

## **ÚPRAVA METODIKY KONTROLY ZDRAVÍ ZVÍŘAT A NAŘÍZENÉ VAKCINACE NA ROK 2014**

V souladu § 44 odst.1 písm. d) zákona č.166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů, stanovuje Ministerstvo zemědělství povinné preventivní a diagnostické úkony k předcházení vzniku a šíření nárazu a nemocí přenosných ze zvířat na člověka, jakož i k jejich zdolávání, které se provádějí v příslušném kalendářním roce, a určuje, které z nich a v jakém rozsahu se hradí z prostředků státního rozpočtu.

Dne 19. 11. 2013 byla schválena pod. č.j.: 71808/2013-MZE-17212 „METODIKA KONTROLY ZDRAVÍ ZVÍŘAT A NAŘÍZENÉ VAKCINACE NA ROK 2014“, která byla následně v prosinci 2013 zveřejněna ve Věstníku Ministerstva zemědělství České republiky (pozn.: konkrétně v částce 3 – PROSINEC 2013).

Dne 7. 7. 2014 byly schváleny následující úpravy:

**1. V části I. – Povinné úkony hrazené ze státního rozpočtu, oddíl B. Kontrola zdraví, kapitola 14. Lovná spárkatá zvěř**

Kód EpJ200 nově zní:

**„EpJ200 LOVNÁ ZVĚŘ SPÁRKATÁ (VYJMA DIVOKÝCH PRASAT) – PARAZITOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ VyLa (PV)**  
„Uživatel honitby, případně jiná jím pověřená osoba, zajistí odběr vzorku. Vzorky jsou odebírány pouze od ulovené nebo uhynulé spárkaté zvěře (vyjma prasat divokých), kdy se odebere vzorek trusu z konečníku (30 – 50g). V honitbě budou odebrány vzorky tak, aby jeden vzorek byl odebrán z jednoho katastrálního území. Pokud je jedno katastrální území součástí dvou, případně více sousedících honiteb, vzorek bude odebrán každým uživatelem honitby.“

**2. V části II. – Povinné úkony hrazené chovatelem, oddíl B. Kontrola zdraví, kapitola 18. Včely**

Text u kódu E xM340 VARROÁZA – O (podzimní preventivní ošetření) nově zní:

„Preventivní ošetření všech včelstev na všech stanovištích, evidovaných v Ústřední evidenci zvířat  
a) přípravkem Varidol 125 mg/ml – roztok k léčebnému ošetření včel 3× v období od 10. října 2014 do 31. prosince 2014 v intervalu 14 – 21 dnů v souladu s příbalovou informací k jeho použití nebo  
b) jiným VLP pro ošetření včel v souladu s příbalovou informací k jeho použití nebo  
c) jiným přípravkem, určeným pro ošetření včel, v souladu s podmínkami jeho použití pro klinické testování.“

**3. V části VII. – PŘÍLOHY, Příloha č. 2 – Národní ozdravovací program od infekční rinotracheitidy skotu v ČR, kterým se stanovují zásady a povinnosti spojené s ozdravováním od infekční rinotracheitidy skotu (dále jen „NOP od IBR“).**

Čl. 17 – Řízené ozdravování v závěru NOP od IBR včetně příloh č. 5 a 6. nově zní:

„**Čl. 17**

**Řízené ozdravování v závěru NOP od IBR**

Pro dokončení ozdravování od IBR se stanovují následující zásady:

1. Chovatelé, kteří mají KVS schválený ozdravovací program s termínem ukončení do 31. 12. 2012, ozdravování v tomto termínu ukončí.
2. Chovatelům, kteří nestihnou ukončit ozdravování do 31. 12. 2012 se stanovuje:
  - a) připouštět (inseminovat) sérologicky pozitivní skot nejdéle do 30. 9. 2012,

- b) poslední sérologicky pozitivní zvíře eliminovat ze stáda tak, aby do 31. 12. 2014 bylo ukončeno ozdravování (postup viz čl. 8) a hospodářství mohlo být do uvedeného data prohlášeno za úředně prosté a zveřejněné na webových stránkách SVS.
  - c) v případě, že bude z důvodu vyššího počtu zbývajících sérologicky pozitivních plemenic nezbytné tyto připustit (inseminovat) i po termínu 30. 9. 2012 (resp. pokračovat v ozdravování i po termínu 31. 12. 2012), předat místně příslušné KVS žádost (formulář – viz příloha č. 5) o prodloužení termínu pro dokončení ozdravování. Součástí žádosti musí být aktualizovaný ozdravovací plán, ve kterém bude jasné uveden datum vyřazení posledního IBR pozitivního zvířete ze stáda a datum ukončení ozdravení. KVS žádost posoudí, a pokud ji shledá jako odůvodněnou, postoupí ji se svým stanoviskem k rozhodnutí ÚVS SVS. Posoudí-li KVS žádost jako neodůvodněnou, vrátí ji chovateli a bude s ním jednat o dalším postupu.
  - d) chovatelé, kterým bude žádost schválena, musí čtvrtletně na KVS předávat hlášení a to nejpozději do 15. dne následujícího měsíce (formulář – viz příloha č. 6).
3. KVS se ukládá:
- a) k datu 31. 12. 2013 poprvé vyhodnotit v rámci kraje procento zbývajících hospodářství, která dosud neukončila ozdravování. Vyhodnocení dále provádět v pololetních intervalech. Pokud počet hospodářství, v nichž aktuálně probíhá ozdravování, poklesne pod 1,5 % (počítáno z hospodářství aktuálně chovajících skot bez hospodářství se samostatným výkrmem skotu), ukončit v daném kraji NOP od IBR. Pro dokončení ozdravování ve zbývajících hospodářstvích stanovit individuálně mimořádná veterinární opatření (dále jen „MVO“).
  - b) provádět průběžné kontroly v hospodářstvích uvedených v bodu 2 písm. d), a to v hospodářstvích, v nichž dochází k problémům v ozdravování ve čtvrtletních intervalech, v ostatních hospodářstvích pololetně.
  - c) provádět průběžné kontroly v hospodářstvích, která budou ozdravovat v režimu MVO a to v hospodářstvích, v nichž dochází k problémům v ozdravování ve čtvrtletních intervalech, v ostatních hospodářstvích pololetně.
4. Chovatelům v případě hospodářství, která budou ozdravovat v režimu MVO, se ukládá:
- předávat čtvrtletně hlášení, nejpozději do 15. dne následujícího měsíce (formulář – viz příloha č. 6) na KVS.

**Vzor žádosti chovatele o prodloužení termínu pro dokončení ozdravování od IBR  
po datu 31. 12. 2013**

**A. ÚDAJE CHOVATELE:**

Chovatel (adresa): .....

Hospodářství: ..... reg. č: .....

Počet chovaného skotu celkem: ..... skot dojený: ..... /skot masný: .....

a) z toho krav:

b) z toho plemenných býků:

c) z toho výkrm skotu ks: ..... výkrm *je zahrnut<sup>v)</sup>, není zahrnut<sup>v)</sup>* do ozdravování

- Sérologické vyšetření bylo provedeno dne: .....
  - Počet vyšetřeného skotu (od stáří 6 měsíců): .....
  - Počet sérologicky pozitivních (infikovaných) zvířat (laboratorně zjištěných nebo úředně zařazených): .....
  - Datum provedení první vakcinace .....
  - Jsou průběžně prováděny revakcinace v intervalech 6 měsíců – .....
  - Jsou ve stanovených intervalech prováděna namátková vyšetření – .....
  - Počet vyřazených infikovaných zvířat od doby provedení vstupního sérologického vyšetření .....
  - Přírůstek počtu infikovaných zvířat od doby provedení vstupního sérologického vyšetření (kódy NOP) .....
  - Celkový počet infikovaných zvířat k datu podání této žádosti .....
- z toho počet infikovaných zvířat do stáří
- |                           |
|---------------------------|
| 12. měsíců .....          |
| 4. měsíců .....           |
| 48. měsíců .....          |
| 72. měsíců .....          |
| staršího 72. měsíců ..... |

- Důvody proč se nepodařilo vyřadit všechna infikovaná zvířata ve schváleném termínu
- .....
- .....

- V případě schválení žádosti se chovatel zavazuje:

- d) Nejpozději do 31. 12. 2012 aktualizovat ozdravovací plán a předložit jej ke schválení KVS a pokračovat v ozdravování podle nově schváleného ozdravovacího plánu
- e) Vyřadit poslední infikované zvíře ze stáda do data: .....
- f) Provést první (měsíc/rok) ..... a druhé závěrečné vyšetření (měsíc/rok) .....  
a neprodleně dohodnout s KVS prohlášení hospodářství za úředně prosté IBR

Poučení: Chovatel si je vědom, že veškeré náklady spojené s ozdravováním bude hradit pouze z vlastních finančních prostředků.

V ..... dne .....

Chovatel (razítka, podpis)

<sup>v)</sup> nehopdící se škrtněte

**B. STANOVISKO KVS SVS:**

.....

.....

.....

**Vzor čtvrtletního hlášení chovatele o průběhu ozdravování od IBR  
za I. II. III. IV. čtvrtletí<sup>1</sup> 20.....**

**(týká se chovatelů, kteří mají SVS povoleno pokračovat v ozdravování od IBR po datu 31. 12. 2013  
a chovatelů, kteří dokončují ozdravování formou MVO)**

Chovatel (adresa): .....

Hospodářství: ..... reg. č: .....

Počet chovaného skotu celkem: ..... skot dojený: ..... /skot masný: .....

- a) z toho krav:
- b) z toho plemenných býků:
- c) z toho výkrm skotu ks: ..... výkrm *je zahrnut<sup>2</sup>, není zahrnut<sup>2</sup>* do ozdravování

- Datum schválení aktualizovaného ozdravovacího plánu .....
- Datum provedení předchozích dvou vakcinací den, měsíc, rok ..... / ..... / .....
- Vyřazeno sérologicky pozitivních (infikovaných) zvířat v daném čtvrtletí .....
- Zbývající počet infikovaných zvířat .....

  - z toho krav starších pěti let .....
  - z toho krav mladších pěti let .....
  - z toho prvotek .....
  - z toho mladého skotu staršího 6 měsíců a jalovic do otelení .....

- Datum provedení předchozích dvou namátkových vyšetření měsíc/rok: ..... / .....
- Zjištěno nových infikovaných zvířat u prvotek ..... / ostatních krav .....
- Bylo provedeno vyšetření kódem IBR106 .....
- V případě zjištění nových infikovaných zvířat řešení situace a přijatá opatření (protokol v příloze)
- Předpoklad vyřazení posledního infikovaného zvířete .....
- Předpoklad prohlášení hospodářství za úředně prosté IBR (datum) .....
- Další důležité informace o průběhu ozdravování:

<sup>2</sup>) nehopodí se škrtněte

Poučení: Požadované údaje uvede chovatel k poslednímu dni čtvrtletí.

Údaje o počtech zvířat uvede v prvním hlášení a v následujících hlášeních v případě, že došlo ke změnám.

Hlášení chovatel zasílá na KVS SVS v měsíci následujícím po ukončení čtvrtletí.

V ..... dne .....

Chovatel (razítka, podpis)“.

## „Monitoring parazitů u spárkaté zvěře

### Metodika odběru trusu:

Metodika vychází z ustanovení § 19 odst. 5 zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů. Státní veterinární správa může za účelem ochrany zdraví lidí před rezidui látek s farmakologickým účinkem v tělech ulovené volně žijící zvěře a ve zvěřině stanovit mimořádným veterinárním opatřením podle § 17b veterinárního zákona, termín použití léčivých přípravků u volně žijící zvěře.

Uživatel honitby je povinen zabezpečit provádění povinných preventivních a diagnostických úkonů v rámci veterinární kontroly zdraví volně žijící zvěře, a to v rozsahu stanoveném ministerstvem podle § 44 odst. 1 písm. d) veterinárního zákona. Uchovávat údaje o použití léčivých přípravků u volně žijící zvěře po dobu nejméně jednoho roku a na požádání je předkládat úřednímu veterinárnímu lékaři. Údaje o použití léčivých přípravků u volně žijící zvěře zahrnují druh a počty zvěře, pro kterou byl léčivý přípravek použit, území, na němž byl léčivý přípravek použit, název a množství použitého léčivého přípravku, datum použití léčivého přípravku a ochrannou lhůtu léčivého přípravku.

Na základě této zákonné povinnosti uživatel honitby, případně jiná jím pověřená osoba, zajistí odběr vzorku. V honitbě budou odebrány vzorky tak, aby jeden vzorek byl odebrán z jednoho katastrálního území. Pokud je jedno katastrální území součástí dvou, případně více sousedících honiteb, vzorek bude odebrán každým uživatelem honitby.

Vzorky jsou odebírány od ulovené nebo uhynulé spárkaté zvěře, kdy se odebere vzorek trusu z konečníku (30–50 g).

Vzorkovnice s odebraným trusem musí být označeny a doprovázeny řádně vyplněnou objednávkou laboratorního vyšetření uvedenou jako vzor č. 13 a odeslány do SVÚ.

Správně označené vzorky, pokud nemohou být předány k vyšetření neprodleně, je třeba uložit v chladu a nejpozději druhý den předat k vyšetření.

Za odevzdání odebraného vzorku a správné vyplnění objednávky náleží uživateli honitby vzorkovné ve výši 50,- Kč za jeden vzorek.

### Metodika použití antiparazitik:

Byl-li Státní veterinární správou podle § 19 odst. 5 stanoven mimořádným veterinárním opatřením termín použití léčivých přípravků u volně žijící zvěře, je vhodné, aby se uživatel honitby, který v takto stanoveném termínu rozhodne o použití léčivých přípravků u volně žijící zvěře, řídil následujícími pokyny/doporučeními: Pokud budou antiparazitika předložena v krmivu, na které zvěř není navyklá, je bezpodmínečně nutné, aby uživatel honitby zajistil přípravné (návykové) období, ve kterém se postupně navýšeje předkládání tohoto krmiva až do dávky, odpovídající dávce medikovaného krmiva. Stavům zvěře v honitbě (katastrálním území) musí odpovídat počty krmných zařízení. Uživatel honitby zajistí v honitbách s divokými prasaty, předkládání krmiva pro jiné druhy spárkaté zvěře tak, aby nebylo zkonzumováno divokými prasaty. Dalším doporučením je, aby uživatel honitby společně se soukromým veterinárním lékařem připravil časový harmonogram podávání návykového i medikovaného krmiva, na základě skutečných počtů zvěře v honitbě (katastrálním území), druhového a věkového složení zvěře a aktuální spotřeby krmiva. K antiparazitárnímu ošetření může být použit medikovaný premix nebo medikované krmivo v souladu se zákonem č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách a doplnění některých souvisejících zákonů. (zejména § 9 výše uvedeného zákona).

Uživatel honiteb provádějících léčbu, i honiteb sousedních, zajistí dodržení zákazu lovu po provedené medikaci, po celou dobu stanovené ochranné lhůty a to u všech druhů zvěře, které jsou zdrojem zvěřiny a mohly přijmout medikovanou krmnou směs.

### Seznam použitelných antiparazitárních přípravků pro spákatou zvěř:

Přípravky se širokým spektrem účinnosti proti střečkovitosti, motoličnatosti i oblým červům zažívadel a plic.

Cermix premix – určený pro výrobu medikovaného krmiva u schváleného výrobce medikovaných krmiv.

Cermix pulvis – určený pro individuální aplikaci do krmiva – léčbu veterinárním lékařem.

Přípravky obsahují účinnou látku **ivermektin** se širokospektrálními antiparazitárními účinky proti dospělým i larválním stádiím nejdůležitějších endoparazitů a ektoparazitů. Působí proti oblým červům zažívadel a plic, proti podkožní a nosohltanové střečkovitosti, zákožkám svrabovým a vším.

## **Způsob podání a dávkování:**

Aplikaci přípravku musí předcházet přípravná fáze, tj. krmení sypkým krmivem bez léčiva. Přípravek se podává rozmíchaný v sypkém krmivu v poměru 1:9 (5 kg přípravku smísíme s 45 kg jaderného krmiva).

**Spárkaté přežvýkavé zvěři** se připravené krmivo podává dva po sobě následující dny jako jediné krmivo v množství závislém na početním stavu zvěře u jednotlivých krmelců (dávky jsou uvedeny v příbalové informaci). **Jeden kg přípravku postačí při 2 aplikacích k ošetření 20–25 ks srnčí zvěře nebo 5 ks jelení, 8 ks daňčí, 12 ks mufloní nebo 15 ks kamzičí zvěře.**

## **Ochranná lhůta:**

28 dnů maso a orgány jelení, daňčí, srnčí, mufloní a kamzičí zvěře

14 dnů maso a orgány divokých prasat (v případě, že nelze zabezpečit podání medikovaného krmiva pouze spárkaté přežvýkavé zvěři)

**Rafendazol premix** – určený pro výrobu medikovaného krmiva u schváleného výrobce medikovaných krmiv.

**Rafendazol pulvis** – určený pro individuální aplikaci do krmiva – léčbu veterinárním lékařem.

Přípravky obsahují účinné látky **rafoxanid** a **mebendazol**, které mají širokospektrální účinek proti oblým červům zažívacího traktu a plic, proti motolicím a nosohltanové střečkovitosti.

**Způsob podání a dávkování:** Přípravky se podávají zvěři rozmíchané v jaderném krmivu v poměru 1:9, obvykle dva po sobě následující dny, nejvýše 4 dny, jako jediné krmivo podle početního stavu zvěře u krmelců. Jeden kg přípravku postačí při 2 aplikacích na odčervení 25 kusů srnčí zvěře nebo 5 kusů jelení, 8 kusů daňčí, 12 kusů mufloní nebo 15 kusů kamzičí zvěře.

## **Ochranná lhůta:**

28 dnů maso a orgány u srnčí, daňčí a jelení zvěře

60 dnů maso a orgány u mufloní a kamzičí zvěře

Všechny uvedené přípravky jsou vázány na předpis veterinárního lékaře, který odpovídá za jejich aplikaci.

V lokalitách, kde se vyskytuje motoličnatost i podkožní střečkovitost, mohou být použity k léčbě přípravky **CERMIX** i **RAFENDAZOL**, je však třeba dodržet interval nejméně 28 dní mezi jejich aplikací.

**RAFENDAZOL** je určen především pro oblasti s výskytem motoličnatosti, **CERMIX** zejména pro lokality s výskytem střečkovitosti, zvláště u srnčí zvěře.

**Ivermix** – probíhá registrační řízení. Účinná látka je ivermektin, který, je účinnou látkou i v Cermixu. Použití Ivermixu bude obdobné jako u cermixu.“

**Ing. Marian Jurečka, v. r.**  
ministr zemědělství

Na základě § 44 odstavce 2 zákona č. 166/1999 Sb., o veterinární péči a o změně některých souvisejících zákonů (veterinární zákon), ve znění pozdějších předpisů, Ministerstvo zemědělství uveřejňuje seznam národních referenčních laboratoří schválených podle § 51a odstavce 1 veterinárního zákona a čl. 33 nařízení Evropského Parlamentu a Rady (ES) č. 882/2004 ze dne 29. dubna 2004 o úředních kontrolách za účelem ověřování dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví zvířat a dobrých životních podmínkách zvířat, v platném znění.

*Tímto seznamem se nahrazuje Seznam schválených národních referenčních laboratoří uveřejněný ve Věstníku MZe ČR – částka 1/2012*

## Aktuální seznam Národních referenčních laboratoří k 8. 4. 2014

### Národní referenční laboratoře schválené s účinností od 1. 7. 2006 (č.j.: 12331/2006-17410)

Národní referenční laboratoř pro geneticky modifikované organizmy (GMO)	Sídlo: Výzkumný ústav rostlinné výroby Referenční laboratoř pro identifikaci GMO a DNA fingerprinting Drnovská 507, 161 06 Praha 6 – Ružyně
Národní referenční laboratoř pro antimikrobiální rezistenci	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
Národní referenční laboratoř pro kampylobaktery	Sídlo: Státní veterinární ústav Olomouc Jakoubka ze Stříbra č. 1 779 00 Olomouc
Národní referenční laboratoř pro Escherichia coli	Sídlo: Výzkumný ústav veterinárního lékařství Hudcová 70 621 00 Brno
Národní referenční laboratoř pro Listeria monocytogenes	Sídlo: Státní veterinární ústav Jihlava Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Národní referenční laboratoř pro polycyklické aromatické uhlovodíky	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
Národní referenční laboratoř pro oblast parazitů	Sídlo: Veterinární a farmaceutická univerzita Brno Ústav parazitologie (FVL) Palackého 1/3 612 42 Brno
Národní referenční laboratoř pro oblast pesticidů v cereáliích (pro krmiva)	Sídlo: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Hroznová 2 656 06 Brno
Národní referenční laboratoř pro koaguláza pozitivní stafylokoky	Sídlo: Státní veterinární ústav Olomouc Jakoubka ze Stříbra č. 1 779 00 Olomouc
Národní referenční laboratoř pro oblast těžkých kovů	Sídlo: Státní veterinární ústav Olomouc laboratoř Kroměříž Hulinská 2286 767 60 Kroměříž
Národní referenční laboratoř pro oblast živočišných proteinů	Sídlo: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Hroznová 2 656 06 Brno

Národní referenční laboratoř pro oblast mykotoxinů	Sídlo: Státní zemědělská a potravinářská inspekce Inspektorát v Praze Za Opravnou 300/6 150 06 Praha
Národní referenční laboratoř pro oblast pesticidů singlresiduální metodou	Sídlo: Státní zemědělská a potravinářská inspekce Inspektorát v Praze Za Opravnou 300/6 150 06 Praha
Národní referenční laboratoř pro oblast pesticidů v cereáliích (pro potraviny)	Sídlo: Státní zemědělská a potravinářská inspekce Inspektorát v Praze Za Opravnou 300/6 150 06 Praha
Národní referenční laboratoř pro oblast pesticidů v ovoci a zelenině	Sídlo: Státní zemědělská a potravinářská inspekce Inspektorát v Praze Za Opravnou 300/6 150 06 Praha
Národní referenční laboratoř pro oblast pesticidů v potravinách živočišného původu	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje

**Národní referenční laboratoře schválené s účinností od 1. 12. 2006 (č.j.: 41 920/2006-17000)**

Národní referenční laboratoř pro mléko a mléčné výrobky	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
Národní referenční laboratoř pro slintavku a kulhavku a vezikulární choroby zvířat	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
Národní referenční laboratoř pro aviární influenzu a newcastelskou chorobu	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
Národní referenční laboratoř pro salmonely	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
Národní referenční laboratoř pro tuberkulózu, paratuberkulózu a ostatní mykobakteriozy	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
Národní referenční laboratoř pro mykotoxiny a další přírodní toxiny, barviva, antibakteriální (inhibiční) látky a rezidua veterinárních léčiv	Sídlo: Státní veterinární ústav Jihlava Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Národní referenční laboratoř pro klasický mor prasat a africký mor prasat	Sídlo: Státní veterinární ústav Jihlava Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Národní referenční laboratoř pro maso a masné výrobky	Sídlo: Státní veterinární ústav Jihlava Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Národní referenční laboratoř pro infekční bovinní rhinotracheitidu (IBR/IPV)	Sídlo: Státní veterinární ústav Jihlava Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Národní referenční laboratoř pro katarální horečku ovcí	Sídlo: Státní veterinární ústav Jihlava Rantířovská 93 586 05 Jihlava
Národní referenční laboratoř pro bovinní spongiformní encefalopatií (BSE) a animální transmisivní encefalopatie (TSE)	Sídlo: Státní veterinární ústav Jihlava Rantířovská 93 586 05 Jihlava

Národní referenční laboratoř pro brucelózu	Sídlo: Státní veterinární ústav Olomouc Jakoubka ze Stříbra č. 1 779 00 Olomouc
Národní referenční laboratoř pro vzteklinu	Sídlo: Státní veterinární ústav Liberec U Sila 1139 463 11 Liberec 30
Národní referenční laboratoř pro sledování reziduí veterinárních léčiv	Sídlo: Ústav pro státní kontrolu veterinárních biopreparátů a léčiv Hudcova 56a 621 00 Brno
Národní referenční laboratoř pro virové choroby ryb	Sídlo: Výzkumný ústav veterinárního lékařství Hudcova 70 621 00 Brno

**Národní referenční laboratoř schválená s účinností od 12. 10. 2010 (č.j.: 30123/2010-17400)**

Národní referenční laboratoř pro mykotoxiny v krmivech	Sídlo: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Za Opravnou 300/6 150 06 Praha – Motol
--	--

**Národní referenční laboratoř schválená s účinností od 1. 3. 2011 (č.j.: 21331/2011-MZE)**

Národní referenční laboratoř pro infekční nemoci koní	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
---	---

**Národní referenční laboratoře schválené s účinností od 1. 1. 2011 (č.j.: 199179/2011-17411)**

Národní referenční laboratoř pro oblast přítomnosti savčích tkání v krmivech	Sídlo: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský NRL-RO Praha Za Opravnou 4 150 06 Praha 5 – Motol
Národní referenční laboratoř pro oblast doplňkových látek v krmivech	Sídlo: Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský NRL-RO Praha Za Opravnou 4 150 06 Praha 5 – Motol

**Národní referenční laboratoř schválená s účinností od 1. 2. 2012 (č.j.: 5362/2012-MZE-17212)**

Národní referenční laboratoř pro zdraví včel	Sídlo: Státní veterinární ústav Olomouc Jakoubka ze Stříbra č. 1 779 00 Olomouc
--	---

**Národní referenční laboratoře schválené s účinností od 8. 4. 2014 (č.j.: 23898/2014-MZE-17411)**

Národní referenční laboratoř pro dioxiny a PCB v potravinách a krmivech	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje
Národní referenční laboratoř pro perzistentní organické polutanty (POPs)	Sídlo: Státní veterinární ústav Praha Sídliště 136/24 165 03 Praha 6 – Lysolaje

Ing. Jindřich Šnejdrla, v. r.  
náměstek ministra zemědělství

# NÁRODNÍ PROGRAM OCHRANY A REPRODUKCE GENOFONDU LESNÍCH DŘEVIN NA OBDOBÍ 2014–2018

Ministerstvo zemědělství České republiky (dále jen „ministerstvo“) vyhlašuje na období 2014 až 2018 Národní program ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin (dále jen „Národní program“) podle § 2a zákona č. 149/2003 Sb., o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin), ve znění pozdějších předpisů (dále jen „zákon č. 149/2003 Sb.“).

Tento Národní program zajišťuje v České republice dosud nedostatečně upravenou oblast ochrany a reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin a uvádí tuto oblast do plného souladu s platnými právními předpisy a mezinárodními úmluvami a dohodami. Jedná se zejména o naplnění Úmluvy o biologické rozmanitosti zveřejněné ve Sdělení Ministerstva zahraničních věcí č. 134/1999 Sb., o přijetí Úmluvy o biologické rozmanitosti dne 5. června 1992 v Rio de Janeiru (dále jen „Úmluva o biologické rozmanitosti“), dále o naplnění závěrů ministerských konferencí Forest Europe (Štrasburk 1990, Helsinki 1993, Lisabon 1998, Vídeň 2003, Varšava 2007 a Oslo 2011) a v neposlední řadě o naplnění cílů aktualizované Státní politiky životního prostředí České republiky 2012–2020 schválené usnesením vlády č. 6 ze dne 9. ledna 2013 (dále jen „Státní politika životního prostředí České republiky“) a Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky schválené usnesením vlády České republiky č. 620 ze dne 25. května 2005 (dále jen „Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky“).

Národní program rovněž dotváří právní a organizační rámec nezbytný pro zajištění efektivního a setrvalého využívání genetických zdrojů lesních dřevin v souladu s potřebami lesního hospodářství a zásadami trvale udržitelného hospodaření v lesích. Národní program upravuje podmínky a postupy ochrany a reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin původních na území České republiky, jejichž seznam je uveden v příloze č. 2 k vyhlášce č. 393/2013 Sb., o seznamech druhů lesních dřevin (dále jen „lesní dřeviny“).

Hlavním cílem Národního programu je zachovat a reprodukovat genofond lesních dřevin jako součást národního bohatství pro budoucí generace.

Národní program se vyhlašuje ke dni 1. 7. 2014.

## I. ÚVOD

Biologická rozmanitost (biodiverzita) je souhrnným názvem pro všechny formy života, existující na Zemi, a zahrnuje ekosystémy, které tyto formy vytvářejí. Současná biodiverzita je výsledkem po miliardy let probíhající evoluce, ovlivňované přírodními procesy a v poslední době stále více i člověkem.

Genová diverzita představuje souhrn celkové genetické informace obsažené v genech jedinců všech organismů, které obývají Zemi. Druhová diverzita je rozmanitost všech žijících druhů organismů na Zemi. Ekosystémová diverzita je rozmanitost biotopů a na ně vázaných společenstev živých organismů v biosféře.

Podle Úmluvy o biologické rozmanitosti každá smluvní strana v souladu se svými specifickými podmínkami a možnostmi vytváří národní strategie, plány či programy pro ochranu a trvale udržitelné využívání biodiverzity. Světové společenství v rámci mezinárodní Úmluvy o biologické rozmanitosti usiluje o zastavení každoročního úbytku mnoha známých i dosud vědecky nepopsaných druhů. Sekretariát Úmluvy o biologické rozmanitosti zveřejnil dne 10. května 2010 publikaci o globálním vyhodnocení stavu biodiverzity – 3. vydání Výhledu vývoje globální biologické rozmanitosti (Global Biodiversity Outlook 3), kde je uvedeno, že společný globální cíl představitelů vlád a států ze Světového

summitu o udržitelném rozvoji v Rio de Janeiru v roce 2002, kterého mělo být dosaženo v roce 2010, nebyl naplněn. Naopak, alarmující trendy v úbytku biologické rozmanitosti pokračují na všech úrovních – genové, druhové i ekosystémové.

V zemědělství je problematika ochrany a reprodukce genetických zdrojů řešena v rámci Národního programu konzervace a využívání genetických zdrojů rostlin, zvířat a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství, který předkládá ministerstvo vždy na dobu 5 let. Tento program je stanoven mimo jiné zákonem č. 148/2003 Sb., o konzervaci a využívání genetických zdrojů rostlin a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství a o změně zákona č. 368/1992 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů, (zákon o genetických zdrojích rostlin a mikroorganismů), ve znění pozdějších předpisů (dále jen „zákon č. 148/2003 Sb.“). V úvodních ustanoveních zákona č. 148/2003 Sb. je uvedeno, že se nevztahuje na genetické zdroje rostlin, které tvoří reprodukční materiál lesních dřevin s odkazem na zákon č. 149/2003 Sb., který ovšem tuto problematiku až do roku 2013 neřešil. Výše uvedený zemědělský národní program má již dvacetiletou tradici a jeho základním cílem je zachování genetických zdrojů rostlin, mikroorganismů a živočichů významných pro výživu, zemědělství, pro trvalý rozvoj agrárního sektoru a zachování kvality venkovského prostoru.

Ochrana a reprodukce genofondu lesních dřevin, přirodě bližší druhová skladba a udržování a zvyšování biologické rozmanitosti lesů jsou významnými prioritami trvale udržitelného lesního hospodářství. Cíle trvale udržitelného lesního hospodářství v souvislosti s genetickými zdroji lesních dřevin byly naformulovány v závěrech ministerských konferencí Forest Europe, především pak ve Štrasburku 1990 (rezoluce S2 – Zachování lesních genetických zdrojů), Helsinkách 1993 (rezoluce H1 – Obecné zásady trvale udržitelného hospodaření v lesích Evropy a H2 – Obecné zásady ochrany a trvale udržitelného zachování biodiverzity evropských lesů) a Lisabonu 1998 (rezoluce L2 – Celoevropská kritéria a ukazatele směrnic na provozní úrovni pro trvale udržitelné hospodaření v lesích).

Ochrana biologické rozmanitosti na úrovni stanovišť a zachování a využívání genofondu lesů patří k základním cílům Státní politiky životního prostředí České republiky. Podle Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky není v právním rámci České republiky dostatečně zohledněno zajištění ochrany lesní biodiverzity a není propracována metodika sledování změn stavu druhové rozmanitosti lesů včetně způsobů popisu současného a přirozeného stavu a způsobů vyhodnocení dopadů působících vnějších vlivů, jako jsou změna klimatu, pronikání invazních druhů, změna způsobu hospodaření apod.

Snaha o zvyšování produkce spolu s rostoucí poptávkou po snadno zpracovatelných sortimentech jehličnatého dříví vedla v minulosti ke změně druhové skladby převážné většiny lesních porostů. Podíl listnatých dřevin na celkové druhové skladbě lesních ekosystémů v současnosti tvoří zhruba jednu čtvrtinu, přičemž přirozenému stavu by odpovídalo jejich téměř dvoutřetinové zastoupení. Nahrazení přirozených strukturálně bohatých a druhově rozmanitých lesů stejněkými kulturami často jediné dřeviny, stejně jako nedocenění významu provenienční a genetické hodnoty osiva či sadebního materiálu, znamenalo drastický zásah do ekosystému<sup>1</sup>.

Česká republika patří k zemím s vysokou lesnatostí, současná rozloha lesa na území České republiky přesahuje jedenáctinu plochy státu. Při prosazování zásad trvale udržitelného obhospodařování lesů je jedním ze základních úkolů zajištění obnovy lesa a zalesňování ze zdrojů vhodného původu a kvality. Vzhledem k tomu, že v lesích České republiky dlouhodobě převládá obnova umělá, představuje podpora péče o genetické zdroje lesních dřevin jednu z klíčových oblastí lesního hospodářství. Kvalita zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin, kontrola jeho identity a dodržování pravidel pro jeho přenos při obnově lesa a zalesňování mají zásadní vliv na budoucí výnos, adaptační schopnosti a ekologickou stabilitu lesních porostů (ekosystémů).

## II. HISTORICKÝ VÝVOJ PRÁVNÍCH PŘEDPISŮ O NAKLÁDÁNÍ S GENETICKÝMI ZDROJI LESNÍCH DŘEVIN V ČESKÉ REPUBLICE

Snaha o odpovědné nakládání s genetickými zdroji lesních dřevin a o posuzování jeho vlivu na budoucí stav obnovovaných lesů má v České republice dlouhou tradici, sahající do počátku 20. století.

Již v roce 1927 předložil G. Vincent návrh Směrnic pro celostátní evidenci původu lesního osiva, který však nakonec nebyl realizován. Prvním faktickým právním předpisem v této oblasti bylo vládní nařízení č. 350/1940 Sb., o uchování a vypěstování dědičně hodnotného dorostu stromového v lese. V roce 1950 byl vydán zákon č. 65/1950 Sb., o hospodaření lesními semeny a sazenicemi, na který navazovala prováděcí vyhláška č. 350/1951 Ú. l. a dále Směrnice pro uznávání lesních porostů, stromových skupin a stromů (1952) a Směrnice pro vyhledávání výběrových stromů (1959). V roce 1960 vešel v platnost zákon č. 166/1960 Sb., o lesích a lesním hospodářství (lesní zákon), jeho prováděcí vyhláška č. 17/1961 Sb.

<sup>1</sup> Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky schválená Usnesením vlády č. 620 ze dne 25. května 2005

a v souvislosti s nimi vydané interní předpisy: Směrnice pro uznávání lesních porostů a výběrových stromů pro sběr osiva – MZLH č. j. 43920/3769/65 doplněné v roce 1973 Instrukcemi k uznávání lesních porostů a výběrových stromů pro sběr osiva – MLVH č. j. 30.524/ORLH/73 a Směrnice pro zakládání semenných porostů a semenných plantáží – MLVH č. j. 13728/ORLH/OLP/71. Od roku 1978 platil zákon ČNR č. 96/1977 Sb., o hospodaření v lesích a státní správě lesního hospodářství a jeho prováděcí předpisy, zejména Směrnice pro uznávání a zabezpečení zdrojů reprodukčního materiálu lesních dřevin a pro jeho přenos – MLVH č. j. 972/OLH-Tv/88.

Principy výše uvedených směrnic byly v roce 1995 zpracovány do ustanovení zákona č. 289/1995 Sb., o lesích a o změně a doplnění některých zákonů (lesní zákon), ve znění pozdějších předpisů (dále jen „lesní zákon“), především pak do jeho prováděcí vyhlášky č. 82/1996 Sb., o genetické klasifikaci, obnově lesa, zalesňování a o evidenci při nakládání se semen a sazenicemi lesních dřevin (dále jen „vyhláška č. 82/1996 Sb.“).

Vstupem České republiky do Evropské unie došlo k implementaci evropské právní úpravy do národní legislativy, mimo jiné též v oblasti reprodukčního materiálu lesních dřevin. Zásadním dokumentem v této oblasti je směrnice Rady 1999/105/ES, o uvádění reprodukčního materiálu lesních dřevin na trh, která byla zpracována do národní legislativy zejména zákonem č. 149/2003 Sb. a jeho prováděcí vyhláškou č. 29/2004 Sb., kterou se provádí zákon č. 149/2003 Sb., o obchodu s reprodukčním materiélem lesních dřevin, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „vyhláška č. 29/2004 Sb.“). Vyhláška č. 82/1996 Sb. byla s účinností od 1. 4. 2004 zrušena a nahrazena vyhláškou č. 139/2004 Sb., kterou se stanoví podrobnosti o přenosu semen a sazenic lesních dřevin, o evidenci o původu reprodukčního materiálu a podrobnosti o obnově lesních porostů a o zalesňování pozemků prohlášených za pozemky určené k plnění funkcí lesa.

Dne 1. 1. 2014 nabyl účinnosti zákon č. 232/2013 Sb., kterým se mění zákon č. 149/2003 Sb., o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiélem lesních dřevin), ve znění pozdějších předpisů, zákon č. 634/2004 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 148/2003 Sb., o konzervaci a využívání genetických zdrojů rostlin a mikroorganismů významných pro výživu a zemědělství a o změně zákona č. 368/1992, o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů, (zákon o genetických zdrojích rostlin a mikroorganismů), ve znění pozdějších předpisů. Jedním z hlavních důvodů předložení novely zákona č. 149/2003 Sb. byla potřeba stanovit Národní program.

Informace o genetických zdrojích lesních dřevin obsahují i oblastní plány rozvoje lesů<sup>2</sup> zpracované pro jednotlivé přírodní lesní oblasti České republiky jako nástroj státní lesnické politiky. Jedná se zejména o informace o uznaných zdrojích reprodukčního materiálu, vyhlášených genových základnách a významných populacích lesních dřevin.

### III. ÚČEL NÁRODNÍHO PROGRAMU

Ministerstvo vyhlašuje Národní program na období 2014–2018 za účelem organizačního a věcného zabezpečení uchování a trvalého využívání genetických zdrojů lesních dřevin.

Národní program zabezpečuje všechny nezbytné aktivity, zejména shromažďování, evidenci, dokumentaci, popis, hodnocení, obnovu a dlouhodobé uchování genetických zdrojů lesních dřevin. Účelem Národního programu je rovněž umožnit využívání genetických zdrojů lesních dřevin v České republice i v zahraničí k reprodukci a poskytování vzorků dostupných genetických zdrojů a relevantních informací za podmínek stanovených platnými mezinárodními dohodami a národními normami.

### IV. CÍLE NÁRODNÍHO PROGRAMU

Národní program upravuje podmínky a postupy ochrany a reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin.

Mezi hlavní cíle Národního programu patří zejména:

- Vytvoření předpokladů pro efektivní a trvalé využívání genetických zdrojů lesních dřevin v souladu s potřebami lesního hospodářství České republiky a zásadami trvale udržitelného hospodaření v lesích.
- Monitoring genetických zdrojů lesních dřevin, zejména těch druhů, které jsou významné pro lesní hospodářství i pro zvyšování biodiverzity lesních ekosystémů.
- Zabezpečení evidence genetických zdrojů lesních dřevin a shromáždění dostupných informací o nich; vytváření podmínek pro jejich zachování v podmírkách *in situ* i *ex situ* pro současné potřeby a pro potřeby budoucích generací.

<sup>2</sup> § 23 zákona č. 289/1995 Sb., o lesích a o změně a doplnění některých zákonů (lesní zákon), ve znění pozdějších předpisů.

- Vytvoření informační databáze genetických zdrojů lesních dřevin v České republice, zvýšení dostupnosti genetických zdrojů a relevantních informací pro potřebu uživatelů.
- Zajištění dostupnosti genetických zdrojů lesních dřevin a relevantních informací pro zahraniční uživatele na základě jejich potřeb, v souladu s platnými předpisy Evropské unie, přijatými mezinárodními úmluvami a normami platnými v České republice v rámci garance mezinárodních závazků České republiky na úseku genetických zdrojů lesních dřevin.
- Zabezpečení přístupu domácích subjektů ke genetickým zdrojům a relevantním informacím ze zahraničí prostřednictvím mezinárodní spolupráce.
- Podílení se na celosvětovém úsilí o uchování a využívání genetických zdrojů lesních dřevin a přispění k uchování a využívání genofondu a biodiverzity v globálním měřítku v souladu s platnými předpisy Evropské unie a s přijatými mezinárodními úmluvami.

## V. ORGANIZAČNÍ STRUKTURA NÁRODNÍHO PROGRAMU

Ministerstvo je podle § 29 odst. 1 zákona č. 149/2003 Sb. ústředním správním úřadem v oblasti ochrany a reprodukce genofondu lesních dřevin. Podle § 2a odst. 2 zákona č. 149/2003 Sb. ministerstvo vydává Národní program a stanovuje dobu jeho platnosti ve spolupráci s Ministerstvem životního prostředí. Změnu Národního programu podle § 2a odst. 4 zákona č. 149/2003 Sb. může ministerstvo provést z vlastního podnětu, z podnětu pověřené osoby, určené osoby nebo jiného účastníka Národního programu.

**Pověřenou osobou** podle § 29 odst. 2 písm. d) a § 30 odst. 1 zákona č. 149/2003 Sb. je Ústav pro hospodářskou úpravu lesů Brandýs nad Labem, Nábřežní 1326, 250 01 Brandýs nad Labem-Stará Boleslav (dále jen „ÚHÚL“). ÚHÚL koordinuje Národní program a rovněž provozuje národní informační systém Národního programu (dále jen „modul GENOFOND“) v rámci informačního systému evidence reprodukčního materiálu lesních dřevin (ERMA). ÚHÚL se jako koordinátor Národního programu podílí na přípravě a dodržování koncepcí a metodik Národního programu. Koordinuje rovněž účast jednotlivých účastníků Národního programu v rámci mezinárodní spolupráce. Hodnocení Národního programu podle § 2a odst. 3 zákona č. 149/2003 Sb. je ÚHÚL povinen předložit ministerstvu vždy do konce března následujícího roku formou výročních zpráv za jednotlivé roky a dále formou závěrečné zprávy za celé období trvání Národního programu. Výroční zprávy obsahují zejména přehled genetických zdrojů zařazených do Národního programu, přehled účastníků Národního programu, údaje o poskytování vzorků v rámci Národního programu, informace o mezinárodní spolupráci a informace o finančních nákladech spojených s ochranou a reprodukcí genetických zdrojů v rámci Národního programu. Součástí každé výroční zprávy je i hodnotící zpráva o genetických zdrojích lesních dřevin uložených v bance osiva a explantátu zpracovaná určenou osobou podle § 2 vyhlášky č. 132/2014 Sb., o ochraně a produkci genofondu lesních dřevin (dále jen „vyhláška č. 132/2014 Sb.“).

Ochrana a reprodukci genetických zdrojů lesních dřevin zajišťují účastníci Národního programu prostřednictvím Národního programu. Účastníkem Národního programu se stává bud' vlastník zdroje reprodukčního materiálu lesních dřevin, vlastník reprodukčního materiálu lesních dřevin nebo vlastník genové základny (dále jen „vlastník genetického zdroje“), jehož genetický zdroj zařadil ÚHÚL do Národního programu (§ 2d zákona č. 149/2003 Sb.). Pokud je z hlediska ochrany nebo reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin žádoucí zařadit genetický zdroj lesních dřevin do Národního programu, může ÚHÚL na základě žádosti vlastníka genetického zdroje zařadit genetický zdroj lesních dřevin do Národního programu. Seznam účastníků Národního programu vede ÚHÚL v modulu GENOFOND.

Žádost o zařazení genetického zdroje lesních dřevin do Národního programu musí být doručeny ÚHÚL nejpozději do 31. prosince každého kalendářního roku. Žadatel může být nově zařazen jako účastník Národního programu vždy od 1. ledna následujícího roku. Výjimkou jsou žádosti o zařazení do Národního programu v roce 2015, které musí být doručeny ÚHÚL nejpozději do 31. března 2015.

Jestliže byla provedena změna Národního programu, může ÚHÚL podle § 2e odst. 1 zákona č. 149/2003 Sb. změnit zařazení genetického zdroje lesních dřevin, kterého se schválená změna týká, do Národního programu. ÚHÚL zruší zařazení genetického zdroje lesních dřevin do Národního programu, jestliže genetický zdroj lesních dřevin, který byl zařazen do Národního programu, již nesplňuje podmínky, pro které byl do Národního programu zařazen, nebo byl zničen nebo poškozen v takovém rozsahu, že již nemůže plnit svůj účel, nebo došlo k porušení povinností účastníkem Národního programu, anebo o to účastník Národního programu písemně požádá.

Ministerstvo podle § 29 odst. 2 písm. d) zákona č. 149/2003 Sb. dále pověřuje **určenou osobu**, a to Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, v. v. i., Strnady 136, 252 02 Jíloviště (dále jen „VÚLHM“), zajištěním ochrany a reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin v podmírkách *ex situ* v Národní bance osiva a explantátu lesních dřevin (dále jen „banka osiva a explantát“), a to uložením vzorků genetických zdrojů lesních dřevin v bance osiva a explan-

tátů, kterou VÚLHM zřídí a bude provozovat. VÚLHM je též účastníkem Národního programu (§ 2d odst. 4 zákona č. 149/2003 Sb.).

VÚLHM je povinen hodnotit a inventarizovat vzorky genetických zdrojů lesních dřevin uložené v bance osiva a explantátů a do 15. ledna každého kalendářního roku předat ÚHÚL výsledky hodnocení podle stavu k 31. prosinci předchozího kalendářního roku.

VÚLHM připravuje ve spolupráci s ÚHÚL metodiku – Koncepci Národní banky osiva a explantátů lesních dřevin (dále jen „koncept“), která je součástí Národního programu (příloha č. 2).

## VI. OCHRANA A REPRODUKCE GENETICKÝCH ZDROJŮ LESNÍCH DŘEVIN

Genetické zdroje lesních dřevin lze chránit a reprodukovat buď v podmínkách *in situ*, tedy v místě jejich původního výskytu (např. genové základny, uznané porosty fenotypových tříd A a B, rodiče rodiny, ortety), nebo v podmínkách *ex situ*, tedy mimo místo jejich původního výskytu (např. semenné sady, směsi klonů, banka osiva a explantátů).

K jednomu ze základních opatření k zachování a reprodukci genofondu lesních dřevin na populační úrovni v podmínkách *in situ* patří podpora existence genových základen a jejich řádného obhospodařování. Tato podpora velmi významně přispívá k zachování genetické rozmanitosti hodnotných dílčích populací lesních dřevin rostoucích na území České republiky. Za genovou základnu lze podle § 2i odst. 1 zákona č. 149/2003 Sb. vyhlásit soubor lesních porostů s významným podílem cenných regionálních populací lesních dřevin o rozloze, jež postačuje k udržení biologické různorodosti populace, která je při vhodném způsobu hospodaření schopna vlastní reprodukce.

Dalším významným opatřením k ochraně genetických zdrojů lesních dřevin je podpora existence **uznaných zdrojů selektovaného reprodukčního materiálu** (§ 14 zákona č. 149/2003 Sb.), a to jednak porostů fenotypové třídy A u všech lesních dřevin, tedy porostů hospodářsky vysoce hodnotných, které jsou charakterizovány zpravidla autochtonností a vynikají množstvím nebo kvalitou produkce, morfologickými znaky, odolností, případně jinými cennými vlastnostmi a dále porostů fenotypové třídy B u všech lesních dřevin s výjimkou smrku ztepilého, borovice lesní a modřínu opadavého, tedy porostů dřevin s nadprůměrnými morfologickými znaky a objemovou produkcí a dobrým zdravotním stavem. Podpora existence těchto uznaných zdrojů zahrnuje ochranu konkrétních cenných populací lesních dřevin, zároveň však vytváří i předpoklady pro využívání a reprodukci populací lesních dřevin s vyšší genetickou hodnotou v rámci lesního hospodářství České republiky.

Značný význam má i podpora **uznaných zdrojů kvalifikovaného reprodukčního materiálu** (§ 15 zákona č. 149/2003 Sb.). Jedná se o podporu uznávání a obhospodařování rodičů rodiny, ortetů a klonů, tedy jedinců cenných regionálních populací lesních dřevin, jedinců hospodářsky významných a jedinců ohrožených populací, za účelem zachování genofondu těchto jedinců a vytvoření předpokladů pro možnost jejich reprodukce a budoucího využití, za účelem naplnění banky osiva a explantátů, zakládání semenných sadů, směsi klonů a sbírek klonů. Dále se jedná o podporu semenných sadů a směsi klonů, jejímž účelem je zejména vytvořit předpoklady pro využívání a reprodukci potomstev lesních dřevin s vysokou genetickou hodnotou v rámci lesního hospodářství České republiky.

**Zdroje testovaného reprodukčního materiálu** (§ 16 zákona č. 149/2003 Sb.) jsou v současné době uznány pouze pro nepůvodní druhy topolů. Pokud budou v budoucnu v této kvalitativně nejvyšší kategorii reprodukčního materiálu uznány zdroje lesních dřevin, bude otevřena i možnost podpory těchto zdrojů.

Vedle ochrany a reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin v podmínkách *in situ*, která je prioritou a využívá se všude tam, kde jsou předpoklady uchování genetických zdrojů v místě původního výskytu, je nezbytné chránit genetické zdroje též v podmínkách *ex situ*. Dochází tím k zálohování části genofondu pro případy, kdy hrozí např. zničení genetického zdroje v podmínkách *in situ* působením abiotických či biotických činitelů včetně antropogenní činnosti. Konzervace *ex situ* probíhá buď v terénních podmínkách (např. uznané porosty fenotypových tříd A a B, semenné sady, směsi klonů) nebo v kontrolovaných podmínkách v genových bankách. V rámci Národního programu bude zřízena **banka osiva a explantátů** jako trvalé účelové zařízení provozované VÚLHM, které bude dlouhodobě uchovávat vzorky osiva a explantátů ve specifických podmínkách za účelem vytvoření předpokladů pro reprodukci a budoucí využití genofondu hodnotných a ohrožených populací lesních dřevin v rámci lesního hospodářství České republiky.

## VII. SHROMAŽĐOVÁNÍ, HODNOCENÍ A EVIDENCE GENETICKÝCH ZDROJŮ LESNÍCH DŘEVIN

Genetickým zdrojem lesních dřevin se rozumí buď reprodukční materiál lesních dřevin, nebo zdroj reprodukčního materiálu lesních dřevin, anebo genová základna [§ 2 písm. t) zákona č. 149/2003 Sb.].

Shromažďováním genetických zdrojů se rozumí jejich vyhledávání, uznávání a uchovávání pro účely jejich ochrany a reprodukce *in situ* nebo *ex situ* s cílem vytvořit základní předpoklady jejich další existence a využívání.

Při hodnocení genetických zdrojů se vychází z poznatků o jejich morfologické a fyziologické variabilitě, adaptabilitě a genetické variabilitě. Způsob a rozsah hodnocení genetických zdrojů lesních dřevin v bance osiva a explantátů, které provádí VÚLHM, stanovuje vyhláška č. 132/2014 Sb.

Seznam genetických zdrojů lesních dřevin zařazených do Národního programu je uveden v modulu GENOFOND. VÚLHM i ostatní účastníci Národního programu jsou povinni vést průběžně dokumentaci o genetických zdrojích lesních dřevin zařazených do Národního programu tak, aby byla vyloučena jejich záměna s jinými genetickými zdroji. Dokumentace musí být chráněna před zneužitím, poškozením, zničením, neoprávněnou změnou, ztrátou nebo odcizením. Obsah a pravidla vedení dokumentace o genetických zdrojích lesních dřevin stanoví vyhláška č. 132/2014 Sb.

## VIII. POSKYTOVÁNÍ VZORKŮ GENETICKÝCH ZDROJŮ LESNÍCH DŘEVIN

Poskytování vzorků genetických zdrojů lesních dřevin podle § 2h odst. 2 zákona č. 149/2003 Sb. probíhá za účelem šlechtění, výzkumu a vzdělávání, v rámci naplnění mezinárodních smluv týkajících se genetických zdrojů, jimiž je Česká republika vázána, včetně poskytování vzorků na základě dodržení principu vzájemného poskytování stejných nebo obdobných výhod, anebo pro účely přímé reprodukce ohrožených genetických zdrojů na základě předloženého projektu zajištění návratu reprodukčního materiálu populací lesních dřevin do míst jejich původního výskytu nebo na jiná vhodná stanoviště, schváleného ÚHÚL, nikoliv však pro přímé komerční využití.

Podle § 2h zákona č. 149/2003 Sb. poskytnou účastníci Národního programu včetně VÚLHM vzorky genetických zdrojů lesních dřevin, jestliže mají dostatečnou zásobu vzorků genetických zdrojů a poskytnutím vzorku genetického zdroje nedojde k ohrožení nebo poškození genetického zdroje, které by mohlo mít za následek jeho fyzický zánik, nebo vyžadují-li to okolnosti, pro které byl genetický zdroj lesních dřevin zařazen do Národního programu.

Pravidla pro poskytování vzorků genetických zdrojů lesních dřevin a velikost těchto vzorků stanoví vyhláška č. 132/2014 Sb.

## IX. MEZINÁRODNÍ SPOLUPRÁCE

V návaznosti na globální charakter problematiky ochrany, uchování a využívání genetických zdrojů lesních dřevin má mezinárodní spolupráce a koordinace souvisejících aktivit pro Českou republiku mimořádný a nezastupitelný význam.

Česká republika převzala mezinárodní závazky v oblasti ochrany a reprodukce genetických zdrojů lesních dřevin na svém území, zejména závazky vyplývající z Úmluvy o biologické rozmanitosti a ze závěrů ministerských konferencí Forest Europe. Za účelem koordinace plnění závazků vyplývajících z ministerských konferencí Forest Europe byl, v souladu se Štrasburskou rezolucí S2 orientovanou na problematiku zachování genetických zdrojů lesních dřevin, v roce 1993 založen program EUFORGEN (European Forest Genetic Resources Programme). Do programu je zapojeno více než 30 evropských zemí. ČR je jedním ze zakladajících členů tohoto programu, který je v současné době koordinován organizací Bioversity International se sídlem v Římě. Rídící výbor programu (Steering Committee) je složen z národních koordinátorů jednotlivých členských zemí. K hlavním aktivitám programu EUFORGEN patří pravidelná výměna informací, zpracovávání technických směrnic, zpracovávání společných postupů pro popis existujícího stavu a tvorbu databází, příprava návrhů na společné projekty, zpracovávání přehledu odborné literatury v národních jazycích, realizace činností zaměřených na zvyšování informovanosti veřejnosti a zobecňování národních strategií jednotlivých zemí na celoevropskou úroveň.

V průběhu 9. zasedání rídícího výboru programu EUFORGEN v prosinci 2013 byly projednány zásady nového dokumentu FAO (Global Plan of Action for Forest Genetic Resources – GPA-FGR), který byl přijat na konferenci FAO v červnu 2013. Při jednání bylo konstatováno, že jak předcházející, tak i současné aktivity programu EUFORGEN jsou s tematickým zaměřením tohoto dokumentu v souladu. V rámci jednání bylo přijato rozhodnutí, že program EUFORGEN by měl svou další činností přispívat k naplnění cílů uvedeného dokumentu a pokračovat v tomto smyslu v dosavadní spolupráci s FAO.

V rámci aktivit mezinárodního programu EUFORGEN byl také realizován projekt na vytvoření evropského informačního systému lesních genetických zdrojů (EUFGIS) na základě nařízení Rady (ES) č. 870/2004, kterým se zřizu-

je program Společenství pro zachování, popis, sběr a využití genetických zdrojů v zemědělství, a kterým se zrušuje nařízení (ES) č. 1467/94. Tento projekt byl zaměřen na zpracování minimálních požadavků pro ochranu genetických zdrojů lesních dřevin, na přípravu společných informačních standardů na panevropské úrovni a na vytvoření trvalého informačního systému o genetických zdrojích lesních dřevin. V rámci projektu EUFGIS byla vytvořena pracovní verze mezinárodní databáze genetických zdrojů lesních dřevin.

Dalším projektem, do kterého je Česká republika zapojena v rámci programu EUFORGEN, je projekt FORGER (doba řešení 2012–2015), který navazuje na projekt EUFGIS s dílčím cílem rozšířit a průběžně aktualizovat vzniklou mezinárodní databázi genetických zdrojů lesních dřevin. Česká republika je v projektu FORGER zapojena prostřednictvím svého zástupce v externím poradenském výboru (External Advisory Board – EAB).

Realizaci opatření zaměřených na problematiku ochrany, uchování a využívání genetických zdrojů lesních dřevin se rovněž věnují některé pracovní skupiny IUFRO (Mezinárodní svaz lesnických výzkumných organizací), ve kterých je Česká republika jako jeden z členských států této organizace dlouhodobě aktivně zapojena.

## X. FINANCOVÁNÍ NÁRODNÍHO PROGRAMU

Finanční prostředky na ochranu a reprodukci genetických zdrojů lesních dřevin v rámci Národního programu jsou jednotlivým účastníkům Národního programu poskytovány v souladu s § 2j zákona č. 149/2003 Sb. ze státního rozpočtu prostřednictvím kapitoly ministerstva formou dotací<sup>3</sup>; na poskytování dotací není právní nárok.

Alternativně mohou být finanční prostředky na ochranu a reprodukci genetických zdrojů lesních dřevin poskytnuty prostřednictvím Programu rozvoje venkova České republiky na období 2014–2020.

Podmínky pro poskytování a čerpání finančních podpor na udržování a využívání genetických zdrojů lesních dřevin jsou pro jednotlivé účastníky Národního programu stanoveny v „Zásadách“, které pro tento účel vydává ministerstvo.

## XI. PŘÍLOHY

Příloha 1: Mezinárodní závazky a právní předpisy týkající se genetických zdrojů lesních dřevin.

Příloha 2: Koncepce Národní banky osiva a explantátů lesních dřevin.

### Příloha č. 1: Mezinárodní závazky a právní předpisy týkající se genetických zdrojů lesních dřevin

#### 1.1. Mezinárodní závazky a právní předpisy týkající se genetických zdrojů lesních dřevin

- Úmluva o biologické rozmanitosti (Sdělení Ministerstva zahraničních věcí č. 134/1999 Sb.)
- Rozhodnutí Rady 93/626/EHS o uzavření úmluvy o biologické rozmanitosti
- Směrnice Rady 1999/105/ES o uvádění reprodukčního materiálu lesních dřevin na trh
- Nařízení Rady (ES) č. 870/2004 kterým se zřizuje program Společenství pro zachování, popis, sběr a využití genetických zdrojů v zemědělství, a kterým se zrušuje nařízení (ES) č. 1467/94
- Rezoluce S2 – Zachování lesních genetických zdrojů (ministerská konference Štrasburk 1990)
- Rezoluce H1 – Obecné zásady trvale udržitelného hospodaření v lesích Evropy (ministerská konference Helsinki 1993)
- Rezoluce H2 – Obecné zásady ochrany a trvale udržitelného zachování biodiverzity evropských lesů (ministerská konference Helsinki 1993)
- Rezoluce L2 – Celoevropská kritéria a ukazatele směrnic na provozní úrovni pro trvale udržitelné hospodaření v lesích (ministerská konference Lisabon 1998)

#### 1.2. Národní právní předpisy a související dokumenty týkající se genetických zdrojů lesních dřevin v České republice

- Zákon č. 289/1995 Sb., o lesích a o změně a doplnění některých zákonů (lesní zákon), ve znění pozdějších předpisů
- Vyhláška č. 139/2004 Sb., kterou se stanoví podrobnosti o přenosu semen a sazenic lesních dřevin, o evidenci o původu reprodukčního materiálu a podrobnosti o obnově lesních porostů a o zalesňování pozemků prohlášených za pozemky určené k plnění funkcí lesa

<sup>3</sup> § 14 zákona č. 218/2000 Sb., rozpočtová pravidla, ve znění pozdějších předpisů.

- Zákon č. 149/2003 Sb., o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin), ve znění pozdějších předpisů
- Vyhláška č. 29/2004 Sb., kterou se provádí zákon č. 149/2003 Sb., o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin, ve znění pozdějších předpisů
- Vyhláška č. 393/2013 Sb., o seznamech druhů lesních dřevin
- Zákon č. 78/2004 Sb., o nakládání s geneticky modifikovanými organismy a genetickými produkty, ve znění pozdějších předpisů
- Státní politika životního prostředí České republiky 2012 – 2020 (přijata usnesením vlády České republiky č. 6 ze dne 9. ledna 2013)
- Strategie ochrany biologické rozmanitosti České republiky (přijata usnesením vlády České republiky č. 620 ze dne 25. května 2005)
- Oblastní plány rozvoje lesů
- Vyhláška č. 132/2014 Sb., o ochraně a reprodukci genofondu lesních dřevin

#### **Příloha č. 2: Koncepce Národní banky osiva a explantátů lesních dřevin**

Národní banka osiva a explantátů lesních dřevin zahrnuje dvě samostatná účelová zařízení provozovaná VÚLHM – Národní banku osiva lesních dřevin a Národní banku explantátů lesních dřevin. Každá banka má svůj statut a vlastní metodiku.

#### **2A Národní banka osiva lesních dřevin**

##### **I. Statut Národní banky osiva lesních dřevin**

Čl. 1

*Základní ustanovení*

Národní bankou osiva lesních dřevin (dále jen „banka osiva“) je trvalé účelové zařízení, provozované VÚLHM, dlouhodobě uchovávající osivo lesních dřevin ve specifických podmínkách s cílem zachovat tyto zdroje v podmínkách ex situ v co nejširší genetické variabilitě pro jejich budoucí reprodukci. Osivem lesních dřevin se rozumí semena nebo plody lesních dřevin technicky způsobilé k výsevu.

Čl. 2

*Charakteristika uchovávaného osiva*

1. V bance osiva se uchovávají zejména oddíly osiva těch lesních dřevin, které lze dlouhodobě skladovat.
2. Reprodukční materiál uchovávaný v bance osiva musí splňovat podmínky stanovené příslušnými právními předpisy.<sup>4, 5, 6, 7</sup>

Čl. 3

*Účel využití uchovávaného osiva*

1. Osivo lesních dřevin uchovávané v bance osiva je určeno pro:
  - a) udržení biodiverzity lesních ekosystémů,
  - b) zachování genofondu populací lesních dřevin v co nejširší genetické variabilitě, odrážející pestrost přírodních podmínek České republiky,
  - c) zajištění možnosti reprodukce genofondu populací lesních dřevin, tedy návratu do míst jejich původního výskytu nebo na jiná vhodná stanoviště, na základě předložených projektů schválených ÚHÚL (§ 4 odst. 2 písm. d) vyhlášky č. 132/2014 Sb.,

<sup>4</sup> Zákon č. 149/2003 Sb., o uvádění do oběhu reprodukčního materiálu lesních dřevin lesnický významných druhů a umělých kříženců, určeného k obnově lesa a k zalesňování, a o změně některých souvisejících zákonů (zákon o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin), ve znění pozdějších předpisů.

<sup>5</sup> Vyhláška č. 29/2004 Sb., kterou se provádí zákon č. 149/2003 Sb., o obchodu s reprodukčním materiálem lesních dřevin, ve znění pozdějších předpisů.

<sup>6</sup> Vyhláška č. 393/2013 Sb., o seznamech druhů lesních dřevin.

<sup>7</sup> Vyhláška č. 132/2014 Sb., o ochraně a reprodukci genofondu lesních dřevin.

- d) šlechtitelské účely, potřeby lesnického výzkumu a vzdělávání,
  - e) účely naplnění mezinárodních smluv týkajících se genetických zdrojů, jimiž je Česká republika vázána, včetně poskytování vzorků na základě dodržení principu vzájemného poskytování stejných nebo obdobných výhod.
2. Využití uchovávaného osiva lesních dřevin koordinuje ÚHÚL podle § 30 odst. 2 písm. a) zákona č. 149/2003 Sb.

#### Čl. 4

##### *Organizační a technické zabezpečení banky osiva*

1. Banka osiva je umístěna na vyhrazeném a označeném místě, je příslušně technologicky vybavena a zabezpečena.
2. Banka osiva a uchovávané oddíly osiva jsou majetkem VÚLHM.
3. Finanční prostředky na provoz banky osiva jsou pro účely stanovené zákonem č. 149/2003 Sb. poskytovány VÚLHM ze státního rozpočtu prostřednictvím kapitoly ministerstva.
4. VÚLHM:
  - a) koordinuje a zajišťuje získávání oddílů osiva do banky osiva, vede řádně jejich evidenci a garantuje jejich identitu,
  - b) zajišťuje uchovávání oddílů osiva ve vhodných podmínkách tak, aby nedošlo k jejich poškození nebo zničení,
  - c) provádí jednou ročně hodnocení a inventarizaci vzorků genetických zdrojů v souladu s příslušnými právními předpisy,<sup>4,7</sup>
  - d) vede průběžně dokumentaci o oddílech osiva uložených v bance osiva v souladu s příslušnými právními předpisy,<sup>4,7</sup>
  - e) poskytuje vzorky genetických zdrojů v souladu s příslušnými právními předpisy,<sup>4,7</sup>
  - f) zajišťuje v případě zjištění nebezpečí znehodnocení genetických zdrojů lesních dřevin nezbytná opatření k jejich záchraně podle § 2b odst. 2 písm. d) zákona č. 149/2003 Sb.,
  - g) oznamuje při ohrožení genetického zdroje lesních dřevin tuto skutečnost ÚHÚL podle § 2b odst. 3 zákona č. 149/2003 Sb.

## **II. Metodika Národní banky osiva lesních dřevin**

V bance osiva se dlouhodobě uchovávají pouze semena, která si ve specifických podmínkách skladování uchovávají dlouhodobě životnost a klíčivost. V případě smrku, borovice, modřínu, olše a břízy je předpokládaná doba skladování 30 let.

### **MATERIÁL**

V bance osiva se skladují oddíly osiva domácích druhů lesních dřevin původem z území České republiky se zaměřením na ohrožené a hospodářsky hodnotné populace, popř. populace významné z hlediska biodiverzity lesa:

- v případě hlavních dřevin se oddíly osiva získávají zejména z uznaných porostů fenotypové třídy A (včetně porostů, které se nacházejí v genových základnách),
- v případě vtroušených dřevin se oddíly osiva získávají zejména z uznaných porostů fenotypové třídy A a z rodičů rodiny (včetně porostů a stromů, které se nacházejí v genových základnách),
- v případě ohrožených a mizejících dřevin (jednotlivý výskyt dřeviny) se oddíly osiva získávají zejména z rodičů rodiny; sběry lze rovněž realizovat ze semenných sadů (v případech, kdy se jedná o semenné sady založené za účelem reprodukce regionální populace dané dřeviny).

### **STRUKTURA ZÁSOB ULOŽENÝCH ODDÍLŮ OSIVA**

Každý oddíl osiva skladovaný v bance osiva se skládá z následujících částí:

**Základní zásoba** – obsahuje takové množství semen, ze kterého je možno vypěstovat dostatečné množství sadebního materiálu pro potřeby reprodukce dané populace dřeviny. V případě hlavních dřevin je množství semen pro základní zásobu kalkulováno tak, aby z něj bylo možno v budoucnu obnovit danou populaci na ploše 10 ha.

V případě dřevin ostatních je množství semen pro základní zásobu kalkulováno tak, aby z něj bylo možno v budoucnu obnovit danou populaci na ploše 5 ha.

Základní zásoba slouží k budoucí reprodukci daného genetického zdroje – návratu do míst jeho původního výskytu nebo na jiná vhodná stanoviště.

**Kontrolní vzorky** – jsou určeny pro sledování kvality osiva během skladování; není nutno technicky zasahovat do uskladněné základní zásoby. Počet kontrolních vzorků se vypočítá z předpokládané doby skladování a předpokládaného počtu rozborů při tříleté periodě sledování kvality osiva.

**Zásoba osiva určená pro poskytování vzorků** – slouží k poskytování vzorků podle vyhlášky č. 132/2014 Sb., zejména pro účely šlechtění, výzkumu, vzdělávání a pro zahraniční výměnu.

## **ZÍSKÁVÁNÍ ODDÍLŮ OSIVA**

Sběr osiva do banky osiva zajišťuje a koordinuje VÚLHM. Při plánování a realizaci sběrů musí být dodržena příslušná ustanovení zákona č. 149/2003 Sb. Sběr se provádí pouze v roce s plnou nebo střední úrodou.

V případě sběrů z porostu se sběr provádí z minimálně 50 stromů reprezentujících rovnoměrně daný porost; z hlediska genetické variability je žádoucí sběr provádět z vyššího počtu stromů. Vhodné stromy se předem v porostu vtipují. V případě ohrožených populací lze připustit i sběr z menšího počtu stromů, minimálně však z 30 jedinců.

V případě sběrů z jednotlivých stromů (rodičů rodiny) se sběr i následné zpracování provádí jednotlivě pro každý strom.

Termín sběru je určen podle výsledku hodnocení zralosti zkušebního vzorku ve zkušební laboratoři.

## **ZPRACOVÁNÍ**

Posklizňové dozrávání, sušení, luštění, odkřídlení a vyčistění semen probíhá v řízených podmírkách šetrnými technologiemi v závislosti na jednotlivých druzích dřevin. Podmínky prostředí (teplota, vzdušná vlhkost) musí být během zpracování monitorovány.

Podrobnosti o zpracování osiva podle jednotlivých dřevin jsou uvedeny v Metodickém pokynu banky osiva.

## **SLEDOVÁNÍ KVALITY OSIVA**

Kvalita osiva se zjišťuje v akreditované laboratoři určené osoby, hodnocení se provádí podle ČSN 48 12 11 Lesní semenářství – sběr, jakost a zkoušky jakosti plodů a semen lesních dřevin (dále jen „ČSN 48 12 11“).

Před uskladněním oddílu osiva (a jeho rozdelení na základní zásobu a ostatní vzorky) se provede zjištění vstupní kvality osiva. Zjišťuje se čistota, absolutní hmotnost, energie klíčení, klíčivost nebo životnost a obsah vody. S výjimkou ohrožených a cenných jedinců se do banky ukládá osivo s dostatečnou kvalitou (třída kvality I dle přílohy F ČSN 48 12 11).

V průběhu skladování se provádí periodické hodnocení kvality osiva (klíčivost, popř. obsah vody) v intervalu 3 roky. Pro tento účel slouží kontrolní vzorky (pro sledování kvality osiva během skladování).

## **SKLADOVÁNÍ**

Po zjištění vstupní kvality osiva se oddíl osiva rozdělí na základní zásobu, vzorky pro kontrolu kvality skladovaného osiva a část oddílu osiva určená pro poskytování vzorků. Jednotlivé dílčí části oddílu jsou baleny samostatně, aby bylo možno s nimi manipulovat bez otevřání skladovacích obalů (např. při vyjmutí jednotlivého dílčího vzorku).

Osivo se skladuje v podmínkách, které v závislosti na vlastnostech jednotlivých dřevin umožňují co nejdelší uchování klíčivosti. Podmínky skladování (teplota, neprodyšnost obalů apod.) musí být monitorovány a evidovány.

Podrobnosti o skladování osiva jednotlivých dřevin včetně technického provedení obalů jsou uvedeny v Metodickém pokynu banky osiva.

## **EVIDENCE**

Každé balení jednotlivých částí oddílů osiva (základní zásoba, vzorky pro kontrolu kvality, část oddílu určená pro zjišťování kvality) musí být označeno tak, aby jeho jednoznačná identifikace byla možná kdykoliv v průběhu skladování.

Evidence skladovaného oddílu osiva obsahuje identifikační údaje o zdroji, sběru, informace o zpracování (luštění), kvalitě a skladování. U každého oddílu je také evidována jeho lokalizace v bance. Jakákoli změna týkající se umístění, kvality a vyskladnění musí být evidována.

Evidence je vedena v digitální i analogové podobě. V případě vyřazení genetického zdroje z Národní banky osiva a explantátů budou veškeré analogové dokumenty archivovány po dobu 10 let.

## **METODICKÉ POSTUPY V BANCE OSIVA**

VÚLHM vydá Metodické pokyny banky osiva, které budou podrobněji rozvádět technické a věcné podrobnosti o postupech a materiálech, sběru, zpracování, zjišťování kvality, skladování, evidenci a použití osiva jednotlivých dřevin.

**I. Statut Národní banky explantátů lesních dřevin**

**Čl. 1  
Základní ustanovení**

Národní bankou explantátů lesních dřevin (dále jen „banka explantátů“) je trvalé účelové zařízení, provozované VÚLHM, dlouhodobě uchovávající explantáty lesních dřevin ve specifických podmínkách, ve kterém je reprodukce genetických zdrojů zajišťována mikropropagačními postupy, s cílem zachovat tyto zdroje v podmínkách *ex situ* v co nejširší genetické variabilitě pro jejich budoucí reprodukci.

**Čl. 2  
Charakteristika uchovávaných explantátů**

1. Explantáty se odvozují od vybraných ortetů a klonů vykazujících vhodnou genetickou skladbu pro zachování a reprodukci genetických zdrojů lesních dřevin a pro výzkumné a šlechtitelské účely.
2. Reprodukční materiál uchovávaný v bance explantátů musí splňovat podmínky stanovené příslušnými právními předpisy.<sup>4,5,6,7</sup>
3. V bance explantátů se uchovávají zejména oddíly populací a jedinců těch druhů dřevin, jejichž generativní reprodukce je omezená, nebo se jedná o uchování zvláště cenných či ohrožených (např. endemických, reliktních), případně dalších významných genotypů lesních dřevin.

**Čl. 3  
Účel využití uchovávaných explantátů**

1. Explantáty lesních dřevin jsou určeny pro:
  - a) udržení biodiverzity lesních ekosystémů,
  - b) šlechtitelské účely, potřeby lesnického výzkumu a vzdělávání,
  - c) účely naplnění mezinárodních smluv týkajících se genetických zdrojů, jimiž je Česká republika vázána, včetně poskytování vzorků na základě dodržení principu vzájemného poskytování stejných nebo obdobných výhod,
  - d) namnožení za účelem realizace projektů na zajištění návratu reprodukčního materiálu populací lesních dřevin do míst jejich původního výskytu nebo na jiná vhodná stanoviště schválených ÚHÚL (§ 4 odst. 2 písm. d) vyhlášky č. 132/2014 Sb.)
2. Využití uchovávaných explantátů lesních dřevin koordinuje ÚHÚL podle § 30 odst. 2 písm. a) zákona č. 149/2003 Sb.

**Čl. 4  
Organizační a technické zabezpečení banky explantátů**

1. Banka explantátů je umístěna na vyhrazeném a označeném místě, je příslušně technologicky vybavena a zabezpečena.
2. Banka explantátů a uchovávané explantáty jsou majetkem VÚLHM.
3. Finanční prostředky na provoz banky explantátů jsou pro účely stanovené zákonem č. 149/2003 Sb. poskytovány VÚLHM ze státního rozpočtu prostřednictvím kapitoly ministerstva.
4. VÚLHM:
  - a) koordinuje a zajišťuje získávání vzorků genetických zdrojů do banky explantátů, zařazuje vzorky genetických zdrojů do banky explantátů, vede řádně jejich evidenci a garantuje jejich identitu,
  - b) zajišťuje uchovávání oddílů explantátů ve vhodných podmínkách tak, aby nedošlo k jejich poškození nebo zničení,
  - c) provádí jednou ročně hodnocení a inventarizaci vzorků genetických zdrojů v souladu s příslušnými právními předpisy,<sup>4,7</sup>
  - d) vede průběžně dokumentaci o oddílech explantátů uložených v bance explantátů v souladu s příslušnými právními předpisy,<sup>4,7</sup>
  - e) poskytuje vzorky genetických zdrojů v souladu s příslušnými právními předpisy,<sup>4,7</sup>
  - f) zajišťuje v případě zjištění nebezpečí znehodnocení genetických zdrojů lesních dřevin nezbytná opatření k jejich záchráně podle § 2b odst. 2 písm. d) zákona č. 149/2003 Sb.,
  - g) oznamuje při ohrožení genetického zdroje lesních dřevin tuto skutečnost ÚHÚL podle § 2b odst. 3 zákona č. 149/2003 Sb.

## **II. Metodika Národní banky explantátů lesních dřevin**

Banka explantátů uchovává a reprodukuje genetické zdroje lesních dřevin mikropropačními postupy standardizovanými podle růstových požadavků specifických pro jednotlivé druhy.

### **MATERIÁL**

Banka explantátů uchovává klony lesních dřevin v podmínkách *in vitro*.

Uchovávané explantáty jsou odvozeny:

- od zvláště cenných či ohrožených, případně dalších významných populací a jedinců, nebo
- od populací a jedinců s omezenou generativní reprodukcí.

Od každého druhu nebo populace lesní dřeviny je uchováváno minimálně:

- 30 klonů, jedná-li se o vtroušené dřeviny,
- v případě zvláště cenných či ohrožených (např. endemických, reliktních), případně jinak významných dřevin, pokud je počet jedinců na stanovišti nižší než 30, co největší možný počet klonů, nebo
- 30–100 klonů v ostatních případech.

### **STRUKTURA ZÁSOB ULOŽENÝCH ODDÍLŮ EXPLANTÁTŮ**

Každý oddíl explantátů skladován v bance explantátů se skládá z následujících částí:

**Základní část oddílu explantátů** – explantáty pěstované za snížené teploty a intenzity osvětlení (využití metod tzv. zpomaleného růstu explantátů) bez přesazování po dobu standardizovanou pro jednotlivé druhy dřevin (od 5 do 24 měsíců). Od jednoho klonu jsou dlouhodobě uchovávány minimálně 3 explantáty.

**Aktivní část oddílu explantátů** – explantáty pěstované za standardizovaných optimálních podmínek *in vitro* za účelem revitalizace a namnožení genetického zdroje pro účely náhrady základního oddílu nebo pro poskytování vzorků.

**Pracovní část oddílu explantátů** – explantáty pěstované za standardizovaných optimálních podmínek *in vitro* pro účely výzkumu a šlechtění a pro účely projektů, jimiž plně disponuje pouze jejich majitel (šlechtitel, řešitel projektu apod.).

**Bezpečnostní duplikát základní části oddílu** – explantáty pěstované za standardizovaných optimálních podmínek *in vitro* v prostorově oddělené klimatizované místnosti. Od jednoho klonu jsou uchovávány minimálně 3 explantáty.

**Kryokonzervované části oddílu explantátů** – vzácné genotypy dlouhodobě uchovávané metodou kryokonzervace u druhů dřevin, pro které budou na základě výsledků výzkumu získány vyhovující kryoprotokoly.

### **SBĚR**

Sběr pro indukci organogeneze provádí VÚLHM obvykle na začátku (březen až duben), či konci (říjen až listopad) vegetační doby. Z jednoho ortetu se odebírá cca 30 dormantních pupenů. Pro indukci somatické embryogeneze se sbírají nezralá semena nebo listy podle metodiky vypracované pro jednotlivé druhy. Z jednoho stromu se odebírá cca 30 nezralých semen nebo listů. Vzorky při odběru se ukládají odděleně v obalech zabraňujících vysychání. Každý obal se nezaměnitelně označí. Stromy jsou před sběrem označeny a jejich poloha je zaznamenána do porostní mapy.

### **ZPRACOVÁNÍ A UCHOVÁVÁNÍ ROSTLINNÉHO MATERIÁLU**

Odebraný rostlinný materiál je zpracováván standardními mikropropačními postupy (organogeneze nebo somatická embryogeneze) v kontrolovaných podmínkách podle vypracovaných standardizovaných, případně certifikovaných metodik pro jednotlivé druhy.

### **ORGANOGENEZE**

**Princip:** spočívá v indukci morfogenetických pochodů v kompetentních pletivech primárního explantátu.

**Odběr rostlinného materiálu:** meristematická pleva se odebírá z ortetů na konci a začátku dormance.

**Indukce organogeneze:** explantáty se pěstují v kontrolovaných, sterilních *in vitro* podmínkách na živných mediích obsahujících definované koncentrace fytohormonů vhodných pro indukci morfogenetických pochodů.

**Multiplikace:** po vytvoření nových prýtů se explantáty dělí a přesazují v pravidelných intervalech na sterilní čerstvá živná media k dosažení požadovaných počtů explantátů.

**Indukce rhizogeneze:** pro zakořenování se explantáty převádějí na sterilní živná media obsahující definované koncentrace fytohormonů, vhodných pro indukci růstu adventivních kořenů.

Dlouhodobé uchovávání explantátů: multiplikující se explantáty se kultivují za snížené teploty a intenzity osvětlení bez přesazování po dobu standardizovanou pro jednotlivé druhy dřevin (od 5 do 24 měsíců). Následná regenerace explantátů vyžaduje přesazení do kultivačních místností se standardními podmínkami pro multiplikaci explantátů. Po namnožení lze explantáty využít k dopěstování kompletních rostlin nebo mohou být opět uchovávány za snížené teploty a intenzity osvětlení.

Aklimatizace a výsadba na venkovní plochy: zakořeněné explantáty se převádějí do nesterilních substrátů a aklimatizují se v kontrolovaných kultivačních podmínkách. Po aklimatizaci se mikropropagované výpěstky vysazují do venkovních podmínek.

## SOMATICKÁ EMBRYOGENEZE

Princip: spočívá v indukci růstu a diferenciaci embryogenních pletiv z generativních orgánů (nucelus, synergidní buňky) i somatických orgánů (listy).

Odběr rostlinného materiálu: generativní i somatické orgány se odebírají z rodičovských stromů či ortetů v průběhu vegetační doby.

Indukce embryogenních procesů v rostlinném pletivu: explantáty se pěstují v kontrolovaných, sterilních podmínkách na živných mediích obsahujících definované koncentrace fytohormonů vhodných pro indukci embryogenních pletiv.

Indukce proliferace, diferenciace a maturace embryogenních pletiv: změnou kultivačních podmínek jsou navozeny proliferace, diferenciace a maturace somatických embryí.

Konverze somatického embrya v kompletní rostlinu: chladovou fází a desikací se indukuje konverze embryí, další růst kompletních rostlin již probíhá v nesterilních podmínkách.

Aklimatizace a výsadba na venkovní plochy: probíhá stejně jako v případě organogeneze.

## KRYOKONZERVACE (KRYOPREZERVACE)

Kryokonzervace vegetativně množených rostlin nebo částí semen je metoda pro jejich uchování v nízkých nebo ultra-nízkých teplotách navozením vitrificačního stavu, při kterém se ochlazováním netvoří krystaly ledu, které mají jinak za následek nevratné poškození rostlinných buněk.

Pro uchovávání jsou vhodná embryogenní pletiva, vypreparované vzrostné vrcholy s meristematickými buňkami, zygotická embryá nebo jejich části.

Metody kryokonzervace jsou postupně vyvíjeny a optimalizovány pro jednotlivé druhy dřevin. Kryoprotokol pro příslušný rostlinný druh je založen na metodách vyvolávajících vitrificační stav, který je výhodný pro dlouhodobé uchování genetické informace a současně zaručuje *in vitro* regeneraci metodou organogeneze nebo somatické embryogeneze.

## EVIDENCE

Každý explantát je označen tak, aby v průběhu uchovávání byla kdykoli možná jeho jednoznačná identifikace.

Označení explantátu zahrnuje identifikační údaje o zdroji, složení kultivačního media a stáří explantátu. Jakákoli změna týkající se počtu a kvality explantátů jednotlivých klonů musí být evidována.

Evidence je vedena v digitální i analogové podobě. V případě vyražení genetického zdroje z banky osiva a explantátů budou veškeré analogové dokumenty archivovány po dobu 10 let.

## METODICKÉ POSTUPY V BANCE EXPLANTÁTŮ

Metodické pokyny banky explantátů podrobnejí rozvádějí technické a věcné podrobnosti o postupech a materiálech, sběru, zpracování, zjišťování kvality, uchovávání evidencí a použití explantátů jednotlivých dřevin. Metodické pokyny pro jednotlivé dřeviny jsou obsaženy v příslušných standardizovaných, případně certifikovaných metodikách vypracovaných na pracovišti VÚLHM:

<i>Prunus avium</i>	<a href="http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/lp_2008_02.pdf">http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/lp_2008_02.pdf</a>
<i>Sorbus torminalis</i>	<a href="http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/lp_2009_04.pdf">http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/lp_2009_04.pdf</a>
<i>Ulmus spp.</i>	<a href="http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_4_10_pro_web.pdf">http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_4_10_pro_web.pdf</a>
<i>Picea abies</i>	<a href="http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_6_2010.pdf">http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_6_2010.pdf</a>
<i>Sorbus domestica</i>	<a href="http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_4_2011.pdf">http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_4_2011.pdf</a>

<i>Malus sylvestris</i>	<a href="http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_2_2012.pdf">http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_2_2012.pdf</a>
<i>Pyrus pyraster</i>	<a href="http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_2_2013.pdf">http://www.vulhm.cz/sites/File/vydavatelska_cinnost/lesnický_pruvodce/LP_2_2013.pdf</a>
<i>Populus spp.</i>	Čížek, V. a kol. Šlechtění rychlerostoucích dřevin. Závěrečná zpráva projektu QD0172. Praha: VÚLHM, 2002, 25 s.
<i>Quercus spp.</i>	Malá, J. a kol. Biotechnologické metody množení a šlechtění lesních dřevin. Závěrečná zpráva projektu 2312/96-3160. Praha:VÚLHM, 1998, 51 s.
<i>Tilia spp</i>	Malá, J. a kol. Biotechnologické metody množení a šlechtění lesních dřevin. Závěrečná zpráva projektu 2312/96-3160. Praha:VÚLHM, 1998, 51 s.
<i>Sorbus spp.</i>	Malá, J. a kol. Zachování a reprodukce genových zdrojů okrajových a ohrožených lesních dřevin s využitím moderních biotechnologických metod. Závěrečná zpráva projektu EP0960006111. Praha: VÚLHM, 2000, 19 s.

**Ing. Marian Jurečka, v. r.**  
ministr zemědělství

## STANOVENÍ ČISTÉ SVALOVÉ BÍLKOVINY V MASE A VÝROBCÍCH Z MASA

### 1. Předmět metody

Tato metoda udává stanovení čisté svalové bílkoviny v mase a masných výrobcích. Čistá svalová bílkovina je specifikována jako tzv. čistá bílkovina, tzn. bílkovina pocházející z masa bez nízkomolekulárních nebílkovinných dusíkatých látek po odečtení obsah kolagenu.

Poznámka: Některé vzorky mohou obsahovat i jiné zdroje bílkovin (než ty, které pocházejí z masa), např. sóju, kasein, krevní plazmu atd. Tyto nemasné bílkoviny uměle navyšují hodnotu čisté svalové bílkoviny. Pokud je možné tyto zdroje bílkovin identifikovat a kvantifikovat, je nutné čistou svalovou bílkovinu vypočtenou podle této metodiky korigovat, tzn. množství těchto bílkovin nepocházejících z masa odečít.

### 2. Podstata zkoušky

Obsah čistých svalových bílkovin je vypočítán jako rozdíl mezi obsahem čisté bílkoviny a obsahem kolagenu.

Čistá bílkovina je stanovena metodou podle Kjeldahla ve vzorku, ve kterém jsou předem vysráženy bílkoviny taninem.

Kolagen je stanoven dle postupu uvedeného v této metodice, tzn. na základě následujícího principu: Nejprve se provede kyselá hydrolyza. Uvolněný 4-hydroxyprolin v hydrolyzátu se poté oxiduje chloraminem B. Oxidovaný produkt se stanovuje spektrofotometricky při vlnové délce 558 nm po reakci s p-dimethylaminobenzaldehydem a po vynásobení zjištěného obsahu faktorem 8 se získá obsah kolagenu. Pro stanovení kolagenu je možné použít také alternativní postup, který poskytuje srovnatelné výsledky, např. postup dle AOAC *Official Methods of Analysis* 990.26.

### 3. Chemikálie

Pokud není specifikováno jinak, veškeré chemikálie se používají čistoty p.a., a pro přípravu roztoků se používá destilovaná voda nebo voda srovnatelné čistoty.

#### 3.1 Stanovení čisté bílkoviny (příprava vzorku srážením taninem)

- tanin
- kyselina sírová,  $\text{H}_2\text{SO}_4$

#### 3.2 Stanovení kolagenu

- kyselina sírová,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 30% roztok
- hydroxid sodný,  $\text{NaOH}$ , roztok 10 mol/l
- kyselina chloristá,  $\text{HClO}_4$ , roztok 3 mol/l
- kyselina octová,  $\text{CH}_3\text{COOH}$
- 1-propanol (propylalkohol)  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$
- 2-propanol (isopropylalkohol)  $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$
- kyselina citronová monohydrát,  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- octan sodný trihydrát,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- 4-dimethylaminobenzaldehyd  $(\text{CH}_3)_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CHO}$
- chloramin B
- chloroform nebo toluen
- citrát-acetátový pufr: 50 g monohydrátu kyseliny citronové, 12 ml koncentrované kyseliny octové, 120 g trihydrátu octanu sodného a 34 g hydroxidu sodného se smísí, rozpustí ve vodě a doplní do objemu 1000 ml. Výsledné pH pufru je 6. Pufr je vhodné konzervovat několika kapkami toluenu či chloroformu. Roztok se uchovává v tmavé lahví při 4 °C max. dva měsíce.
- oxidační činidlo: 1 g chloraminu B se rozpustí ve 20 ml vody a přidá se 50 ml citrát-acetátového pufru a 30 ml 1-propanolu. Činidlo se musí připravit vždy čerstvé v den analýzy.

- vybarvovací činidlo: 5 g 4-dimethylaminobenzaldehydu se rozpustí v 100ml isopropylalkoholu. Činidlo se musí připravit vždy čerstvé v den analýzy.

### 3.3 Referenční materiály a roztoky

- 4-hydroxyprolin (trans-4-hydroxy-L-prolin) – základní roztok o koncentraci 1000 mg/l (doporučuje se připravit 100 ml základního roztoku). Roztok se uchovává při 4 °C a je použitelný po dobu jednoho měsíce.
- Pro kalibraci se připraví ze základního roztoku pracovní roztok 4-hydroxyprolinu o koncentraci 50 mg/l. Napijetováním 2, 4, 6, 10 a 20 ml pracovního roztoku do 100 ml odměrných baněk a doplněním destilovanou vodou po značku se připraví kalibrační řada o koncentracích 1, 2, 3, 5 a 10 mg/l.

*Poznámka:* Pracovní roztok i kalibrační řada se připravují vždy čerstvé v den použití!

## 4. Přístroje a zařízení

Běžné laboratorní přístroje a vybavení především následující

- pH metr
- spektrofotometr
- vodní lázeň (60 °C)

## 5. Pracovní postup

Všechny činnosti musí být prováděny v souladu s obecně platnými předpisy pro bezpečnost a ochranu zdraví při práci.

### 5.1 Příprava laboratorního vzorku

Pokud je vzorek v obalu, kvantitativně se vyjme z obalu společně s tekutinou, rosolem, tukem či jakoukoliv jinou složkou, která se vydělila ze vzorku během skladování, a dokonale se zhomogenizuje. Nebalené vzorky se dokonale zhomogenizují.

Pokud jde o zmrazený materiál, ponechá se cca 2 hodiny v chladničce při teplotě 4 °C. Po vyjmutí z chladničky se vzorek zhomogenizuje.

V případě, že výrobek obsahuje povrchové dekorativní krytí (aspik a pod.), tyto části se před homogenizací odstraní; případně se postupuje podle konkrétní specifikace výrobku.

Skutečnost, že některé části výrobku byly před homogenizací odstraněny, je nutné uvést do protokolu o zkoušce.

### 5.2 Příprava vzorku pro stanovení čisté bílkoviny (srážení taninem)

Do kádinky se naváží cca 1,5 g s přesností 0,001 g zhomogenizovaného vzorku a přidá se 50 ml horkého roztoku taninu (10 g taninu se rozpustí v 500 ml destilované vody, přidá se 1 ml koncentrované kyseliny sírové a doplní destilovanou vodou do 1000 ml). Kádinka se asi na 5 minut umístí do ultrazvukové lázně a po dalších 30 minutách stání se suspenze zfiltruje přes červený filtr č. 392. Ve sraženině na filtru se stanoví bílkoviny metodou podle Kjeldahla. Vždy se provádí slepé stanovení.

### 5.3 Příprava vzorku pro stanovení kolagenu (hydrolýza)

Do 100 ml infuzní láhve se odváží asi 3 g zhomogenizovaného vzorku s přesností 0,001 g. Přidá se 30 ml 30% kyseliny sírové a přidají se varné keramické střepy. Láhev se uzavře zátkou a vloží do sušárny vyhřáté na 105 °C. Hydrolýza probíhá po dobu 14 hodin (nejlépe přes noc). Po vyjmutí ze sušárny a ochlazení se obsah lahve převede do 50 ml odměrné baňky ( $V_1$ ). Objem se po vytemperování doplní destilovanou vodou po značku, promíchá a zfiltruje. Alikvotní podíl 5 ml ( $V_2$ ) se převede do kádinky, přidá se asi 20 ml vody a použitím asi 3–5 ml 10 mol/l NaOH se upraví pH na hodnotu 5–8. Takto upravený roztok zneutralizovaného hydrolyzátu se kvantitativně převede do 50 ml odměrné baňky ( $V_3$ ). Objem se doplní destilovanou vodou po značku. Připravený vzorek se použije pro spektrofotometrické stanovení.

### 5.4 Vlastní stanovení

#### 5.4.1 Stanovení bílkovin

Obsah čistých bílkovin se stanoví ve vzorku připraveném dle 5.2 metodou podle ČSN ISO 1871 Potraviny a krmiva – Obecné pokyny pro stanovení dusíku metodou podle Kjeldahla. Pro přepočet obsahu dusíku na obsah bílkovin se použije faktor 6,25.

#### 5.4.2 Stanovení kolagenu

##### 5.4.2.1 Kalibrace

Do zkumavek se odměří po 1 ml roztoku z kalibrační řady a přidá se po 1 ml oxidačního činidla. Směs se promíchá a nechá stát 20 minut při laboratorní teplotě. Poté se přidá 1 ml 3mol/l  $\text{HClO}_4$  a po promíchání ještě 1 ml vybarvovacího činidla. Směs se opět promíchá a vloží do vodní lázně předem vyhřáté na 60 °C. Temperování probíhá po dobu 20 minut od dosažení této teploty (teploměr se vloží do kontrolní zkumavky se stejným objemem vody).

Slepý pokus zahrnuje stejný postup, avšak místo kalibračního roztoku se použije destilovaná voda.

Po vyjmutí z lázně a rychlém ochlazení pod tekoucí vodou a následném vytemperování na laboratorní teplotu se změří absorbance při vlnové délce 558 nm v 1cm kyvetě proti destilované vodě. Zbarvení je stálé po dobu 60 minut.

*Poznámka:* Hodnoty absorbancí kalibrace jsou použitelné pro výpočet korigovaných absorbancí a pro sestrojení grafu po dobu 1 měsíce. V případě odlišné hodnoty (od běžné hodnoty) absorbance slepého pokusu, je nutné provést novou kalibraci ihned.

##### 5.4.2.2 Měření vzorku

Do zkumavky se odměří 1 ml zneutralizovaného hydrolyzátu roztoku vzorku ( $V_4$ ) a přidá se 1 ml oxidačního činidla. Směs se promíchá a nechá stát 20 minut při laboratorní teplotě. Poté se přidá 1 ml 3mol/l  $\text{HClO}_4$  a po promíchání ještě 1 ml vybarvovacího činidla. Směs se opět promíchá a vloží do vodní lázně předem vyhřáté na 60 °C. Temperování probíhá po dobu 20 minut od dosažení této teploty (teploměr se vloží do kontrolní zkumavky se stejným objemem vody).

Po vyjmutí z lázně a rychlém ochlazení pod tekoucí vodou a následném vytemperování na laboratorní teplotu se změří absorbance při vlnové délce 558 nm v 1cm kyvetě proti destilované vodě. Zbarvení je stálé po dobu 60 minut. Je-li zjištěná koncentrace mimo kalibrační rozmezí, je nutné vzorek ( $V_3$ ) zředit a celý postup přípravy a měření zopakovat.

Slepý pokus se stanovuje stejným postupem jako vlastní vzorek. Místo 1 ml hydrolyzátu se použije 1 ml destilované vody.

#### 5.5 Výpočty

Korigované absorbance ( $A_K$ ) se získávají odečtením hodnoty absorbance slepého pokusu ( $A_S$ ) od naměřených hodnot absorbancí jednotlivých vzorků nebo kalibrační řady ( $A_{558}$ ).

$$A_K = A_{558} - A_S$$

##### 5.5.1 Kalibrační graf

Z korigovaných absorbancí kalibrační řady se vypočítají regresní koeficienty ( $a$ ,  $b$ ) kalibrační přímky (závislost absorbance při 558 nm ( $A_K$ ) na koncentraci 4-hydroxyprolinu v mg/l) a korelační koeficient. Hodnota korelačního koeficientu musí být  $\geq 0,99$ . V opačném případě je nutné kalibraci opakovat.

Z korigovaných absorbancí kalibrační řady se poté sestrojí kalibrační graf, který je použitelný po dobu 1 měsíce.

##### 5.5.2 Kvantitativní vyhodnocení

- a) Koncentrace 4-hydroxyprolinu ( $A$ ) v mg/l ve vzorku se vyhodnotí přímým porovnáním korigovaných hodnot absorbance vzorku ( $A_K$ ) s kalibračním grafem  
nebo se koncentrace 4-hydroxyprolinu ( $A$ ) v mg/l vypočítá dosazením zjištěné korigované absorbance do rovnice kalibrační přímky dle vzorce

$$A = (A_K - b)/a$$

kde

$A$  je obsah 4-hydroxyprolinu [mg/l]

$A_K$  je korigovaná absorbance

$a$  je parametr kalibrační přímky – směrnice přímky

$b$  je parametr kalibrační přímky – úsek na ose y

Za výsledek se považuje průměrná hodnota získaná ze dvou paralelních stanovení.

- b) Koncentrace 4-hydroxyprolinu ( $X$ ) v g/100g se vypočítá s ohledem na navážky vzorku podle vzorce:

$$X = \frac{A \cdot V_1 \cdot V_3}{n \cdot V_2 \cdot V_4 \cdot 10\ 000}$$

kde

$X$  je výsledná koncentrace 4-hydroxyprolinu [g/100g]

$A$  je obsah 4-hydroxyprolinu [mg/l]

$n$  je navážka vzorku [g]

$V_1$  je objem hydrolyzátu po doplnění v odměrné baňce [ml]

$V_2$  je objem pipetovaného hydrolyzátu [ml]

$V_3$  je objem roztoku s upraveným pH, po doplnění v odměrné baňce [ml]

$V_4$  je objem pipetovaného roztoku do zkumavky [ml]

10 000 je přepočet na g/100 g

Při dodržení všech uvedených ředění objemů a pipetování (tj.  $V_1 = 50$ ,  $V_2 = 5$ ,  $V_3 = 50$  a  $V_4 = 1$  ml) lze použít zkrácený vzorec:

$$X = \frac{A \cdot 0,05}{n}$$

Výsledek se zaokrouhuje na 2 desetinná místa.

c) Obsah kolagenu (K) v g/100 g

$$K = X \cdot 8$$

kde

$K$  je obsah kolagenu [g/100 g]

$X$  je koncentrace 4-hydroxyprolinu [g/100 g]

8 faktor přepočtu hydroxyprolinu na kolagen

*Poznámka:* Kolagenová pojivová tkáň obsahuje 12,5% hydroxyprolinu, za předpokladu, že se pro výpočet bílkovin použije hodnota faktoru 6,25.

Výsledek se zaokrouhuje na 2 desetinná místa.

d) Obsah čisté svalové bílkoviny (ČSB) v g/100 g

$$\text{ČSB} = B - K$$

kde

$\text{ČSB}$  je obsah čisté svalové bílkoviny [g/100 g]

$B$  je obsah čisté bílkoviny [g/100 g]

$K$  je obsah kolagenu [g/100 g]

Výsledek se zaokrouhuje na 1 desetinné místo.

## 6. Parametry metody

Parametry metody byly získány v mezilaboratorním testu pořádaném Státní zemědělskou a potravinářskou inspekci ve spolupráci se Státní veterinární správou v roce 2014.

Laboratoř/název parametru	šunka		maso	
	ČSB (po srážení taninem)		ČSB (po srážení taninem)	
	g/100 g	g/100 g	g/100 g	g/100 g
1	9,60		19,8	
	9,36		20,2	
2	10,18		20,75	
	10,13		20,95	
3	9,74		20,60	
	9,53		20,47	
4	10,43		20,95	
	10,32		20,83	
5	9,47		20,25	
	9,14		20,19	
6	9,52		19,87	
	10,17		20,74	

Průměrná hodnota	9,80	20,5
Počet laboratoří po vyloučení odlehlych	6	6
Počet odlehlych laboratoří	0	0
Směrodatná odchylka opakovatelnosti	0,234	0,30
Relativní směrodatná odchylka opakovatelnosti (%)	2,4	1,5
<b>Mez opakovatelnosti</b>	<b>0,65</b>	<b>0,83</b>
Směrodatná odchylka reprodukovatelnosti	0,440	0,42
Relativní směrodatná odchylka reprodukovatelnosti (%)	4,5	2,0
<b>Mez reprodukovatelnosti</b>	<b>1,23</b>	<b>1,17</b>

## 6.1 Nejistota stanovení

Z validačních dat byla stanovena hodnota rozšířené nejistoty stanovení ve výši 0,6 g/100 g.

Po zohlednění předpokládané přirozené heterogenity reálných vzorků byla tato nejistota rozšířena na hodnotu 0,8 g/100 g.

### 6.1.1 Příklad použití rozšířené nejistoty v rámci úředního dozoru

Požadavek vyhlášky č. 326/2001 Sb. ve znění pozdějších předpisů pro šunku výběrovou je nejméně 13,0 % hmotnostních (tj. g/100 g).

U vzorku šunky výběrové byl zjištěn obsah čisté svalové bílkoviny 12,2 g/100 g. Rozšířená nejistota stanovení činí 0,8 g/100 g. tzn. interval, v němž by se měla s pravděpodobností 95 % pohybovat skutečná (správná) hodnota čisté svalové bílkoviny ve vzorku, je  $12,2 \pm 0,8 = <11,4 - 13,0>$  g/100 g.

Výrobek tedy v tomto případě ještě vyhovuje, byť s přihlédnutím k rozšířené nejistotě stanovení, požadavkům vyhlášky č. 326/2001 Sb.

Pokud by byl zjištěn obsah čisté svalové bílkoviny 12,1 g/100 g, horní okraj intervalu výsledku by byl i po zohlednění nejistoty ve výši 0,8 g/100 g pouze 12,9 g/100 g a výrobek by tak již nevyhověl požadavku vyhlášky č. 326/2001 Sb. Stejně tak by byly vyhodnoceny všechny výsledky menší než 12,1 g/100 g. Naopak všechny výsledky větší než 12,2 g/100 g by byly považovány za vyhovující.

**MUDr. Viera Šedivá, v. r.**  
vrchní ředitelka sekce potravinářských výrob