

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ  
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

**DIPLOMOVÁ PRÁCE**

**BRNO 2015**

**DANIELA ŠIŠKOVÁ**

**Mendelova univerzita v Brně**  
**Agronomická fakulta**  
Ústav výživy zvířat a pícninářství



**Píce jako primární zdroj selenu v potravním řetězci**  
Diplomová práce

*Vedoucí práce:*  
doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.

*Vypracovala:*  
Bc. Daniela Šišková

Brno 2015

### Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: **Píce jako primární zdroj selenu v potravním řetězci** vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědom/a, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....  
podpis

## **PODĚKOVÁNÍ**

Ráda bych poděkovala doc. Ing. Jiřímu Skládankovi, Ph.D za pomoc při vedení diplomové práce, cenné rady a odborný dohled. Mé poděkování patří též Ing. Ivě Klusoňové za spolupráci při získávání údajů pro výzkumnou část práce.

## ABSTRAKT

Selen je základní minerální živina pro růst zvířat i lidí. Nedostatek tohoto prvku je celosvětový výživový problém. Cílem práce bylo dosáhnout zvýšení obsahu selenu v píci jílku vytrvalého (*Lolium perenne* L.) a jetele lučního (*Trifolium pratense* L.) o selen metodou foliární aplikace. Píce obohacená o selen může být zdrojem selenu v krmných dávkách zvířat a tak následně obohatit lidskou výživu prostřednictvím živočišných produktů. K aplikaci byly použity roztoky selenu o koncentraci 0, 2, 4 a 20 mg/m<sup>2</sup>. Selen byl použit v anorganické formě selenanu sodného a seleničitanu sodného. Výsledky ukazují, že obsah selenu v pícninách se zvyšoval ( $P \leq 0,01$ ) v závislosti na zvyšující se koncentraci roztoku. Při nejvyšší použité koncentraci byla koncentrace selenu u jílku vytrvalého po použití selenanu 3,1371 μg/mg a po použití seleničitanu 5,5503 μg/mg.

Foliární aplikace se ukázala jako dobrý způsob obohacování píce selenem. Proces asimilace však byl snazší u jílku vytrvalého s formou selenanu a u jetele lučního s formou seleničitanu.

## ABSTRACT

Selenium (Se) is an essential mineral nutrient for animal and human growth. Deficiency in this element is a worldwide nutrition problem. *Lolium perenne* and *Trifolium pratense* were enriched by selenium using foliar application. It is a way to enrich the feed of animals and human nutrition through animal products. Amounts of 0, 2, 4 and 20 mg of Se m<sup>-2</sup> were applied both as sodium selenate and as sodium selenite in water. Results showed that selenium concentration in forage was significantly enhanced dose dependently. For *Lolium perenne* at the highest concentration used, reaching concentrations of selenium in selenate 3,1371 μg/mg and selenite 5,5503 μg/mg. For *Trifolium pratense* at the highest concentration used, reaching concentrations of selenium in selenate 11,6837 μg/mg and selenite 4,939 μg/mg.

Foliar application of selenium was proven to be a good way to increase the selenium content of forage, but the assimilation process of selenium was simpler with selenate for *Trifolium pratense* and with selenite for *Lolium perenne*.

## OBSAH

1	ÚVOD.....	6
2	CÍL PRÁCE.....	7
3	LITERÁRNÍ PŘEHLED .....	8
3.1	Výskyt selenu v přírodě .....	8
3.1.1	Půda .....	8
3.1.2	Voda.....	9
3.1.3	Selen v rostlinné tkáni.....	9
3.1.3.1	Biochemická transformace selenu v rostlině.....	9
3.2	Píce jako krmivo .....	11
3.3	Selen v organismu .....	11
3.3.1	Příjem.....	12
3.3.2	Funkce.....	13
3.3.3	Vliv na imunitní odpověď.....	14
3.3.4	Metabolismus selenu.....	15
3.3.5	Selenoproteiny .....	16
3.3.5.1	Vznik selenoproteinů.....	17
3.3.5.2	Jednotlivé selenoproteiny .....	17
3.4	Karence selenu .....	19
3.4.1	Vznik kyslíkových radikálů .....	20
3.4.2	Diagnostika karence.....	20
3.4.3	Nemoci zvířat.....	21
3.5	Toxický účinek selenu.....	22
3.6	Krmné dávky .....	22
3.7	Vliv na živočišné produkty .....	24
3.7.1	Maso.....	24
3.7.2	Mléko .....	25
3.7.3	Vejde .....	26
3.8	Obohacování píce.....	26
3.8.1	Foliární aplikace .....	27
3.9	Selen a člověk .....	27
4	MATERIÁL A METODIKA.....	30
4.1	Hodnocené druhy .....	30
4.1.1	Jílek vytrvalý.....	30
4.1.1.1	Popis .....	30

4.1.1.2	Rozšíření.....	30
4.1.1.3	Ekologie.....	31
4.1.1.4	Hospodářské využití .....	31
4.1.2	Jetel luční .....	32
4.1.2.1	Popis .....	32
4.1.2.2	Rozšíření.....	32
4.1.2.3	Ekologie.....	32
4.1.2.4	Hospodářské využití .....	32
4.2	Klimabox (fytotron) .....	33
4.3	Uspořádání pokusu.....	33
4.4	Ošetřování pokusu.....	34
4.5	Statistické metody .....	34
5	VÝSLEDKY .....	35
5.1	Jílek vytrvalý .....	35
5.2	Jetel luční .....	40
5.3	Celkové zhodnocení .....	44
6	DISKUZE .....	45
7	ZÁVĚR .....	48
8	POUŽITÁ LITERATURA .....	49

## SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

Obrázek 1: Biochemická transformace selenu v rostlině (Pilon-Smits, 2010) .....	10
Obrázek 2: Biochemická transformace selenu u zvířat (Tinggi a kol., 2003) .....	16
Tabulka 1: Zakládání porostu .....	33
Tabulka 2: Průběh pěstování.....	34
Graf 1: Výnos jílku vytrvalého při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 2mg/m <sup>2</sup> .....	35
Graf 2: Výnos jílku vytrvalého při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 4mg/m <sup>2</sup> .....	36
Graf 3: Výnos jílku vytrvalého při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 20mg/m <sup>2</sup> .....	36
Graf 4: Obsah selenu ve vzorku jílku vytrvalého při aplikaci roztoku o koncentraci 2mg/m <sup>2</sup> .....	37
Graf 5: Obsah selenu ve vzorku jílku vytrvalého při aplikaci roztoku o koncentraci 4mg/m <sup>2</sup> .....	38
Graf 6: Obsah selenu ve vzorku jílku vytrvalého při aplikaci roztoku o koncentraci 20mg/m <sup>2</sup> .....	39
Graf 7: Výnos jetele lučního při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 2mg/m <sup>2</sup> .....	40
Graf 8: Výnos jetele lučního při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 4mg/m <sup>2</sup> .....	41
Graf 9: Výnos jetele lučního při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 20mg/m <sup>2</sup> .....	41
Graf 10: Obsah selenu ve vzorku jetele lučního při aplikaci roztoku o koncentraci 2mg/m <sup>2</sup> .....	42
Graf 11: Obsah selenu ve vzorku jetele lučního při aplikaci roztoku o koncentraci 4mg/m <sup>2</sup> .....	43
Graf 12: Obsah selenu ve vzorku jetele lučního při aplikaci roztoku o koncentraci 20mg/m <sup>2</sup> .....	44



# 1 ÚVOD

Selen, jakožto významná strukturní část mnoha enzymů a proteinů v těle, se podílí na chodu živého organismu ve fyziologické rovině. Vzhledem k jeho účinkům, ke kterým patří např. ochrana před oxidačním stresem či antikarcinogenní účinek, jsou studovány možnosti zvýšení jeho příjmu ve výživě nejen lidí, ale i zvířat.

Celý řetězec příjmu selenu začíná v půdě, ze které je čerpán rostlinami. Rostliny mohou být konzumovány lidmi i hospodářskými zvířaty a právě v tomto bodě je důležité kolik selenu, či jestli vůbec nějaký, konzumovaná rostlina obsahuje. Pokud se podíváme v řetězci dále, zjistíme, že selen obsažený v rostlině zvíře vstřebává a obohatí jím svůj organismus. Selen se v organismu vyskytuje v několika podobách, avšak forma, která je důležitá pro pokračování řetězce, tedy pro možnost příjmu lidmi, je selen uložený v bílkovině mléka, masa, popřípadě vajec.

Na věc je třeba se podívat i z jiné strany, a to ze strany chovatelů. Ti by měli usilovat o dobré zdraví zvířat skrze kvalitní výživu k dosažení požadované užitkovosti. Hodnotná výživa musí obsahovat vše, co zvíře potřebuje, a proto úzce souvisí s obsahem selenu v krmivu, kterého je v České republice i v mnoha jiných zemích nedostatek. Jeho zásobení organismu je důležité pro jeho antioxidační účinky skrze glutation peroxidázy, syntézu a úlohu v metabolismu hormonů štítné žlázy a další nezbytné funkce.

V cestě zásobení organismu zvířecího a lidského se můžeme zabývat jednotlivými oddíly potravního řetězce a zvyšovat v nich tak koncentraci selenu. Tato práce se soustředí především na problematiku dotace selenu pící a na základě jejího příjmu hospodářskými zvířaty řeší vliv na kvalitu živočišných produktů.

## 2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo ověřit možnosti zvýšení obsahu selenu v biomase jílku vytrvalého (*Lolium perenne* L.) a jetele lučního (*Trifolium pratense* L.).

Zodpovězeny by měly být následující otázky:

Je možné foliární aplikací zvýšit obsah selenu v píce jílku vytrvalého a jetele lučního?

Jaká forma selenu (seleničitan, selena) je vhodnější pro foliární aplikaci?

Je foliární aplikace selenu vhodný způsob dotace selenu do objemné píče?

## 3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 3.1 Výskyt selenu v přírodě

V přírodě doprovází síru, takže je minoritní složkou sulfidů, mědi, stříbra, olova a rtuti (Velíšek, 2002). Dle Zadáka (2006) selen doprovází jód a tvrdí, že v oblastech s nedostatkem jódu je též nedostatek selenu.

#### 3.1.1 Půda

Primárním zdrojem selenu v přírodě jsou sopečné horniny a sulfidy kovů vzniklé sopečnou činností. Nejvyšší množství selenu se nachází v půdách vytvořených rozkladem břidlice, většinou v suchých a semiaridních oblastech. Naopak nejnižší koncentrace jsou zaznamenány v pískovcích a vápencích (Cuvardic, 2003).

Selen se v půdě vyskytuje v několika oxidačních stavech, jak uvádí Cuvardic (2003) jako selenid ( $\text{Se}^{2-}$ ), elementární selen ( $\text{Se}^0$ ), seleničitan ( $\text{SeO}_3^{2-}$ ), selenan ( $\text{SeO}_4^{2-}$ ) a organický selen ve formě aminokyselin (selenomethionin, selenocystein). V půdě je selen nejhojněji zastoupen ve formě seleničitanů a selenanů (Finley, 2005), přičemž selenany se vyskytují v půdách s dostatkem kyslíku, zatímco seleničitany jsou hojně zastoupeny v anaerobních podmínkách mokřadů (Pilon-Smits, 2010). Pokud půda není selenu prostá, je více či méně zdrojem tohoto prvku pro rostliny. Dostupnost anorganických forem selenu je pro rostliny závislá na půdních faktorech, kterými jsou pH, redoxní potenciál, vlhkost a obsah některých půdních složek, jakými jsou například oxidy železa, hliníku (Finley, 2005). Cuvardic (2003) uvádí, podle autorů Jump a Sabey z roku 1989, ještě další faktory, kterými jsou mateční hornina, obsah jílu a organické hmoty, aerace a mikrobiologická aktivita. Obsah dostupného selenu v půdě je důležitým ukazatelem pro jeho obsah nejen v krmivech, ale v celém potravním řetězci (Yu-bin a kol., 2013).

Obsah selenu v půdě se ve světě pohybuje ve velkém rozmezí a navíc je využitelnost anorganických forem z půdy ovlivňována množstvím faktorů (Pavlata a kol., 2002), které jsou vyjmenovány výše v textu. Pavlata a kol. (2002) dále uvádějí, že z tohoto důvodu je lepším znakem případné karence selenu ve výživě zvířat jeho obsah v rostlinné tkáni nežli znalost jeho obsahu v půdě. Díky znalosti obsahu selenu v půdě můžeme pouze předpokládat, jaká bude jeho zásoba v rostlinách. Je pravděpodobné, že rostliny pěstované v půdě s obsahem selenu nižším než  $0,5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , budou mít nízký (nedostatečný) obsah selenu ve své tkáni (Pavlata a kol.,

2002). Obsah selenu v půdách se podle Hluška a kol. (2005) zpravidla pohybuje v rozpětí 0,02 – 2,0 mg.kg<sup>-1</sup>půdy, podle Velíška (2002) je to rozpětí 0,1-2,0 mg/kg. V České republice je koncentrace selenu v půdě poměrně nízká, hodnota je podle Velíška (2002) 0,07-0,12mg/kg. Od nízkých koncentrací selenu v půdě se odvíjí i jeho nízký obsah v krmivech a potravinách (Velíšek, 2002)

### **3.1.2 Voda**

V přírodních vodách je obsaženo pouze stopové množství selenu. Jeho koncentrace v jezerních a říčních vodách se pohybují asi od 0,02 do 10 µg/dm<sup>3</sup>. Mořská voda obsahuje selen v rozpětí 0,03-0,25 µg/dm<sup>3</sup> (Velíšek, 2002).

### **3.1.3 Selen v rostlinné tkáni**

Hromadí různé množství selenu v různých chemických formách. Některé rostliny hromadí selen v přímém vztahu k množství dostupného selenu z půdy, zatímco jiné mohou akumulovat Se v koncentracích o několik řádů vyšších než je jeho obsah v půdě. Takové rostliny se nazývají selenomilné a patří mezi ně např. brokolice a česnek (Finley, 2005). Je zajímavé, že v česneku je podstatná část selenu zastoupena ve formě selenocysteinu a selenidů, avšak ve většině krmiv a potravin rostlinného původu se vyskytuje především selenomethionin (Velíšek, 2002). Mahima (2012) uvádí, že selenomethionin a selenocystein představují 50% až 80% z celkového selenu v rostlinách a obilí. Rostliny jsou hlavním zdrojem selenu v potravním řetězci a zvyšování jeho množství v rostlinách je dobrý způsob odbourání deficitu tohoto prvku ve výživě zvířat i lidí (Finley, 2005).

#### ***3.1.3.1 Biochemická transformace selenu v rostlině***

Rostliny nejaktivněji přijímají anorganický selen ve formě selenanů (SeO<sub>4</sub><sup>2-</sup>), který je nejlépe rozpustný v půdním roztoku, v menší míře absorbují i seleničitany (SeO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). Tyto anorganické formy selenu jsou transportovány do chloroplastů, kde jsou aktivovány ATP-sulfurylázou na formu adenosin-5-fosfoselenát (Finley, 2005). Následuje redukce na seleničitany pomocí APS-reduktázy. Dále dochází s pomocí thiolové lyázy (také nazývané cystein syntáza) k redukci na selenidy (Se<sup>2-</sup>), které reagují s O-acetylserinem za vzniku SeCys (Pilon-Smits, 2010). V tomto okamžiku nastává několik možných cest, které jsou schematicky znázorněny pod textem této kapitoly viz Obrázek 1.

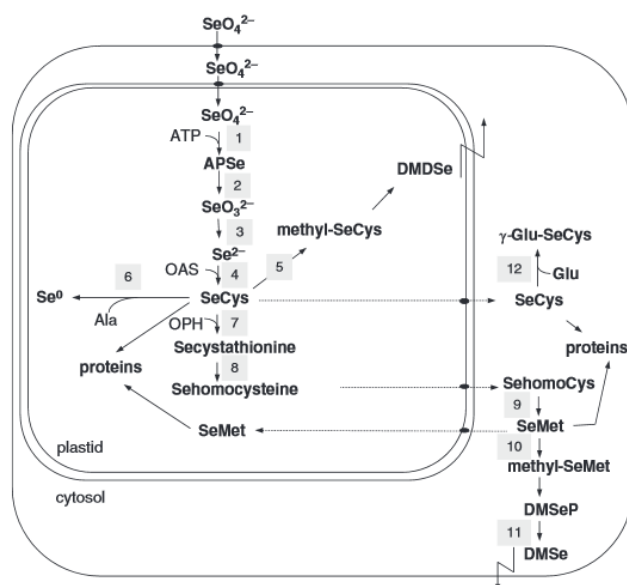
**A)** SeCys se metabolizuje na SeMet, kde atom selenu nahrazuje atom síry v methioninu (Finley, 2005), což umožňuje silná podoba selenu a síry v chemických vlastnostech s ohledem na atomovou velikost, energii vazby, ionizační potenciály a elektronovou afinitu (Tinggi, 2003). Transformace na SeMet probíhá na úrovni chloroplastů a cytosolu. Dva ze tří enzymů (cystathion-gsyntáza a cystathion-b-lyáza), které jsou potřebné k přeměně, se totiž nacházejí v chloroplastech, avšak třetí (Met-syntáza) v cytosolu. Cesta končí vznikem SeMet, který je zabudováván do proteinu. Rostliny snadno zabudovávají selenomethionin do proteinu na místo methioninu, a proto je selenomethionin hlavní formou selenu v rostlinách (Finley, 2005). Schrauzer (2000) uvádí, že až 50% celkového selenu v rostlinách je zastoupeno ve formě selenomethioninu.

**B)** SeCys se pomocí SeCys-methyltransferázy přemění na Se-methylCys, tato forma selenu je neškodná, avšak není začleněna do proteinu a rostliny se tak brání toxickému účinku vysokého příjmu selenu. Se-methylCys však může dát vzniku dimethyldiselenidu, který je toxický (Pilon-Smits, 2010).

**C)** SeCys lze také převést na elementární selen a alanin. Elementární selen je relativně neškodný a mnoho bakterií používá tuto cestu jako detoxikační mechanismus v půdách s vysokým obsahem selenu (Pilon-Smits, 2010).

**D)** SeCys se také může klasicky transformovat na SeMet, avšak u toho nezůstane a následuje methylace za vzniku produktů, jako jsou Se-methylMet (Finley, 2005) a z něj těkavý dimethylselenid (Pilon-Smits, 2010).

**Obrázek 1: Biochemická transformace selenu v rostlině (Pilon-Smits, 2010)**



### 3.2 Píce jako krmivo

Píce jako významná složka objemných krmiv je z hlediska chemického složení předurčena ke krmení přežvýkavců, kde také v současnosti nachází největší uplatnění (Zeman, 2006; Hlaváčková, 2012). Dále se píce zkrmuje koním a v minimálním množství chovným prasatům (Zeman, 2006). Víceleté pícniny na orné půdě se na složení krmné dávky podílejí z 25% a více. Například při označení původu „Fourme de Montbrison“ je nutné, aby základ krmné dávky dojnic tvořily minimálně z 80% pícniny (Prováděcí nařízení komise (EU) č. 1245/2013). Hlavním důvodem zkrmování objemných krmiv je nutnost přežvykování, které je pro přežvýkavce životně důležité. Umožňuje přežvýkavcům rovnoměrně produkovat sliny, které se svým obsahem pufrů podílejí na udržování stabilního pH v batoru. Přežvykování zvířeti také umožňuje krkání, kterým odvádí z batoru množství plynů vznikajících činností bakterií, čímž je přežvýkavec chráněn před tympanií. Abychom byli schopni tento požadavek přežvýkavců zabezpečit, musíme jim poskytnout krmnou dávku s dostatečným množstvím strukturní vlákniny v podobě objemných krmiv (Zelenka, 2013).

Trávy a jeteloviny představují nejvýznamnější rostlinné čeledi a travní porosty včetně obilnin pokrývají jednu třetinu rozlohy České republiky (Šašková a Štolfa, 1993; Vaněk, 1998). Zeman (2006) uvádí, že dochází ke snižování ploch pícnin pěstovaných na orné půdě, spíše se rozšiřují plochy pro pěstování kukuřice a trvalých travních porostů. Trávy jsou hlavním základem luk a pastvin, z čehož vyplývá, že tvoří podstatnou část výživy býložravců (Šašková a Štolfa, 1993). V našich podmínkách jsou z jetelovin nejvýznamnější jetel luční a vojtěška, které poskytují velmi kvalitní píci (Vaněk, 1998). Pícniny sklízíme v čase butonizace u jetelovin a v období od plného sloupkování do 50 % metání dominantního druhu u trav, což tvoří kompromis mezi výnosem a obsahem živin (Kumhála a kol., 2007). Podle Zemana (2006) v tomto období trávy obsahují nejvyšší množství minerálních látek, tudíž i selenu.

### 3.3 Selen v organismu

Selen je esenciální minerál, což znamená, že ho pro správnou funkci organismu, musí tělo získávat z potravy (Passwater, 2002). Bylo identifikováno, že je nedílnou

součástí více než 30 odlišných selenoproteinů, z nichž všechny mají antioxidační funkci (Mahima a kol., 2012).

Selen má s ohledem na živé organismy dvojí charakter. V nízkých koncentracích je pro život a pro správné fungování fyziologických procesů nezbytný, avšak v koncentracích vysokých je toxický (Mahima, 2012; Rahmanto a Davies, 2012). Toxicita selenu nezávisí nejen na jeho resorbovaném množství, ale i na jeho chemické formě a řadě dalších faktorů, které zahrnují druh, stáří, fyziologický stav, výživu a dietní interakce konzumenta a také způsob podání (Tinggi, 2003). Selen se vyskytuje jako anorganický či organický s různým procentem dostupného selenu a toxicity (Rahmanto a Davies, 2012). Od formy, ve které se selen dostává do těla, se odvíjí jeho úroveň v krvi, všech buňkách a tkáních těla (Mahima, 2012).

### 3.3.1 Příjem

Organický a anorganický selen se vstřebávají rozdílně, proto je i jejich biologická využitelnost značně odlišná (Kvasničková, 1998). Selenomethionin se resorbuje z 95-97%, je vstřebáván mechanismem aktivního transportu, který využívá aktivních míst pro methionin. Seleničitan má využitelnost nižší, 44-76%. Společně se selenocysteinem se resorbují pasivně, tedy pouze ve směru koncentračního spádu (Velíšek a Hajšlová, 2009).

Příjem selenu prakticky neprobíhá v žaludku ani ve slezu. Selen a jeho sloučeniny se vstřebávají ve dvanáctníku. Seleničitan (= selenit,  $\text{SeO}_3^{2-}$ ) je přijímán přes membrány kartáčového lemu tenkého střeva, selenan (= selenát,  $\text{SeO}_4^{2-}$ ) je absorbován ve střední a koncové části tenkého střeva aktivním transportem (Frankenberg, Engberg, 1998; Mahima, 2012). Absorpce selenu je vyšší u nepřežvýkavých zvířat než u přežvýkavých, u kterých je selen nejprve přeměněn bacherovou mikroflórou v nerozpustné formy (Frankenberg, Engberg, 1998). Mahima (2012) tuto skutečnost potvrzuje a vysvětluje, že bacherové mikroby mění většinu anorganického selenu na neabsorbovatelnou formu. Takže seleničitany jsou dostupné přežvýkavcům jen z 25-30% (Mahima, 2012).

Surai (2003) uvádí, že dle Larsena (1993) je resorpce a účinek selenu závislý na pohlaví, věku, složení krmné dávky a na přítomnosti jiných látek, které mají antagonistický vztah k selenu. Absorpci selenanu negativně ovlivňuje přítomnost anorganických iontů molybdenu (Mo), chrómu (Cr), síry (S), tiosulfátů, těžkých kovů, organických iontů šťavelanů a oxalacetátu. Antagonistický vztah k selenu

těchto látek je zapříčiněn podobnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Cystein a glutation inhibuje příjem selenomethioninu (Frankenberg, Engberg, 1998). Naopak působí cystein a glutation při příjmu seleničitanu, přičemž stimulují rychlost jeho absorpce (Frankenberg, Engberg, 1998). Další pozitivně působící látkou je vitamin E, který zvyšuje využití selenu (Axman, 2011).

Vstřebaný selen se transportuje prostřednictvím krve do všech tkání těla (Kvasničková (1998). Většina je v organismu vázána na bílkoviny – selenoproteiny, které jsou součástí selenoenzymů (Fajt a kol., 2009). Největší množství selenu 50 – 52 % je obsaženo ve svalech. V kůži a kožních derivátech se nachází 14 – 15% celkového selenu v těle, v kostře 10 %, v játrech 8 % a v ostatních částech těla 15 – 18 % (Frankenberg, Engberg, 1998). Mahima (2012) uvádí, že podle Sundeho (1997), se největší množství selenu nachází ve svalech a následně v játrech, plazmě, erytrocytech a ledvinách. V krvi zvířat se koncentrace selenu pohybuje v závislosti na druhu (od 50 do 1000 µg/l), přičemž obsah selenu v erytrocytech je dvakrát vyšší než v plazmě. U přežvýkavců je podstatná část z celkového množství selenu v bachorových bakteriích, které jsou akumulátory selenu a jeho množství v těle bakterií je 2-30krát vyšší než v krmivu (Frankenberg, Engberg, 1998).

### **3.3.2 Funkce**

Organický selen, obsažený v aminokyselinách, kterými jsou selenocystein či selenomethionin, může přímo působit antioxidačně nebo být zdrojem selenu pro syntézu antioxidantů obsahujících selen (glutacion peroxidázy, thioredoxin reductázy, methioninsulfoxid reductáza), či poskytovat nezbytné díly k opravě proteinů (Rahmanto a Davies, 2012). Kvíčala (2003) uvádí, že i když byly u selenoproteinů zjištěny také funkce strukturální a transportní, jejich převážná většina jeví enzymatickou redox aktivitu, přičemž biologické účinky jsou nejčastěji spojovány s enzymatickou aktivitou selenocysteinu v centru enzymů (Kvíčala, 2003).

Hlavní funkcí selenu je ochrana buněk a tkání před oxidativním poškozením, spolu s dalšími nutričními látkami totiž udržuje nízké množství reaktivních forem kyslíku, které jsou ve vysokých koncentracích organismu škodlivé. Tato hlavní úloha je zprostředkovávána glutacion peroxidázami (GSH-Px), jichž je selen strukturální součástí. Základní funkce GSH-Px spočívá v odstraňování nadbytku  $H_2O_2$  z buněčné cytoplazmy (Pavlata a kol., 2002).



Aktivita GSH-Px ve tkáni varlat ovlivňuje plodnost u savčích samců. Spermie jsou totiž na účinky reaktivních forem kyslíku extrémně citlivé a proto faktory negativně ovlivňující tvorbu a aktivitu GSH-Px (genetická mutace, deficit selenu) mohou vést ke sterilitě, způsobené nedostatečnou ochranou spermií (Fajt a kol., 2009). Selen je také velice důležitý pro aktivitu a motilitu spermií (Passwater, 2002). Je ovšem zajímavé, že se vysoké koncentrace selenu v pohlavních orgánech samců udržují i u jedinců s deficitem selenu. To naznačuje, že mají sloučeniny selenu významnou roli v reprodukci (Velíšek, 2002).

Důležitá úloha GSH-Px je při ochraně buněk CNS před účinky reaktivních forem kyslíku, které způsobují lipidovou peroxidaci. Ta má za následek poruchy CNS. Nedostatek selenu také podporuje nádorové bujení, u jedinců s nižší hladinou selenu v krvi se prokázal častější výskyt nádorového bujení, z důvodu snížené aktivity GSH-Px (Fajt a kol., 2009).

Selen se podílí na termoregulaci v časném postnatálním období, má vliv na složení (kvalitu) kolostra a mléka, jelikož se podílí na udržení dobrého stavu mléčné žlázy. Také ovlivňuje růstové schopnosti, díky selenoproteinjodothyroninu dejodinázy je totiž skutečně přeměna tyroxinu na hlavní biologicky aktivní hormon štítné žlázy 3, 5, 3' trijodthyronin (Pavlatá a kol., 2002).

Hormony štítné žlázy se podílí na regulaci celého organismu, podporují růst a zrání. Závislý na přísunu thyreoidálních hormonů je správný vývoj CNS. Ovlivňují metabolické procesy, zejména aktivací ATP, podílí se tak na energetické spotřebě organismu, spotřebě kyslíku ve tkáních, metabolismu lipidů a sacharidů. V srdečním svalu zvyšují počet  $\beta$ -adrenergických receptorů a tím i sílu a frekvenci srdečních kontrakcí (Novák, 2002).

Selen se podílí také na funkci některých dalších enzymů, jako je glukuronidázy (Stratil, 1993), což jsou lyzozomální enzymy, které hydrolyzují glukuronidy - různé deriváty glukuronové kyseliny, vznikající reakcemi zejm. s aromatickými hydroxylovými látkami, často toxickými (Vokurka, 2005). Napomáhá funkci kyselé fosfatázy leukocytů, jejíž zvýšená aktivita v krvi bývá u několika onemocnění, např. u tumorů varlat či leukémie (Stratil, 1993; Vokurka, 2005).

### **3.3.3 Vliv na imunitní odpověď**

Mnoho funkcí selenu má vliv na imunitní systém, na jeho rozvoj a správnou funkci. Ta je zajištěna již výše zmíněnou aktivitou GSH-Px, která kontroluje

produkcí volných kyslíkových radikálů ve fagocytujících buňkách, a také díky zajištění produkce protilátek (Pavlat a kol., 2002).

Přítomnost selenu podporuje jak vrozenou, tak získanou imunitu. Selen-deficitní lymfocyty jsou méně schopny mitózy<sup>1</sup> a makrofágy mají sníženou fagocytární aktivitu (Arthur a kol., 2003).

Je prokázáno, že množství selenu, i vit E, nutné pro správný chod fyziologických funkcí nestačí pro zajištění optimální imunitní funkce (Surai, 2003)

Deng a kol. (1999), jak uvádí Surai (2003) studoval účinky seleničitanu sodného na imunitní systém u kuřat proti Newcastlelské chorobě, což je jedno z nejčastějších respiračních onemocnění drůbeže, které má schopnost náhle se objevit v populaci drůbeže a šířit se s pozoruhodnou rychlostí (Alexander, 1998). V Dengově studii výsledky ukázaly, že schopnost imunitní odpovědi byla ve skupinách s doplňkem selenu vyšší v porovnání se skupinou kontrolní. Dle Surai (2003) dospěl ke srovnatelným výsledkům i YangHong a kol. (2000), který zjistil, že po naočkování oslabeným kmenem C30-86 viru Newcastlelské choroby, se u zvířat, kterým byl přidáván selen, zvýšila tvorba protilátek. Nedostatkem selenu se v organismu snižuje koncentrace imunoglobulinů (IgM, IgG, IgA), jak ukázal výzkum s potkany (Arthur a kol., 2003).

### 3.3.4 Metabolismus selenu

Mahima (2012) uvádí, že Sunde (1997) zjistil rozdíly mezi metabolismem organického a anorganického selenu.

Zpočátku se dle poznatků všechen selenomethionin měl ihned začlenit do proteinu těla. Selenomethionin však může být metabolizován na Se-adenosylmethioninu a dále na Se-adenosylhomocystein (SeAH). Poté je SeAH pomocí cystathionin  $\beta$ -syntázy a cystathionin  $\gamma$ -lyázy převeden na selenocystein. Selenocystein může být začleněn do proteinů nebo degradován, přičemž uvolnění seleničitan. Také může být štěpen enzymem selenocystein lyázou, uvolňující elementární selen, který může být dále redukován na selenid.

Druhou cestou selenomethioninu je transaminace na methylselenol, který může být transformován na selenid pomocí S-methyltransferázy. Nyní nastává několik možností přeměn selenidu. Hrají důležitou roli v oxidační funkci mikrozomálních a

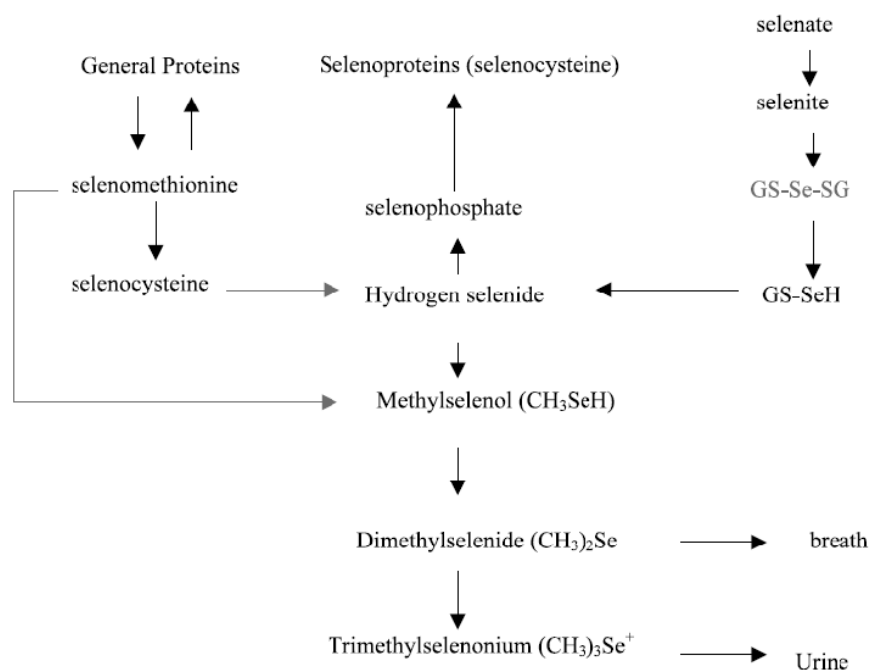
---

<sup>1</sup>Mitóza je buněčné dělení, při němž z jedné buňky vznikají dvě dceřiné, které mají zcela stejnou dědičnou výbavu (Vokurka a Hugo, 2005)

dalších buněčných membrán. Může být methylován na methylselenol ( $\text{CH}_3\text{SeH}$ ), který pak tvoří dimethylselenid či trimethylselenonium ion ( $(\text{CH}_3)_x\text{SeH}$ ). Selenid se také může vázat na selen vazebné proteiny nebo může být substrátem pro selenofosfát syntetázy, což využívá tRNA k syntéze selenoproteinů, což je podstatný krok přeměny anorganické formy selenu na organickou, která se nachází v savčích tkáních (Mahima, 2012).

Převažující formou selenu přiváděného do živočišného organismu je forma anorganická v podobě seleničitanu sodného. Přestože je u nepřežvýkavých zvířat velmi snadno a dobře absorbován, velmi rychle je jeho většina vyloučena močí. Přežvýkavci absorbují seleničitan sodný jen velmi málo, jelikož bachorové mikroby redukuje většinu přijatého anorganického selenu na neabsorbovatelné anorganické formy. Dostupnost seleničitanů je proto pro přežvýkavce snížena na 25-30% (Mahima, 2012).

**Obrázek 2: Biochemická transformace selenu u zvířat (Tinggi a kol., 2003)**



### 3.3.5 Selenoproteiny

Jelikož proteiny s jinými formami selenu než selenocystein nevykazují biologické účinky, pojmem selenoproteiny či selenoenzymy se v dostupné literatuře většinou myslí proteiny, do kterých byl zabudován selenocystein (Kvíčala, 2003), což potvrzuje i Pilon-Smits (2010).

### 3.3.5.1 *Vznik selenoproteinů*

Všechny formy selenu, které jsou absorbovány z potravy a které jsou využitelné pro tvorbu selenoproteinů jsou v organismu nejprve převedeny na selenid. Ten je specifickým enzymem selenofosfát syntetázou fosforylován na monoselenofosfát, který je použit k selenizaci dříve připraveného serin-tRNA. Serin-tRNA se, za působení specifického elongačního faktoru<sup>2</sup> a specifické struktury mRNA SECIS (selenocystein inserting structure), váže na triplet UGA (uracil-guanosin-adenosin) přepisované mRNA. (Kvíčala, 2003).

### 3.3.5.2 *Jednotlivé selenoproteiny*

#### A) **Glutathion peroxidázy**

GSH-Px1 (cGSH-Px), cytosolová (cytoplazmatická, klasická) glutathion peroxidáza je prvním identifikovaným selenoproteinem (Flohé a kol., 1973; Brown, 2001). Má tetramerní strukturu tvořenou čtyřmi stejnými selenocysteinovými podjednotkami (Brown, 2001). Nachází se v cytosolu všech buněk, kde odstraňuje nadbytek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve spolupráci s enzymem katalázou. Rozkládá hydroperoxydy mastných kyselin, které jsou uvolněny pomocí fosfolipázy A2 z poškozených lipidů. Plní tedy antioxidační funkci a také zásobní funkci selenu, jelikož ve své struktuře obsahuje čtyři atomy selenu (Brown, 2001).

GSH-Px2 (giGSH-Px), gastrointestinální glutathion peroxidáza chrání savce před toxicitou přijímaných oxidovaných lipidů. V tlustém střevě jde o nejvýznamnější antioxidant, který se může významně podílet v prevenci rakoviny tlustého střeva (Brown, 2001).

GSH-Px3 (pGSH-Px), plazmatická (extracelulární) glutathion peroxidáza je syntetizována v různých tkáních, odkud přestupuje do extracelulárních tekutin (Yoshimura a kol., 1991). Ledviny obsahují vysokou koncentraci mRNA pro pGSH-Px a jsou hlavním místem produkce tohoto enzymu (Yoshimura a kol., 1991; Brown, 2001).

GSH-Px4, fosfolipid hydroperoxid glutathion peroxidáza je významným ochranným enzymem membrán. Je považován za hlavního ničitele nadbytku

---

<sup>2</sup>Elongační faktory jsou proteiny, které pomáhají a řídí prodlužování polypeptidového řetězce vznikajících bílkovin na ribozomu v průběhu jejich translace (Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, 1997).

peroxidu vodíku. Dokonce je jeho aktivita upřednostňována před GSH-Px1, pokud je v organismu deficit selenu. Působí v metabolismu cholesterolu, chrání lipoproteiny o nízké hustotě (LDL) před oxidací. V důsledku toho chrání celistvost membrán před poškozením volnými radikály. Velmi vysoká aktivita GSH-Px4 byla zjištěna ve tkáni varlat, kde hraje významnou roli v procesu spermatogeneze (Brown, 2001).

### **B) Thioredoxin reductázy**

Pouze savčí TRR (= Thioredoxin reductázy) jsou selenoenzymy, které jsou celkem tři. Ve své molekule obsahují 2 selelnocysteiny (Vašková, 2006).

Jde o enzymy, které katalyzují NADPH, na čemž je závislá redukce thioredoxinu. Redukce thioredoxinu i dalších enzymů je nezbytná pro biologickou jejich biologickou aktivitu a zachování životních funkcí (Brown, 2011). Redukuje malé intracelulární molekuly a může mít důležitou roli v antioxidační ochraně. Dále se uplatňuje ve stimulaci růstu buněk a v inhibici apoptózy (Mustacich, 2000; Ducsay a kol., 2008; Brown, 2011). Vašková (2006) ještě uvádí, že byla zjištěna schopnost TRR redukovat dehydroaskorbovou kyselinu a vitamín E.

### **C) Iodothyronin dejodinázy**

Dalším selenoproteinem je iodothyronin dejodináza (ID). Ta reguluje konverzi tyroxinu (T4) na biologicky aktivní formu hormonu štítné žlázy 3,3',5-trijodotyronin (T3). Aktivace hormonů štítné žlázy je potřebná, aby organismus dosahoval požadovaných růstových schopností a byl dostatečně adaptabilní vůči chladu (Pavlatá, 2002), Ducsay a kol., 2008). Metabolismus hormonů štítné žlázy zabezpečují celkem tři skupiny ID, které se liší substrátovou specifitou a orgánovou distribucí (Vašková, 2006).

### **D) Selenoprotein P**

Selenoprotein P je na obsah selenu velmi bohatý a představuje přibližně dvě třetiny celkového selenu v plazmě. Prostřednictvím krevního oběhu přenáší selen z jater do periferních tkání (Hill a kol., 2014).

### **E) Selenoprotein W**

Selenoprotein W je nejmenší savčí selenoprotein a je jedním z nejrozšířenější selenoproteinů. Identifikace tohoto selenoproteinu začala při zjištění jeho absence ve svalech jehňat trpících svalovou dystrofií. Mimo svalů a proliferujících myoblastů se

selenoprotein W nachází v mozku (především v neuronech a synapsích), kde se jeho koncentrace (oproti koncentraci ve svalech) nesnižuje, přestože se sníží obsah selenu v krvi i aktivita GSH-Px. Ke snížení selenoproteinu W dochází v případě nedostatku selenoproteinu P a selenocystein lyázy. Stejně jako většina selenoproteinů poskytuje ochranu před peroxidovým poškozením (Raman a kol., 2013).

#### **F) Methionsulfoxid reduktázy (Msr) = selenoprotein R**

Je to skupina proteinů, která je zodpovědná za snižování sulfoxidů methioninu, čímž chrání buňky před oxidativním poškozením a opravuje poškozené proteiny, obsahující methionin, aby se zachovala jejich biologická funkce. S ohledem na jejich specifitu substrátového působení jsou Msr rozděleny na dva typy - MsrA, která je specifická pro redukcí methioninu-S-sulfoxidu a MsrB, která katalyzuje redukcí methionin-R-sulfoxidu (Shchedrina a kol., 2011).

### **3.4 Karence selenu**

Různí autoři se shodují, že nedostatek minerálních látek negativně ovlivňuje zdraví, produkci i reprodukci. Nejinak je tomu u selenu (Pavlata a kol., 2002)

Selen jako součástí GSH-Px chrání organismus před škodlivým množstvím reaktivních forem kyslíku, optimální aktivita glutation peroxidázy je při denním příjmu 0,12 mg Se/kg sušiny krmiva (Frankenberger, Engberg, 1998).

Reaktivní formy kyslíku jsou meziprodukty redukce kyslíku na vodu. Při nízké hladině selenu v krvi a tudíž snížené aktivitě glutation peroxidázy se tvoří nekontrolované množství reaktivních forem kyslíku, které způsobují poškození biomolekul oxidací, také známo jako oxidační stres (Frankenberger, Engberg, 1998; Pláteník, 2009).

Známkou nízké hladiny selenu v krmivu nutně nemusí být nízký příjem selenu v krmné dávce, Velíšek a Hejšlová (2009) uvádějí, že obsah selenu v krvi velmi rychle klesá při zátěži zvířat (při stresu) a po odeznění zátěže se při obvyklém přísunu normalizuje za 7 dní.

Vzhledem velkému množství funkcí, do kterých selen zasahuje, jsou příznaky karence selenu většinou dost nespecifické, jde spíše o stav celkového oslabení a zvýšené nemocnosti především v respiračním a gastrointestinálním systému (Pavlata a kol., 2002).

### 3.4.1 Vznik kyslíkových radikálů

Kyslíkový radikál vzniká v případě, že kyslík v organismu je příjemcem jen jednoho elektronu. Nejvýše radikálů kyslíku tvoří dýchací řetězec mitochondrií (kromě cytochrom oxidázy, která kyslík redukuje pomocí 4 elektronů a protonů na 2 molekuly vody) a aktivované fagocyty, které tvoří superoxid cíleně pomocí enzymu NADPH oxidázy na obranu proti mikrobům a k šíření zánětlivé reakce. Kyslíkový radikál v těle přechází na peroxid vodíku  $H_2O_2$ , ať už samovolně či působením enzymu superoxid dizmutázy.  $H_2O_2$  se vyznačuje reaktivitou s redukovanými redoxně aktivními přechodnými kovy, kterými jsou v těle významně zastoupeny atomy železa či mědi. Touto reakcí vzniká velmi reaktivní hydroxylový radikál  $OH\cdot$ . Ten se považuje za prvotní příčinu oxidačního poškození biomolekul organismu. Průběh radikálové poškození má často typ řetězové reakce, jelikož dojde k odtržení elektronu radikálem z jiné struktury, čímž ji přemění na radikál. Všechny typy biomolekul mohou být v organismu poškozovány oxidací, zejména oxidace proteinů a DNA, vedoucí k mutaci a kancerogenezi mohou mít relevantní dopad (Pláteník, 2009).

Pro volné kyslíkové radikály tedy také platí známé pravidlo, všeho s mírou. Kyslíkové radikály, vznikající přirozeně jako důsledek metabolické činnosti organismu, v přiměřeném množství pomáhají v boji proti mikrobům (Pláteník, 2009).

Extracelulární mikroby jsou zničeny především fagocytózou makrofágů, přičemž proces fagocytózy zahrnuje několik kroků, z nichž posledním je zničení mikrobů oxidanty: superoxid, hydroxidový radikál, peroxid vodíku atd. (Surai, 2003). V množství nadměrném však způsobují oxidační stres (Pláteník, 2009), jehož problematika je řešena již výše.

### 3.4.2 Diagnostika karence

V diagnostice mikroprvků, tedy selenu, se využívá systém preventivní diagnostiky, který zahrnuje analýzy prostředí (analýza půdy, rostlin resp. krmiv), produkční a veterinárně-zdravotní analýzy stáda, analýzy chování zvířat, screeningové vyšetření biologických tekutin (analýza obsahu prvku v tělních tekutinách), výběr a klinické vyšetření reprezentantů stáda, odběr vzorků biologického materiálu (stanovení obsahu prvku ve tkáních), klinicko-biochemické vyšetření, vyhodnocení výsledků vyšetření a návrh opatření (Pavlata a kol., 2002).

Při posuzování získaných výsledků je nutno mít znalosti o metabolismu selenu v organismu, výskytu selenu v životním prostředí a o jeho metabolismu v rostlinné tkáni (Pavlata a kol., 2002).

### 3.4.3 Nemoci zvířat

Nemoci spojené s nedostatkem selenu jsou vážným problémem u hospodářských zvířat, v mnoha částech světa (Tinggi, 2003). Nedostatek selenu doprovázený nadměrnou zátěží organismu vede k degeneraci skeletu, toxické dystrofii jater u prasat a drůbeže, nekróze jater u skotu, encefalomalácii („crazy chick disease“) a dalším onemocněním u drůbeže. Postižení deficitem selenu a následné onemocnění může způsobit smrt zvířat po několika hodinách až dnech (mortalita mláďat až 60%), přičemž vznikají vysoké ekonomické ztráty (Frankenberger, Engberg, 1998; Tinggi, 2003).

Dalšími nemocemi jsou například: poruchy reprodukce; erytrocytární hemolýza u kuřat, potkanů a králíků; degenerace ledvinových tubulů u prasat, myši a potkanů; anémie u prasat a opic; akumulace ceroidu v tukové tkáni u potkanů, norků, telat, jehňat, psů a kuřat; exsudativní diatéza či pankreatická fibróza kuřat (Pavlata, 2003).

Nejběžnější onemocnění z nedostatku selenu je nutriční svalová dystrofie (Tinggi, 2003), což je onemocnění příčně pruhované svaloviny (Pavlata a kol., 2002). Symptomatologie svalové dystrofie spočívá v poruchách pohybu až vzniku paréz. Nutriční svalová dystrofie bývá hlavním klinickým projevem nedostatku selenu u nově narozených přežvýkavců, u telat ve věku jednoho až čtyř měsíců (Pavlata, 2002) a u jehňat ve stáří jeden až tři měsíce (Tinggi, 2003). K nejčastějším příznakům této nemoci patří poruchy sání v důsledku regresivních změn svaloviny jazyka, celkovou slabostí, strnulostí a degenerací svalů. K rozvoji příznaků dochází většinou po zvýšené fyzické zátěži. Málo pohyblivá zvířata hladoví a hynou (Pavlata, 2002; Axman, 2011).

Při diagnostice myodystrofie je využíváno znalosti hodnoty obsahu selenu, ta je v případech onemocnění nižší než  $0,2 \text{ mg.kg}^{-1}$  v půdě a pod  $0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$  v krmivu (Pavlata, 2002). Tinggi (2003) uvádí, že existuje mnoho faktorů, které přispívají ke vzniku nemoci a na prvním místě uvádí nedostatek selenu v krmivu, jmenovitě v jeteli.



### 3.5 Toxický účinek selenu

Nejen karence selenu může způsobovat onemocnění. Je tu možnost i toxického účinku selenu, který je však zaznamenáván velmi minimálně (Tinggi, 2003).

Toxický účinek selenu byl prokázán v roce 1930 v Jižní Dakotě. Zde se hospodářská zvířata pásala v oblasti, ve které půda obsahovala vysoké koncentrace selenu, objevily se zde poruchy zvané „alkali disease“ a „blind staggers“. Obě onemocnění vznikají na základě dlouhodobého zkrmování píce s vysokým obsahem selenu, v případě „alkali disease“ jde o koncentrace více než 5, ale obvykle méně než 50 mg/kg, v případě „blind staggers“ jde o rostliny, které mohou kumulovat až 1000mg selenu na kilogram rostlinné hmoty. Mezi příznaky těchto onemocnění patří úbytek hmotnosti, slepota, ataxie, dezorientace a dýchací potíže (Tinggi, 2003).

### 3.6 Krmné dávky

V našich půdách, a tím i v pastevních porostech jsou tradičně hodnoty selenu velmi nízké. Je ho tudíž rostoucím zvířatům nutno dotovat (Axman, 2011). Obvykle je dodáván do krmných dávek hospodářských zvířat v podobě minerálních krmných přísad v anorganické formě seleničitanu sodného nebo selenanu sodného (Kvasničková, 1998; Zelenka, 2013).

Základním problémem použití selenu je právě jeho chemická forma. Jde o volbu anorganické formy či o formu organickou v podobě chelátů (Yu-Bin a kol., 2013), kdy jsou mikroelementy vázány na peptidy a aminokyseliny (Bouška, 2006). Organická forma selenu disponuje lepší biologickou dostupností (Yu-Bin a kol., 2013), rychle odstraňuje příznaky karence (Bouška, 2006), snižuje hranici toxicity anorganického selenu a taktéž jeho vedlejší účinky (Yu-Bin a kol., 2013). Resorpce organické formy je 60% (Bouška, 2006), proto Zhan a kol. (2007), Fajt a kol. (2009) a Axman (20011) uvádějí, že jeho použití je výhodnější, přičemž se používají deriváty methioninu. Použití bioplexů u dojnic (100mg Cu, 300mg Zn, 2mg Se) významně přispělo ke snížení buněčných elementů v mléce (asi o 40%) a zabřezávání dojnic bylo zřetelně vyšší (Bouška, 2006). U selenanu sodného je uváděna resorpce 10-30% (Bouška, 2006), proto se dle Zhan a kol. (2007) doporučuje dodávat do krmiv v desetinásobném množství než je fyziologická potřeba zvířete.

Při rozhodování o formě selenu je dále nutné vědět, že při použití organické i anorganické formy selenu nejsou zjišťovány žádné rozdíly v aktivitě GSH-Px v séru (Fajt a kol., 2009). Hill a kol. (2014) uvádí, že selenomethionin, jehož prvním krokem, který upřednostňuje v těle je začlenění do proteinu na místo methioninu, což znemožňuje jeho redukci a následně využití selenu pro potřeby zvířete. Teprve pokud dojde ke katabolické reakci, je selenomethionin zdrojem selenu pro využití zvířetem a může být využit v mnoha, již výše popisovaných, úlohách. V tomto případě, je tedy lepší anorganická forma selenu, která vstupuje do metabolických procesů přímo (Hill a kol., 2014), seleničitan či selenan stačí zredukovat na selenid, aby byl získán selenofosfát, který je prekurzorem selenocysteinu, aktivní formy selenu v selenoproteinech (Sklenářová a kol.).

Ve výživě vysokoužitkových dojnic nesmíme opomíjet úlohu minerálních látek, jelikož jejich obsah v mléce tvoří desítky kilogramů. Krmná dávka se doplňuje minimálně 10 prvky minerální povahy, z nichž mezi nejdoplňovanější mikroprvky patří U, Zn., Co a Se (Urban, 1997). Krmné dávky postavené na kukuřičné siláži, které jsou ve výživě dojnic hojně využívány, mají značný deficit mikroelementů. Avšak stanovení dietetické potřeby selenu, založené pouze na jeho obsahu v KD, je velmi problematické, jelikož na dietetickou potřebu selenu má největší vliv vit E. Přesto existuje doporučený přírůstek selenu dojnícím, kterým je množství 0,3 mg/1 kg suš krmné dávky (Bouška, 2006). Gierus (2000) uvádí, že je důležité dostatečně zabezpečit zásobení organismu telete ještě před narozením prostřednictvím matky. Proto doporučuje suplementaci selenu u dojnic v období stání na sucho.

Vit E, který posiluje využití selenu, je nutné přidávat (spolu se selenem) rostoucím přežvýkavcům. Dotování selenem a vit E je nutné především u masných plemen, jejich kříženců a rychle rostoucích, pro které je toto období věku výrazně metabolicky aktivní (Axman, 2011).

K dotování potřeb selenu a vit E nedostačují minerální lizy, které jsou v zemědělství hojně využívány k doplnění minerálů a vitaminů. K doplnění potřeb mikroprvků je možné použít vhodný doplněk biofaktorů v doplňkové krmné směsi nebo řadu minerálních preparátů rozpustných v napájecí vodě (Axmann, 2011).

Tinggi (2003) nabízí strategie řešení nedostatku selenu v živočišné výrobě, které zahrnují přímou aplikaci selenu na pastviny; seleničitan či selenan ve formě solných bloků a lizů; přímé podávání selenu při těžkém deficitu; použití pelet, které pomalu

uvolňují selen ve střevě. Ingr a kol. (1999) uvádí, že v současnosti je nejpoužívanějším nástrojem pro zvýšení koncentrace v potravním řetězci obohacování krmiv pro užitková zvířata selenovými preparáty.

Optimální přídávky selenu jsou v množství 0,2mg na 1kg sušiny u dojníc, 0,3mg u prasniček prasnic a telat. U jalovic tato hodnota činí 0,15 mg na 1kg sušiny (Hegner, 2007; Fajt a kol., 2009)

Mahima (2012) tvrdí, že při použití organické formy selenu je mnohem vyšší dostupnost a v těle se tak vytváří jeho velká zásoba, která může být využita v období deficitu. Zelenka (2013) fakt lepšího vstřebávání a ukládání ve tkáních potvrzuje, avšak dodává, že rozdíl v retenci organické a anorganické formy není příliš velký (cca 15%). Dále uvádí, že v organické formě v *Saccharomyces cerevisiae* nebo v průmyslově vyráběném selenomethioninu nebo selenocysteinu je tento prvek mnohem dražší než anorganická forma, a to zhruba 30krát. Jeho účinnost měřená aktivitou glutathion peroxidáz je přitom asi o 20 % nižší než účinnost selenu z minerálních sloučenin (Zelenka, 2013).

### **3.7 Vliv na živočišné produkty**

Dobrymi zdroji selenu v humánní výživě i ve výživě masožravých zvířat jsou potraviny živočišného původu, jako jsou ledviny, játra, vepřové maso, maso přežvýkavých zvířat, krabi a další korýši, ryby, vejce a mléko (Benemariya a kol., 1993; Velíšek, 2002; Sklenářová a kol.)

#### **3.7.1 Maso**

Již dlouho známou informací je využití maso jako zdroje železa. Nyní se však do popředí diskuzí dostává maso jako zdroj selenu, který se váže v aminokyselinách a následně je zabudován do bílkoviny masa (Sklenářová a kol.).

Fajt a kol. (2009) tvrdí, že zkrmování krmné dávky obohacené o selen vede k vyššímu obsahu selenu ve svalovině vykrmovaných zvířat, což podle Acdy (2002) znamená zlepšení kvality masa. Fajt (2009) uvádí, že v jeho pokusu s vykrmovanými prasaty se neobjevily žádné známky zhoršení kvality masa. Dále zmiňuje pokusy s prasaty Mahana a kol. (1999) a Matea a kol. (2007), u kterých se zjistilo, že při použití vysokých dávek anorganického selenu může dojít k zesvětlení svaloviny a zvýšeným ztrátám vody okapem. Clyburn (2002) uvádí, že v mase vykrmovaných býků, v jejichž dietě byl doplňován selen se eliminují negativní vlivy působící na

chuť a nutriční hodnotu masa. Také se prodlouží doba nástupu oxidační reakce jak v masných výrobcích a čerstvém mase, kdy se zároveň sníží ztráty masné šťávy (Hegner, 2007).

Při zkrmování organického selenu v chelátové formě, je obsah selenu ve svalovině zvířat daleko vyšší, než při použití anorganické formy selenu. Vyšší zásobení selenem při použití chelátové formy je způsobeno tím, že selenomethionin nahrazuje ve struktuře svaloviny bílkovinu methionin (Fajt a kol.). Na základě předešlých informací tvrdí, že přídavek organické formy selenu je tedy pro zvyšování obsahu ve svalovině zvířat vhodnější, protože při jeho použití tyto negativní dopady zjištěny nebyly. Zmiňuje ale také tvrzení Woltera a kol. (1999), který žádné kvalitativní rozdíly při použití anorganické a organické formy selenu nezjistil.

Šimek a kol. (2011) uvádí, že maso drůbeže je ve většině případů obohacováno anorganickou formou seleničitanem sodným. Studie však byly prováděny s formou organickou, při které bylo zjištěno mnoho pozitivního, včetně informace, že v důsledku suplementace organické formy selenu se u jatečných brojlerů snížila ztráta odkapem o 21 až 26% (Šimek a kol., 2011).

Konzumace masa obohaceného organickým selenem, může výrazně zvýšit hladinu selenu v krevním séru lidí. Zejména v těch státech s jeho nízkým příjmem, čímž je například Česká Republika, Slovensko či Polsko. (Fajt a kol., 2009).

### **3.7.2 Mléko**

Podle Travníčka a kol. je průměrná hodnota selenu v mléce při jeho suplementaci  $13,63 \pm 3,42 \mu\text{g}$  (Vysočina, Jihočeský a Středočeský kraj). Přičemž obsah selenu v mléce bez suplementace je při 34% výskytu pod  $12 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ . Ve světě se informace o obsahu selenu v mléce různí od  $2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  ve Finsku do  $1270 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  v USA v oblastech s vysokou koncentrací selenu v půdě (Pechová a kol., 2008).

Mlékem, při průměrné denní spotřebě, dospělý člověk uhradí zhruba 11 až 15% doporučeného příjmu selenu. U dětí do jednoho roku je to 54% a se zvyšujícím se věkem úhrada selenu mlékem klesá až na 16% (Travníček a kol.). Zatím obsah selenu v mléce podstatným zdrojem pro potřebu lidské populace není, jak uvádí Kvasničková (1998), ale mohl by jím být, tvrdí Travníček a kol.

Mléko obsahuje selen ve formě selenoproteinu P, GSH-Px3, selenomethioninu a ve formě malých nescifických molekul, přičemž všechny při adekvátní stravě,

vyjma GSH-Px3, přenáší velké množství selenu mlékem do výživy novorozenců a mláďat (Hill a kol., 2014).

Smith a kol. (1984) hodnotil vliv selenu a vitamínu E na výskyt intramamárních infekcí v chovu dojnic. Zjistil, že ve skupině s přidavkem selenu se doba s klinickými příznaky onemocnění zkrátila o 46%, ve skupině s vitamínem E o 44% a ve skupině se selnem i vitamínem E o 62% v porovnání s kontrolní skupinou. Tento výsledek odráží vliv selenu společně s vitamínem E na snížený výskyt somatických buněk, které jsou spojeny s výskytem mastitid (Smith a kol., 1984; Ali-Vehmas, 1997).

### **3.7.3 Vejce**

Ve studii s nosnicemi bílých leghornek Cantor a kol. (1999) zjistili, že při krmení diety obohacené o seleničitan sodný a selen vázaný na kvasnice je ve vejcích v obou případech průkazně zvýšený obsah selenu. Obsah selenu ve vejcích se zvyšoval s rostoucí délkou zkrmování diety obohacené o selen. Po přidání seleničitanu sodného byl obsah selenu ve vejcích v 3. týdnu 0,18mg/kg a po 6 týdnech 0,20mg/kg. V případě selenu vázaného na kvasnice byly hodnoty selenu ve 3. i 6. týdnu 0,24mg/kg (Cantor a kol., 1999).

Schneiderová (2007) tvrdí, že pouze v případě organického selenu (ve formě selenových kvasinkových produktů se zvýšil obsah selenu v celých vejcích, vaječném žloutku, bílku, skořápce a membránách žloutku, zlepšila se kvalita vaječné skořápky včetně její tloušťky, specifická hmotnost, hmotnost skořápky a její pevnost, zvýšila se hodnota Haughovy jednotky (slouží ke zhodnocení kvality vajec), zlepšila se barva žloutku, zvýšil se obsah vitamínu E ve vaječném žloutku (Schneiderová, 2007) a tato vejce mají nižší obsah cholesterolu (Schneiderová, 2003).

Doporučený obsah selenu v 1kg krmné směsi pro slepice nosného typu, produkující vejce konzumní i násadová, je 0,2mg při denní spotřebě 115g krmiva (Zelenka a kol., 2007).

## **3.8 Obohacování píče**

Problém nedostatku mikronutrientů v potravním řetězci začíná v systému půda-rostlina a v této rovině by se problém měl také řešit (Yang a kol., 2007). Dle Ip a Lisk (1994), jak uvádí Germ a kol. (2007) pěstování rostlin obohacených o selen může být efektivní způsob, jak začlenit dostatek selenu do potravního řetězce.

Vhodným způsobem jak zlepšit výživu zvířat a lidí doplněním diety o chybějící stopové prvky je biofortifikace. Přístup k obohacování agronomickou biofortifikací se ukázal být výhodný, může být proveden za relativně nízkou cenu, je vysoce účinný a má velké pokrytí (Yang a kol., 2007; Giacosa a kol., 2014).

Agronomická biofortifikace představuje technologii obohacování o prvky, které jsou žádoucí v kvalitní výživě zvířat a lidí. Biofortifikace již byla použita při mnoha pěstovaných plodinách, využívaných pro lidský konzum (rýže, cibule, atd.). Craddock (2001) zkoumal účinek hnojení přípravkem s obsahem hnědé řasy na obsah selenu v píce, zejména obsah v krmivě rákosovité.

Germ a kol. (2007) uvádí, že obohacování rostlin selenem podporuje jejich růst. Stimulovaný růst je výsledkem zvýšené akumulace škrobu a snížené peroxidace lipidů (Germ a kol., 2007).

### **3.8.1 Foliární aplikace**

Výživa rostlin selenem se zabezpečuje kořenovou nebo mimokořenovou výživou. Je známo doplňování selenu pomocí obchodních hnojiv doplněných o selenan sodný do půdy (Se (VI)), kdy je selen přijímán kořeny rostliny. Avšak agronomické obohacování zemědělských plodin pomocí foliární aplikace selenu se používá jen zřídka (Kápolna a kol., 2009). V takovém případě mluvíme o výživě mimokořenové, kdy příjem zprostředkují nadzemní orgány. Jde především o příjem pomocí listů, které mají největší absorpční plochu (Vaněk a kol., 1998). Přitom aplikace hnojiv na list nabízí výhody s porovnáním hnojení půd, výhoda aplikace na list spočívá v eliminaci ztrát, které jsou způsobené adsorpcí půdy hnojiva a chemickou nebo mikrobiologickou konverzí. Kromě toho přímý příjem listy zajišťuje vyšší stupeň asimilace v rostlině (Kápolna a kol., 2009). Vaněk a kol. (1998) uvádí, že hlavní výhodou je rychlost působení a ekonomika aplikace při použití s jinými zásahy, jakými jsou například ošetření porostu herbicidy a pesticidy (Ryant, 2008).

## **3.9 Selen a člověk**

Světová zdravotnická organizace podle Cababallera (2002), jak uvádí Yang a kol. (2007) v roce 2002 odhadovala, že 250 milionů lidí trpí karencí vitaminů a 260 milionů trpí nedostatkem selenu (Se) či jódu (I). Nedostatek stopových prvků je odvozen z nedostatku těchto prvků v půdě a tudíž v potravinách (Yang a kol., 2007).

Lidský organismus obsahuje asi 10 až 30 mg selenu. Je přítomen ve všech tkáních, nejvíce však v ledvinách, játrech, slinivce břišní a plicích (Roedigerová - Streubelová, 1996; Stratil, 1993). Značné množství je i v kosterní svalovině, v krvi je obsažen v krvinkách, ale také v krevní plazmě ve formě selenoproteinů (Pavlík a Sláma, 2011).

Antioxidační vlastnosti selenu nás chrání před více než osmdesáti nemocemi, včetně rakoviny, srdečních onemocnění, předčasného stárnutí, artritidy a poruch reprodukce (Passwater, 2002).

Minimální koncentraci selenu v krevním séru, po jejímž snížení se podstatně zvyšuje pravděpodobnost výskytu kardiovaskulárních a maligních onemocnění uvádí Kvíčala (2003) v rozmezí 40 - 50  $\mu\text{g/l}$  krevního séra. Za optimální však Kvíčala (2003) považuje obsah selenu 100 – 140  $\mu\text{g/l}$  krevního séra. Průměrný obsah selenu obyvatelstva České republiky se pohybuje v závislosti na lokalitě v rozmezí 42 – 65  $\mu\text{g/l}$  krevního séra, avšak téměř u poloviny byla zjištěna koncentrace selenu nižší, 20 – 55  $\mu\text{g/l}$  séra (Kvíčala, 2003). Nízká hladina selenu v krvi u člověka s imunitním onemocněním je důvodem rostoucího oxidačního stresu, který zhoršuje průběh onemocnění (Fajt a kol., 2009). Oxidační stres byl přitom zahrnut do patogeneze téměř všech lidských chorob (Pláteník, 2009).

Doporučené dávky (RDA) selenu pro člověka se udávají 55-70 $\mu\text{g}$  za den (Zadák, 2006), Kvasničková (1998) uvádí minimální potřebný příjem 0,1  $\mu\text{g}$  na gram diety. U obyvatel České republiky se odhaduje příjem na 25-40 $\mu\text{g}/\text{den}$  (Velíšek a Hajšlová, 2009). Běžný denní příjem selenu v Evropě je také poměrně nízký, Finley (2005) uvádí hodnotu 25-50  $\mu\text{g}/\text{den}$ . Ještě vyššímu riziku nedostatečného příjmu jsou vystaveny určité skupiny naší společnosti. Patří mezi ně těhotné a kojící ženy; jedinci, kteří nekonzumují vyváženou stravu; staré osoby, které nekonzumují dostatek masa; vegetariáni, jejichž denní příjem selenu je v řadě případů pod 10  $\mu\text{g}$ ; kuřáci a chronicky nemocní (Kvasničková, 1998).

První z hlášených případů onemocnění z nedostatku selenu v lidské populaci došlo v Číně, kde propuklo onemocnění známé jako Keshanova choroba. Jde o kardiomyopatii, která postihuje hlavně malé děti a ženy v plodném věku. Nemoc se objevila z důvodu velmi nízkého obsahu selenu v půdě, a proto zde bylo zavedeno přihnojování selenu jako seleničitanu sodného. Další onemocnění, které se rovněž vyskytlo v Číně a souvisí s nedostatkem selenu je Kaschin-Beckovo onemocnění,

což je generativní onemocnění kloubů způsobené oxidačním poškozením chrupavky, která vede k deformaci struktury kostí (Tinggi, 2003)

Selen je tedy nejen nepostradatelným prvkem pro život, ale rovněž pomáhá zvýšit kvalitu života. Z tohoto a výše popsaných důvodů by měl být selen součástí životosprávy každého člověka jako každodenní doplněk výživy (Passwater, 2002). Problém nedostatku selenu lze efektivně řešit obohacováním půd sloučeninami selenu a obohacováním krmiv pro užitková zvířata selenovými preparáty, což je v současnosti nejvíce používaný způsob (Ingr et al., 1999).



## 4 MATERIÁL A METODIKA

### 4.1 Hodnocené druhy

K pokusu byl použit jílek vytrvalý (*Lolium perenne*), odrůda Ahoj a jetel luční (*Trifolium pratense* L.), odrůda Amos, které byly pěstovány v podmínkách klimaboxu.

#### 4.1.1 Jílek vytrvalý

Je to jedna z nejstarších píceňích trav, začal se pěstovat již v 17. Století v Anglii a proto se někdy nazývá jílek anglický (Šašková a Štolfa, 1993).

##### 4.1.1.1 Popis

Tento druh je nízká až středně vysoká pastevní víceletá volně trsnatá tráva (Dostál, 1989; Šašková a Štolfa, 1993; Skládanka, 2005), jejíž trsy jsou složeny z menších trsů spojených oddenkovými články. Stébla má přímá či na bázi vystoupavá. Jazyček je dlouhý 1-1,25mm (Prančl, 2011). Listové čepele jsou sytě zelené, ploché a široké 2-4 (6)mm, na rubu lesklé a na líci drsné, na povrchu výrazně rýhované (Dostál, 1989; Skládanka, 2005; Prančl, 2011). Vernace, neboli uspořádání listu u mladé rostliny, je složená (Skládanka, 2005; Prančl, 2011). Přízemní pochvy mají červenofialovou barvu (Skládanka, 2005). Jílek vytrvalý kvete od května do října (Prančl, 2011). Květenstvím je štíhlý plochý lichoklas (Šašková a Štolfa, 1993; Skládanka, 2005). Lichoklas je dlouhý 3-20cm, štíhlý a převislý. 6-10květé klásky k větenu květenství přisedají užší stranou, za květu jsou vzpřímené a mohou být k větenu zcela přitisknuté (Prančl, 2011) a jsou bezosinné (Skládanka, 2005). Obilka je velká 5,6-6,8mm x 1,0-1,8mm, žlutošedá až šedohnědá. Plucha slabě klenutá, nahoře tupá či zubatě zašpičatělá, zřídka se může objevit velmi krátká osina (Skládanka, 2005).

##### 4.1.1.2 Rozšíření

Původ jíliku vytrvalého je v Evropě, severní Africe, západní a střední Asii. Dnes roste po celém světě, např. Severní Amerika, jižní části Jižní Ameriky (od ostrovů Juana Fernándeze přes Chile a Argentinu až do jižní Brazílie, na jihu až do Patagonie), Austrálie, Nový Zéland, Velikonoční ostrov, Japonsko, Indie, jižní

Afrika, Makaronésie. V České republice a na Slovensku se vyskytuje hojně od nížin do podhůří a je zavlečen i do horských oblastí (Prančl, 2011).

#### **4.1.1.3 Ekologie**

Jílek vytrvalý roste podél cest a chodníků, na sešlapávaných plochách, návších, pastvinách, suchých loukách a na rumišťích (Prančl, 2011). Dle Skládanky (2005) je převažující komponentou pastvin v přímořském klimatu. Je náročný na teplo, vláhu, utužený povrch půdy (vyhovuje mu intenzivní sešlapávání), mikrobiální činnost v půdě a její zásobení živinami (Skládanka, 2005). Dle Prančla (2011) zpravidla vyhledává půdy bohatší na dusík (N). Jílku vytrvalému vyhovuje intenzivní spásání (Skládanka, 2005) a je dobře přizpůsoben seči (Prančl, 2011), proto je často součástí většiny travních směsí (Prančl, 2011). Jeho uplatnění v polohách nad 600 m.n.m je však omezené, jelikož nesnese drsné klimatické podmínky a dlouhodobou sněhovou pokrývku (Skládanka, 2005).

#### **4.1.1.4 Hospodářské využití**

Jílek vytrvalý je vhodný pro dočasné a trvalé travní porosty (TTP) především ve směsích s jetelem plazivým, nazývaným také jetel bílý (*Trifolium repens* L.). Je využíván pro přisevy a přesevy nezapojených míst v TTP. Vzhledem k rychlému vývinu zapojí porost již v prvním užitkovém roce, čímž eliminuje riziko zaplevelení (Skládanka, 2005) a poskytuje rychlý výnos (Šašková a Štolfa, 1993). V intenzivně sešlapávaných porostech, např. na pastevních porostech, je jeho vytrvalost takřka neomezená (Skládanka, 2005).

Jde o kvalitní píci s vysokým obsahem vodorozpustných cukrů. Jeho krmná hodnota (Kh), která je odvozena dle obsahu živin, stravitelnosti, chutnosti a produkce (rozsah Kh -4 až 8) je 8 (Skládanka a kol., 2010; Skládanka, 2005). Číslo dusíku jílku vytrvalého je 5 (Skládanka, 2005) z rozsahu 1-5, což je ukazatel nároku na stanoviště se značnou zásobou živin (Skládanka a kol., 2010). Vysokou kvalitou se vyznačuje do doby metání, jelikož poté stébla signifikují a taková zvířata hůře spásají (Skládanka, 2005).

## **4.1.2 Jetel luční**

### **4.1.2.1 Popis**

Jetel luční je vytrvalou rostlinou, jejíž výška dosahuje až 50cm (Cibulka, 2007). Lodyhy vyrůstají z přízemní listové růžice, jsou silné a vzpřímené až poléhavé, větvené (Skládanka, 2005). Listy má řapíkaté a trojčetné, jejichž lístky jsou obvejčité až okrouhlé, celokrajné, často s půlměsíčkovou bělavou až červenohnědou kresbou (Cibulka, 2007). Květenstvím jsou úžlabní hlávky, které jsou podepřené palisty (Skládanka, 2005; Cibulka, 2007). Květy jsou drobné, krátce stopkaté a mají červenou až karmínovou barvu. Plodem jetele lučního je nepukavý jednosemenný lusk. Semena vejčitá až tupě trojhranná, barva citronově žlutá až fialová, přičemž spodní část bývá žlutá a horní fialová (Skládanka, 2005).

### **4.1.2.2 Rozšíření**

Jetel luční původem rostl v Severozápadní Africe, téměř v celé Evropě až hluboko na Sibiř, dále Malá Asie, Střední Asie, Japonsko a Primorsko nespojitě. V Makaronésii, Severní a Jižní Americe, Austrálii a na Novém Zélandu je nepůvodní. U nás v České republice je všude hojný (Cibulka, 2007).

### **4.1.2.3 Ekologie**

Roste na loukách, pastvinách, lesních krajích a v trávnicích (Cibulka, 2007). Vyžaduje půdy mělké, utuženější, vlhčí s vyšší hladinou spodní vody (má velmi nízkou suchovzdornost) a vyšším obsahem organických látek v půdě. Vyhovuje mu pH 6,0 (Skládanka, 2005).

### **4.1.2.4 Hospodářské využití**

Je vhodný pro luční využívání a na ornou půdu. Má obdobné požadavky na stanoviště jako travní druhy, proto se hodí do jetelotravních směsí. Nejvyšší kvalitu píce poskytuje na začátku butonizace, s krmnou hodnotou (Kh) 7 a s vysokou stravitelností – 74%. Na dusík je jetel luční středně náročný – číslo dusíku 3. Produkce v prvním užitkovém roce je vysoká (potenciál až 18t/ha), přičemž ve druhém užitkovém roce klesá na 60%. Sušení této pícniny není vhodné na zemi, jelikož lodyhy pomaleji zasychají a dochází k velkému odrolu cenných částí. Proto je vhodnější spíše k silážování (Skládanka, 2005).

## 4.2 Klimabox (fytotron)

Jde o zařízení, které je využíváno především pro biologický materiál k regulaci klimatu. Mohou to být různé biologické skříně, pulty, inkubátory, také místnosti a skleníky. Klimabox je nejběžnější zařízení využívané pro biologický výzkum. Jeho součástí je osvětlení, topení, chlazení, vlhčení a úprava proudění vzduchu (Dostál, 2009).

V našem experimentu byl využit klimabox s automaticky kontrolovaným světelným, tepelným a vodním režimem značky CLF PlantMaster - CLF Plant Climatics (Wertingen, Deutschland).

## 4.3 Uspořádání pokusu

Pokus byl koncipován jako nádobový experiment, výsev tedy probíhal do nádob. Po výsevu, který je podrobně popsán v Tabulce 1. Denní teplota v klimaboxu byla nastavena na 24°C, noční teplota na 20°C a vlhkost vzduchu 65 % po celý den. Světelný režim byl nastaven na délku 12 hodin svitu při intenzitě osvětlení 300  $\mu\text{m m}^{-1} \text{s}^{-1}$ .

Jako zdroj selenu byl použit seleničitan a selenan sodný, pro jejichž aplikace byly vytvořeny dvě pokusné skupiny (jedna s aplikací seleničitanu a druhá s aplikací selenanu) a jedna skupina kontrolní (bez ošetření selenem).

Pro ošetření porostu selenem byla využita foliární aplikace, která je blíže popsána v kapitole Foliární aplikace, při níž byly použity roztoky selenu o koncentraci 2,4 a 20mg/m<sup>2</sup>. Selen v těchto koncentracích a ve výše uvedených formách byl aplikován postřikem 25 dní po výsevu. Z každé ze tří skupin byly po aplikaci odebírány vzorky v 14denních intervalech (14 a 28 dní po aplikaci selenu). Získané vzorky byly po odběru zváženy, zmrazeny a následně odeslány k analýze obsahu selenu.

**Tabulka 1: Zakládání porostu**

Druh	Krok 1 (1. den)		Krok 2 (2. den)		
	Zemina (g)	Zalítí vodou (ml)	Výsevek/květináč (g)	Překrytí zeminou (g)	Zalítí vodou (ml)
Jílek vytrvalý	800	100	0,05	75	50

Jetel luční	800	100	0,05	75	50
-------------	-----	-----	------	----	----

#### 4.4 Ošetřování pokusu

V následující tabulce 2 je znázorněno ošetřování rostlin v průběhu pokusu. Rostliny byly dle potřeby zalévány až do 25. dne od založení porostu. Od tohoto dne byly rostliny zavlažovány automaticky. Je zde znázorněn termín aplikace selenu a následný stříh (odběr biomasy) 14 a 28dní po aplikaci selenu. Navíc je zde možné vidět, kdy započalo klíčení semen.

**Tabulka 2: Průběh pěstování**

Den	Zalítí		Klíčení		Aplikace selenu		Stříh	
	Jílek vytrvalý	Jetel luční	Jílek vytrvalý	Jetel luční	Jílek vytrvalý	Jetel luční	Jílek vytrvalý	Jetel luční
4	x	x		x				
7	x	x	x					
13	x	x						
17	x	x						
20	x	x						
25	automat. závlaha							
26					x	x		
40	hnojení						x	x
54							x	x

#### 4.5 Statistické metody

Získaná data byla vyhodnocena metodou vícefaktorové analýzy variance (ANOVA) a následným testováním Tukeyovým testem ve statistickém programu Statistica 12 CZ.

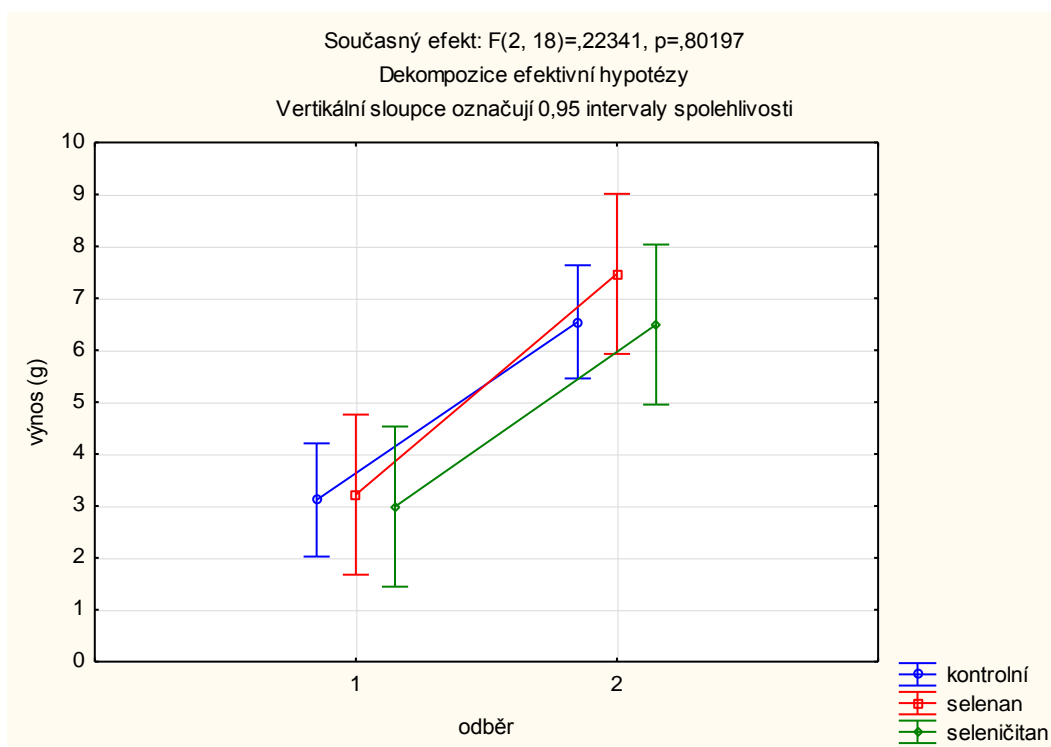
## 5 VÝSLEDKY

Uvedené koncentrace odpovídají obsahu selenu v mineralizovaném homogenizátu.

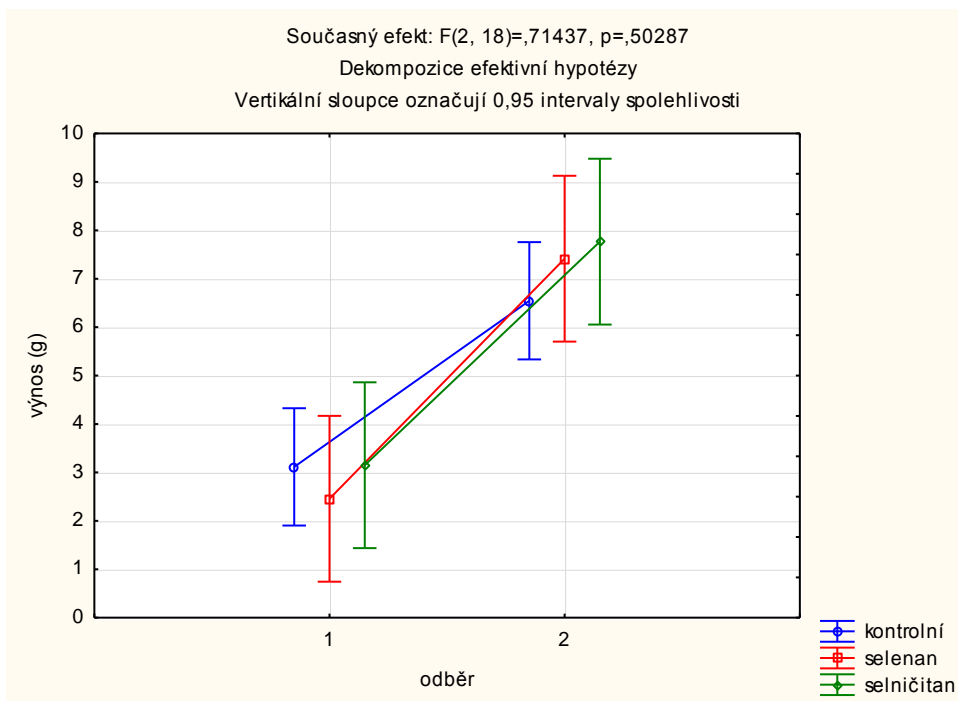
### 5.1 Jílek vytrvalý

Z grafů Graf 1, Graf 2, Graf 3 lze vyčíst, že aplikace roztoku o jakékoliv použité koncentraci neměla vliv na výnos biomasy jílků vytrvalého. Při prvním ani druhém odběru nejsou ve skupině s přidavkem selenanu a ve skupině s přidavkem seleničitanu průkazné žádné rozdíly.

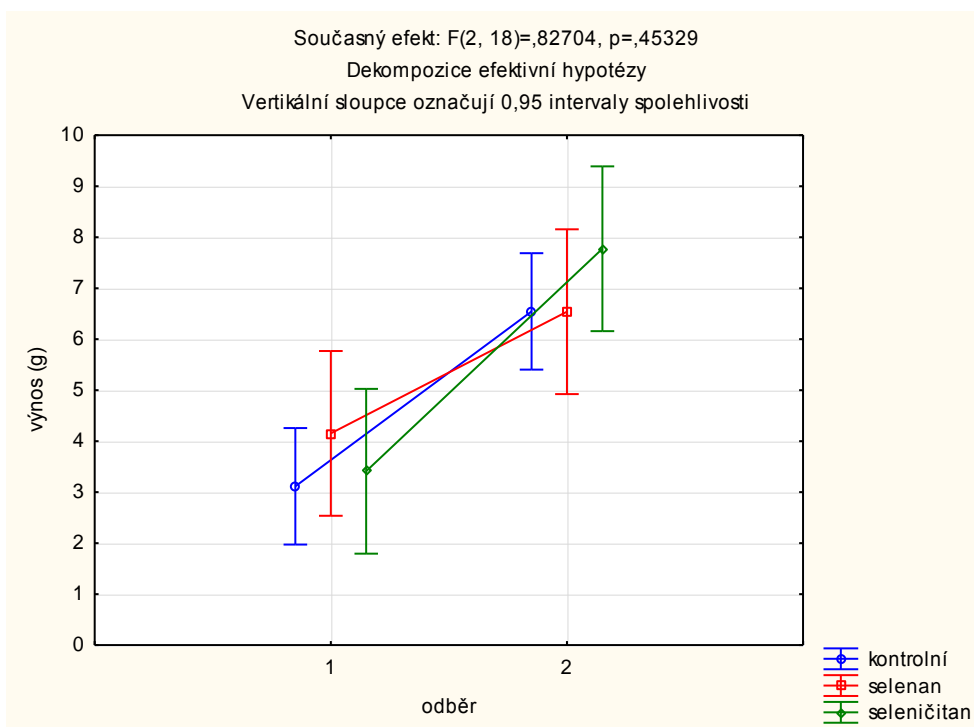
**Graf 1: Výnos jílků vytrvalého při aplikaci roztoku selenu o koncentraci  $2\text{mg/m}^2$**



**Graf 2: Výnos jílku vytrvalého při aplikaci roztoku selenu o koncentraci  $4\text{mg/m}^2$**



**Graf 3: Výnos jílku vytrvalého při aplikaci roztoku selenu o koncentraci  $20\text{mg/m}^2$**



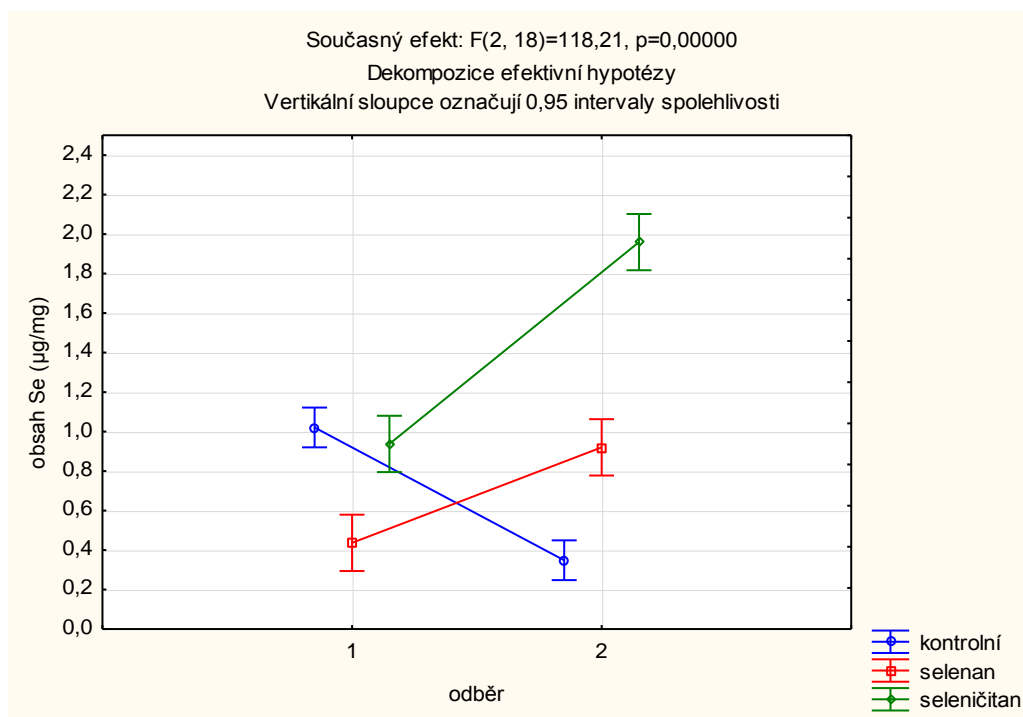
Co se týče obsahu selenu v jílku vytrvalém, v kontrolní skupině je patrná z Grafu 4, Grafu 5 a Grafu 6 klesající tendence obsahu selenu v době prvního a druhého odběru.

Při aplikaci roztoku o koncentraci  $2\text{mg/m}^2$  byly při prvním odběru (14 dní po aplikaci) zjištěny tyto fakta. Ve skupině se selenanem byl obsah selenu v jílku vytrvalém průkazně nižší než ve skupině kontrolní ( $p \leq 0,01$ ). V obsahu selenu ve skupině s přidavkem seleničitanu nebyly při prvním odběru zjištěny průkazné rozdíly v porovnání s kontrolní skupinou.

U druhého odběru (28 dní po aplikaci) jsou výsledky účinku aplikace roztoku selenu o koncentraci  $2\text{mg/m}^2$  zcela průkazné ( $p \leq 0,01$ ) u obou zkoumaných skupin. Ve skupině selenanu došlo k navýšení obsahu selenu v průměru na hodnotu  $0,9203\ \mu\text{g/mg}$ , což je ve srovnání s kontrolní skupinou o  $0,5718\ \mu\text{g/mg}$  více. Ve skupině s přidavkem seleničitanu je navýšení obsahu selenu ještě zřetelnější. U skupiny seleničitanu byl zjištěn průměrný obsah selenu  $1,9591\ \mu\text{g/mg}$ , přičemž u kontrolní skupiny je tato hodnota  $0,3485\ \mu\text{g/mg}$ .

Výše popsané výsledky o obsahu selenu při aplikaci roztoku selenu o koncentraci  $2\text{mg/m}^2$  jsou patrné z Grafu 4.

**Graf 4: Obsah selenu ve vzorku jílku vytrvalého při aplikaci roztoku o koncentraci  $2\text{mg/m}^2$**



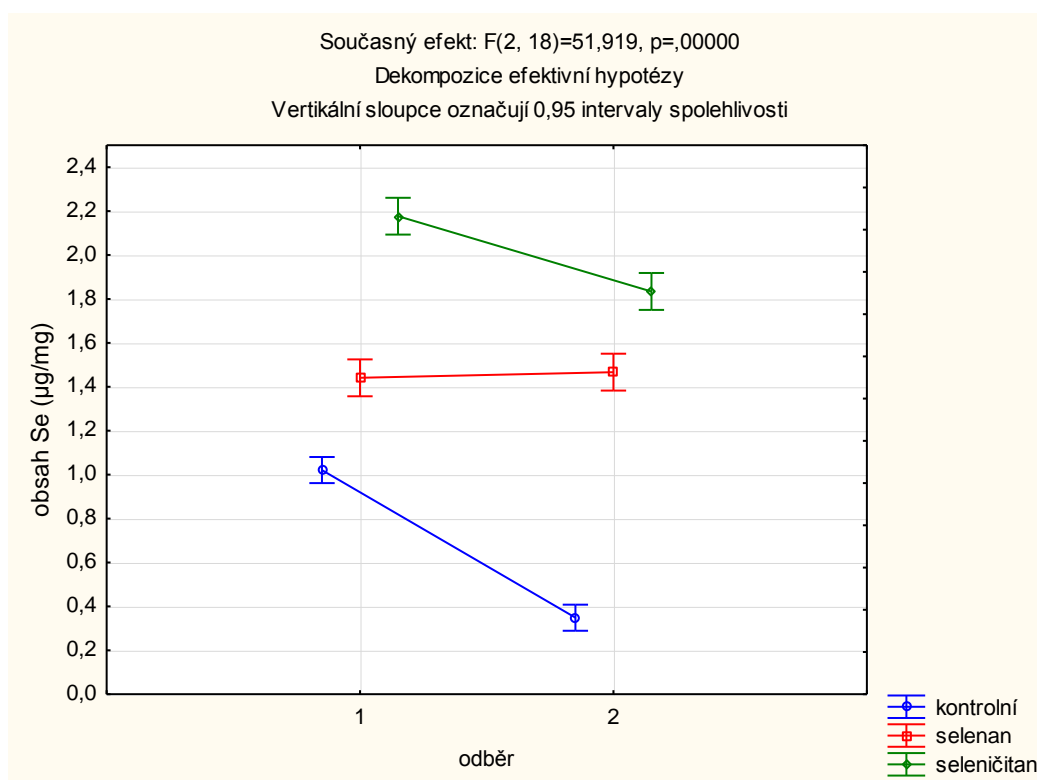


Při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 4 $\mu\text{g}/\text{mg}$  se prokázalo zvýšení obsahu selenu ve skupině s přidavkem selenanu i seleničitanu oproti kontrolní skupině.

U prvního odběru, který se uskutečnil po čtrnácti dnech od aplikace, měla kontrolní skupina obsah selenu 1 $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Obsah selenu ve skupině s přidavkem selenu ve formě selenanu byl průkazně vyšší ( $p \leq 0,01$ ), koncentrace selenu v tomto případě dosáhla hodnoty 1,4408  $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Ve skupině s aplikací roztoku se seleničitanem byla koncentrace selenu ještě vyšší než u selenanu, dosahuje hodnoty 2,1769 $\mu\text{g}/\text{mg}$ . I zde je průkazný rozdíl v nárůstu koncentrace selenu oproti skupině kontrolní ( $p \leq 0,01$ ).

U druhého odběru, který byl proveden čtrnáct dní po prvním odběru a 28 dní po aplikaci byl opět zjištěn průkazný rozdíl u obou zkoumaných skupin ( $p \leq 0,01$ ). Obsah selenu u skupiny selenanu má hodnotu 1,4667 $\mu\text{g}/\text{mg}$  (kontrolní skupina 0,3485  $\mu\text{g}/\text{mg}$ ). Obsah selenu ve skupině seleničitanu dosahuje hodnoty 1,8342 $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Výsledky jsou patrné z Grafu 5.

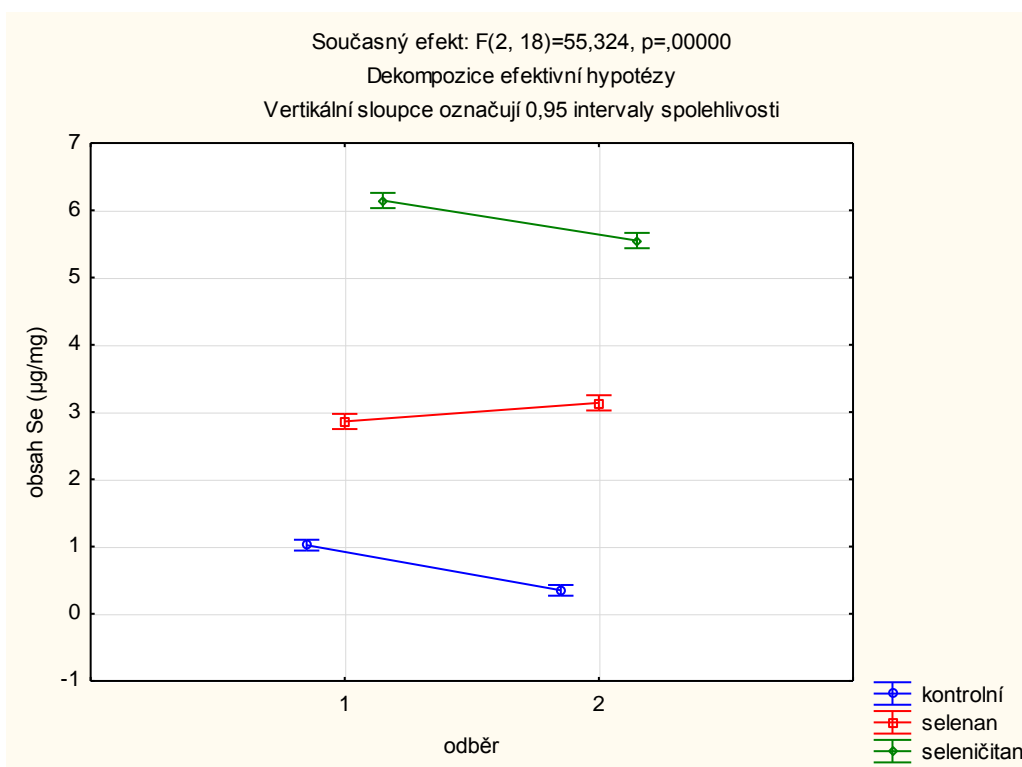
**Graf 5: Obsah selenu ve vzorku jílku vytrvalého při aplikaci roztoku o koncentraci 4 $\text{mg}/\text{m}^2$**



Při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 20mg/m<sup>2</sup> jsou hodnoty selenu při prvním odběru u kontrolní skupiny 1,0733μg/mg, u skupiny s aplikací selenanu 2,8602μg/mg a u skupiny seleničitanu 6,1469μg/mg. U obou skupin tedy došlo k průkaznému navýšení hodnot koncentrace selenu ( $p \leq 0,01$ ).

Při druhém odběru byly získány také průkazné výsledky o navýšení selenu u obou zkoumaných skupin ( $p \leq 0,01$ ). Obsah u skupiny selenanu je 3,1371μg/mg, u skupiny seleničitanu obsah selenu dosahuje hodnoty 5,5503μg/mg. Výsledky jsou patrné z Grafu 6.

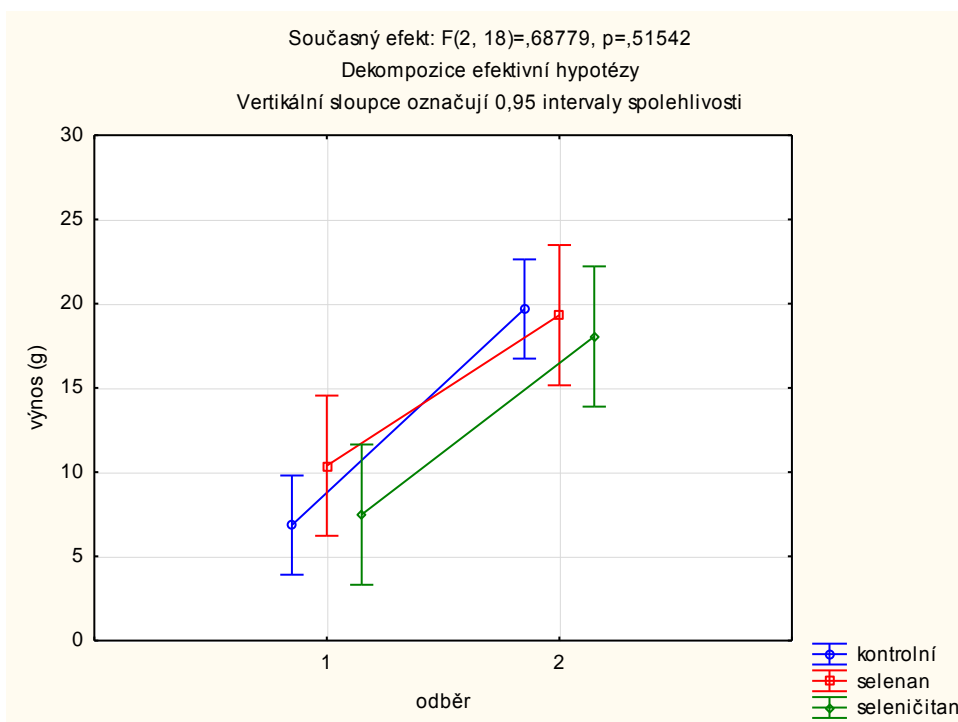
**Graf 6: Obsah selenu ve vzorku jílku vytrvalého při aplikaci roztoku o koncentraci 20mg/m<sup>2</sup>**



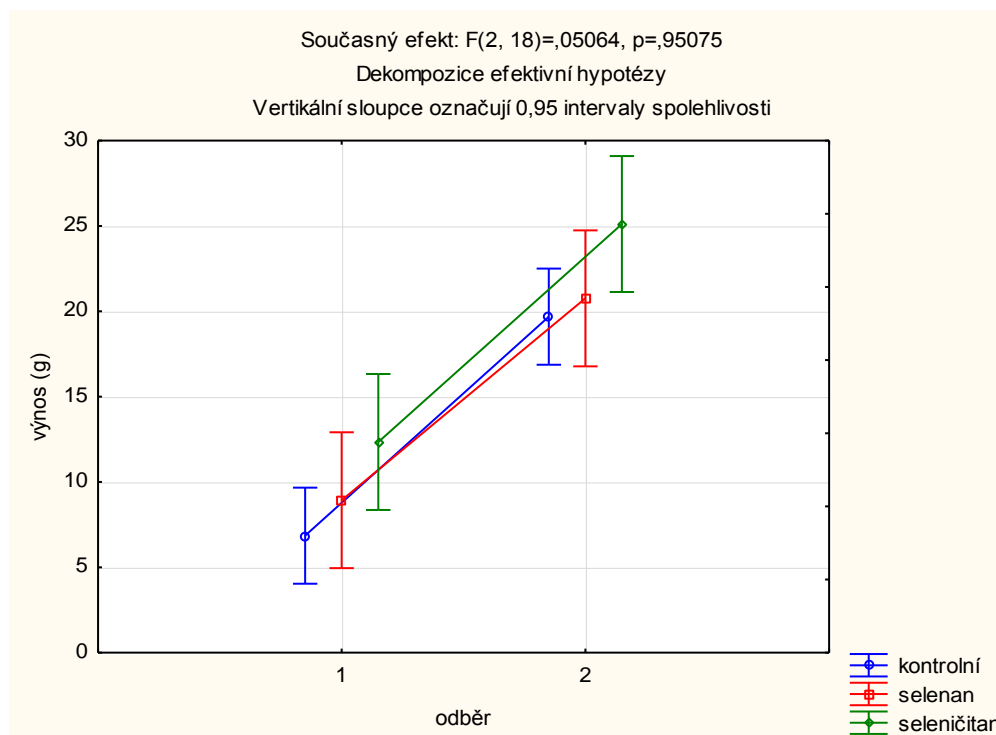
## 5.2 Jetel luční

V případě jetele lučního se stejně jako u jílku vytrvalého nepodařilo zjistit rozdíly ve výnosu biomasy mezi skupinami s přidavkem selenu metodou foliární aplikace a kontrolní skupinou. Ve výnosu skupin s použitím roztoku se selenanem a roztoku se seleničitanem nejsou průkazné rozdíly u prvního ani u druhého odběru v porovnání se skupinou kontrolní, což je patrné z Grafu 7, Grafu 8 a Grafu 9.

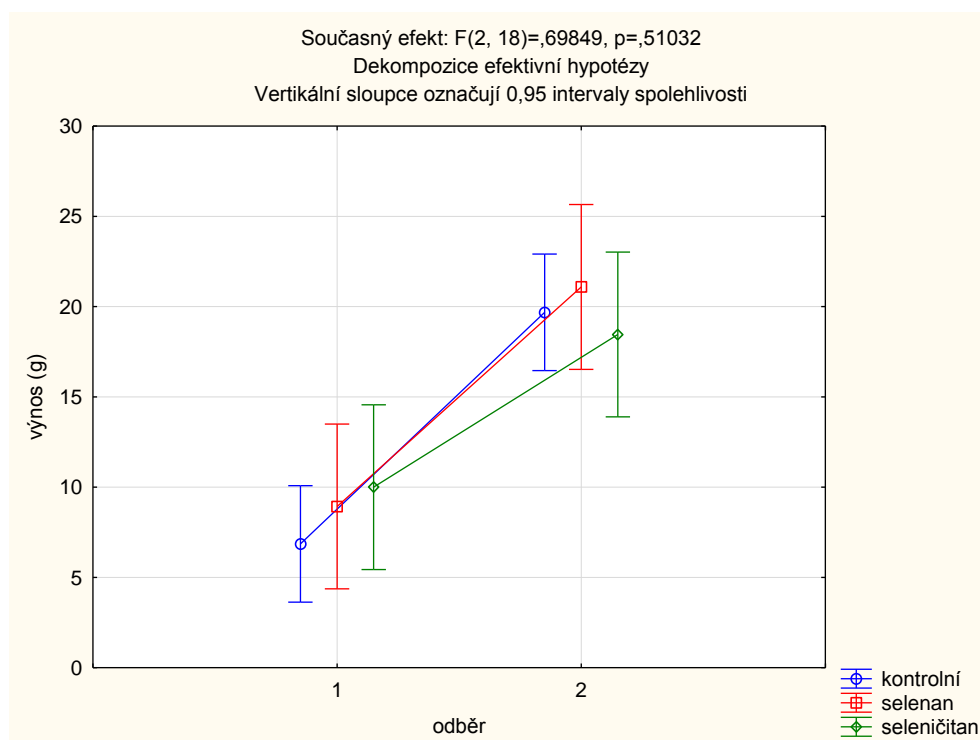
**Graf 7: Výnos jetele lučního při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 2mg/m<sup>2</sup>**



**Graf 8: Výnos jetele lučního při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 4mg/m<sup>2</sup>**



**Graf 9: Výnos jetele lučního při aplikaci roztoku selenu o koncentraci 20mg/m<sup>2</sup>**

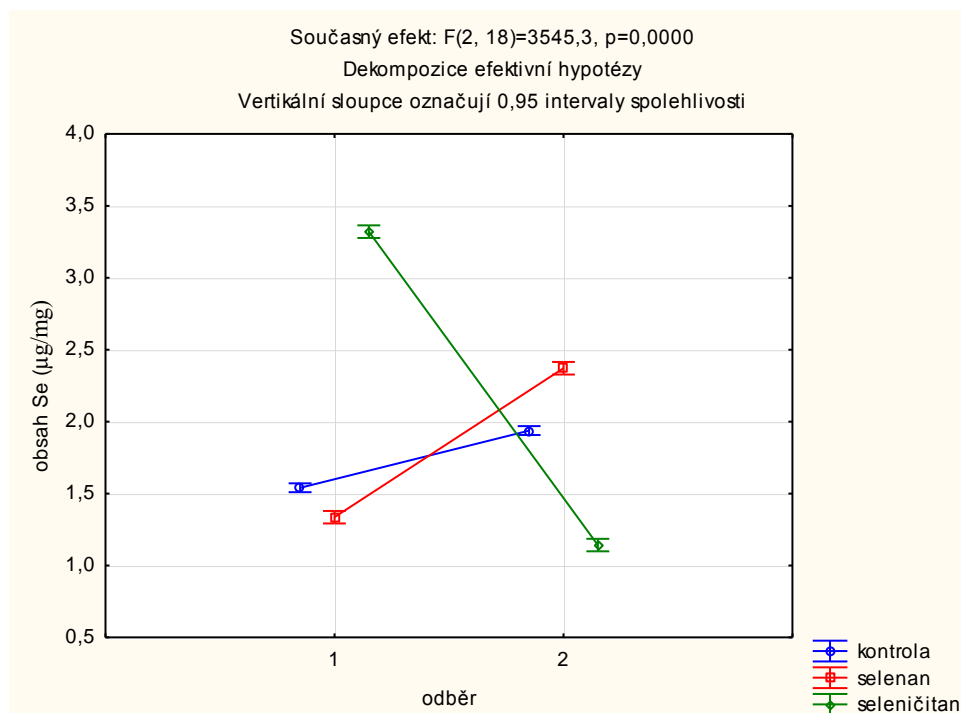


Ve výsledcích kontrolních skupin je patrné z Grafů 10,11 a 12 stoupající tendence obsahu selenu mezi prvním (14dní po aplikaci) a druhým odběrem (28dní po aplikaci).

Z Grafu 10 je patrné, že obsah selenu u druhého odběru ve skupině s aplikací roztoku selenanu o koncentraci 2mg/m<sup>2</sup> je vyšší než u odběru prvního. Zároveň jsou zde vidět průkazné rozdíly v koncentraci selenu oproti skupině kontrolní ( $p \leq 0,01$ ). Při prvním odběru byla u skupiny selenanu zjištěna hodnota 1,2789 $\mu$ g/mg (kontrolní 1,5402 $\mu$ g/mg). U druhého odběru byla u této zkoumané skupiny zjištěna hodnota 2,3716 $\mu$ g/mg (kontrolní 1,9378 $\mu$ g/mg).

U skupiny s aplikací roztoku selenu ve formě seleničitanu o koncentraci 2mg/m<sup>2</sup> byl zjištěn vysoký nárůst selenu u odběru prvního (14dní po aplikaci), koncentrace nabyla průměrné hodnoty 3,321 $\mu$ g/mg. Při odběru druhém (28dní po aplikaci) se hodnota snížila na 1,1421 $\mu$ g/mg, což je ještě méně, než bylo zjištěno u skupiny kontrolní (1,9378 $\mu$ g/mg).

**Graf 10: Obsah selenu ve vzorku jetele lučního při aplikaci roztoku o koncentraci 2mg/m<sup>2</sup>**

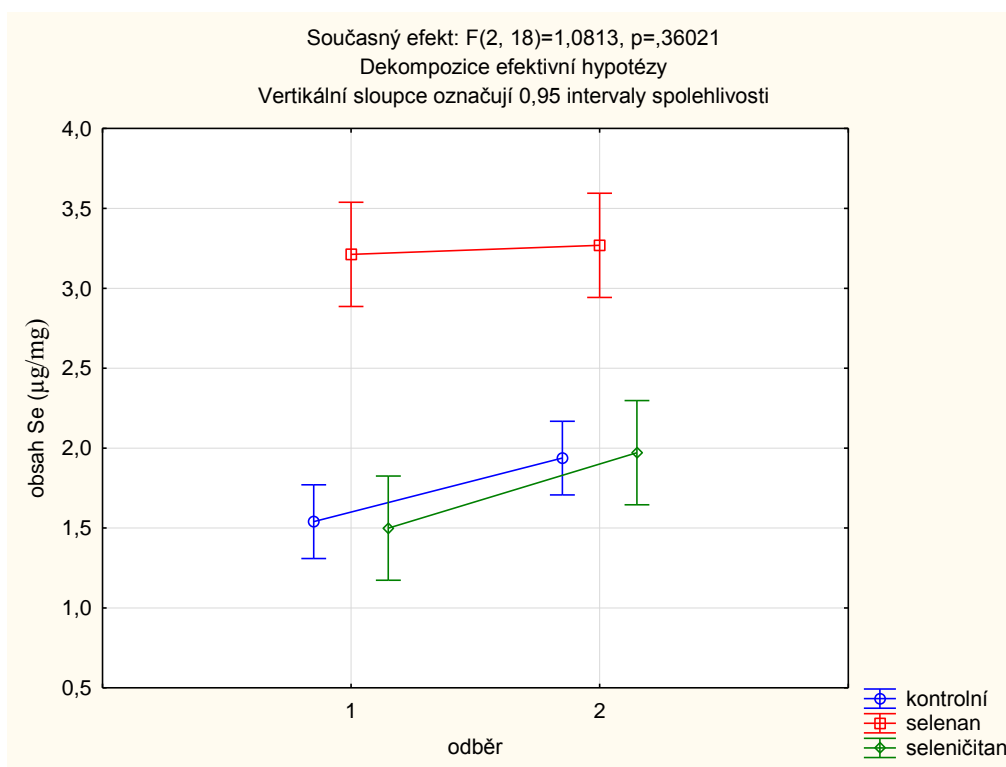


Aplikací roztoku selenanu o koncentraci 4mg/m<sup>2</sup> se podařilo průkazně zvýšit hodnotu obsahu selenu u prvního odběru na 3,2124μg/mg oproti skupině kontrolní (p≤0,01), u které se naměřila průměrná hodnota obsahu selenu 1,5402μg/mg. Zvýšení obsahu se zjistilo i u odběru druhého (p≤0,01), kdy hodnota obsahu selenu u skupiny selenanu činila 3,2689μg/mg (kontrolní 1,9378μg/mg).

U skupiny, na které byla realizována aplikace roztoku selenu o koncentraci 4mg/m<sup>2</sup> ve formě seleničitanu nebyl zjištěn průkazný rozdíl obsahu selenu při prvním ani druhém odběru, naměřené průměrné hodnoty jsou téměř shodné se skupinou kontrolní.

Výsledky obsahu selenu při aplikaci roztoku o koncentraci 4mg/m<sup>2</sup> jsou patrné z následujícího grafu.

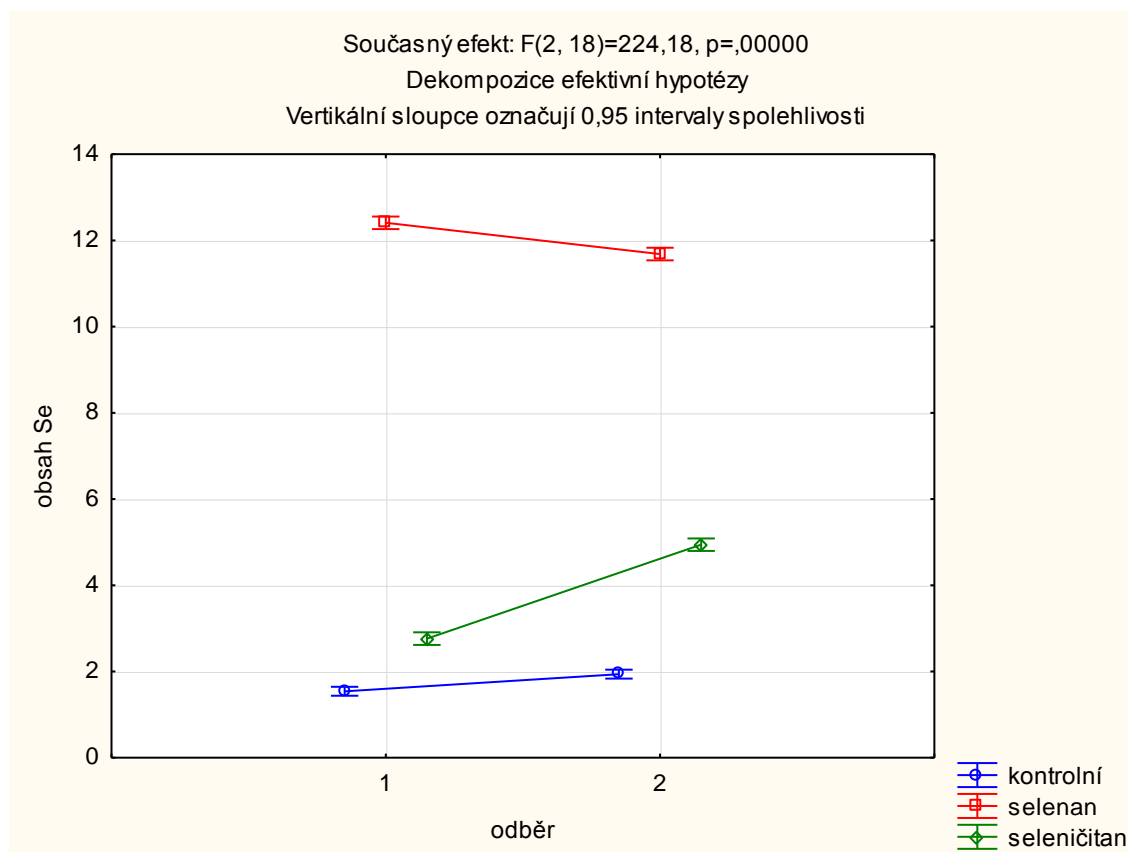
**Graf 11: Obsah selenu ve vzorku jetele lučního při aplikaci roztoku o koncentraci 4mg/m<sup>2</sup>**



Z následujícího Grafu 12 je patrné zvýšení koncentrace při aplikaci roztoku o koncentraci 20mg/m<sup>2</sup> u skupiny seleničitanu a ještě vyšší hodnoty u skupiny selenanu při odběru jedna i dva. V obou případech došlo k průkaznému rozdílu hodnot obsahu selenu (p≤0,01).

Čtrnáct dní po aplikaci došlo k navýšení obsahu selenu při aplikaci selenanu na hodnotu 12,408 $\mu\text{g}/\text{mg}$ , po osmadvaceti dnech 11,6837 $\mu\text{g}/\text{mg}$ . Kontrolní skupina měla tyto hodnoty 1,5402 $\mu\text{g}/\text{mg}$  a 1,9455 $\mu\text{g}/\text{mg}$ . U skupiny s aplikací seleničitanu byly zjištěny výsledky při prvním odběru 2,7621 $\mu\text{g}/\text{mg}$  a druhém 4,939  $\mu\text{g}/\text{mg}$ .

**Graf 12: Obsah selenu ve vzorku jetele lučního při aplikaci roztoku o koncentraci 20mg/m<sup>2</sup>**



### 5.3 Celkové zhodnocení

Celkově je možné zhodnotit, z výše uvedených výsledků, že vlivem foliární aplikace selenu v anorganické formě lze navýšit obsah selenu v pícní biomase. Vliv obohacování selenem na produkci píce se ověřit nepodařilo, respektive výsledky ukazují, že jakákoliv použitá koncentrace roztoku selenu nemá vliv na produkci biomasy jílku vytrvalého ani jetele lučního.

Průkazné výsledky ukazují především vhodnost aplikace selenu ve formě seleničitanu na jílek vytrvalý a aplikaci selenu ve formě selenanu na jetel luční. Dále je možné říci, že při aplikaci roztoku se zvyšující se koncentrací selenu dochází i k vyšším hodnotám obsahu selenu v píci.

## 6 DISKUZE

V minulosti proběhlo již mnoho výzkumů, které se snažily prokázat možnosti zvýšení selenu v rostlinách na základě obohacování foliární aplikace roztoku selenu. Gissel-Nielsen (1985) uvádí ve své práci, že v Dánsku proběhla řada experimentů, které prokázaly, že foliární aplikace je bezpečná a účinná cesta ke zvýšení obsahu selenu v travních porostech, což potvrdil i náš výzkum (především u jílku vytrvalého při aplikaci seleničitanu bylo dosaženo hodnot více než trojnásobných oproti skupině kontrolní). Gissel-Nielsen uvádí aplikaci roztoku selenu ve formě seleničitanu o koncentraci 5g/ha, takové ošetření jednou za rok je dostatečné pro zvýšení obsahu selenu píče na úroveň 0,05-0,1ppm z úrovně nedostatečné (0,02-0,04ppm), přičemž požadované minimum vzhledem k výživě zvířat Gissel-Nielsen (1985) uvádí 0,05ppm.

Germ a kol. (2007) prokázal zvýšení obsahu selenu v čekance obecné (*Cichorium intybus L.*), kdy foliární aplikací roztoku selenu ve formě seleničitanu o koncentraci 1ng/l bylo dosaženo dvojnásobných hodnot obsahu selenu než v kontrolní skupině. Dále uvádí o pozitivní účinek selenu na respirační potenciál mladých rostlin. Takovéto vstřebání selenu ve formě seleničitanu se potvrdilo i v našem pokusu, především v aplikaci na jílek vytrvalý, kdy je patrné prudké navýšení obsahu selenanu při aplikaci seleničitanu již při naší nejnižší použité koncentraci (2mg/m<sup>2</sup>).

Weiming a kol. (2007) studoval aplikaci roztoku seleničitanu o koncentraci selenu 10g/100m<sup>2</sup> na rýži. Pokus byl uskutečněn v polních podmínkách. Výsledky tohoto pokusu dokazují, že obsah selenu v rýži se významně navýšil (7,9-11krát vyšší koncentrace než u skupiny kontrolní). Aplikaci selenu v pokusu s rýží studoval i Boldrin a kol. (2013), který dospěl k výsledkům vyššího obsahu selenu ve formě selenanu při aplikaci na půdu s porovnáním aplikace seleničitanu na půdu. U foliární aplikace toto nehodnotí, avšak udává, že aplikace roztoků obou forem zvyšuje výnos zrna.

Kápolna a kol. (2009) použil listovou aplikaci roztoku selenu na listy mrkve, byl použit selen ve formě selenu i seleničitanu v roztoku o koncentraci selenu 10 a 100μg/ml. Jeho výsledky ukazují průkazné navýšení obsahu selenu při využití obou forem. Listy obohacené selenanem dosahovaly až 80μg selenu na 1gram sušené



biomasy a listy obohacené seleničitanem 50 $\mu$ g/g. Kápolá a kol. (2009) proto uvádí, že je lepší k obohacování využít roztok selenu ve formě selenanu. Z našich výsledků je patrné, že lepší absorpce selenu při použití formy selenanu proběhla u jetele lučního, avšak ne u jílku vytrvalého (tam se osvědčil seleničitan).

Zajímavý je výsledek Cradducka (2001), který zjistil, že hnojení přípravkem s obsahem hnědé řasy (která selen obsahuje) je možné zvýšit koncentraci selenu v biomase píce, jen pokud daná píce je prostá endofytů. Tento fakt naše studie nepotvrzuje ani nevyvracuje, jelikož daná problematika nebyla cílem zkoumání a ani během pokusu se takové výsledky získat nepodařilo.

Naše výsledky o neutrálním vlivu na výnos biomasy se shodují s výsledky výzkumu, který provedl Wang a kol. (2013) na kukuřici (*Z. mays L.*) v polních podmínkách. Aplikoval roztoky o různých koncentracích (min 11g Se/ha, max 285g Se/ha) během dvou let a došlo k výraznému zvýšení obsahu selenu v bioamse kukuřice. Wang a kol. (2013) dodává, že s porovnáním hnojení půdy, má aplikace na list podstatně větší potenciál pro zvýšení hladiny selenu, jelikož se ve své studii prokázal vyšší účinnost této metody a tudíž nižší náklady.

Další pokusy byly provedeny například Germem a kol. (2009) na třezalce tečkované (*Hypericum perforatum L.*). Aplikoval selen ve formě selenanu a výsledky potvrdily průkazné rozdíly zkoumané skupiny s porovnáním se skupinou kontrolní.

Je zarážející, že velmi málo výzkumů bylo provedeno na základě zvyšování obsahu selenu ve travách a jetelovinách, které jsou využívány do krmných dávek zvířat. Mezi leguminózy patří kozinec (*Astragalus L.*), na kterém sice bylo provedeno mnoho výzkumů týkajících se selenu, avšak tuto jetelovinu nelze považovat za důležitou pro zkrmování. Je proto těžké porovnávat námi získané výsledky s výsledky jiných autorů.

V mnoha zahraničních studiích je možné se dočíst, že se autoři přiklánějí na stranu organické formy selenu, jelikož ten se dobře ukládá do svaloviny zvířat a zvyšuje tak obsah selenu v těle zvířete. Tento fakt je pozitivní pro spotřebitele takto obohaceného masa a jde o dobrou příležitost k navýšení množství selenu v lidské výživě. Méně řešenou problematikou ale zůstává, je-li organická forma vhodná pro zvíře samotné, které potřebuje selen pro správný chod metabolismu. V roce 2012 je několik studií, kde je zveřejněno, že v tomto případě je lepší forma anorganická, která poskytuje selen do metabolismu jednodušší cestou než forma organická

(selenomethionin). Tento fakt by měli vzít na vědomí krmiváři a zootechnici a dodávat tak do krmných dávek selen v organické formě i ve formě anorganické. Tím budou zajištěny důležité účinky selenu jak pro lidskou výživu, tak i ve výživě zvířat.

Důležitou záležitostí v chovech zvířat je ekonomická stránka, na kterou se mnozí chovatelé dívají jako první. Obecně se ví, že anorganická forma selenu je levnější než selen ve formě organické, tudíž je téměř jisté, že dodávání anorganické formy do výživy zvířat je méně náročné. Problém nastává až s doplňováním selenu ve formě organické, která by měla být doplňována zvířatům bez jakékoliv snahy, prostřednictvím objemné píče, která jej získá z půdy. Jelikož však v České republice a v mnoha jiných zemích toto není možné z důvodu nízkého obsahu selenu v půdě, nabízí se zvyšování obsahu selenu v rostlinách biofortifikací.

Výše uvedené výsledky včetně našich s jílkem vytrvalým a jetelem lučním dokazují, že každá rostlina dokáže akumulovat nejen různé množství selenu, každá rostlina upřednostňuje i jinou formu anorganického selenu. Je zcela zřejmé, že foliární aplikace anorganických forem selenu má pozitivní účinek na obsah selenu sklízené píče a tudíž je tak možné poskytovat zvířeti obohacenou krmnou dávku o selen skrze objemná krmiva.

Přestože tyto výsledky pochází z experimentu, který byl prováděn v podmínkách fytotronu, je již možné předpokládat, že se pozitivních účinků na zvýšení obsahu selenu ve sklízené biomase dosáhne i v přírodních podmínkách luk či polí. Naznačují to výzkumy, které již za takových podmínek proběhly (Weiming a další).

## 7 ZÁVĚR

Řešenou otázkou v mnoha debatách a výzkumných pracích o dodávání selenu do diety zvířat je použití formy selenu.

Foliární aplikací selenu se podařilo zvýšit obsah selenu v píce hodnocených druhů jílku vytrvalého a jetele lučního. Z výsledků je také patrné, že obě tyto rostliny preferovaly jinou formu anorganického selenu. V biomase jílku vytrvalého se vyšších koncentrací podařilo dosáhnout při použití formy seleničitanu sodného. U jetele lučního jsme se setkaly s výsledky jinými, ten upřednostňoval příjem selenanu, jelikož bylo při této aplikaci zjištěno vyšší množství selenu.

Z hlediska nákladů na ošetřování porostů je nutné sloučit foliární aplikaci selenu s aplikací jiných potřebných živin či sloučení s aplikací herbicidů či pesticidů.

Obecně je možné konstatovat na základě výsledků našeho výzkumu, že dodávání selenu v anorganické formě metodou foliární aplikace je vhodný a funkční způsob dotace selenu do objemné píce a tudíž i do krmných dávek zvířat. Anorganický selen, který je v metabolismu rostlin transformován na organický, je poté výborným zdrojem pro obohacování živočišných produktů, čímž se následně selen dostává do výživy lidí.

## 8 POUŽITÁ LITERATURA

- 1 ALEXANDER, D. J. *Newcastle disease: methods of spread*. In: Newcastle disease. Springer US, 1988. p. 256-272.
- 2 ALI-VEHMAS, T., et al. *Giving Selenium Supplements to Dairy Cows Strengthens the Inflammatory Response to Intramammary Infection and Induces a Growth-Suppressing Effect on Mastitis Pathogens in Whey*. Journal of Veterinary Medicine Series A, 1997, 44.1-10: 559-571.
- 3 ARTHUR, John R.; MCKENZIE, Roderick C. a Geoffrey J BECKETT. *Selenium in the immune system*. The Journal of nutrition, 2003, (5):133.
- 4 BENEMARIYA, H.; ROBBERECHT, H.; DEELSTRA, H. Zinc, copper, and selenium in milk and organs of cow and goat from Burundi, Africa. Science of the total environment, 1993, 128.1: 83-98
- 5 BOLDRIN, Paulo Fernandes, et al. Soil and foliar application of selenium in rice biofortification. Journal of Food Composition and Analysis, 2013, 31.2: 238-244.
- 6 BOUŠKA, Josef. *Chov dojeného skotu*. 1. vyd. Praha: ProfiPress, 2006, 186 s.
- 7 CANTOR, A. H., et al. Effect of feeding organic selenium in diets of laying hens on egg selenium content. Egg nutrition and biotechnology., 1999, 473-476.
- 8 CIBULKA, Radim. TRIFOLIUM PRATENSE L. – jetel luční / ďatelina lúčna. In: Botany.cz [online]. 2007 vyd. [cit. 2015-03-30]. Dostupné z: <http://botany.cz/cs/trifolium-pratense/>
- 9 CLYBURN, Bradley Scott. *Effects of sel-plex (organic selenium) and vitamin E on performance, immune response, and beef cut shelf life of feedlot steers*. 2002. PhD Thesis. Texas Tech University.
- 10 CRADDUCK, Will C. Influence of Ascophyllum nodosum on selenium and antioxidants in beef cattle. 2001. PhD Thesis. Texas Tech University.
- 11 CUVARDIC, M. S. *Selenium in soil*. Zbornik Matice srpske za prirodne nauke (Serbia and Montenegro), 2003.
- 12 PROVÁDĚCÍ NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1245/2013: ze dne 28. listopadu 2013, kterým se schvaluje změna menšího rozsahu ve specifikaci názvu zapsaného do rejstříku chráněných označení původu a chráněných zeměpisných označení (Fourme de Montbrison (CHOP)). In: Úřední věstník EU. 2013, L

- 323/11. Dostupné z: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=CELEX%3A32013R1245>
- 13 DOSTÁL, Jiří. *Regulace klimatické jednotky*. 2009, České vysoké učení technické v Praze, Praha. Dostupné z: [https://support.dce.felk.cvut.cz/mediawiki/images/e/e6/Bp\\_2009\\_dostal\\_jiri.pdf](https://support.dce.felk.cvut.cz/mediawiki/images/e/e6/Bp_2009_dostal_jiri.pdf)
- 14 DOSTÁL, Josef. *Nová květena ČSSR*. Praha: Academia, 1989, 758 s.
- 15 FAJT, Z.; SVOBODA, M.; DRÁBEK, J. a V. DUBANSKÝ. *Selen a jeho význam pro zdravotní stav prasat-review*. Veterinářství, 2009, 59:221-224.
- 16 FINLEY, J. W. Selenium Accumulation in Plant Foods. *NutritionReviews*2005,63(6): 196-202
- 17 FRANKENBERGER, William T.; ENGBERG, Richard A. *Environmental chemistry of selenium*. CRC Press, 1998.
- 18 GERM, M., STIBILJ, V., OSVALD, J., & I. KREFT. *Effect of selenium foliar application on chicory (Cichoriumintybus L.)*. Journal of agricultural and food chemistry, 2007, 55.3: 795-798.
- 19 GERM, Mateja, et al. Selenium concentration in St. John's wort (*Hypericum perforatum L.*) herb after foliar spraying of young plants under different UV-B radiation levels. *Food chemistry*, 2009, 117.2: 204-206.
- 20 GIACOSA, A., FALIVA, M. A., PERNA, S., MINOIA, C., RONCHI, A., & RONDANELLI, M. Selenium fortification of an Italian rice cultivar via foliar fertilization with sodium selenate and its effects on human serum selenium levels and on erythrocyte glutathione peroxidase activity. *Nutrients*. 2014, 6(3), 1251-1261.
- 21 GIERUS, Martin. *Selenstatus laktierender und trockenstehender Milchkühe bei Selenzulagen in der Sommer-und Winterfütterung*. Herbert Utz Verlag, 2000.
- 22 GISSEL-NIELSEN, G. Selenium fertilizers and foliar application, Danish experiments. *Annals of clinical research*, 1985, 18.1: 61-64.
- 23 HEGNER, Karel. *Význam selenu pro živočišný organismus*. Brno, 2007. Bakalářská práce. Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně
- 24 HILL, Kristina E., et al. Selenoprotein P Is the Major Selenium Transport Protein in Mouse Milk. *PloS one*, 2014, 9.7: e103486
- 25 HLAVÁČKOVÁ, A.; MUDŘÍK, Z.: Význam stanovení stravitelnosti vlákniny u objemných krmiv. *Krmivářství*. 2012, 16 (2), s. 25-26

- 26 INGR, I.; KOUTNÍK, V.; SIMEONOVÁ, J. Selen ve svalovině a vnitřnostech jatečných zvířat. In: *Výživa a potraviny*. Praha: Společnost pro výživu, 1995.
- 27 KÁPOLNA, E., HILLESTRØM, P. R., LAURSEN, K. H., HUSTED, S., & LARSEN, E. H. Effect of foliar application of selenium on its uptake and speciation in carrot. *Food chemistry*, 2009, 115.4: 1357-1363.
- 28 KUMHÁLA, F., HEŘMÁNEK, P., MAŠEK, J., KVÍZ, Z., HINZÍK, I. *Zemědělská technika: stroje a technologie pro rostlinnou výrobu*, 2007, Praha: Česká zemědělská univerzita, 438 s.
- 29 KVASNIČKOVÁ, Alexandra. *Minerální látky a stopové prvky: Essenciální minerální prvky ve výživě*. Vyd. 1. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1998, 127 s.
- 30 KVÍČALA, Jan. *Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu – utopie, fikce, prozřetelnost či nutnost? - I. Část*. *Interní medicína pro praxi*, 2003 (6): 355-359.
- 31 MAHIMA, A. K.; VERMA, A. Kumar. A. Rahal, V. Kumar and D. Roy, 2012. Inorganic versus organic selenium supplementation: A review. *Pak. J. Biol. Sci*, 15: 418-425
- 32 MUSTACICH, Debbie; POWIS, Garth. Thioredoxinreductase. *Biochem. J*, 2000, 346: 1-8.
- 33 NOVÁK, František. *Úvod do klinické biochemie*. 1. vyd. Praha, 2002, 341 s.
- 34 Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology. Oxford: Oxford University Press, 1997, 738 s.
- 35 PASSWATER, Richard A. *O antioxidantech*. Praha: Pragma, c2002, 94 s.
- 36 PASSWATER, Richard A. *O selenu: odpovídá na základní otázky, jak selen snižuje riziko rakoviny, nemoci srdce a mnohem víc*. Hodkovičky: Pragma, 2002?, 98 s.
- 37 PAVLATA, Leoš; PECHOVÁ, Alena a Josef ILLEK. *Praktická doporučení pro diagnostiku karence selenu u skotu v České republice*. *Veterinářství*, 2002, 52: 170-173.
- 38 PAVLÍK, Aleš a Petr SLÁMA. *Morfologie a fyziologie hospodářských zvířat*. 1. vyd. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2011, 142 s.
- 39 PECHOVÁ, A., JANŠTOVÁ, B., MIŠUROVÁ, L., DRAČKOVÁ, M., VORLOVÁ, L., a PAVLATA, L. *Impact of supplementation of variol selenium*

- forms in goats on quality and composition of milk, cheese and yoghurt. Acta Veterinaria Brno, 2008, 77(3): 407-414.*
- 40 PLÁTENÍK, Jan. *Volné radikály, antioxidanty a stárnutí. Interní medicína pro praxi, 2009, 11(1): 30-33*
- 41 PRANČL, Jan. *LOLIUM PERENNE L. – jílek vytrvalý / mätonoh trváci. In: Botany.cz [online]. [cit. 2015-03-28]. Dostupné z: <http://botany.cz/cs/lolium-perenne/>*
- 42 RAHMANTO, Aldwin Suryo and Michael J. DAVIES. *Selenium-containing aminoacids as direct and indirect antioxidants. IUBMB life, 64(11): 863-871, 2012.*
- 43 RAMAN, Arjun V., et al. Selenoprotein W expression and regulation in mouse brain and neurons. *Brain and behavior, 2013, 3.5: 562-574.*
- 44 ROEDIGEROVÁ-STREUBELOVÁ, S.: *Minerální látky a stopové prvky. Praha: Ivo*
- 45 RYANT, Pavel. *Multimediální učební texty z výživy rostlin: Mimokořenová výživa rostlin. [online]. 2008. [cit. 2015-03-09]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_221\\_multitext/vyziva\\_rostlin/html/prijem\\_zivin/prijem\\_mimokorenovy.htm](http://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/prijem_zivin/prijem_mimokorenovy.htm)*
- 46 SHCHEDRINA, Valentina A., et al. Analyses of fruit flies that do not express selenoproteins or express the mouse selenoprotein, methioninesulfoxide reductase B1, reveal a role of selenoproteins in stress resistance. *Journal of biological chemistry, 2011, 286.34: 29449-29461.*
- 47 SCHNEIDEROVÁ, Pavla. Selen v krmivech pro nosnice. In: *Agronavigator.cz [online]. 2007 [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch=1&typ=1&val=59483&ids=123>*
- 48 SCHNEIDEROVÁ, Pavla. Vejce obohacené selenem. In: *Agronavigator.cz [online]. 2003 [cit. 2015-04-16]. Dostupné z: <http://www.agronavigator.cz/service.asp?act=print&val=12192>*
- 49 SCHRAUZER, Gerhard N. Selenomethionine: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *The Journal of nutrition, 2000, 130(7): 1653-1656.*
- 50 SKLÁDANKA, Jiří, VEČEREK, Michal a Ivo VYSKOČIL. Hodnocení porostu: Kvalita travního porostu. In: *Travní ekosystémy - multimediální učební texty*

- [online]. 2010. vyd. [cit. 2015-03-28]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_222\\_multitext/trek/index.php?N=13&I=2](http://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/trek/index.php?N=13&I=2)
- 51 SKLÁDANKA, Jiří. Jeteloviny: Jetel luční *Trifolium pratense* L. In: Multimediální učební texty pícninářství [online]. 2005. vyd. [cit. 2015-03-30]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_222\\_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=trifolium.html](http://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=trifolium.html)
- 52 SKLÁDANKA, Jiří. Trávy: Jílek vytrvalý (ozimý, anglický) *Lolium perenne* L. In: Multimediální učební texty pícninářství [online]. 2005. vyd. [cit. 2015-03-28]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_222\\_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=loliump.html](http://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/picniny/sklady.php?odkaz=loliump.html)
- 53 SKLENÁŘOVÁ, Michaela, Jarmila VERNEROVÁ, Petr PIPEK. Kvalita vepřového masa obohaceného selenem [online]. Praha [cit. 2015-04-14]. Dostupné z: <http://www.vepaspol.cz/soubory/s1.pdf>. Vysoká škola chemicko-technologická.
- 54 SMITH, K. Larry, et al. *Effect of Vitamin E and Selenium Supplementation on Incidence of Clinical Mastitis and Duration of Clinical Symptoms* 1, 2. *Journal of dairy science*, 1984, 67.6: 1293-1300.
- 55 STRATIL, Pavel. *ABC zdravé výživy*-1. díl. 1. vyd. Brno: P. Stratil, 1993, 345 s.
- 56 SURAI, Peter, F. *Natural antioxidants in avian nutrition and reproduction*. Nottingham: Nottingham University Press, 2002, 605 s.
- 57 ŠAŠKOVÁ, Dagmar a Vojtěch ŠTOLFA. *Trávy a obilí*. Vyd. 1. V Praze: Artia, 1993, 64 s.
- 58 ŠIMEK, Miroslav; ZEMAN, Ladislav; ILLEK, Josef; KLECKER, Libor a Martin ŠUSTALA. *Uplatnění organických forem zdrojů minerálních látek ve výživě hospodářských zvířat*. [cit. 2015-04-14]. Dostupné z: <http://www.smacr.cz/zpravy/uplatneni-organickyh-forem-zdroju-mineralnich-latek-ve-vyzive-hospodarskych-zvirat/>
- 59 TINGGI, Ujang. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology letters*, 2003, 137.1: 103-110.
- 60 TRÁVNÍČEK, J, J KURSA, V KROUPOVÁ a J ŠVEHLA. Mléko jako zdroj selenu a zinku [online]. České Budějovice [cit. 2015-04-14]. Dostupné z:



[http://www.agris.cz/Content/files/main\\_files/75/153129/31\\_05.pdf](http://www.agris.cz/Content/files/main_files/75/153129/31_05.pdf). Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta.

- 61 URBAN, František. *Chov dojeného skotu (reprodukce, odchov, management, technologie, výživa)*. Praha: Apros, 1997, 289 s.
- 62 VANĚK, Václav. Mimokořenová výživa rostlin. In: *Výživa a hnojení polních plodin, ovoce a zeleniny*. 1998, 1.vyd. Praha: Farmář - Zemědělské listy, 124 s.
- 63 VAŠKOVÁ, Pavla. *Selen v lidské výživě*. Brno, 2006. Bakalářská práce. Masarykova univerzita - Lékařská fakulta.
- 64 VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 2*. Tábor: OSSIS, 2002.
- 65 VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozšířené a přepracované 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009, 580 s.
- 66 VOKURKA, Martin a Jan HUGO. *Velký lékařský slovník*. 5. aktualiz. vyd. Praha: Maxdorf, c2005, 1001 s.
- 67 WANG, Jianwei, et al. Increasing Se concentration in maize grain with soil-or foliar-applied selenite on the Loess Plateau in China. *Field Crops Research*, 2013, 150: 83-90.
- 68 WEIMING, Zhou Xinbin Shi; LINZHANG, Yang. Effect of foliar application of selenite on selenium accumulation and distribution in rice [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 1: 010.
- 69 YANG, Xiao-E.; CHEN, Wen-Rong; FENG, Ying. Improving human micronutrient nutrition through biofortification in the soil-plants system: China as a case study. *Environmental Geochemistry and Health*, 2007, 29.5: 413-428.
- 70 YOSHIMURA, S., WATANABLE, K., SUEMIZU, H., ONOZAWA, T., MIZOGUCHI, J., TSUDA, K. & T., MORIUCHI. Tissue specific expression of the plasma glutathione peroxidase gene in rat kidney. *Journal of biochemistry*, 1991, 109(6), 918-923.
- 71 YU-BIN, J.; FANG, D.; MIAO, Y.; LONG, Q. a L. DAN. *Optimization of synthesis of seleno-Sargassumfusi forme (Harv.) Setch. polysaccharide by response surface methodology, its characterization, and antioxidant activity*. *Journal of Chemistry*, 2013, 9s.
- 72 ZADÁK, Zdeněk. *Magnezium a další minerály, vitaminy a stopové prvky ve službách zdraví*. Presstempus, 2006.

- 73 ZELENKA, Jiří, Jaroslav HEGER a Ladislav ZEMAN. Doporučený obsah živin v krmných směsích a výživná hodnota krmiv pro drůbež: Recommended nutrient content in poultry diets and nutritive value of feeds for poultry. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2007, 30, [46] s.
- 74 ZELENKA, Jiří. *Krmná aditiva: Mikroelementy*. [online]. 2013. [cit. 2015-04-07]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1729](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1729)
- 75 ZELENKA, Jiří. *Základy výživy přežvýkavců: Struktura krmné dávky*. [online]. 2013. [cit. 2015-03-16]. Dostupné z: [http://web2.mendelu.cz/af\\_291\\_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1031](http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/stranka.php?kod=1031)
- 76 ZEMAN, Ladislav. *Výživa a krmení hospodářských zvířat*. 1. vyd. Praha: ProfiPress, c2006, 360 s.
- 77 ZHAN, XiuAn, et al. *Effects of different selenium source on selenium distribution, loin quality and antioxidant status in finishing pigs*. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 132.3: 202-211.