Nutriční vlastnosti vzorků šrotů po extruzi

Vzorek dávka Se	Hrubý protein (%)	Popeloviny (%)	Hrubá vláknina (%)	NDV (%)	ADV (%)	ADL (%)	Hrubý tuk (%)
Kukuřice	2,78	0,32	2,19	1,023	1,45	0,385	1,35
Kukuřice + sója 0	20,79	2,74	3,40	0,981	3,86	0,605	10,28
Kukuřice + sója 50*	20,02	2,69	3,37	0,971	3,83	0,599	9,82
Kukuřice + sója 100*	20,29	2,76	3,42	0,988	3,89	0,609	11,33
Kukuřice + sója 150*	19,97	2,88	3,43	0,990	3,89	0,611	10,65

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha. Neutrálně detergentní vláknina (NDV) (%), acidodetergentní vláknina (ADV) (%), acidodetergentní lignin (ADL) (%).

Tabulka č. 14 uvádí obsahy jednotlivých aminokyselin ve šrotech před extruzí. Z výsledků jednoznačně vyplývá, že nejnižší obsahy aminokyselin byly zjištěny v kukuřičném šrotu u aminokyselin Threoninu a Izoleucinu. Nejvyšší obsahy aminokyselin pak byly zjištěny ve šrotech, kde byla přidávána dávka Se v množství 50 a 100 g Se/ha u Glutaminu (v průměru 58 g/kg).

Tab. 14: Obsahy aminokyselin ve šrotech před extruzí (g/kg sušiny)

Vzorek dávka Se	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Val	Ileu
Kukuřice	5,291	3,063	4,084	15,13	7,612	3,156	6,034	4,084	3,063
Kukuřice + sója 0	8,677	8,677	12,4	38,83	13,9	8,979	10,46	11,15	9,582
Kukuřice + sója 50*	32,92	13,32	17,32	57,84	16,5	14,13	13,97	15,85	15,28
Kukuřice + sója 100*	33,55	13,57	17,65	58,94	16,82	14,4	14,23	16,15	15,57
Kukuřice + sója 150*	30,73	12,43	16,17	53,99	15,4	13,19	13,04	14,79	14,26

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha. Asp -Asparagin, Thr – Threonin, Ser – Serin, Glu – Glutamin, Pro- Prolin, Gly – Glycin, Ala – Alanin, Val – Valin, Ileu – izoleucin.

Tabulka č. 15 uvádí obsahy jednotlivých aminokyselin ve šrotech po extruzi. Podobný trend v obsazích aminokyselin nastal podobně jako před extruzí, u dávek 50 a 100 g Se/ha byly obsahy nejvyšší. Nejnižší pak v kukuřičném šrotu. Glutamin, kde byl jeho obsah nejvyšší ve variantě při dávce Se 100 g/ha se snížil o 15 % po extrukci.

Tab. 15: Obsahy aminokyselin ve šrotech po extruzi (g/kg sušiny)

Vzorek dávka Se	Asp	Thr	Ser	Glu	Pro	Gly	Ala	Val	Ileu
Kukuřice	5,023	2,996	4,002	14,62	7,128	3,021	6,001	3,858	3,002
Kukuřice + sója 0	8,874	8,478	8,089	25,6	9,782	5,829	7,301	7,338	6,16
Kukuřice + sója 50*	8,185	8,185	7,825	24,78	9,529	5,635	7,107	7,104	5,949
Kukuřice + Sója 100*	8,034	8,034	7,999	25,32	9,695	5,762	7,234	7,258	6,087
Kukuřice + sója 150*	7,971	7,931	7,916	25,07	9,617	5,702	7,174	7,182	6,022

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha. Asp -Asparagin, Thr – Threonin, Ser – Serin, Glu – Glutamin, Pro- Prolin, Gly – Glycerin, Ala – Alanin, Val – Valin, Ileu – izoleucin.

Tabulka č. 16 uvádí obsahy dalších aminokyselin před extruzí. Nejnižší obsahy byly zjištěny opět v kukuřičném šrotu u aminokyseliny Methioninu. S rostoucí dávkou Se ve šrotech se obsah aminokyselin zvyšoval. Nejvyšší obsah byl zjištěn u Leucinu ve variantě, kde byl aplikován Se v dávce 100 g/ha. Při dávce 150 g Se/ha byl zjištěn trend poklesu aminokyselin.

Tab. 16: Obsahy aminokyselin ve šrotech před extruzí (g/kg sušiny)

Vzorek dávka Se	Leu	Phe	Tyr	His	Lys	Arg	Met	Cys
Kukuřice	10,03	3,992	3,435	2,413	2,506	3,899	1,764	2,042
Kukuřice + sója 0	16,95	10,74	8,114	6,552	10,59	14,39	3,733	3,626
Kukuřice + sója 50*	22,22	16,58	11,68	8,986	17,4	20,91	4,738	4,82
Kukuřice + sója 100*	22,64	16,90	11,90	9,157	17,73	21,31	4,828	4,911
Kukuřice + sója 150*	20,74	15,48	10,9	8,388	16,24	19,52	4,423	4,499

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha. Leu – Leucin, Phe - Fenylalanin, Tyr – Tyrosin, His – Histidin, Lys – Lysin, Arg – Arginin, Met – Methionin, Cys – Cystein.

Tabulka č. 17 uvádí obsahy dalších aminokyselin po extruzi. Obsah aminokyselin po extruzi byl celkově nižší. Ve variantách, kde byl aplikován Se u dávky 150 g/ha byly obsahy aminokyselin zpravidla nejnižší.

Tab. 17: Obsahy aminokyselin ve šrotech po extruzi (g/kg sušiny)

Vzorek dávka Se	Leu	Phe	Tyr	His	Lys	Arg	Met	Cys
Kukuřice	9,85	3,822	3,248	2,155	2,274	3,572	1,529	2,005
Kukuřice + sója 0	11,90	7,025	5,415	4,331	6,629	9,193	2,559	2,525
Kukuřice + sója 50*	11,59	6,796	5,249	4,195	6,386	8,874	2,487	2,457
Kukuřice + sója 100*	11,79	6,946	5,358	4,285	6,545	9,084	2,534	2,502
Kukuřice + sója 150*	11,70	6,875	5,307	4,242	6,470	8,984	2,512	2,481

Pozn.: *číslo udává aplikovanou dávku Se v g/ha Leu – Leucin, Phe – Fenylalanin, Tyr – Tyrosin, His – Histidin, Lys – Lysin, Arg – Arginin, Met – Methionin, Cys – Cystein.

III. Srovnání novosti postupů

Navržené postupy a metody biofortifikace sójových bobů a posléze výroby sójových šrotů a jejich následné extrudace vedly ke zvýšení nutriční hodnoty této zemědělské komodity. Navržené postupy v rámci metodiky jsou nové a v ČR doposud v zemědělské praxi neodzkoušené. Součástí navržených postupů je obohacení sójových bobů selenem prostřednictvím foliární aplikace, jehož výsledkem je zvýšení obsahu selenu v generativních orgánech sóji luštinaté. Předložená metodika podává souhrn poznatků a praktických zkušeností získaných při pěstování této plodiny s využitím inovativních postupů, jak lze dosáhnout optimalizaci dávkování selenu v určených vegetačních fázích pro jeho foliární aplikaci. Námi navrhovaná metodika předkládá popis snadno uplatnitelných postupů vedoucích k efektivnímu zvýšení obsahů selenu při pěstování sóji luštinaté a udává přehledný popis určený pro výrobu biofortifikovaných šrotů určených pro přípravu krmných směsí.

IV. Popis uplatnění certifikované metodiky

Certifikovaná metodika poslouží subjektům v širším agrárním sektoru, které mají zájem produkovat biofortifikované sójové šroty se zvýšenou nutriční hodnotou. Dále bude metodika sloužit podnikům zabývajících se výrobou krmných směsí jako návod pro uplatnění selenizovaných extrudovaných šrotů. Metodika poskytuje návod pro vhodnou agrotechniku

pěstování sóji při foliární aplikaci selenanu sodného a podrobně vyhodnocuje výrobní náklady biofortifikace semen soji selenem.

V. Ekonomické aspekty

Celkové náklady fortifikace sóji zahrnující nákup selenanu sodného a náklady na vlastní foliární aplikaci přepočtené na tunu fortifikovaných bobů činily 110–223 Kč dle zvolené aplikované dávky Se. Náklady přepočtené na jednotku obsahu Se (1 g Se) ve fortifikovaných bobech činily 8,5–17,7 Kč dle aplikované dávky Se.

Ke kalkulaci byly použity následující vstupní parametry: Nákupní cena (včetně dopravy a DPH) selenanu sodného v množství 25 kg (Retorte GbmH, Röthenbach a. d. Pegnitz, Německo) činí 1779 € (ceník 2024), aktuální kurz €/Kč k 1.10. 2024 je 25,35 Kč. Výrobce garantuje minimální hmotnostní zlomek Se v selenanu $w(\text{Se}) = 0,41$. Cena 1 g čistého Se tak činí 4,4 Kč.

Doporučení hektarové aplikační dávky Se má dva aspekty. První vychází z celkových nákladů na aplikaci nehledě na dosažený obsah Se v bobech sóji. Nejnižší celkové náklady na hektar byly zjištěny při aplikaci nejnižší dávky Se (50 g/ha). Výsledné boby obsahovaly 6,22 mg/kg Se, což může být zcela dostačující pro výrobu šrotu s výhledem na jeho uplatnění v krmných směsích. Vyšší obsahy Se by mohly být příčinou vícenákladů způsobených dodatečnou manipulací s boby (např. při nuceném míchání a homogenizaci fortifikovaných a nefortifikovaných bobů pro dosažení žádoucí hladiny ve šrotu). Je-li hlavním kritériem kalkulace jednotkové ceny Se obsaženého ve fortifikovaných bobech, nejpriznivěji vychází aplikace 150 g/ha. Při této dávce však boby obsahovaly 26,3 mg/kg Se, což může limitovat přímou aplikaci šrotu do krmných směsí.

Při uvedené výkupní ceně a výnosu lze kalkulovat s tržbou 39 195 Kč z hektaru. Vícenáklady spojené s fortifikací sóji se tedy pohybují v rozmezí 1,1–2,2 % (dle aplikované dávky) z předpokládané tržby konvenční sóji. Výkupní cena fortifikovaných bobů (přidaná hodnota) vyšší než uvedené rozmezí znamená provozní zisk. Na dosaženém zisku se však podílí řada v čase proměnlivých faktorů, např. výkupní cena sóji, výnos sóji a obsah Se v bobech v daném ročníku, cena selenanu u dodavatele¹⁾, měnový kurz.

- 1) dodavatel Retorte GmbH byl vybrán na základě průzkumu trhu; v České republice v první polovině r. 2024 nebyl zjištěn konkurenceschopný dodavatel. Rozšířené hledání selenanu na trzích Indie a Číny by zcela jistě přineslo větší počet potenciálních dodavatelů, kteří často inzerují ještě výrazně nižší ceny selenanu. Existuje zde však riziko včasnosti dodávek kontejnerové dopravy z Asie a chemické čistoty selenanu jsou v kontrastu s rychlým dodáním (jednotky dnů) a certifikáty kvality z akreditovaných laboratoří v případě dodávky z Retorte GmbH.

Tab. 15: Náklady na konvenční pěstování sóji

Položka	Kč/ha	Kč/t sójových bobů
Osivo	7 960,-	
Ochrana rostlin	4 190,-	
Hnojení	1 550,-	
Předseťová příprava, setí	3 380,-	
Sklizeň + doprava do skladu	2 500,-	
Daň z nemovitosti	1 483,-	
Přímé náklady	21 063,-	5401,-
Režijní náklady 15 %	3 159,-	
Náklady celkem	24 222,-	6211,-

Tab. 16: Náklady na aplikaci selenu (při ceně selenu 4,4 Kč/g)

Dávka selenu (g/ha)	50	100	150
Obsah Se v bobech (mg/kg)	6,22	12,7	26,3
Cena dávky selenu (Kč/ha)	220,0	440,0	660,0
Foliární aplikace (Kč/ha)	210,0	210,0	210,0
Celkové náklady (Kč/ha)	430,0	650,0	870,0
Celkové náklady aplikace selenu (Kč/t bobů)	110,3	166,7	223,1
Přepočtené náklady na 1 g Se v bobech	17,7 Kč	13,1 Kč	8,5 Kč

Tab. 17: Náklady na šrotování 1 t sójových bobů

Položka	Příkon (KW)	Čas šrotování (h)	Cena elektřiny (Kč/KWh)	Náklady (Kč/t)
Šrotování kladívkovým šrotovníkem	17	1	11,-	187,-
Šnekový dopravník	1	1	11,-	11,-
Náklady na šrotování celkem				198,-

VI. Závěr

Metodika uplatňuje nové poznatky o foliární aplikaci selenu při pěstování sóji luštinaté během různých fází vegetace v modelových, poloprovozních a provozních podmínkách. Metodika je součástí projektu, jehož cílem bylo ověřit a stanovit optimální dávky selenu při výrobě sójových šrotů. V rámci metodiky byly v provozních podmínkách vyrobeny šroty ze selenizovaných sójových bobů, které byly detailně hodnoceny a z nich poté získány extrudáty.

Získané výsledky ukázaly, že:

1) Nejvyšší obsah selenu v sójových bobech v rámci modelového nádobového pokusu byl zjištěn ve variantě, kde byl aplikován selenan sodný (ve variantě se selenanem sodným a smáčedlem o 14 % více). Nižší obsah Se byl zjištěn po aplikaci seleničitanu a nejnižší ve variantě kontrolní bez aplikace Se.

2) Foliární aplikace selenu v polním maloparcelkovém experimentu, kde byl Se aplikován ve fázi BBCH 60 a v posledním roce tříletého pokusu potvrdila, že pozdější aplikační fáze vede k postupnému nárůstu obsahu Se v semenech sóji až k nejvyššímu rozdílu při aplikační dávce (100 g/ha). Byla také prokázána vysoká konverze aplikované anorganické formy Se na nutričně hodnotnější organické sloučeniny, zejména na selenomethionin.

3) Selenizované šroty sóji luštinaté mají vysoký potenciál pro využití v biofortifikačních strategiích. Sója má schopnost akumulovat vysoké množství selenu, což z ní činí vhodný prostředek k doplnění deficitu selenu v krmivu pro zvířata. Obsahy rizikových látek ve vyrobených šrotech byly výrazně pod hladinami stanovenými příslušnou normou pro účel krmiv.

4) Během procesu extruze při krátkodobém zahřátí 150 °C za současného působení tlaku uvnitř extrudéru způsobil velmi efektivní přeměnu – denaturaci bílkovin ve šrotech s kukuřicí a sójou, a tím bylo docíleno zvýšení energetické hodnoty šrotů jako krmiva. Z aminokyselin byl zjištěn nejvyšší obsah u Glutaminu při dávce 100 g Se/ha. Celkově lze konstatovat, že nejvyšší obsahy aminokyselin byly zjištěny při dávkách 50 a 100 g Se/ha.

Doporučení pro pěstitele:

Foliární aplikace selenu ve formě snadno ve vodě rozpustné krystalické látky (selenan sodný) umožňuje jednoduchou a efektivní aplikaci. Dávku Se v roztoku lze upravit v souladu s požadovanou koncentrací Se v semenech soji, aplikační dávka roztoku by měla činit cca 600 litrů na ha. Při aplikaci selenu na rostliny z hlediska optimalizace nákladů lze uvažovat současnou aplikaci fungicidů během pěstování, ale míchání obou složek je nezbytné před vlastní aplikací experimentálně prověřit.

VII. Seznam použité související literatury

J. Zhan, I. Twardowska, S.Q. Wang, S.H. Wei, Y.Q. Chen, M. Ljupco Prospective sustainable production of safe food for growing population based on the soybean (*Glycine max* L. Merr.) crops under Cd soil contamination stress *J. Clean. Prod.*, 212 (2019), pp. 22-36.

D. Widmar. 2017. Trends in Global Soybean Production. AEI. Available from <https://aei.ag/2017/07/24/global-soybean-production/> (accessed January 2023).

Yang, Fangmei, Licheng Chen, Qiuhui Hu, and Genxing Pan. 2003. "Effect of the Application of Selenium on Selenium Content of Soybean and Its Products." *Biological Trace Element Research* 93(1-3): 249-56.

Cakmak, I.; Kutman, U. Agronomic biofortification of cereals with zinc: A review. *Eur. J. Soil. Sci.* 2018, 69, 172-180.

Church, D. C. a W. G. Pond. 1989. *Basic Animal Nutrition and Feeding*. 3rd ed. John Wiley and Sons, New York.

Mehdi, Y., Hornick, J.-L., Istasse, L., Dufrasne I. 2013. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules*. 18. 3292-3311.

Kikkert, J., Berkelaar, E. 2013. Plant uptake and translocation of inorganic and organic forms of selenium. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 65. 458-465.

Kikkert, J., Hale, B., Berkelaar, E. 2013. Selenium accumulation in durum wheat and spring canola as a function of amending soils with selenite, selenate and or sulphate. *Plant and Soil*. 372. 629-641.

Meenakshi, J.V., Johnson, N.L., Manyong, V.M., De Groote, H. Javelosa, J., Yanggen, D.R., Naher, F., Gonzales, C., Garcia, J., Meng, E. (2010): How Cost-Effective is Biofortification in Combating Micronutrient Malnutrition? An Ex ante Assessment. *World Development* 38(1): 64-75.

NRC. 1985. *Nutrient requirements of sheep*. National Academy Press. Washington, D.C

Silva, M.A., de Sousa, G.F., Banuelos, G., Amaral, D., Brown, P.H., Guilherme, L.R.G. (2023): Selenium Speciation in Se-Enriched Soybean Grains from Biofortified Plants Grown under Different Methods of Selenium Application. *Foods* 12(6):1214.

Ngigi, P.B., Lachat, C., Masinde, P.W., Du Laing, G. (2019): Agronomic biofortification of maize and beans in Kenya through selenium fertilization. *Environmental Geochemistry and Health* 41: 2577-2591.

Zelenka, J., Heger, J., Zeman, L. (2007): *Doporučené obsahy živin v krmných směsích a výživná hodnota krmiv pro drůbež*. MZLU Brno, 78 s. ISBN 978-80-7375-091-6.

VIII. Seznam publikací, které předcházely metodice

Gašparík, M., Stádník, L., Ducháček, J., Száková, J. (2024): Selenizované mléko – Se krmiva do krávy a Se krávy do mléka). *Náš chov* 4: 44-46.

Mrština T., Praus L., Kaplan L., Száková J., Tlustoš P. (2022): Efficiency of selenium biofortification of spring wheat: the role of soil properties and organic matter amendment. *Plant Soil Environ.*, 68: 572-579.

Mrština T., Praus L., Kaplan L., Száková J., Tlustoš P. (2022): Vliv aplikace nanoselenu na výnos a obsah celkového selenu v rostlinách špenátu setého. *Racionální použití hnojiv ČZU v Praze*, 11: 143-146.

Mrština T., Praus L., Száková J., Kaplan L., Tlustoš P. (2023): Význam foliární aplikace selenu na ozimou pšenici. *Úroda* 8: 21–24.

Kaplan L., Tlustoš P., Praus L., Mrština T., Michal P. (2021): Pěstování léčivých, aromatických a kořeninových rostlin v pěstebním médiu založeném na bázi odpadních materiálů z bioplynových stanic. PowerPrint s.r.o. Praha. 26 s. ISBN: 978-80-213-3086-3.

Praus L, Száková J. 2019. Role of sulphate in affecting soil availability of exogenous selenate (SeO_4^{2-}) under different statuses of soil microbial activity. *Plant, Soil and Environment*. 65. 470-476.

Praus L, Száková J, Steiner O, Goessler W. 2019. Rapeseed (*Brassica napus L.*) biofortification with selenium: How do sulphate and phosphate influence the efficiency of selenate application into soil? *Archives of Agronomy and Soil Science*. 65(14). 2059-2072.

IX. Dedikace

Ke zpracování certifikované metodiky bylo použito výsledků výzkumných aktivit realizovaných v rámci řešení výzkumného projektu **NAZV QK22010037 (*Implementace agronomických selenizačních postupů při výrobě mléka a mléčných výrobků jako funkčních potravin*)**.

X. Ostatní náležitosti certifikované metodiky

V souladu se závazným *Postupem pro uznání výsledku typu „Nmet – Certifikovaná metodika“*, který vydalo dne, jsou v následujících podkapitolách uvedeny další požadované údaje nebo doplňující informace.

Jména oponentů a názvy jejich organizací

Posudek odborníka v daném oboru vypracoval(a):

Posudek pracovníka příslušného odborného orgánu státní správy vypracoval(a):

Podíly na vzniku předkládané metodiky

Na zpracování a finalizaci předkládaného výsledku projektu (certifikované metodiky) se členové řešitelského týmu s rolí spoluautorů metodiky zúčastnily níže uvedeným podílem:

Ing. Lukáš Kaplan, Ph.D. (25 %), Ing. Tomáš Mrština (10 %), Ing. Lukáš Praus, Ph.D. (15 %), prof. Ing. Jiřina Száková, CSc. (10 %), prof. Ing. Pavel Tlustoš, CSc., dr.h.c. (10 %), Ing. Filip Hlaváček (20 %), doc. Ing. Luděk Stádník, Ph.D. (5 %), Ing Jaromír Ducháček, Ph.D. (5 %).

Osvědčení odborného orgánu státní správy

Osvědčení o uznání certifikované metodiky vydalo Ministerstvo zemědělství ČR.

V Praze dne

Osvědčení

© Česká zemědělská univerzita v Praze
Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin, FAPPZ
165 21 Praha – Suchdol
<http://www.af.czu.cz>

Vydavatel: Česká zemědělská univerzita v Praze

ISBN 978-80-213-3430-4

Praha 2024