

VĚDECKÝ ČASOPIS

ROSTLINNÁ VÝROBA

Mikrobiologie půdy

1

ROČNÍK 11 (XXXVIII)
PRAHA,
LEDEN 1966
CENA 18 Kčs

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝC
INFORMACÍ MZLH

Vědecký časopis

ROSTLINNÁ VÝROBA

Rídí redakční rada

Člen korespondent ČSAV prof. dr. inž. Václav Káš, DSc. (předseda), inž. Jozef Belej, CSc., akademik dr. inž. Ctibor Blatný, inž. Jiljí Fiedler, CSc., prof. dr. Ladislav Hruška, prof. dr. Jan Hruza, inž. Ján Jasič, prof. dr. Vladimír Kosil, DSc., doc. dr. inž. František Landovský, inž. Josef Lopatník, CSc., člen korespondent ČSAV inž. František Mareček, inž. Vladimír Martinek, CSc., inž. František Mráz, inž. Ctirad Patejdl, inž. Jaroslav Prugar, CSc., doc. inž. Václav Rybáček, inž. Vladimír Segefa, CSc., inž. Miloslav Schmied, inž. Josef Slepíčka, inž. Vladimír Skládal, inž. Antonín Straňák, CSc., inž. Juraj Uhliar, RNDr. inž. Jaroslav Zakopal.

Vedoucí redaktorka Milena Sovová

© Ústav vědeckotechnických informací MZLH, Praha 1966

Vědecký časopis ROSTLINNÁ VÝROBA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru rostlinné výroby. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství a lesního hospodářství. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7. Telefon 224181-9. Celoroční předplatné Kčs 216,—.

Научный журнал ROSTLINNÁ VÝROBA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области растениеводства. Издает Институт научно-технической информации Министерства сельского и лесного хозяйства. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезска 7.

The scientific journal ROSTLINNÁ VÝROBA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the plant production. Published by the Institute of Scientific and Technical Information of the Ministry of Agriculture and Forestry Management. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

Die wissenschaftliche Zeitschrift ROSTLINNÁ VÝROBA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der pflanzlichen Produktion. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen des Ministeriums für Land- und Forstwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7.

Le journal scientifique ROSTLINNÁ VÝROBA public les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans le domaine de production végétale. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques du Ministère de l'agriculture et des forêts. Publié chaque mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7.

Mikrobiologie půdy má v současném úsilí o podstatné zvýšení a zkvalitnění zemědělské výroby velmi závažné úkoly. Tvoří důležitou složku tzv. biologizace zemědělské výroby, tj. komplexního využívání poznatků biologických věd. Cílem všech úkolů mikrobiologie půdy je, stručně řečeno, maximální využívání činnosti užitečných mikrobů k zvyšování úrodnosti půdy jako základního výrobního prostředku. U našich půd jde tu hlavně o jejich obohacování dobrým humusem, který je též základním činitelem pro optimální vývoj a činnost půdní mikroflóry, která konec konců rozhoduje také o efektivním využití vysokých dávek průmyslových hnojiv.

Problematika je tu ovšem mnohem širší a složitější. Její zvládnutí je usnadněno účelnou dělbou práce mezi našimi půdně mikrobiologickými pracovišti a její soustavnou koordinací, jak se celkem s úspěchem praktikuje již řadu let. Dokladem toho jsou vědeckovýzkumné plány a výsledkem je skutečnost, že našemu výzkumu v oboru půdní mikrobiologie je obecně přiznávána světová úroveň. A pokud jde o soustavnost a komplexnost výzkumu, a dále o jeho zaměření na potřeby praxe, můžeme směle řadit naši půdní mikrobiologii na jedno z předních míst ve světě.

Příkladem takové soustavné a komplexní práce je výzkum složení a funkce rhizosféry mikroflóry ve vztahu k výživě a ochraně rostlin, který je nyní soustředěn v půdně mikrobiologickém oddělení Mikrobiologického ústavu ČSAV, nebo výzkum mikrobiologie organických hnojiv (zvláště statkových) z hlediska jejich správného uchovávání a používání, spojený se studiem mechanismu tvorby humusu v těchto hnojivech a v půdě, kteroužto problematikou se zabývá oddělení organických hnojiv ÚVÚRV v Ruzyni, nebo studium specifických, zvláště hlizkových bakterií pro jejich optimální využití k očkování rostlin, konané hlavně v půdně mikrobiologickém oddělení ÚVÚRV v Ruzyni, či výzkumy vlivu různé agrotechniky v nejširším slova smyslu (osevní postupy, obdělávání půdy, závlahy aj.) na biologickou složku půdy (oddělení pro půdní mikrobiologii Výzkumné stanice základní agrotechniky a hnojení v Pohořelicích), výzkum zaměřený k poznání příčin příznivého, resp. nepříznivého vlivu sorbentů (hlavně jílových minerálů) na biologickou složku půdy jako podkladu pro správnou jejich aplikaci k melioraci půdy, prováděný na katedře mikrobiologie VŠZ v Praze atd.

Domnívám se, že o práci našich půdně mikrobiologických pracovišť je naše odborná veřejnost dobře informována. Připomínám zde zejména tři celostátní konference čs. půdních mikrobiologů s mezinárodní účastí (1954, 1956, 1962),

materiály z nichž byly souborně publikovány v tomto vědeckém časopise, a dále mezinárodní symposium věnované vzájemným vztahům mezi půdními mikroorganismy a kořeny rostlin roku 1963 v Praze (materiály z tohoto symposia vyšly v nakladatelství ČSAV ve svazku „Plant Microbes Relationships“ v roce 1964). Soudím tak z velkého zájmu o tyto publikace, a to nejen u nás, ale i v cizině. Práce z oboru půdní mikrobiologie jsou dále pravidelně uveřejňovány v běžných číslech časopisů Rostlinná výroba a Folia microbiologica (ČSAV), ve vědeckých spisech příslušných výzkumných ústavů, ve sbornících vysokých škol zemědělských aj. Je v nich uložena již úctyhodná řada prací, přinášejících důležité poznatky jak po stránce teoretické, tak i praktické. Jistě by si zasloužily souborného zhodnocení. Třeba jen připomenout, že taková intenzita činnosti byla umožněna neobyčejným rozmachem půdní mikrobiologie u nás po revoluci, a to jak co do počtu pracovišť, tak, a zejména, co do počtu vědeckých pracovníků ve srovnání s dřívější dobou. Tehdy bylo u nás jen jediné speciální půdně mikrobiologické pracoviště u agropedologického ústavu býv. státních výzkumných ústavů zemědělských v Praze. Kromě toho bylo v půdní mikrobiologii ojedinelé pracováno jen na vysokých školách zemědělských.

Předkládané „mikrobiologické číslo“ Rostlinné výroby, jak je sestavila jeho vědecká redaktorka doc. inž. dr. Eva Hamatová, CSc., vedoucí oddělení pro půdní mikrobiologii ÚVÚRV v Ruzyni, je v mezích daných možností jen velmi neúplným obrazem současně řešené problematiky na několika hlavních půdně mikrobiologických pracovištích. I tak jde zdánlivě o problematiku velmi pestrou. Při hlubším pohledu je však možno ji rozdělit do několika hlavních skupin, jak o nich byla již zmínka výše. I takové na pohled ryze teoretické příspěvky, jako je práce o složení polysacharidových slizů produkovaných kmeny *Rhizobium japonicum*, sledují praktický účel; například zmíněná práce přispívá k diagnostice různých kmenů zajímavého druhu hlizkových bakterií, specifických pro sóju, s výraznou odrůdovou specifikou, kterou prvně prokázala E. Hamatová. U většiny ostatních příspěvků je jejich praktické zaměření jasné.

Závěrem tohoto úvodu mohu s uspokojením konstatovat, že význam půdní mikrobiologie byl u nás plně pochopen, takže máme dobré perspektivy pro její další rozvoj. Perspektivní plány badatelského výzkumu, jakož i ostatních výzkumných a vývojových prací z oboru půdní mikrobiologie v pětiletce 1966–70 slibují další podstatné příspěvky k úspěšnému provádění biologizace zemědělské výroby. A proto jistě toto první „mikrobiologické číslo“ Rostlinné výroby je jen slibným začátkem řady dalších.

Prof. inž. dr. Václav Káš, DrSc.,
člen korespondent ČSAV

■ Nukleové kyseliny jako základní složka všech živých organismů tvoří velkou část organických sloučenin fosforu stále vnášených do půdy rostlinnými a živočišnými zbytky a ve velkém množství syntetizovaných buňkami mikrobu. Zatím však nebyly v půdě prokázány ve větším množství (Adams 1954, Kaila 1956), pravděpodobně proto, že jsou velmi rychle rozkládány (Ullrich a Benzler 1955, Drobníková 1963a, 1963b).

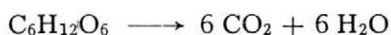
V předkládané práci se snažíme objasnit mineralizaci ribonukleové kyseliny na základě analýzy respiračních křivek.

MATERIÁL A METODIKA

Půda: humuskarbonátová, pH 6,8; její podrobná charakteristika je obsažena v práci (Drobníková 1960, 1963 b). Po odběru byla prosátá sítím s otvory o $\varnothing$ 2 mm a ponechána volnému vysoušení po dobu 14 dnů. Navážka: 2 g sušiny, ovlhčena na 60 % plné vodní kapacity, teplota inkubace 28°C. Fosfor přidávaný ve formě nukleové kyseliny (preparát Lachema, obsahuje RNK) činil 30 μ M/2 g půdy. Tím jsme zvýšili původní obsah veškerého P v půdě o 1/3. Přidáním 40 mg glukózy a 1,26 mg uhlíkatu amonného jsme zvýšili obsah těchto prvků také o 1/3, takže poměr C:N:P zůstal zachován.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Respirace vzorků bez substrátu má exponenciální průběh, který je typický pro endogenní respiraci (obr. 1). Respirace po přidání glukózy (obr. 1) má typický charakter oxydačního komponentu. Chybí jakýkoliv náznak asimilačního komponentu. Vezmeme-li 179. hodinu jako konec primární oxydace, je brutto respirace (naměřená) 14 500 μ l a netto (po odečtení endogenní) 11 318 μ l/2 g půdy. Teoretická spotřeba pro úplnou oxydaci 40 mg glukózy podle rovnice



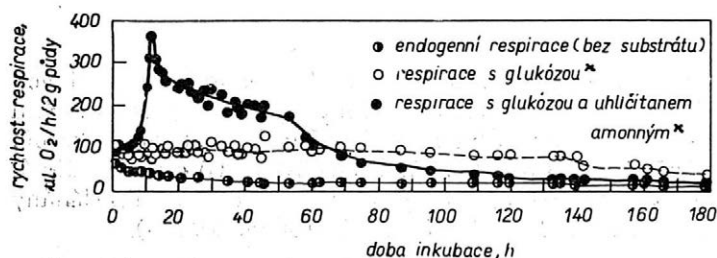
$$\text{je} \quad \Sigma_{\text{O}_2} = 6 \frac{22,4 \cdot 40}{180} = 29,8 \text{ ml O}_2,$$

tnz. že oxydace v našem případě proběhla do 37 %.

V pokusu s glukózou a amonným dusíkem (obr. 1) je poměrně obtížné stanovit konec primární respirace. Jako nejpravděpodobnější se zdá 75. hodina. Úsek do 120. hodiny může být považován za reziduální oxydaci. Je však stejně

možné, že patří k primární oxidaci. Příslušná množství spotřebovaného kyslíku jsou tato: Σ_{75} btto je 11 780 μl , Σ_{120} btto je 13 870 μl . Tomu odpovídají čisté hodnoty: Σ_{75} netto je asi 10 100 μl , Σ_{120} netto je 11 480 μl . Druhá hodnota lépe odpovídá hodnotě naměřené v pokusu bez dusíku, proto pro další úvahy budeme brát Σ_{120} .

V pokusu s nukleovou kyselinou (obr. 2) vidíme, že přidání dalšího zdroje N k nukleové kyselině nemá prakticky žádný vliv na průběh respirace, což se dá očekávat vzhledem k tomu, že sama NK obsahuje dosti dusíku. Primární respirace končí prakticky ve 46. hodině, kdy je spotřebováno Σ_{46} btto 4515 μl , což činí Σ_{46} netto 3258 μl . Kdybychom předpokládali, že z nukleové kyseliny, která je v podstatě ribonukleovou kyselinou, se oxyduje pouze ribóza, pak



1. Spotřeba kyslíku při inkubaci půdy bez nukleové kyseliny

* Křivky jsou vyneseny po odečtení endogenní respirace

bychom dospěli asi k následujícím teoretickým výsledkům: 1 mg ekvivalent NK (v přepočtu na fosfor) rovná se průměrně 336 mg, z čehož ribóza činí 150 mg. Z celkové navážky 11,28 mg NK činí tedy ribóza 5,05 mg. Předpokládáme-li plnou oxydaci ribózy podle rovnice



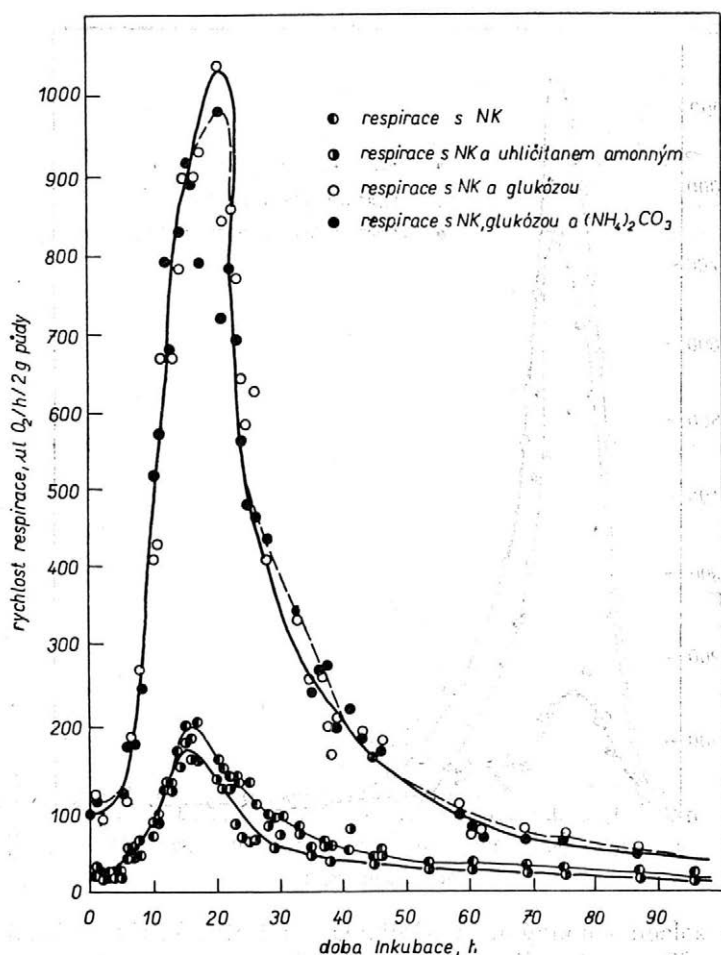
je teoretická spotřeba

$$\Sigma_{\text{O}_2} = 5 \frac{22,4 \cdot 5,05}{150},$$

tzn. asi 3770 μl . Jak jsme zjistili v dalších pokusech, není ribóza v suché půdě oxydována obvykle výše než na 37 %, tzn. že na úkor její oxydace je spotřebováno asi 1430 μl O_2 . Zbývá nám tedy ještě 1828 μl O_2 . Poněvadž fosfát se už dále oxydovat nemůže, znamená to, že jsou pravděpodobně oxydovány purinové a pyrimidinové báze.

V pokusu, kde byla oxydována nukleová kyselina spolu s glukózou, je respirace silně stimulována a dochází k vysokému maximu. Konec primární oxydace je asi ve 46. hodině (obr. 2). Σ_{46} btto je 15 930 μl , což činí 14 670 μl netto. V této době je v pokusu se samotnou glukózou Σ_{46} btto 4610 μl , což je 3350 μl netto. Odečteme-li tuto hodnotu od netto spotřeby v pokusu, kde probíhala současná oxydace glukózy a nukleové kyseliny, vychází nám množství kyslíku připadající na nukleovou kyselinu 11 320 μl , což je hodnota mnohem větší než v pokusu se samotnou NK. Tento rozdíl lze snadno vysvětlit: výrazné maximum na respirační křivce napovídá, že glukóza je v tomto případě oxydována mnohem rychleji než je-li přítomna samotná. Je možno tedy provést analýzu za předpokladu, že ve 46. hodině díky přítomnosti NK proběhla celá primární oxydace přidané glukózy. Potom je třeba od netto spotřeby kyslíku naměřené v pokusu odečíst množství kyslíku spotřebované na celou primární oxydaci veškeré přidané glukózy, což je 11 318 μl . Za tohoto předpokladu vy-

cháží na oxydaci nukleové kyseliny 3352 $\mu\text{l O}_2$. Tato hodnota je ve výborné shodě s hodnotou získanou při oxydaci samotné nukleové kyseliny. Lze tedy potvrdit vyslovený předpoklad, že díky přítomnosti NK je primární oxydace glukózy zkrácena z původních 180 hodin na pouhých 46 hodin. Že v tomto případě nevystupuje NK pouze jako zdroj dusíku, lze posoudit z toho, že sole



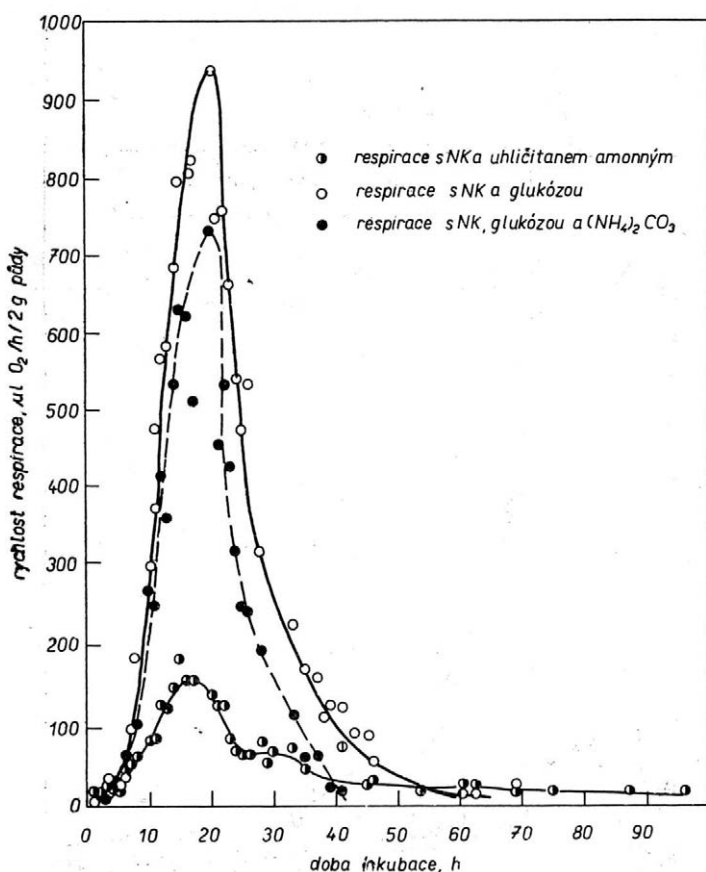
2. Spotřeba kyslíku při inkubaci s nukleovou kyselinou

Od všech vynášených hodnot na tomto grafu byla odečtena endogenní respirace

amonné zkracují primární oxydaci glukózy jen na 120 hodin. Dále lze z tohoto výsledku uzavřít, že spotřeba kyslíku na primární oxydaci glukózy a nukleové kyseliny zůstává v podstatě stejná i v případě, že oxydace těchto dvou substrátů probíhá současně (Drobník 1961).

V pokusu se současnou oxydaci glukózy a NK za přítomnosti solí amonných dostáváme prakticky stejnou respirační křivku jako v minulém případě, kde sole amonné přítomny nebyly. Znamená to, že přítomnost NK stimuluje oxydaci glukózy natolik, že stimulační vliv solí amonných, který je možno pozorovat v pokusu bez NK, se v její přítomnosti již neprojeví. Proto také závěry z minulého pokusu zůstávají v platnosti pro tento pokus, neboť rozdíly

respiračních křivek jsou v rámci pozorovací chyby. Pokud vzniknou zdánlivé rozdíly na grafu (obr. 3), je to způsobeno tím, že od respirační křivky získané v pokusu s NK a glukózou je odečítána prakticky konstantní respirační rychlost naměřená v příslušném pokusu bez NK, a proto se základní tvar respirační křivky nemění. Naproti tomu od výsledků získaných v pokusu s NK, glukózou



3. Spotřeba kyslíku v půdě inkubované s nukleovou kyselinou po odečtení množství kyslíku spotřebovaného na oxydaci substrátů v půdě bez nukleové kyseliny

a solemi amonnými je odečítána respirační křivka získaná pro oxydaci glukózy v přítomnosti solí amonných, tj. křivka s význačným maximem. Proto výsledná křivka má poněkud změněný tvar. Jsme si ovšem vědomi toho, že netto průběh spotřeby kyslíku pro jednu složku nelze získat pouhým odečtením podle vzorce:

$$Q_{O_2} (NK) = Q_{O_2} (G + NK) - Q_{O_2} (G) \text{ resp.}$$

$$Q_{O_2} (NK) = Q_{O_2} (G + NK + NH_4^+) - Q_{O_2} (G + NH_4^+)$$

Respirační rychlost není aditivní funkcí substrátů. Zdá se však, že celkové množství kyslíku spotřebovaného během primární oxydace je aditivní. Zobecníme-li tento poznatek, pak musíme říci, že není zcela správné vyjadřovat průběh respirace na určitém substrátu pouhým odečtením průběhu endogenní respirace od respirace v pokusu se substrátem, tj. podle vzorce:

$$Q_{O_2} (x) = Q_0 (x + \text{end.}) - Q_0 (\text{end.})$$

Tato skutečnost byla prokázána v pokusech se substráty značenými ^{14}C (Macura 1961, 1963). Je však možné vypočítat tímto způsobem celkovou netto spotřebu kyslíku během primární oxydace.

SOUHRN

V práci byla sledována oxydace ribonukleové kyseliny v půdě pomocí Warburgovy respirometrické metody. Podstatná část nukleové kyseliny byla oxydována během prvních 50 hodin inkubace, kdy také činnost mikroorganismů byla nevyšší. Analýzou respiračních křivek bylo zjištěno, že přidání uhlíčitanu amonného k nukleové kyselině nijak neovlivní průběh respirace. Poněvadž jsme zjistili, že za daných podmínek byla ribóza — podobně jako glukóza — oxydována pouze na 37 %, je velmi pravděpodobné, že jsou z nukleové kyseliny oxydovány i purinové a pyrimidinové báze. Tím si vysvětlujeme silnou stimulaci oxydace glukózy v přítomnosti nukleové kyseliny. V práci je také poukázáno na některé problémy při vyhodnocování respiračních výsledků.

Došlo dne 13. 9. 1965

Literatura

1. ADAMS, A. P.: Measurements of nucleic acid component in soil. = „Soil Sci. Soc. Amer. Proc.“ 1954, č. 18, s. 40-46. — 2. DROBNÍK, J.: A Warburg vessel for soil samples. = „Nature“, 188, 4751, 1960 : 686. — 3. DROBNÍK, J.: Primary oxidation of some organic compounds in remoistened air-dried soil. = „Cand. J. Microbiol.“, 1961, č. 7, s. 769-775. — 4. DROBNÍKOVÁ, V.: Factors influencing the determination of phosphatases in soil. = „Folia microbiol.“, 1960, č. 6, s. 260-267. — 5. DROBNÍKOVÁ, V.: Použití radioisotopů při studiu přeměn látek v půdě. = „Rostlinná výroba“ 9, 1963 a : 859-862. — 6. DROBNÍKOVÁ, V.: Přeměny organických sloučenin fosforu v půdě. Kandidátská disertační práce. Praha 1963 b. — 7. KAILA, A.: Phosphorus in virgin peat soils. = „Journ. Sci. Agric. Soc. Finland“, 1956, č. 28, s. 142-162. — 8. MACURA, J., KUNC, F.: Continuous flow method in soil microbiology. II. Observations on glucose metabolism. = „Folia microbiol.“, 1961, č. 6, s. 398-407. — 9. MACURA, J., SZOLNOKI, J., VANČURA, V.: Rozklad glukózy v půdě. = „Rostlinná výroba“ 9, 1963 : 788-792. — 10. ULLRICH, B., BENZLER, J. H.: Der organisch gebundene Phosphor im Boden. = „Z. f. Pflanzenern., Düng., Bodenk.“ 70, 1955 : 220-249.

Окисление нуклеиновой кислоты в почве

A. Резюме

В работе изучалось окисление рибонуклеиновой кислоты в почве при помощи respiрационного метода Варбурга. Существенная часть нуклеиновой кислоты окислилась в течение первых 50 час. инкубации, когда деятельность микроорганизмов была наиболее активной. Путем анализа respiрационных кривых было установлено, что добавление углекислого аммония к нуклеиновой кислоте вовсе не влияет на ход respiрации. Ввиду нашего установления, что в данных условиях рибоза — как и глюкоза — была окислена лишь на 37 %, весьма вероятно, что из нуклеиновой кислоты окислились также пуриновые и пиримидиновые основания. Этим можно объяснить сильную стимуляцию окисления глюкозы в присутствии нуклеиновой кислоты. В работе указаны также некоторые проблемы оценки результатов respiрации.

Б. Текст к диаграммам

1. Расход кислорода при инкубировании почвы без нуклеиновой кислоты
2. Расход кислорода при инкубации почвы с нуклеиновой кислотой
3. Расход кислорода в почве, инкубированной нуклеиновой кислотой после вычета количества кислорода, израсходованного на окисление субстратов в почве без нуклеиновой кислоты.

Die Oxydation der Nukleinsäure im Boden

A. Zusammenfassung

In der Arbeit wurde die Oxydation der Ribonukleinsäure im Boden mit Hilfe der Warburg'schen respirometrischen Methode verfolgt. Der wesentliche Teil der Nukleinsäure wurde während der ersten 50 Stunden der Inkubation oxydiert; in diesem Zeitraum war auch die Tätigkeit der Mikroorganismen die höchste. Durch die Analyse der Respirationsskurven stellte man fest, daß eine Beigabe von Ammoniumkarbonat zur Nukleinsäure den Respirationsverlauf keineswegs beeinflußt. Da wir festgestellt haben, daß unter den gegebenen Bedingungen die Ribose — ähnlich wie die Glukose — nur zu 37 % oxydiert wurde, erscheint es als sehr wahrscheinlich, daß von der Nukleinsäure auch Purin- und Pyrimidibasen oxydiert werden. Dadurch erklären wir die starke Stimulation der Glukosen-Oxydation in Anwesenheit der Nukleinsäure. In der Arbeit wird auch auf einige Probleme bei der Auswertung von Respirationsergebnissen hingewiesen.

B. Text zu den graphischen Darstellungen

1. Sauerstoffverbrauch bei der Inkubation von Boden ohne Nukleinsäure
2. Sauerstoffverbrauch bei der Inkubation von Boden mit Nukleinsäure
3. Sauerstoffverbrauch in dem mit Nukleinsäure inkubierten Boden nach dem Abzug der Sauerstoffmenge, die zur Oxydation der Substrate im Boden ohne Nukleinsäure verbraucht wurde.

OXIDATION of Nucleic Acid in the Soil

A. Summary

In the present paper there are being reported results of investigations obtained by means of the Warburg respirometrical method of the oxidation processes affecting ribonucleic acid in the soil. A substantial part of the nucleic acid oxidized during the first fifty hours of the incubation period during which also activity of microorganisms was found to be the highest. By analyzing the respiration curves the author ascertained that an addition of ammonium carbonate to the nucleic acid by no means affected the course of the respiration process. Owing to the fact that it was stated that ribose, — in a similar way as it occurs with glucose — had been oxidated to merely 37 per cent of the total volume, it may be assumed with great probability that nucleic acid also entails the oxidation of purine and pyrimidinic bases. This explains simultaneously the intensely stimulated oxidation of glucose in presence of nucleic acid. In the paper it is also pointed at some problems connected with the evaluation of the respiration results.

B. Text to Graphics

1. Oxygen uptake during soil incubation in absence of nucleic acid
2. Oxygen uptake during soil incubation in presence of nucleic acid
3. Oxygen uptake in soil incubated in presence of nucleic acid after subtraction of the quantity of oxygen consumed during oxidation of substrates in soil free of nucleic acid.

Adresa autorky:

Věra Drobňáková, CSc., prom. bioložka, Přírodovědecká fakulta KU, katedra fyziologie rostlin a biologie půdy, Praha 2, Viničná ul. 7

■ Aerobní rozklad organických látek v půdě je často charakterizován spotřebou kyslíku, jakožto konečného akceptoru elektronů, uvolněných při jejich oxidaci. Výjimkou jsou pochody, při nichž zdrojem kyslíku jsou nitráty. Nejrozšířenějšími metodami stanovení spotřeby kyslíku je manometrický způsob Warburgův (Chase, Gray 1957, Olson, McCalla 1960, Stotzky 1960), který je vhodný pro mikrostanovení, dále metody volumetrické (Markarov 1959) a řada metod, založených na elektrolytickém doplňování spotřebovaného kyslíku a které jsou základem jednodušších i složitých respirometrů (Swaby, Passey 1953, Garity, Gilmour, Bollen 1958, Vacek, Drobník 1962, Wieringa, Mogot 1957). Pro suspenze bakteriálních kultur použili polarografického stanovení kyslíku Skerman a Millis (1949). Kromě zmíněných respirometrů, které s sebou přinášejí jak nevýhody stanovení respirace za nepřítomnosti CO_2 , tak nebezpečí hromadění plynů jiných zplodin metabolismu, i postupného vysychání vzorků při delších inkubačních dobách, nepodařilo se nám najít v literatuře jinou vhodnou a jednoduchou makrometodu, umožňující rychlé stanovení respiračních křivek. Interferometrické stanovení spotřeby kyslíku, i když je méně citlivé než stanovení tvorby kysličníku uhličitého, lze použít ke sledování intenzivního rozkladu uhlíkatých látek v půdě a v organických hnojivech.

PRINCIPY INTERFEROMETRICKÉ ANALÝZY PLYNŮ

Procházejí-li rovnoběžné paprsky světelné vrstvou plynů silnou L , která je dána délkou kyvety, přičemž plyny mají rozdílné indexy lomu n_1 a n_2 , pak rozdíl optických drah ($n_2 - n_1$) L vyvolá interferenci obou paprsků a posun interferenčního spektra. Tento posun můžeme změřit počtem otáček šroubu kompenzačního hranolu, kterým přivedeme spektrum opět do původní polohy.

Při absolutní kalibraci interferometru používáme jednobarevného světla o známé vlnové délce (např. žluté linie He-světla $\lambda_D = 0,5876 \mu$). Kyvety naplníme měřenými plyny, zaznamenáme počet přeběhnutých pruhů (= počet vlnových délek) a zaznamenáme tomu odpovídající počet dílků při použití bílého světla. Např. Löwe (1954) uvádí:

10 pruhů (vlnových délek) odpovídá 400 dílkům

$$1 \text{ dílek} = \frac{400}{10 \lambda} = \frac{5,876 \mu}{400} = 0,01469 \mu$$

Pro vyjádření v indexu lomu platí

$$(n_2 - n_1) \cdot L = 0,01469 \quad \text{a pro } L = 1000 \text{ mm} = 10^6 \mu$$

$$n_2 - n_1 = \frac{0,01469}{10^6} = 1,469 \cdot 10^{-8}$$

Dalším způsobem je použití tzv. lomné síly plynů β , která je dána výrazem

$$\beta = (n - 1) \cdot 10^6$$

n = index lomu

Podle zákona Biot-Aragova je lomná síla směsi plynů rovna součtu parciálních lomných sil jednotlivých složek, např. pro binární směs platí:

$$\beta = \left[\frac{x}{100} (n_1 - 1) + \frac{100 - x}{100} (n_2 - 1) \right] \cdot 10^6$$

Hodnoty lomných sil běžných par a plynů jsou tabelovány a známe-li procentuální složení syntetické směsi, lze vypočítat její lomnou sílu a kalibrační hodnotu pro hledanou složku. Proměřování uměle připravených plyných směsí je neobvyklejším způsobem kalibrace (Löwe 1954, Póljakov, Gernogenova 1960).

METODIKA

Respirační plyn je v nejjednodušším případě ternární systém. S produkcí CO_2 spojená spotřeba kyslíku se uplatňuje lomivou silou stejně jako CO_2 (spotřebovaný kyslík je nahrazován dusíkem, jehož lomná síla je vyšší než u kyslíku).

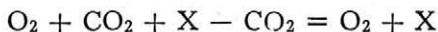
Nutné uspořádání interferometrického měření vyplývá ze schématu plnění kyvet v tabulce I.

I. Systém plnění kyvet interferometru

Způsob	Kyveta				Účinná složka
	měřicí		kontrolní		
	plyn	složky	plyn	složky	
1	resp. plyn	N ₂ , O' ₂ , CO ₂ , X	vzduch	N ₂ , O ₂ '' , X	O ₂ , CO ₂ , X
2	resp. plyn	N ₂ , O' ₂ , CO ₂ , X	resp. plyn - CO ₂	N ₂ , O' ₂ , X	CO ₂
3	resp. plyn - CO ₂	N ₂ , O' ₂ , X	vzduch	N ₂ , O'' ₂	O ₂ , X
4	resp. plyn - CO ₂ , -O ₂	N ₂ , X	dusík	N ₂	X

Pozn.: X je jiný plyný produkt, jehož tvorbu při aerobních pochodech nepředpokládáme.

Ze schématu je zřejmé, že ke stejným hodnotám spotřeby kyslíku lze dospět dvěma způsoby: odečtením dílků, získaných při způsobu (1) od dílků získaných při způsobu (2), nebo podle způsobu (3)



Kalibrační křivka pro spotřebu kyslíku byla sestavena proměřením manometricky připravených směsí vzduchu a dusíku. (Kleinzeller, Málek, Vrba 1954.) Pro používané respirační nádoby o objemu 1200 ml odpovídá 1 dílek interferometru spotřebě 1,032 ml kyslíku.

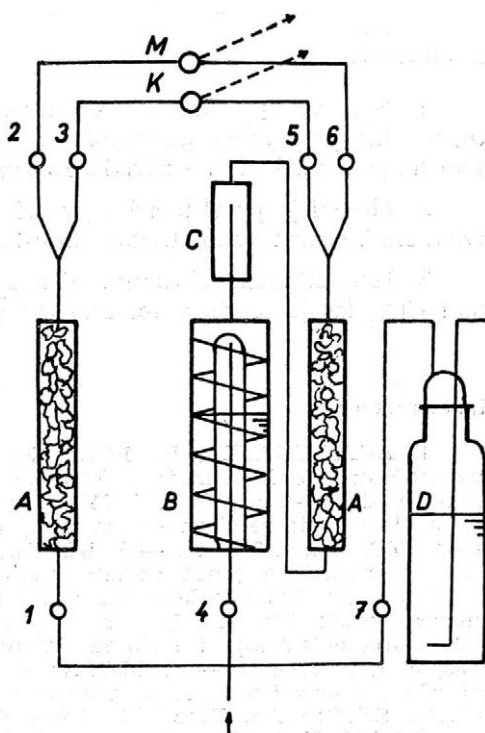
II. Interferometrická kalibrace spotřeby kyslíku

Vzduch mm Hg	Dílký	Tense H ₂ O 25° C	Suchý vzduch mm Hg	% O ₂	% O ₂ spotř.
680	23	14,4	666	18,87	1,93
610	47	12,7	597	16,91	3,89
400	112	8,5	392	11,10	9,70
355	114	7,5	384	9,86	10,94
210	171	4,4	216	6,12	14,68
140	198	2,9	137	3,88	16,92

Postup měření

Pro sledování aerobního rozkladu organických látek v půdě bylo zkonstruováno jednoduché zařízení, umožňující plynovou analýzu podle tabulky I. Schéma tohoto zařízení je na obr. 1.

Nejdříve naplníme obě kyvety vzduchem a odečteme nulovou hodnotu (otevřeny kohouty 7, 1, 2, 3). Respirační plyn vytlačujeme nasyceným roztokem NaCl z polyetylenových nádob, jejichž objem dovoluje několikeré naplnění celého systému (A pfelthaler, Löbl 1965, v tisku). Naplníme měřicí kyvetu (kohouty 1, 2) a poznamenejme hodnoty šroubu po vyrovnaní spektra. Plyn potom vedeme přes absor-



1. Schéma aparatury:

- A — sušicí rourky a CaCl₂
- B — absorbér s 25% KOH
- C — odlučovač kapek
- D — Drechlesova promývačka pro vzduch
- M — měřicí kyveta
- K — kontrolní kyveta
- 1 až 7 — kohouty

bér CO_2 do kontrolní kyvety (kohouty 4, 5). Takto získaná hodnota je měřítkem produkovaného CO_2 ; odečteme-li ji od hodnoty předcházející, získáme počet dílků, odpovídající spotřebě kyslíku. Měříme-li pouze spotřebu kyslíku v případech, kdy vysoké pH materiálu nedává předpoklady pro správné měření produkce CO_2 , můžeme postupovat jednodušeji: do měřicí kyvety je vháněn respirační plyn zbavený CO_2 (kohouty 4, 6), zatímco v kontrolní kyvetě je vzduch.

Pro úspěšnou práci jsou nutné dokonalé vysušení plynů a kvantitativní absorpce CO_2 . Promývačky s fritami se ukázaly být nevhodné jednak pro velký hydrostatický odpor, jednak pro jejich velký neúčinný objem v systému před kyvetami. K naplnění a vypláchnutí systému je třeba asi 250 ml plynu. Použitý absorbér pojme asi 15 ml 25 % KOH a dráha plynových bublinek je prodloužena spirálou ze skleněné tyčinky. Absorbér je 15 cm vysoký, uzavřený gumovými zátkami, ve kterých jsou otvory pro přívod a vypouštění 25 % KOH (na schématu není naznačeno). Přes střední kapiláru o průměru 2,5 mm, kterou je přiváděn plyn, je navlečena zkumavka o takovém průměru, aby spirála utěsnila prostor mezi ní a stěnou absorbéru. Takto zhotovený absorbér splňuje podmínky pro kvantitativní absorpci i pro hydrostatický odpor.

Interferometrické stanovení spotřeby kyslíku je méně citlivé než stanovení tvorby CO_2 (rozdíl mezi lomnými silami kyslíku a dusíku je podstatně menší). Je tedy tato metoda vhodná pro vyšší mikrobiální aktivitu s dostatkem respiračního materiálu (v rozmezí od 0,1 % – 10,0 % spotřebovaného kyslíku) a tam, kde stanovení produkce CO_2 není spolehlivé.

Periodickým měřením lze získat respirační křivky spotřeby kyslíku, které nejsou ovlivněny nepřítomností CO_2 během inkubace, jak je tomu u manometrických metod.

SOUHRN

1. Byla vypracována metoda interferometrického stanovení spotřeby kyslíku, vhodná pro půdně mikrobiologické účely. Je používána hlavně u materiálů, u nichž je vysoké pH na závadu spolehlivému stanovení produkce CO_2 .

2. Měření je jednoduché a rychlé a křivky spotřeby kyslíku lze získat bez ovlivnění respirace nepřetržitou absorpcí CO_2 během inkubační doby.

3. Interferometrické stanovení spotřeby kyslíku je méně citlivé než stanovení CO_2 , lze je použít v rozsahu 0,1 % – 10,0 % spotřebovaného kyslíku.

Došlo dne 13. 9. 1965

Literatura

1. APFELTHALER, R., LÖBL, F.: Polyethylenová nádoba pro interferometrické stanovení respiračních křivek půdy, organických hnojiv a odpadů. = „Zbl. Bakt.“ v tisku. — 2. MC.GARITY, J. W., GILMOUR, C. M., BOLLEN, W. B.: Use of an electrolytic respirometer to study denitrification in soil. = „Canad. J. Microbiol.“ 1958, č. 4, s. 303-316. — 3. KLEINZELLER, A. MÁLEK, J., VRBA, R.: Manometrické metody a jejich použití v biologii a biochemii. Praha, SZN, 1954. — 4. LÖWE, F.: Optische Messungen des Chemikers und des Mediciners. Kap. IV. Interferometrie, Dresden, 1954, s. 286-309. — 5. MAKAROV, B. N.: Opredelenije soderžanija uglekisloty i kisloroda v počvennom vozduche. = „Počvovedenije“, 1959, č. 1, s. 121-125. — 6. OLSON, G. W., MC.CALLA, T. M.: A comparison of microbial respiration in soils after a 20 years period of subtilling and plowing. = „Soil Sci. Soc. Am. Proc.“, 24, 1960, č. 5, s. 349-351. — 7. POLJAKOV, J. A., GERMOGENOVA, N. S.: O primeneniji metodov interferometrii v počvennoagrohimičes-

kich issledovaniyach. = „Počvovedenje“, 1960, č. 12, s. 102-105. — 8. SKERMAN, V. B. D., MILLIS, N.: The application of the polarograph to the determination of oxygen concentration and oxygen consumption rates in bacterial culture media. = „Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci.“ 1949, s. 127-183. — 9. STOTZKY, G.: A simple method for the determination of the respiratory quotient of soil. = „Canad. J. Microbiol.“, 1960, č. 6, s. 439-452. — 10. SWABY, R. I., PASSEY, B. I.: A simple macrorespirometer for studies in soil microbiology. = „Austral. J. Agric. Res.“, 1953, č. 4, s. 334-339. — 11. VACEK, J., DROBNÍK, J.: Přístroj na měření respirace půdy. = „Sborník ČSAZV - Rostlinná výroba“, 8, 1962: 773-780. — 12. WIERINGA, K. T., MOGOT, M. F. K.: An apparatus for the determination of respiration process in soil samples. = „Plant and Soil“, 8 1957: 395-396.

Возможности интерферометрического анализа респирационных газов, в особенности кислорода, для целей почвенной микробиологии

А. Резюме

1. Был разработан метод интерферометрического определения расхода кислорода, пригодный для целей микробиологии почвы. Он применяется главным образом у таких материалов, у которых высокое содержание pH мешает надежному определению продукции CO₂.

2. Измерение — простое и быстрое, причем кривые расхода кислорода можно получить, не влияя на дыхание непрерывной абсорбцией CO₂ в течение инкубационного периода.

3. Интерферометрическое определение кислорода менее чувствительно, чем определение CO₂, и его можно применить в диапазоне 0,1—10 % расходуемого кислорода.

Б. Текст к таблицам

I. Система наполнения кювет интерферометра

II. Интерферометрическая калибровка расхода кислорода

В. Текст к диаграммам

1. Схема аппаратуры: А — сушильные трубки и CaCl₂, В — абсорбер с 25 % KOH, С — каплеотбойник, D — склянка Дрекслера для воздуха, M — измерительная кювета, K — контрольная кювета, 1—7 краны.

The Possibilities of Interferometrical Analysis of Respiration Gases, with Particular Respect to Oxygen for Purposes of the Soil Microbiology

A. Summary

1. The author elaborated a method of interferometrical determination of the oxygen consumption, complying with the requirements of microbiological research of soil. This method may be of use in particular with materials in which the considerably high pH level is an obstacle to the reliable determination of the carbon dioxide production.

2. The measurement is simple and fast and the curves of oxygen consumption may be obtained without influencing the respiration of carbon dioxide during the incubation period.

3. The interferometrical determination of the oxygen consumption is less sensitive than the determination of carbon dioxide. It may be used within the range of 0,1 per cent to 10,0 per cent of consumed oxygen.

B. Text to Tables

I. Method of filling the measuring cells of the interferometer

II. Interferometrical calibration of the oxygen consumption

C. Text to Graphs

1. Scheme of the equipment: A — Drying tubes with CaCl₂, B — Absorber with 25 per cent of potassium hydroxide, C — Drop separator, D — Drechsel's air washing bottle, M — Measuring cell, K — cell. 1—7: stop cocks.

Möglichkeiten der interferometrischen Analyse der Respirationsgase, besonders des Sauerstoffes, zu Zwecken der Bodenmikrobiologie

A. Zusammenfassung

1. Eine für bodenmikrobiologische Zwecke geeignete Methode der interferometrischen Bestimmung des Sauerstoffverbrauches wurde ausgearbeitet. Sie wird besonders beim Material, bei dem die hohe pH-Zahl eine verlässliche Bestimmung der CO₂-Produktion verhindert, angewendet.

2. Die Messung ist einfach und schnell und die Kurven des Sauerstoffverbrauches können ohne Beeinflussung der Respiration durch ununterbrochene Absorption von CO₂ während der Inkubationszeit gewonnen werden.

3. Die interferometrische Bestimmung des Sauerstoffverbrauches ist weniger empfindlich als die Bestimmung des CO₂ und kann in einem Umfang von 0,1 bis 10,— % des verbrauchten Sauerstoffes angewendet werden.

B. Text zu den Tafeln

I. System der Füllung von Küvetten des Interferometers

II. Interferometrische Kalibrierung des Sauerstoffverbrauches

C. Text zu den graphischen Darstellungen

1. Schema der Apparatur: A — Trocknungsröhrchen mit CaCl₂, B — Absorber mit 25 % KOH, C — Tropfen-Abscheider, D — Waschflasche nach Drechsler für Luft, M — Meß-Küvette, K — Kontroll-Küvette, 1 bis 7 — Hähne

Adresa autora:

Inž. Roman Apfelthaler, Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, odd. organických hnojiv, Praha-Ruzyně 507

■ Jestliže slabé dávky ionizačního záření jsou schopny urychlovat růst a zvyšovat výnosy vikvovitých rostlin (Stoklasa a Pěnkava 1932, Gelin 1954, Porjadkova 1958, Porjadkova aj. 1960, Timofejev-Resovskij a Lučnik 1957) a jestliže se radiostimulace projevuje i u hlízkových bakterií (Stoklasa 1913, Jordan 1952, Sokurova 1956, Jemcov 1962, Hamatová 1964), je zajímavé zjistit vliv ionizačního záření na symbiózu bakterií s hostitelskou rostlinou. Naše práce byla zaměřena na zjištění vlivu chronického ozařování rostlin hrachu, pěstovaných v nádobách na gama-poli, na tvorbu hlízek na kořenech.

MATERIÁL A METODIKA

V letech 1963 a 1964 byly provedeny dva pokusy s hrachem odrůdy Dětenický žlutý velkožrný.

1. pokus v r. 1963 Nedezinfikované osivo bylo naklíčeno v termostatu při 25°C, inokulováno suspenzí kmene *Rhizobium leguminosarum* D 404 ze sbírky kultury ÚVÚRV (smyv kultury na hrachovém agaru ve sterilní vodě) a vyseto do Mitscherlichových nádob se 6 kg zeminy (prosátá hnědozem z Ruzyně). Po vzejití byly rostliny vyjednoceny a převezeny na gamapole do Strnad, kde byly umístěny na stupních expobloku tak, že nejbližší ozařovači na stupni (4) byly rozestaveny 4 nádoby, na stupních (5) až (8) pak 6, 9 a 10 nádob podle tohoto schématu:

Schéma umístění nádob s hrachem na expobloku (Strnady 1963)

Stupeň expobloku	Vzdálenost od zářiče m	Nádoby
(4)	2	I I I K
(5)	2,5	I I I I I K
(6)	2,9	I I I I I K
(7)	3,4	I I I I I I I I K
(8)	3,8	I I I I I I I I I K

Kromě nádob s inokulovanými rostlinami (I) byla na každém stupni umístěna též 1 nádoba s rostlinami neočkovanými (K). Na zastíněné výseči gamapole byly postaveny 3 nádoby s inokulovanými rostlinami, které sloužily za kontrolu.

Nádoby byly ponechány na expobloku od 19. 6. do 19. 8. 1963.

2. pokus v r. 1964. Pokus byl proveden zcela shodně jako předcházející s tím rozdílem, že k inokulaci osiva bylo použito kmene *Rhizobium leguminosarum* D 136; nádoby byly umístěny na stupních (6), (7) a (8) expobloku a ponechány tam v době od 11. 5. do 5. 8. 1964.

Sklizeň rostlin a zpracování materiálu jsme prováděli obvyklým způsobem (Hlaváčková 1956). Dávky záření gama, aplikované v obou pokusech, jsme vypočítali za použití tabulek, vydaných vedením gamapole, které udávají dávkové intenzity záření gama pro jednotlivé vzdušné vzdálenosti od zářiče, přičemž je respektován přirozený rozpad kobaltového zářiče v závislosti na čase. K výpočtu celkové dávky záření za dobu vegetace hrachu na expobloku pak bylo použito tabulek o časovém průběhu ozařování na gamapoli ozařovačem Strnady 01 v příslušných dnech, měsících a letech.

VÝSLEDKY

Použitými dávkami záření gama byly rostliny hrachu v obou pokusech silně inhibovány — byly zakrslé, nekvetly a kromě zelených listů měly i listy se svažetým povrchem, pokryté rezivými skvrnami. Rovněž kořeny byly ozařováním značně inhibovány. U ozařovaných rostlin se vůbec nevyskytovaly větší hroznovité hlízky, typické pro nodulaci kmenů rhizobií, použitých v pokusech, jak o tom ostatně svědčily i výsledky, zjištěné u kontrolních neozařovaných rostlin. Vliv různých dávek ozaření na růst rostlin, tvorbu hlízek a nahromadění dusíku v rostlinách je patrný z tabulek I a II, uvádějících mezní průměrné hodnoty na 1 rostlinu.

Z tabulky I je zřejmé, že sušina nadzemní i kořenové hmoty kontrolních neozařovaných rostlin je více než dvojnásobkem sušiny rostlin, nejméně inhibovaných zářením v nejnižší dávce, v daném případě 5551 r. Obdobný výsledek vykazuje i nahromadění dusíku v rostlinách a hlízkách ozařovaných a neozařovaných rostlin. Přitom počet hlízek na kořenech nejméně inhibovaných ozařovaných rostlin (106 na 1 rostlinu) a počet hlízek u kontrolních neozařovaných rostlin (110 na 1 rostlinu) se neliší, rovněž v sušině hlízek u těchto rostlin není rozdíl, zatímco fixace dusíku v hlízkách ozařovaných rostlin představuje méně než polovinu hodnoty, zjištěné u kontrolních neozařovaných rostlin. Ozařování rostlin celkovou dávkou 5551 r tedy neovlivnilo počet a váhu hlízek, ale snížilo podstatně fixační mohutnost kmene *Rh. leguminosarum* D 404.

V druhém pokusu s vyššími dávkami záření gama nejsou rozdíly v sušině nejméně inhibovaných rostlin, ozařovaných dávkou 33 151 r, a kontrolních neozařovaných rostlin tak markantní jako v pokusu prvním, přičemž nasazení hlízek u rostlin ozařovaných je nižší než u kontrolních neozařovaných. Rovněž nahromadění dusíku v ozařovaných rostlinách je nižší. Jako v prvním pokusu, i zde byly inokulované rostliny ve studovaných ukazatelích odolnější vůči použitým dávkám ozaření než rostliny infikované spontánně.

Z hlízek ozařovaných i neozařovaných rostlin z obou pokusů byly reizolovány kmeny *Rh. leguminosarum*, přečištěny a uchovávány pro další práci na hrachovém agaru s glukózou. Kmeny *Rh. leguminosarum* D 404, reizolované z hlízek hrachu, ozařovaných 18 820 r — 5551 r se tímto způsobem podařilo uchovat (při pravidelném přeočkovávání 1krát za měsíc) jen po dobu 2—4 měsíců, zatímco reizoláty kmene D 136 z hlízek rostlin ozařovaných 55 860 r — 33 151 r jsou ve stejných podmínkách uchovávány již po dobu 1 roku.

I. Vliv chronického záření gama na rostliny hrachu, inokulované kmenem *Rh. leguminosarum* D 404 (gamapole Strnady, 1963)

Celková dávka záření r	Inokulace	Sušina nadzem- ní částí 1 rostliny g	Sušina kořenů 1 rostliny g	Počet hlízek 1 rostliny	Sušina hlízek 1 rostliny g	Fixace dusíku v rostlinné hmotě mg	Fixace dusíku v hlízkách mg
18 820	I	0,38—0,17	0,07—0,05	6—2	0,033—0,008	9,66— 2,33	0,69—0,08
	K	0,31	0,06	5	0,028	5,49	0,58
12 703	I	0,70—0,60	0,22—0,09	14—12	0,094—0,04	20,27—18,21	1,89—0,88
	K	0,45	0,11	9	0,05	13,71	0,99
9 221	I	1,04—0,91	0,40—0,28	79—34	0,12 —0,11	40,48—37,81	3,04—2,26
	K	0,96	0,25	53	0,11	36,60	2,00
7 057	I	1,48—1,15	0,32—0,28	77—63	0,14 —0,11	58,19—44,82	3,58—2,50
	K	0,75	0,21	39	0,06	29,72	1,77
5 551	I	1,60—1,46	0,56—0,35	106—62	0,19 —0,15	73,12—52,93	4,49—3,86
	K	1,28	0,33	52	0,13	47,89	3,49
0	I	3,56	1,35	110	0,18	165,54	10,23

I — inokulované rostliny, K — kontrolní neočkované rostliny

II. Vliv chronického záření gama na rostliny hrachu, inokulované kmenem *Rh. leguminosarum* D 136 (gamapole Strnady, 1964)

Celková dávka záření r	Inokulace	Sušina nadzem- ních částí 1 rostliny g	Sušina kořenů 1 rostliny g	Počet hlízek 1 rostliny g	Sušina hlízek 1 rostliny g	Fixace dusíku v rostlinné hmotě mg	Fixace dusíku v hlízkách mg
55 860	I	1,28	0,38	6	0,02	30,64	0,21
	K	—	—	—	—	—	—
40 981	I	1,44—0,93	0,45—0,28	13—7	0,08—0,01	38,32—16,91	2,04—0,19
	K	1,08	0,40	6	0,03	35,92	0,63
33 151	I	3,10—1,01	0,98—0,52	27—10	0,30—0,10	92,58—29,91	6,65—2,72
	K	1,28	0,60	6	0,03	25,06	0,72
0	I	5,82	1,42	43	0,40	176,48	9,23

I — inokulované rostliny, K — kontrolní rostliny

DISKUSE

Při volbě intenzity ozařování rostlin hrachu v našich pokusech jsme se snažili přiblížit dávkám, které v našich (Hamatová 1964) i cizích pracích s čistými kulturami rhizobií (Jordan 1952, Jemcov 1962) vedly k získání vysoce aktivních variant. Použité dávky záření gama v obou našich pokusech silně inhibovaly rostliny, přitom však nodulace nebyla znemožněna, i když se snižovala se stoupajícími dávkami záření. Rhizobia v půdě i v hlízkách jsou zřejmě poměrně dobře chráněna půdou (Popenoe a Eno 1962); obdobně Bernard a Geller (1962) zjistili, že kultura azotobaktera ozařená *in vitro* 100 000 r byla úplně inaktivována, zatímco dávka 376 000 r na gamapoli nepůsobila letálně.

SOUHRN

1. Chronické ozařování rostlin hrachu paprsky gama v dávkách 7057 až 18 820 r inhibovalo v různém stupni rostliny nasazení hlízek na kořenech a nahromadění dusíku v rostlinách.

2. Ozařování ve stejných podmínkách dávkou 5551 r sice rovněž snižovalo váhu sušiny rostlin a fixaci dusíku, tvorba hlízek však nebyla nepříznivě ovlivněna.

3. Chronické ozařování hrachu na gamapoli v dávkách 33 151 až 55 860 r snižovalo kromě ostatních hodnot i nasazení hlízek na kořenech.

4. Kmeny *Rhizobium leguminosarum*, izolované z hlízek rostlin ozařovaných 55 860 r, 40 981 r a 33 151 r, jsou uchovávány na běžných médiích po dobu 1 roku, zatímco kmeny izolované z hlízek rostlin, ozařovaných 18 820 r, 12 703 r, 9221 r, 7057 r a 5551 r, se nepodařilo přeočkovávat déle než 2–4 měsíce.

Došlo dne 2. 10. 1965

Literatura

1. BERNARD, V. V. - GELLER, I. T.: Dějstvie gamma lučej na někatoryje grupy počvennoj mikroflory. = „Agrobiol.“ 1962, č. 4 (136), s. 610-616. — 2. Časový průběh ozařování na gamapoli v roce 1963 a 1964. Gamapole Strnady. — 3. GELIN, O. E.: X-ray mutants in peas and vetches. = „Acta agric. Scandinavica“, 1954, č. 4 (33), s. 558-568. — 4. HAMATOVÁ, E.: Vliv záření gama na fixační aktivitu *Rhizobium japonicum* u dvou odrůd sóje. Vědecká práce ÚVÚRV v Praze-Ruzyni, 1964, s. 155-162. — 5. HLAVÁČKOVÁ, E.: Příprava a používání bakteriálních očkovacích látek v zemědělství. = „Sborník ČSAZV Rostlinná výroba“, XXIX, 1956, č. 9-10, s. 909-936. — 6. JEMCOV, V. T.: Selekcija, izměnčivost i chraněníje kultur mikroorganizmov, ispolzujemych dlja proizvodstva bakterialnych udobrenij. „Izv. AN SSSR ser. biol.“ 1962, s. 732-739. — 7. JORDAN, D. I.: Studies on the legume root nodule bacteria. II. The production and behaviour of colonial mutants produced by X-ray irradiation. = „Canad. J. Bot.“ 1952, č. 30, s. 125. — 8. KYSELA, F.: Dávkové intenzity ozařovače „Strnady Ol“ gamapole ve Strnadech. Tabulky pro období od dubna 1964 do března 1966. ÚEB ČSAV Praha. — 9. POPENOE, H. - ENO, CH. F.: The effect of gamma radiation on the microbial population of the soil. = „Soil-Sci. Am. Proc.“ 26, 1962, č. 2, s. 164-167. — 10. PORJADKOVA, N. A.: Dějstvie ionizirujuščich izlučenij na rost i urožaj gorocha. = „Bjull. Uralsk. otd. MOIP“, 1958, 1 (51). — 11. PORJADKOVA, N. A. - MAKAROV, N. M. - KULIKOV, N. V.: Opyty po radiostimuljacii kulturnych rastenij = „Trudy Inst. biol. AN SSSR, Uralskij filial“, vyp. 13, Sb. rabot laboratorii biofiziki III, 1960, s. 19-33. — 12. SOKUROVA, E. N.: O někotorych zakonóměrnostjach dějstvia ionizirujuščich izlučenij na mikroorganizmy. = „Izv. AN SSSR ser. biol.“ 1956, č. 6, s. 35-53. — 13. STOKLASA, J.: De l'influence de la radioactivité sur les microorganismes fixateurs

d'azote ou transformateurs des matières azotées = „C. r. des séances de l'Académie des Sciences“, Paris, 1913, č. 157, s. 879-882. — 14. STOKLASA, J. - PĚNKAVA, J.: Biologie des Radiums und der radioaktiven Elemente. Berlin, Parey, 1932. — 15. TIMOFEJEV-REŠOVSKIJ, N. V. - LUČNIK, N. V.: Radiostimulacija rastěnij i jejo možná teoretická interpretacija. Tezisy dokl. Vses. nauč.-techn. konf. po priměneniju izotopov i izlučenij Moskva, Izd. AN SSSR, 1957.

Влияние хронического облучения гороха гамма-лучами на образование клубеньковых бактерий

A. Резюме

1. Хроническое облучение растений гороха гамма-лучами в дозах от 7 057 до 18 820 p в разной степени ингибировало растения, образование клубеньковых бактерий на корнях и накопление азота в растениях.

2. Облучение при одинаковых условиях дозой 5 551 p хотя также понижало вес сухого вещества растений и фиксацию азота, однако, на образование клубеньковых бактерий оно не оказало неблагоприятного влияния.

3. Хроническое облучение гороха на гамма-поле в дозах 33 151 до 55 860 p, кроме остальных величин, понижало и образования клубеньковых бактерий на корнях.

Штаммы *Rhizobium leguminosarum*, изолированные из клубеньков растений, облучаемых 55 860 p, 40 981 p и 33 151 p, сохраняются в обычных средах в течение 1 года, тогда как штаммы, изолированные из клубеньков растений, облучаемых 18 820 p, 12 703 p, 9 221 p, 7 057 p и 5 551 p, не удалось повторно бактеризовать дольше чем 2—4 месяца.

Б. Текст к таблицам

I. Влияние хронического гамма-излучения на растения гороха, бактеризованные штаммом *Rh. leguminosarum* D 404 (гамма-поле Странды, 1963).

II. Влияние хронического гамма-излучения на растения гороха, бактеризованные штаммом *Rh. leguminosarum* D 136 (гамма-поле Странды 1964).

The Influence of Chronic Irradiation of Peas with Gamma Rays on the Forming of Tubers

A. Summary

1. Chronic irradiation of pea plants with gamma rays in doses of from 7057 to 18 820 r inhibited, in plants of different stages of development, the setting of tubers on the roots and the accumulation of nitrogen in the plants.

2. Irradiation under equal conditions with a dose of 5551 r also decreased the weight of the dry substance of the plants and the fixation of nitrogen, but the forming of tubers was not affected unfavourably.

3. Chronic irradiation of peas with gamma rays in doses of 33 151 to 55 860 r lowered, apart from the other values, also the setting of tubers on the roots.

The strains of *Rhizobium leguminosarum* isolated from the tubers of the plants that had been irradiated with 55 860 r, 40 981 r, and with 33 151 r can be maintained on current media for one year, whereas the strains that had been isolated from the tubers of plants irradiated with 18 820 r, 12 703 r, 7 057 r, and 5 551 r could not be inoculated for longer than 2—4 months.

B. Texts to tables

I. The influence of chronic irradiation with gamma rays of pea plants inoculated with the strain *Rh. leguminosarum* D 404 (gamma-field Strnady, 1963).

II. The influence of chronic irradiation with gamma rays on pea plants inoculated with the strain *Rh. leguminosarum* D 136 (gamma-field Strnady, 1964).

Einfluß der chronischen Bestrahlung von Erbsen mit Gammastrahlen auf die Knöllchenbildung

A. Zusammenfassung

1. Die chronische Bestrahlung von Erbsenpflanzen mit Gammastrahlen in Dosen von 7057 bis 18820 r inhibierte in verschiedenem Grade die Pflanzen, den Knöllchenansatz auf den Wurzeln und die Speicherung von Stickstoff in den Pflanzen.

2. Die bei denselben Bedingungen vorgenommene Bestrahlung mit einer Dosis von 5551 r setzte zwar auch das Trockensubstanzgewicht der Pflanzen und die Stickstoff-Fixation herab; die Knöllchenbildung war jedoch nicht ungünstig beeinflusst.

3. Die chronische Bestrahlung von Erbsen auf dem Gammafeld in Dosen von 33 151 bis 55 860 r hatte eine Herabsetzung — nebst anderer Werte — auch des Knöllchenansatzes auf den Wurzeln zur Folge.

Stämme des *Rhizobium leguminosarum*, die aus den Knöllchen der mit 55 860 r, 40 981 r und 33 151 r bestrahlten Pflanzen stammten, bleiben auf üblichen Medien während 1 Jahres erhalten; demgegenüber gelang es nicht, Stämme, die aus den Knöllchen der mit 18 820 r, 12 703 r, 9221 r, 7057 r und 5551 r bestrahlten Pflanzen stammten, länger als 2—4 Monate umzuimpfen.

B. Text zu den Tafeln

I. Einfluß der chronischen Gammastrahlung auf die Erbsenpflanzen, die mit dem Stamm *Rh. leguminosarum* D 4 404 (Gammafeld Strnady, 1963) inokuliert wurden

II Einfluß der chronischen Gammastrahlung auf die Erbsenpflanzen, die mit dem Stamm *Rh. leguminosarum* D 136 (Gammafeld Strnady, 1964) inokuliert wurden.

Adresa autorky:

Doc. inž. dr. Eva Hamatová, Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, odd. půdní mikrobiologie, Praha-Ruzyně 507

Během prvního čtvrtletí tohoto roku vyjde první svazek Naučného slovníku zemědělského. NAUČNÝ SLOVNÍK ZEMĚDĚLSKÝ, který obsáhne šest svazků o rozsahu asi 6000 tisk. stran formátu 55, připravuje ve vydavatelství ÚVTI téměř 1000 autorů ve 156 pracovních skupinách a s hlavní redakční radou v čele s členem korespondentem ČSAV dr. inž. Václavem Stehlikem, DrSc.

První svazek Naučného slovníku zemědělského bude mít rozsah 1100 tisk. stran a bude obsahovat hesla A—D. Hesla budou doplněna 1100 černobílými ilustracemi (pérovkami a fotografiemi) a 64 barevnými přílohami včetně map. Cena prvního svazku Naučného slovníku zemědělského v celoplátěné vazbě je 95 Kčs.

Jednotlivá hesla jsou zpracována velmi pečlivě, o čemž svědčí ukázka z hesla o hlízkových bakteriích, v němž uvádí autorka doc. dr. E. Hamatová mimo jiné:

„Hlízkové bakterie zastoupené v půdě nezajišťují spolehlivou tvorbu hlízek ani dostatečnou fixaci molekulárního dusíku. Proto se na celém světě vyhledávají vysoce účinné a virulentní kmeny hlízkových bakterií, specifické pro různé druhy a odrůdy bobovitých; jejich vlastnosti se různými zásahy zlepšují a zvláště účinných kmenů se používá k výrobě tzv. bakterizačních přípravků (očkovacích látek pro osivo). Praktické využití hlízkových bakterií k bakterizaci bobovitých rostlin má ve světě již více než šedesátiletou tradici a znamená ohromný hospodářský přínos pro všechny státy s vyspělým zemědělstvím.

Infekce kořenového vlášení bobovitých rhizobii je umožňována enzymy, které buď rozpouštějí povrchové buňky kořenového vlásku, nebo působí jejich bobtnání. Uvnitř kořínku tvoří pak hlízkové bakterie tzv. infekční vlákno, které prorůstá do středu kořínku a vlivem něhož se buňky kořene urychleně dělí a vzniká základ budoucí hlízky. Infekční vlákno se větví v dělicích se kořenových buňkách a rozpadá se na jednotlivé buňky rhizobií, které přecházejí z infekčního vlákna do kořenových buněk a tam se rychle pomnožují. V té době se buňky kořene přestávají dělit, počínají narůstat a tvoří tzv. bakteroidní tkáň. Současně do hlízky pronikají i cévní svazky z perikambia a centrálního válce, spojující hlízku s cévami kořene; jejich prostřednictvím je hlízka vyživována. Podle vzniku rozlišujeme tři typy hlízek: normální typ u většiny bobovitých — infekční vlákno proniká buňkami meristému, z něhož se tvoří bakteroidní tkáň; typ seradely — infekční vlákno vniká do mezibuněčných prostor a odtud bakterie pronikají do jednotlivých buněk kořene; typ lupiny — kořenové buňky se po vniknutí bakterie dále dělí, přičemž se současně dělí i rhizobia. Každá nově vzniklá buňka hlízky obsahuje již buňku rhizobia.

O mechanismu fixace ovzdušného dusíku existuje několik teorií (Vinoogradskij, Virtanen, Fjodorov, Wilson). Turčin a Bergersen soudí, že proces fixace neprobíhá v samotných buňkách rhizobií, nýbrž v buňkách hlízové tkáně. Elektronové mikrografy ukázaly systém dvou membrán, z nichž jedna je rostlinného původu, uzavírající v sobě skupiny 4 nebo 6 bakteroidů. V těchto membránových obalech probíhá primární fixace ovzdušného dusíku. Bergersen zjistil nejrychlejší inkorporaci izotopického N^{15} do membránové frakce hlízek, zatímco v rozpustné frakci se N^{15} objevoval mnohem později a jen zcela nepatrné množství N^{15} bylo nalezeno ve frakci bakteroidní.

Hostitelská rostlina dodává produkt fotosyntézy — uhlíkatou sloučeninu, která je bakteroidy částečně oxydována a slouží přitom jako zdroj elektronů pro redukci aktivovaného dusíku. Produkty neúplné oxydace — ketokyseliny, zejména — ketoglutarová kyselina, jsou akceptory amoniaku za vzniku aminokyselin, které pak mohou být zpětně využity hostitelskou rostlinou. Mezi bakteroidy a molekulárním dusíkem se přenosu elektronů účastní ještě několik mezičládků, mezi které patří cytochromy b, c a hemoglobin. Při symbiotické fixaci dusíku se vytváří mezi hlízkovými bakteriemi a rostlinnou tkání těsné spojení prostřednictvím přenosu elektronů z uhlíkaté sloučeniny na aktivovaný molekulární dusík. Konečné rozhodnutí o úloze hlízkové bakterie a rostliny v procesu fixace přinesou výsledky další experimentální práce. Vzájemný poměr hlízkových bakterií a hostitelské rostliny je ovlivňován vlastnostmi obou symbiontů a komplexem podmínek vnějšího prostředí.“

■ Tvorba slizovitých extracelulárních látek polysacharidového charakteru je typickým znakem bakterií z rodu *Rhizobium*. Zájem o studium jejich produkce a složení (De Leizaola a Dedonder 1958, Humphreyová a Vincent 1959, Humphreyová 1959, Davis a Clapp 1961, Dudman 1964 a, b) je podporován na jedné straně úlohou, která je jim v poslední době přisuzována při objasňování chemismu infekčního procesu a vzniku kořenové hlízky (Ljunggren a Fåhræus 1959, 1961, Ljunggren 1961, Lange a Alexander 1961, Humphreyová a Vincent 1963), a na druhé straně podílem polysacharidů rhizobií a ostatních půdních mikroorganismů na stabilitě půdních agregátů (Clapp, Davis a Waugaman 1962, Gupta a Sen 1962, Davis a Heald 1964). Rhizobiální polysacharidy byly rovněž studovány z hlediska jejich vlivu na pomnožování fágů rhizobií a z hlediska jejich antigenních vlastností (Kleczkowski a Kleczkowski 1952, Dudman 1964 a).

V této práci jsme se pokusili o analýzu částečně purifikovaných extracelulárních slizů, produkovaných čtyřmi kmeny *Rhizobium japonicum* a o určení jejich základních komponent.

MATERIÁL A METODIKA

Ke studiu byly použity 4 kmeny *Rh. japonicum* (D 68, D 211, D 169 a D 339) ze sbírky mikroorganismů ÚVÚRV v Praze-Ruzyni.

Kultury byly kultivovány 5–10 dnů (podle intenzity růstu) na agarových deskách následujícího složení: K_2HPO_4 — 0,5 g, KNO_3 — 0,5 g, $MgSO_4$ — 0,2 g, NaCl — 0,2 g, $CaCO_3$ — 3 g, mannit — 10 g, agar — 15 g, H_2O destilovaná 1000 ml, pH před sterilací 7,2.

Nárůst z povrchu několika agarových ploten byl setřen do destilované vody, suspenze třepána 2 hodiny při 28° a centrifugována. Získaný supernatan byl lyofilizován. Lyofilizát byl znovu rozpuštěn v 10% roztoku NaCl a opět centrifugován. Takto získaný supernatan byl sražen dvěma objemy schladené a popřípadě okyselené směsi acetonu a etanolu (1:1) a sraženina ponechána přes noc v lednici. Sraženina byla oddělena od tekutiny navinutím na skleněnou tyčinku, znovu rozpuštěna v menším množství destilované vody, centrifugována a opět sražena dvěma objemy směsi acetonu a etanolu. Tento postup byl u každého polysacharidu opakován 4X. Po poslední preparaci byl polysacharid na vzduchu vysušen. Speciální deproteinisace nebyla prováděna.

HYDROLÝZA POLYSACHARIDOVÝCH PREPARÁTŮ

10 mg suchého preparátu bylo hydrolyzováno v 0,5 ml 2N H_2SO_4 v zatavených evakuovaných ampulích 5 hod. při 105° C. Hydrolyzát byl neutralizován koncentrovaným roztokem $Ba(OH)_2$, sraženina odcentrifugována, promyta destilovanou vodou,

opět centrifugována a nakonec celkový supernatan zahuštěn ve vakuu na cca 1/10 původního objemu.

CHROMATOGRRAFIE HYDROLYZÁTU

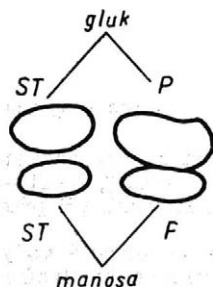
Neutralizovaný a zahuštěný hydrolyzát byl nanášen na chromatografický papír Whatman No. 4 a vyvíjen opakovaně sestupnou nebo kruhovou technikou v rozpustidlovém systému n-butanol : kyselina octová : voda (4 : 1 : 5 nebo 6 : 1 : 2). Po vysušení byly chromatogramy detegovány buď 3% roztokem p-anisidinchloridu v n-butanolu nebo difenylamin-anilinovým reagens a sušeny při 105°C 5–10 min. (Hais a Macek 1964).

ELEKTROFORÉZA NA PAPÍRU

Pro elektroforézu byly použity pásy chromatografického papíru Whatman No. 4 délky 35 cm a šířky 4 cm, borátový pufr podle Palitzschera o pH 8,6 (Sýkora a Zátka 1960, Galos a Ostrowski 1954), napětí 335 V a proudu 10 mA. Po 2hod. vyvíjení a vysušení byly skvrny detegovány stejnými činidly jako u chromatografie.

VÝSLEDKY A DISKUSE

D-211



Na chromatogramu hydrolyzátu polysacharidu kmene D 211 bylo možno detegovat pouze 2 skvrny, jejichž pohyblivost jak v rozpustidlovém systému n-butanol : kyselina octová : voda (1 : 4 : 5) tak v téměř stejném systému při poměrech 6 : 1 : 2 se příliš nelišily, a jak bylo možno dokázat při použití standardu, šlo o skvrny galaktózy a mannózy. Obě skvrny byly v obráceném poměru pohyblivosti detegovány i na elektroforeogramu (obr. 1) a při použití standardu označeny rovněž jako glukóza a mannóza. Obdobné výsledky byly získány i z hydrolyzátu dalších tří studovaných polysacharidových preparátů kmenů D 68, D 169 a D 339. Jiné komponenty se při použití výše popsaných metodik nepodařilo zjistit. Vzájemné poměry elektroforetické pohyblivosti obou zjištěných komponent jsou v zásadě shodné s výsledky Galose a Ostrowského (1954), kteří stanovili elektroforetické pohyblivosti v borátovém pufru u řady cukrů.

Orientačně byl rovněž stanoven vzájemný poměr glukózy a mannózy v polysacharidovém preparátu kmene D 211 za předpokladu, že jmenované komponenty jsou jedinými cukernými složkami polysacharidů. Elektroforeogram byl proměřován na registračním a integračním přístroji ERI 10. Grafickým vyhodnocením dosažené křivky byl relativní obsah glukózy stanoven na 74 % a mannózy na 26 %.

Zatímco glukóza jako hlavní složka byla nalezena v hydrolyzátech polysacharidů izolovaných z kmenů *Rh. meliloti*, *Rh. leguminosarum*, *Rh. phaseoli*, *Rh. japonicum* a *Rh. lupini* (Hopkins, Peterson a Fred 1930, Schluchterer a Stacey 1945, Kleczkowski a Kleczkowski 1952, De Leizaola a Dedonder 1958, Humphreyová a Vincent 1959,

* MAN
GL
* POL
D-211

Dudman 1964), zastoupení dalších cukrů nebo jejich derivátů se liší jak podle druhů studovaných kultur, tak i podle kmenů téhož druhu. Zatímco Humphreyová a Vincent (1959) zjistili v hydrolyzátech extracelulárních polysacharidů *Rh. meliloti* pouze glukózu, Dudman (1964) našel u dvou kmenů téhož druhu i galaktózu a další neidentifikované cukry v menších množstvích. Fruktóza byla zjištěna pouze v jediném případě (Kleczkowski a Kleczkowski 1952), a to u kmene *Rh. trifolii*.

Značná pozornost byla věnována přítomnosti hexuronových kyselin — převážně kyseliny glukuronové, jejíž přítomnost byla prokázána v extracelulárních slizích řady kmenů různých druhů rhizobií v různém poměru, ale nezdá se být pravděpodobné, že by její přítomnost byla typická pro ten či onen druh rhizobií (Hopkins, Peterson a Fred 1931, Schluchterer a Stacey 1945, Kleczkowski a Kleczkowski 1952, Humphreyová a Vincent 1959, Davis, Clapp a Waugaman 1962, Davis a Heald 1964).

O složení extracelulárního polysacharidu kmenů *Rh. japonicum* existuje jen několik málo prací (De Leizaola a Dedonder 1958, Clapp, Davis a Waugaman 1962). De Leizaola a Dedonder (1958) našli v polysacharidu *Rh. japonicum* glukózu, galaktózu, rhamnózu, mannózu a další neznámou látku, nezjistili však uronovou kyselinu, jejíž přítomnost zaznamenali Clapp et al. (1962) u jednoho ze dvou studovaných kmenů v celkovém množství 12 %. Přítomnost nebo nepřítomnost jednotlivých cukerných složek a kyseliny uronové ve studovaných polysacharidech (vedle glukózy, která byla vždy přítomná) je možno vysvětlit v zásadě dvěma způsoby; buď je složení polysacharidů závislé na složení kultivačního media, nebo vlivem preparace jsou stanoveny i ty cukerné složky, které jsou součástí buněk.

V našem případě, vzhledem k relativně vysokému obsahu, se nezdá být pravděpodobné, že zjištěná mannóza byla pouze kontaminantou a ne přímou složkou polysacharidů.

SOUHRN

1. Bylo studováno složení částečně purifikovaných slizů, produkovaných čtyřmi kmeny *Rh. japonicum*.

2. Hydrolyzované polysacharidové preparáty byly studovány chromatograficky a pomocí elektroforézy na papíru.

3. Jako jediné cukerné složky v hydrolyzátech všech čtyř preparátů byly při použití výše popsanych metod zjištěny glukóza a mannóza.

4. Orientačně byl obsah glukózy v hydrolyzátu polysacharidu kmene D 211 stanoven na 74 % a mannózu na 26 %.

Literatura

1. CLAPP, C. E. - DAVIS, R. J. - WAUGAMAN, S. H.: The effect of rhizobial polysaccharides on aggregate stability. = „Soil Sci. Soc. Amer. Proc.“, 1962, č. 26, s. 466-469. — 2. DAVIS, R. J. - CLAPP, C. E.: Preparation of purified polysaccharides from *Rhizobium*. = „Appl. Microbiol.“, 1961, č. 9, s. 519-524. — 3. DAVIS, R. J. - HEALD, W. R.: Formation of clay mineral-rhizobial polysaccharide gels and their measurement by torque viscometry. = „Soil Sci. Soc. Amer. Proc.“, 1964, č. 28, s. 203-205. — 4. DE LEIZAOLA, M. - DEDONDER, R.: Étude de la synthèse enzymatique d'un polyside complexe produit par une souche de *Rhizobium japonicum*. IV. Congr. Intern. Bioch., Wien, sect. 10, 122, 1958. — 5. DUDMAN, W. F.: Immune

diffusion analysis of the extracellular soluble antigens of two strains of *Rhizobium meliloti*. = „J. Bacteriol.“, 1964a, č. 88, s. 782-794. — 6. DUDMAN, W. F.: Growth and extracellular polysaccharide production by *Rhizobium meliloti* in defined medium. = „J. Bacteriol.“, 1964b, č. 88, s. 640-645. — 7. GALOS, B. - OSTROWSKI, W.: Electrophoretic separations of sugars and their derivatives. = „Bull. Acad. Polon. Sc.“, Cl. II, II, 1954, s. 61-65. — 8. GUPTA, K. G. - ABHISWAR SEN: Aggregation of soil due to growth of *Rhizobium* sp. from some common, cultivated legumes. = „Soil. Sci.“, 1962, č. 94, s. 345-348. — 9. HAIS, I. M. - MACEK, K.: Papírová chromatografie. NČSAV, Praha, 485, 1954. — 10. HOPKINS, E. W., PETERSON, W. H. - FRED, E. B.: Composition of the gum produced by root nodule bacteria. = „J. Amer. Chem. Soc.“, 1930, č. 52, s. 3659. (Citováno podle Humphreyové a Vincenta, 1959). — 11. HOPKINS, E. W. - PETERSON, W. H. - FRED, E. B.: Glucuronic acid, a constituent of the gum of root nodule bacteria. = „J. Amer. chem. Soc.“, 1931, č. 53, s. 306. (Citováno podle Humphreyové a Vincenta 1959). — 12. HUMPHREY BEVERLEY A.: Occurrence of 4-0-methyl glucuronic acid in *Rhizobium* gums. = „Nature“, 1959, č. 184, s. 1802. — 13. HUMPHREY BEVERLEY, A. - VINCENT, J. M.: Extracellular polysaccharides of *Rhizobium*. = „J. gen. Microbiol.“, 1959, č. 21, s. 477-484. — 14. HUMPHREY BEVERLEY, A. - VINCENT, J. M.: Polysaccharide fractions and transformation in *Rhizobium*. = „Nature“, 1963, č. 199, s. 927. — 15. KLECZKOWSKI J. - KLECZKOWSKI, A.: Effect of specific polysaccharides from the host bacteria and of ribonuclease on the multiplication of rhizobium phages. = „J. gen. Microbiol.“, 1952, č. 7, s. 340-349. — 16. LANGE, R. T. - ALEXANDER, M.: Anomalous infections by *Rhizobium*. = „Can. J. Microbiol.“, 1961, č. 7, s. 959. — 17. LJUNGGREN, H.: Transfer of virulence in *Rhizobium trifolii*. = „Nature“, 1961, č. 191, s. 623. — 18. LJUNGGREN, H. - FAHRAEUS, G.: Effect of rhizobium polysaccharide on the formation of polygalacturonase in lucerne and clover. = „Nature“, 1959, č. 184, s. 1578-1579. — 19. LJUNGGREN, H. - FAHRAEUS, G.: The role of polygalacturonase in root-hair invasion by nodule bacteria. = „J. gen. Microbiol.“, 1961, č. 26, s. 521-528. — 20. SCHLUCHTERER, E. - STACEY, M.: The capsular polysaccharide of *Rhizobium radicicola*. = „J. chem. Soc.“, 1945: 776. (Citováno podle Humphreyové a Vincenta 1959). — 21. SÝKORA, V. - ZÁTKA, V.: Příruční tabulky pro chemiky. SNTL, Praha, 1960.

Состав полисахаридных слизей, вырабатываемых штаммами *Rhizobium japonicum*

А. Резюме

1. Изучался состав частично пурифицированных слизей, являющихся продуктом четырех штаммов *Rh. japonicum*.
2. Гидролизированные полисахаридные препараты изучались хроматографическим путем и при помощи бумажного электрофореза.
3. В качестве единственных компонентов сахара в гидролизатах всех четырех препаратов были при помощи вышеописанных методов установлены глюкоза и манноза.
4. Содержание глюкозы в гидролизате полисахарида штамма D 211 было ориентировочно установлено в объеме 74 %, маннозы — 26 %.

Б. Текст к рисункам

1. Электрофореграмма гидролизата полисахарида штамма D - 211

The Composition of the Polysaccharide Gum Produced by Strains of *Rhizobium japonicum*

A. Summary

1. The author studied the composition of partly purified gum produced by four strains of *Rhizobium japonicum*.
2. Hydrolyzed polysaccharide preparations were being studied chromatographically and by means of paper electrophoresis.
3. Glucose and mannose were the only two sugar components determined by means of the mentioned methods in the hydrolyzates of the four preparations mentioned above.

4. For orientation purposes, the glucose content in the polysaccharide hydrolyzate of the D-211 strain was fixed at 74 per cent and the mannose content at 26 per cent.

B. Text to Figure

1. Electrophoregram of the hydrolyzate of the polysaccharide of the D-211 strain.

Die Zusammensetzung von Polysaccharid-Schleimen, die von den Stämmen des *Rhizobium japonicum* produziert werden

A. Zusammenfassung

1. Die Zusammensetzung von den teilweise purifizierten, von vier Stämmen des *Rh. japonicum* produzierten Schleimen wurde untersucht.

2. Hydrolysierte Polysaccharid-Präparate wurden chromatographisch und mittels Papier-Elektrophorese untersucht.

3. In den Hydrolysaten sämtlicher vier Präparate wurden bei der Anwendung von den oben beschriebenen Methoden die Glukose und Mannose als einzige Zuckerkomponenten ermittelt.

4. Der Gehalt an Glukose im Hydrolysat des Polysaccharides des Stammes D 211 wurde orientationsmäßig in einer Höhe von 74 % und an Mannose 26 % festgestellt.

B. Text zur Abbildung

1. Elektrophoreogramm des Polysaccharid-Hydrolysates des Stammes D-211.

Adresa autora:

Vladimír Škrdl et al., prom. biolog, Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, odd. půdní mikrobiologie, Praha-Ruzyně 507

Ukázka zpracování hesla o antagonismu v mikrobiologii z prvního svazku NAUČNÉHO SLOVNÍKU ZEMĚDĚLSKÉHO (šestisvazkové dílo vydá ÚVTI). Autor hesla, dr. Miloslav Staněk, se kromě jiného zabývá antagonistickými účinky, kterými se vyznačuje velké množství bakterií, aktinomycet i hub, žijících v půdě, v rhizosféře i na povrchu nadzemních částí rostlin.

„Zvlášť významná je činnost antagonistů v rozkládající se organické hmotě (např. v kompostech). Antagonisté zeslabují nebo ničí zárodky choroboplodných mikrobů, znesnadňují přístup fytopatogenům k rostlinám a ozdravují půdu. Buňky některých parazitických hub a bakterií jsou ničeny v půdě velmi záhy. Tak např. *Ervinia aroideae* hyne v půdě vlivem antagonistů již po 3—15 dnech. Naproti tomu trvalé spory některých patogenů přežívají v půdě i několik let (např. zoosporangia *Synchytrium endobioticum* — původce rakoviny bramborů). Velký význam mají antagonisté žijící v přikořenové zóně rostlin. Tak v rhizosféře vojtěšky a jetele žije velký počet mykologických bakterií, které očišťují půdu od parazitů z rodu *Fusarium* a *Verticillium*. Mechanismus antagonistů na fytopatogenní mikroorganismy je různý. Mnoho z nich produkuje antibiotické látky, někteří rozpouštějí buňky parazitů pomocí enzymů, jiné působí nepříznivě na parazity pouze tím, že mění životní podmínky mikrobů v živném prostředí. Účinnost antagonistů je specifická. Jednotlivé druhy působí pouze na úzký okruh hub a bakterií.

Využití antagonistů bylo studováno zvlášť intenzivně v SSSR. Používá se různých metod: 1. bakterizace nebo fungizace semen, při které se nanáší suspenze buněk antagonistů na povrch semen při předseťové přípravě (např. mykolytické bakterie se osvědčily při bakterizaci semen lnu, bramborových hlíz aj. k ochraně před fuzarijním vadnutím); 2. biologických kompostů, obohacených velkým počtem buněk antagonistických mikrobů (zapravením kompostu obsahujícího antagonistické aktinomycety do půdy se např. podařilo snížit počet napadených rostlin bavlníku o 80 %); 3. vhodně volených agrotechnických opatření, kterými lze podpořit rozvoj antagonistických mikroorganismů v půdě. K očištění půd od patogenních hub způsobujících vadnutí nebo hnilobu kořenů se např. doporučuje zařadit do osevního postupu jetel nebo vojtěšku. Aktivita antagonistů v půdě se zvyšuje častou orbou a po použití zeleného hnojení. V menších pokusech se osvědčil i postřik rostlin zředěnou suspenzí buněk antagonistických bakterií. Uplatnění preparátů obsahujících antagonistické mikroorganismy závisí velmi na podmínkách vnějšího prostředí. Proto se prozatím v širší praxi preparáty antagonistů nepoužívají. Mnohem více se v poslední době počínají uplatňovat antibiotika — produkty metabolismu antagonistů. Z čs. antibiotických preparátů se osvědčil Fytostrept (streptomycin a aureomycin) a Fungicidin.“

V další části tohoto obsáhlého hesla se autor zabývá jednotlivými druhy této velké skupiny mikroorganismů a praktickým využitím jejich působení ve prospěch zemědělské výroby.

První svazek NAUČNÉHO SLOVNÍKU ZEMĚDĚLSKÉHO vyjde v prvním čtvrtletí 1966 v rozsahu 1100 tisk. stran a bude obsahovat hesla A—D. Hesla budou doplněna 1100 černobílými ilustracemi (pérovkami a fotografiemi) a 64 barevnými přílohami včetně map. Cena prvního svazku Naučného slovníku zemědělského v celoplošné vazbě je 95 Kčs.

■ Půdně mikrobiologické analýzy vycházejí buď z půdních vzorků přirozeně vlhkých, nebo ze vzorků na vzduchu vyschlých. Druhý případ je dokonce častější. Používání zeminy na vzduchu vyschlé je odůvodňováno nutností vycházet při postupném zpracování vzorku z materiálu, jenž své vlastnosti během doby nemění. To znamená, že zatímco u zeminy přirozeně vlhké se správně předpokládá, že v ní během uskladnění probíhají biologické a biochemické procesy, je zemina na vzduchu vyschlá považována za biologicky nečinnou a proto neměnnou. Pro takový předpoklad však není žádný důvod, neboť řada pozorování dokazuje, že i zemina na vzduchu vyschlá je biologicky a biochemicky aktivní.

Problematickou biologické a biochemické činnosti zeminy na vzduchu vyschlé se zabýval již Buddin (1914), jenž zjistil, že i krátkodobé vysušení zeminy způsobuje zvýšení intenzity nitrifikace po ovlhčení vzorku a jeho inkubaci. U nás se vlivem vysoušení zeminy na její biologickou činnost zabýval Káš (1926). Jeho zajímavá a podnětná práce však ve své době nenašla patřičnou odezvu. Stejný osud však stihl i práci Waksmana a Starkeye (1931), kteří zjistili, že ponecháme-li zeminu po určitou dobu v suchém stavu a potom ji ovlhčíme a inkubujeme, je intenzita nitrifikace tím větší, čím delší dobu byla půda v suchém stavu. V poslední době se problematikou biologické a biochemické aktivity zeminy na vzduchu vyschlé zabývala řada autorů (Harpstead a Brage 1958, Birch 1959, 1960, Domergue 1962, Munro a Mac Kay 1964, Seifert 1965). Všichni celkem shodně dokládají, že zemina na vzduchu vyschlá je biologicky i biochemicky aktivní. Představa o biologické nečinnosti zeminy na vzduchu vyschlé je však tak vžita, že jsme považovali za užitečné přinést další důkazy prokazující její nesprávnost. Při tom jsme se zaměřili na dva ukazatele činnosti půdy, tj. její biogennost a intenzitu nitrifikace.

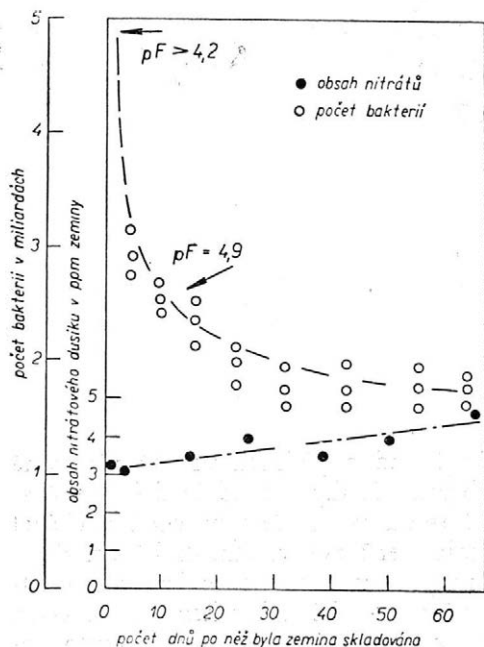
METODIKA A MATERIÁL

Biogennost jsme vyjadřovali počtem bakterií. Tyto jsme počítali pomocí přímé metody s použitím fluorescenčního mikroskopu (Seifert 1958). Nitráty byly stanoveny ve vzorcích vodou nasycených na 60 % plné vodní kapacity a inkubovaných po 14 dnů v termostatu při 22°C. Stanovení bylo provedeno pomocí fenoldisulfonové kyseliny. Hodnoty pF byly stanoveny modifikací Mitscherlichovy metody s použitím příslušné koncentrovaných roztoků solí (Smolík 1957).

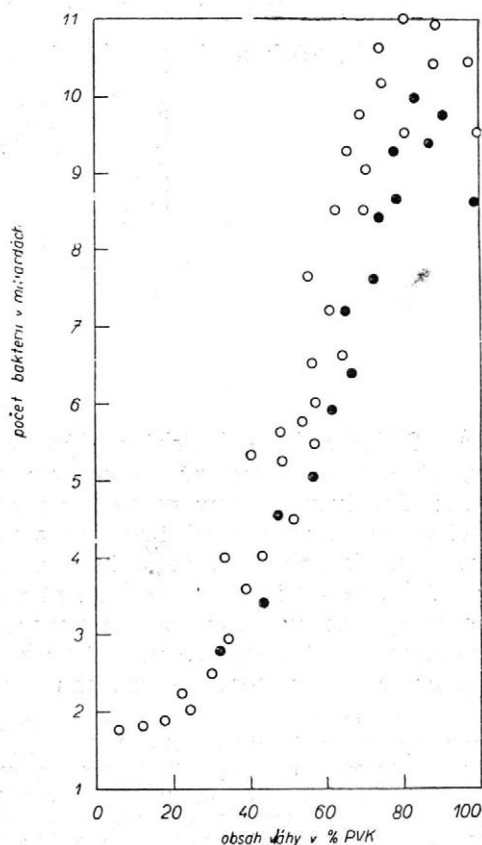
Vliv vyschnutí jsme studovali na třech půdách. Dvě byly rendziny: jedna z Kódy u Srbska, druhá z Prokopského údolí. Třetí byla aluviální půda z lužního lesa u Libice nad Cidlinou.

VÝSLEDKY

Nejdříve jsme pozorovali změny, které nastávají v počtu bakterií a obsahu nitrátů během vysoušení a skladování půdy. Zjistili jsme, že počet bakterií bě-



1. Vliv vysušení zeminy z Kódy na její biogenost a obsah nitrátů



2. Vliv vysušení zeminy z Kódy na její biogenost při opětovném ovlhčení

○ biogenost zeminy před vysušením
● biogenost v zemině v suchém stavu 3 měsíce skladované a znovu ovlhčené

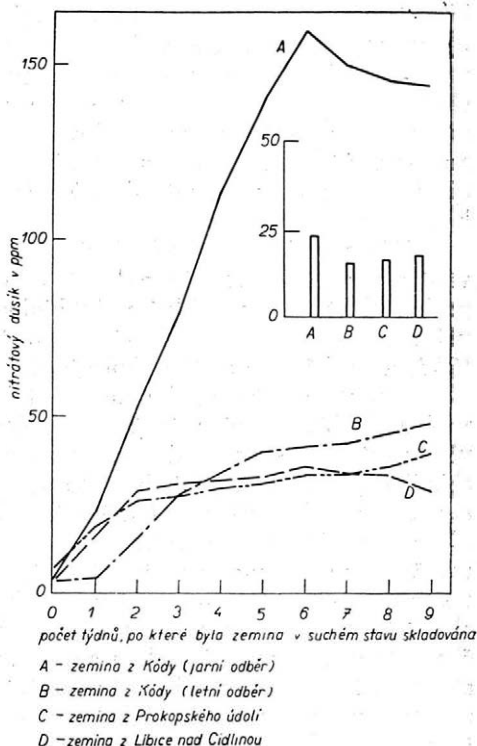
hem vysychání zeminy klesá a jakmile se zemina ustálí na konečné hodnotě vláhy, ustálí se i počet bakterií. Obsah nitrátů naproti tomu jak během vysychání, tak i během skladování stoupá, a to potud, dokud pF zeminy je vyšší než 5,4 (obr. 1). Dále jsme se zabývali otázkou, do jaké míry ovlivní vyschnutí zeminy její biogenost při následujícím ovlhčení. Zjistili jsme, že s postupující dobou uchování vzorku v suchém stavu se biogenost při následujícím ovlhčení snižuje. Snížení však není příliš velké (obr. 2).

Svou pozornost jsme věnovali především otázce, jak ovlivňuje délka doby uskladnění zeminy v suchém stavu intenzitu nitrifikace při následujícím ovlhčení. Zjistili jsme celkem shodně u všech vzorků a u všech odběrů, že s přibývajícím délkou doby uskladnění zeminy intenzita nitrifikace stoupá. Přírůstek je nejdřív velmi prudký, potom pomalejší. U některých půd dojde časem k ustálení intenzity, popřípadě i k jejímu poklesu (obr. 3). Zvýšení intenzity nitrifikace v důsledku ponechání zeminy v suchém stavu je u různých půd různé a značné rozdíly jsou i u těžé půdy při různých odběrech. Například půda z Kódy vykazovala v jarním odběru maximální hodnotu 160 ppm N/NO_3 [ve vzorku přirozeně vlhkém a uvedeném na 60 % plné vodní kapacity 22 ppm N/NO_3], kdežto v letním jen 40 ppm, ačkoliv vzorek nevysušený dával hodnotu 15 ppm. I když z materiálu, který máme k dispozici, nelze činit žádné větší závěry, je

3. Změny v intenzitě nitrifikace vyvolané vysušením zeminy. Na vloženém obrázku je intenzita nitrifikace v týchž zeminách, ponechaných bez vysušení

přesto možno konstatovat, že jarní odběry vykazovaly vcelku větší zvýšení intenzity po vysušení než vzorky z léta a podzimu. Podobně vzorky, jež při odbírání měly vyšší obsah vláh, vykazovaly zpravidla vyšší zvýšení intenzity nitrifikace než vzorky odebrané v době, kdy půda měla nižší obsah vody.

Vzhledem k poslednímu zjištění jsme se pokusili zjistit vliv vláh na pozdější intenzitu nitrifikace orientačním pokusem. Zeminu, která obsahovala při odběru malé množství vláh (23 % PVK), jsme rozdělili na tři díly. První jsme ponechali beze změny, druhý jsme ovlhčili na 60 % PVK a třetí na 80 % PVK. Takto upravenou zeminu jsme ponechali 48 hodin a pak jsme vzorky vysoušečem rychle vysušili na obsah vláh odpovídající relativní vlhkosti laboratoře. Na vzduchu vysušenou zeminu jsme potom 14 dní skladovali. Na to jsme ji ovlhčili na 60 % PVK a inkubovali. Po 14denní inkubaci jsme stanovili přírůstek nitrátů. Obdobně jsme stanovili intenzitu nitrifikace v zemině skladované 60 dnů. Výsledek je uveden v tabulce I.



I. Intenzita nitrifikace v zemině z Kódy, nasycené před vysušením na různý obsah vláh (hodnoty v ppm N/NO₃)

Doba uskladnění	Zemina nasycena na		
	23 % PVK	60 % PVK	80 % PVK
14 dnů	77,3	100,4	45,8
60 dnů	80,0	115,2	95,0

Pokus ukázal, že obsah vody v zemině před jejím vysušením má vliv na následující nitrifikaci. Otázka sama však bude vyžadovat další podrobnou studii.

DISKUSE

Naše výsledky přinášejí přesvědčivé důkazy o tom, že zemina na vzduchu vyschlá je biologicky aktivní a v důsledku toho mění své chemické složení i svou biologickou skladbu. Změny, jež v zemině nastávají, mohou být dosti

hluboké a jejich rozsah závisí na době skladování zeminy v suchém stavu. Biogenost zeminy na vzduchu vyschlé a její intenzita nitrifikace vykazují značné odchylky ve srovnání se zeminou přirozeně vlhkou. Vzhledem k této skutečnosti je třeba si položit otázku, zda je nadále přípustné považovat zeminu na vzduchu vyschlou za vhodný výchozí materiál pro půdně mikrobiologické analýzy. Abychom mohli na uvedenou otázku jednoznačně odpovědět, je třeba si předem ujasnit hlavní cíle půdně mikrobiologických analýz a možnosti, jak k těmto cílům dospět.

Většina půdně mikrobiologických analýz je v podstatě zaměřena na zjišťování stavu půdy, půdní úrodnosti a na poznání dynamiky hlavních biogenních prvků. Cesty, jichž půdní mikrobiologové k poznání stavu a vlastností půdy užívají, jsou v podstatě dvojí. První z nich lze označit jako studia symptomatická, a druhé jako studia ekologická.

Symptomatická studia se snaží charakterizovat půdu na základě vhodně zvolených biologických jevů, jež slouží jako symptomy, tj. příznaky půdních vlastností nebo stavu půdy. Takovým symptomem může být např. počet mikrobů, skladba půdní mikrobiální biocenózy, druhové složení a rozsah fyziologických skupin mikrobů, různé půdně mikrobiologické testy, zachycující biochemickou aktivitu půdy, enzymatická aktivita a podobně. Tato studia jsou v podstatě založena na poznání souvislosti, jež existuje mezi určitým stavem nebo vlastnostmi půdy a mezi určitým jevem, jehož podstata je mikrobiologická. Přitom jev sloužící za symptom nemusí být vždy účasten na vytváření uvedeného stavu či vlastnosti. Tak například za symptom intenzity mineralizace považujeme běžně stupeň nitrifikace, ačkoliv nitrifikační proces sám již není součástí mineralizačních procesů. Jsou-li však okolnosti vhodné pro nitrifikaci, bývají vhodné i pro mineralizační procesy vůbec.

Naproti tomu podstata ekologických studií tkví v poznávání mikrobiálních společenstev půdy, jejich činnosti, jakož i v poznání vlivů ekologických faktorů na ně. Cílem ekologických studií je poznání podstaty a rozsahu biologických a biochemických procesů v přirozené půdě. Posuzování stavu a vlastností půdy se zde provádí na základě poznání vzájemného vztahu, který existuje mezi mikrobiálními společenstvy a prostředím.

Uvážíme-li si, že podstatou symptomatických studií je pouze vzájemná souvislost jevů, nemůžeme v zásadě nic namítat proti použití zeminy na vzduchu vyschlé k mikrobiologickým analýzám. Je však třeba mít na paměti dvě věci: 1. výchozí materiál je v tomto případě proměnný, 2. naměřené hodnoty neodpovídají skutečným, tj. hodnotám v půdě. U studií ekologických, kde je cílem přiblížit se co nejvíce k poznání stavu, jaký existuje v přirozené půdě, je zemina na vzduchu vyschlá jako výchozí materiál k půdně mikrobiologickým analýzám nevhodná.

Z Á V Ě R

Sledování biogenosti a intenzity nitrifikace v zemině na vzduchu vyschlé a po určité době znovu ovlhčené ukázalo, že zemina na vzduchu vyschlá nemůže být považována za biologicky a biochemicky neměnnou. Zatím co větší změny v biogenosti nastávají až po několikaměsíčním skladování zeminy v suchém stavu, je intenzita nitrifikace ovlivněna nejvíce v prvních 4 týdnech skladování zeminy. Intenzita nitrifikace v zemině na vzduchu vyschlé dosáhla až sedminásobku hodnoty získané v zemině bez vysušení.

Došlo dne 13. 9. 1955

Literatura

1. BIRCH, H. F.: Further observations on humus decomposition and nitrification = „Plant Soil“, 1959, č. 11, s. 262-286. — 2. BIRCH, H. F.: Nitrification in soils after different periods of dryness. = „Plant Soil“, 1960, č. 12, s. 81-96. — 3. BUD-DIN, W.: Note on the increased nitrate content of a soil subjected to temporary drying in the laboratory. = „J. Agr. Sci.“, 1914, č. 6, s. 452-455. — 4. DOMMERGUE, Y.: Contribution à l'étude de la dynamique microbienne des sols en zone semi-aride et en zone tropicale sèche. Nantes 1962. — 5. HARPSTEAD, M. I. - BRAGE, B. L.: Storage of soil samples and its effect upon the subsequent accumulation of nitrate nitrogen during controlled incubation. = „Soil Sci. Soc. Amer. Proc.“ 1958, č. 22, s. 326-328. — 6. KAŠ, V.: Příspěvek k vysvětlení fyziologicky různého chování půdy vlhké, vyschlé a několikrát vysoušené. = „Sborník ČSAZ“, 1926, č. 1, s. 89-152. — 7. MUNRO, D. C. - MAC KAY, D. C.: Effect of incubation method and storage conditions on nitrate production of incubated soil samples. = „Soil Sci. Soc. Amer. Proc.“, 1964, č. 28, s. 778-781. — 8. SEIFERT, J.: Ispořizovanije fluorescentnoj mikroskopii v mikrobiologii počv. = „Počvovedenije“, 1958, č. 2, s. 50-54. — 9. SEIFERT, J.: Ecology of soil microbes. Acta Univ. Carolinae Biologica, 1965, s. 245-272. — 10. SMOLIK, L.: Pedologie. Praha 1957. — 11. WAKSMAN, S. A. - STARKEY, R. L.: The soil and the microbe. New York, London 1931.

Влияние высыхания почвы на биогенность и интенсивность нитрификации

A. Резюме

Мы изучали вопрос, какие изменения вызывает высыхание почвы при лабораторной температуре на его биогенность и на интенсивность нитрификации. Мы установили, что в результате высыхания биогенность понижается. Содержание нитратов в высушенной почве, наоборот, возрастает. В том случае, когда почва в сухом состоянии хранится долгое время, а потом увлажняется, биогенность в увлажненной почве не достигает тех величин, которые грунт имел до сушки. В противоположность тому интенсивность нитрификации такой почвы повышается. В сравнении с интенсивностью нитрификации в почве, не высушенной при одинаковом насыщении влагой, интенсивность нитрификации увеличивается до семи раз.

Сушка взятой весной почвы как правило имеет своим последствием большие приросты нитратов, чем высыхание почвы летнего и осеннего взятия. Также там, где при взятии почва содержала больше влаги, высыхание воздействует на интенсивность нитрификации сильнее. В порядке опыта было доказано, что почвенный образец, который был сначала насыщен разным количеством влаги, а затем высушен, обладает разной интенсивностью нитрификации — в зависимости от степени насыщения влагой.

Б. Текст к таблице

I. Интенсивность нитрификации почвы, взятой из Коды и насыщенной до высыхания разным количеством влаги (величины даны в ppm (NO₃)).

1. Влияние высыхания взятой из Коды почвы на её биогенность и содержание нитратов. На приложенной диаграмме дана интенсивность нитрификации тех же почв, не подверженных высыханию.

The Effect of Soil Drying on the Number of Bacteria and the Degree of Nitrification

A. Summary

The changes in the number of bacteria and in the degree of nitrification in the air-dried soil samples were investigated. It has been shown, that the prolonged storage of soil samples under air-dried conditions effects the accumulation of nitrate nitrogen and the increase in the degree of nitrification during subsequent laboratory incubation. On the contrary the number of bacteria under these conditions decreases. The increase of nitrification degree in the remoistened soil samples reached even seven times higher values, compared with values reached from the not air-dried soil samples. The number of bacteria in the remoistened soil samples was a little lower than that in the fresh soil samples if the water content of both cases was the same. The degree of nitrification was influenced by water content in the soil in the time of the sampling. The soils sampled in the spring showed, as a rule,

a greater increase in nitrate accumulation when air-dried, than the soil samples taken in summer and autumn. The influence of the degree of the moisture in the soil samples before their drying on the subsequent nitrate production has been established experimentally. The degree of nitrification was proportional to the degree of the previous moisture content.

B. Text to Table

I. Nitrification intensity as determined in soil samples, saturated to degrees of moisture content before drying. (The values are quoted in ppmN/NO₃).

C. Text to figures

1. Effect of drying of soil samples on the number of bacteria and nitrate content.
2. The effect of drying of soil samples on the number of bacteria after subsequent remoistening.
3. Variations of the degree of nitrification occasioned by soil drying. The inserted figure shows the nitrification degree in the soil samples not air-dried.

Einfluß des Austrocknens von Bodenproben auf die Zahl von Bakterien und auf die Nitrifikations-Intensität

A. Zusammenfassung

Man verfolgte die Änderungen der Bakterienzahl und die Nitrifikations-Intensität, die durch das Austrocknen der Bodenproben bei Labortemperatur entstehen. Dabei wurde festgestellt, daß die Zahl von Bakterien infolge des Austrocknens herabgesetzt wird. Im Gegenteil steigt der Nitratengehalt in ausgetrockneter Erde. Falls die Erde in trockenem Zustand längere Zeit gelagert und sodann angefeuchtet wird, erreicht die Zahl von Bakterien des angefeuchteten Bodens nicht den Wert, den die Erde vor dem Austrocknen besaß. Demgegenüber wird die Intensität der Nitrifikation in einer solchen Erde erhöht. Im Vergleich zur Nitrifikations-Intensität einer Erde, die vor der Inkubation nicht ausgetrocknet wurde, und die bei gleicher Sättigung mit Wasser inkubiert wurde, ist die Erhöhung der Nitrifikations-Intensität bis siebenfach.

Das Austrocknen von der im Frühjahr entnommenen Erde hat in der Regel höhere Nitraten-Zunahmen zur Folge im Vergleich zum Austrocknen der Erde von den Entnahmen im Sommer und im Herbst. Auch in dem Falle, wo die Erde bei der Entnahme einen höheren Wassergehalt aufwies, wirkt das Austrocknen auf die Nitrifikations-Intensität in höheren Maße. Durch den Versuch brachten wir einen Beweis, daß eine, auf verschiedenen Wassergehalt gesättigte und sodann ausgetrocknete Erdprobe, verschiedene Intensität der Nitrifikation je nach dem Sättigungsgrad aufweist.

B. Text zur Tafel

I. Nitrifikations-Intensität eines Bodens aus Kóda, die vor dem Austrocknen auf verschieden Wassergehalt gesättigt wurde. (Werte in ppm N/NO₃).

C. Text zu den graphischen Darstellungen

1. Einfluß des Austrocknens von Boden aus Kóda auf die Zahl von Bakterien und auf den Nitratengehalt.
2. Einfluß des Austrocknens des Bodens aus Kóda auf ihre biogenetische Kapazität bei wiederholter Anfeuchtung.
3. Änderungen der Nitrifikations-Intensität, die durch das Austrocknen von Erde hervorgerufen wurden. Die beiliegende graphische Darstellung zeigt die Nitrifikations-Intensität in denselben Bodenproben die ohne Austrocknen blieben.

Adresa autorů:

Profesor dr. Jaromír Seifert, CSc., Přírodovědecká fakulta KU, katedra fyziologie rostlin a biologie půdy, Praha 2, Viničná 7

Zora Mrázková, prom. bioložka, Přírodovědecká fakulta KU, katedra fyziologie rostlin a biologie půdy, Praha 2, Viničná 7

■ Při opakovaném pěstování některých plodin na stejném pozemku dochází k poklesu výnosů a ke zhoršení zdravotního stavu rostlin. Rostliny jsou za tohoto stavu náchylnější k napadnutí i jen příležitostně patogenními organismy. Tento stav se nedá odstranit hnojením. V takových případech mluvíme o únavě půdy. S únavou půdy se často setkáváme ve sklenících, při pěstování motýlkovitých rostlin apod. Mnoho pozornosti bylo mimo jiné věnováno jetelové únavě půdy. Četní badatelé přičítají jetelovou únavu půdy mikroorganismům. Při opakovaném pěstování rostlin na stejném pozemku dochází vlivem dlouhodobého působení rhizosféry rostlin postupně ke zužování specifické rhizosféry mikroflóry. Tím se hromadí produkty výměny látek mikrobů i rostlin a otravují prostředí, ve kterém se vyvíjejí rostliny. V důsledku toho také činnost rhizosféry mikroflóry slábne (Káš 1946, 1955, 1962). Krasilnikov a Garkina (1946) dokázali, že toxické látky, které potlačují růst některých mikrobů a růst červeného jetele na půdách stížených jetelovou únavou, jsou produkovány mikroorganismy, především nesporelujícími bakteriemi. Další autoři, jak uvádí Krasilnikov (1958), zjistili, že mezi mikroby inhibitory je možno počítat kromě některých bakterií také některé aktinomycety a houby. Určitou nepříznivou úlohu zde mohou jistě mít i vyšší organismy, jako jsou např. hádátka, která již jen mechanickým poškozením kořenů mohou otevřít přístup do živých orgánů rostliny i takovým mikrobům, které běžně nejsou patogenní. Rovněž fyzikální a chemické podmínky v půdě mohou ovlivnit vznik jetelové únavy půdy. Podle Krasilnikova aj. (1955) jsou k únavě náchylnější podzolované půdy.

Předložená práce se zabývá otázkou, zda-li je možno sterilaci půdy změnit její mikrobiální osídlení tak, aby při opětovném pěstování červeného jetele byl jeho vývoj ve sterilované půdě lepší než v půdě nesterilované.

MATERIÁL A METODIKA

Ke studiu otázky byl založen v r. 1956 pokus v Mitscherlichových nádobách se zeminou odebranou na pozemcích, na kterých byl v předcházejícím roce pěstován červený jetel v monokultuře jako hlavní plodina. V pokusu byly použity tyto půdy: 1. Podzolovaná půda z pozemku státního statku ve Valečově. 2. Hnědozem z pozemku šlechtitelské stanice v Soudné u Jičína. 3. Hnědozem z pozemku školního statku v Červeném Újezdě. 4. Černozem z pozemku státního statku v Líbeznicích.

Zemina byla odebrána z orniční vrstvy. Ze zeminy byly odstraněny kořeny jetele a jiné makroskopické organické zbytky, aby byl vyloučen vliv těchto látek (Kubista 1962, 1963, 1964, 1965). Zemina byla proseta sítím s otvory 1 cm a čerstvá — nevysušená — rozdělena do Mitscherlichových nádob a ovlhčena na 60 % vodní

I. Obsah živin ve zkoumaných půdách

Označení půdy	pH	CaCO ₃ v %	Obsah živin v mg/100 g				Organické látky v %
			P ₂ O ₅	K ₂ O	N veškerý	N přijatelný	
Valečov	5,6	—	6,2	9,1	110	5,31	2,87
Soudná u Jičina	6,95	stopy	6,9	20,4	160	8,47	2,62
Červený Újezd	7,2	stopy	6,7	11,5	100	4,88	2,32
Líbeznice	7,5	1,24	8,7	23,0	190	5,86	4,28

kapacity. Zeminy byly podrobeny chemickému rozboru a výsledky jsou uvedeny v tabulce I.

Od každé zeminy bylo naplněno 10 nádob, pět z nich sterilováno v autoklavu 2 hodiny při přetlaku 1,5 atm. Čtyři nádoby sterilované a čtyři nádoby nesterilované od každého typu půdy byly osety semeny červeného jetele, dvě zbývající zůstaly pro kontrolu neoseté. Do každé nádoby bylo vysazeno 30 semen Jičínského jetele ze šlechtitelské stanice v Soudné u Jičina. Semena byla očkovaná agarovou kulturou *Rhizobium trifolii* Km J 104/55 z mikrobiologického oddělení ÚVÚRV v Ruzyni.

Po vzejití rostlin a jejich dobrém počátečním vývoji bylo ponecháno v jedné nádobě 15 jedinců. Během celého vegetačního období byla udržována požadovaná vlhkost, a to jak v nádobách osetých, tak i v nádobách neosetých. Vývoj rostlin byl normální a byl sledován 5 měsíců. Po skončení vegetačního období byla sklizena z každé nádoby nadzemní hmota a ze dvou nádob každé řady byla vyplavena kořenová hmota. Zjišťována byla délka rostlin a váha sušiny.

MIKROBIOLOGICKÉ SLEDOVÁNÍ

V průběhu pokusu byly třikrát odebrány vzorky půdy k mikrobiologickému rozboru: v den setí (28. 5.), při plném vývoji rostlin (14. 8.) a při sklizni (24. 10.). Vzorky byly odebrány jak z nádob osetých, tak i z nádob neosetých, aby bylo možno posoudit rhizosférický efekt červeného jetele. Vzorky byly zpracovány obvyklým způsobem a množství mikrobů zjištěno metodou deskovou: bakterie, aktinomycety a sporulující bakterie (spory) na Thorntonově agaru, hnilobné bakterie na MPA, houby na Jensenově agaru.

VÝSLEDKY A DISKUSE

VLIV STERILACE PŮDY NA VÝNOS ČERVENÉHO JETELE

Účelem pokusu bylo zjistit, zdali při předcházejícím pěstování jetele došlo k nežádoucímu rozvoji mikrobů inhibujících růst rostlin červeného jetele. Předpokládali jsme, že tepelnou sterilací budou tyto mikroby zničeny a vývoj rostlin selepší. Výsledky jsou uvedeny v tabulce II a v diagramu č. 1. Zjištěné hodnoty ukazují, že vyhrátí půdy neodstranilo jetelovou únavu půdy. Ve dvou vzorcích hnědozemě byl vývoj jetele v nesterilované půdě dokonce lepší než v půdě sterilované. V podzolované půdě po sterilaci došlo k nápadnějšímu zlepšení vývoje kořínků, avšak nadzemní části nebyly podstatněji ovlivněny. Jedině ve sterilované černozemní půdě z Líbeznice byl vývoj jetele lepší než v půdě nesterilované a proto bychom mohli soudit, že sterilací byla tato půda oždravena. O ostatních třech půdách tento názor nelze vyslovit.

II. Vliv sterilace půdy na růst červeného jetele
(Průměrné hodnoty z jedné vegetační nádoby)

Označení půdy	Váha sklizně		Výška nadzemní části		Váha kořenů	
	g suš.	%	v mm	%	g suš.	%
Valečov						
nesterilovaná	13,25	100	170	100	6,24	100
sterilovaná	12,82	96	170	100	7,67	122
Soudná u Jičina						
nesterilovaná	17,74	100	178	100	6,25	100
sterilovaná	15,64	88	171	96	5,38	91
Červený Újezd						
nesterilovaná	9,92	100	156	100	5,07	100
sterilovaná	5,03	51	135	86	2,61	51
Líbeznice						
nesterilovaná	7,46	100	132	100	3,85	100
sterilovaná	9,56	128	165	125	4,19	123

Poznámka: U váhy kořenů je uvedena průměrná hodnota ze 2 nádob.

VLIV STERILACE PŮDY NA DYNAMIKU MIKROORGANISMŮ

Výsledky jsou uvedeny v tabulce III a v grafech č. 1—8. Je v nich vyjádřen vliv sterilace půdy a vliv rhizosféry rostlin na množství mikroorganismů v jednotlivých sledovaných skupinách v květnu, v srpnu a v říjnu.

Z tabulky III i z grafů je zřejmé, že celková tendence vývoje množství mikroorganismů je zhruba ve všech případech stejná. Sterilace způsobila pochopitelně silný pokles množství mikroorganismů při rozboru v květnu proti množství zjištěnému v nesterilované půdě a ovlivnila i množství mikroorganismů zjišťované při dalších rozbořech. Ve sterilovaných půdách dochází v období od května do srpna ve všech skupinách, v půdách osetých i neosetých, k silnému vzestupu množství mikroorganismů. Toto množství v některých skupinách dále stoupá, v jiných klesá. Pokles v období od srpna do října byl zaznamenán především ve skupině hub a sporulujících bakterií.

V půdách nesterilovaných a neosetých dochází většinou k poklesu nebo jen k mírnému vzestupu množství mikroorganismů v srpnu, načež v říjnu byl zjištěn pokles množství ve všech půdách a zjišťovaných skupinách.

Ve všech nesterilovaných osetých půdách zjišťujeme v srpnu vzestup množství bakterií hnilobných, bakterií na Thorntonově agaru, aktinomycet i sporulujících bakterií. U hub byl zaznamenán pokles. V dalším období stoupá ve všech půdách jen množství spor a dále klesá množství hub. Další vzestup množství bakterií a aktinomycet byl zaznamenán jen v půdě ze Soudné u Jičina. V půdě z Líbeznice stoupá ještě množství aktinomycet. V ostatních případech došlo k mírnému poklesu.

Přehledněji můžeme vliv sterilace na množství mikrobů vyjádřit efektem sterilace, což je podíl množství mikrobů v nesterilované zemině z množství mikrobů zjištěného ve sterilované zemině a je vyjádřeno desetinným číslem.

Půda	Datum	Neosetá									
		nesterilovaná					sterilovaná				
		houby	hnilob. bakter.	bakt. celk. počet	akti- nomy- cety	spor. bakt.	houby	hnilob. bakter.	bakt. celk. počet	akti- nomy- cety	spor. bakt.
Hnědozem ze Soudné u Jičina	28. 5.	1262	11 690	9 223	759	550	200	1 352	4 446	439	0,5
	14. 8.	339	8 389	10 374	886	669	642	23 182	30 244	1835	320
	24. 10.	94	5 166	7 322	620	1218	584	22 029	29 673	2549	298
Hnědozem z Červeného Újezda	28. 5.	272	3 450	2 530	226	635	20	32	169	99	36
	14. 8.	138	2 596	6 631	593	336	236	16 889	35 491	645	195
	24. 10.	19	1 838	5 047	507	289	131	14 500	34 100	760	77
Černozem z Líbeznic	28. 5.	211	5 885	4 708	2010	235	125	11	241	50	68
	14. 8.	89	6 765	7 895	3803	387	389	25 640	27 385	4820	521
	24. 10.	32	3 656	6 432	3500	365	29	20 870	25 050	5070	536
Podzol z Valečova	28. 5.	203	1 743	3 335	365	243	150	1 457	1 578	241	0,5
	14. 8.	81	1 135	3 118	135	291	1587	9 196	5 559	726	280
	24. 10.	40	388	493	262	764	649	8 550	4 762	1134	55

Hodnoty efektu sterilace menší než 1,0 znamenají snížení množství mikrobů ve sterilované zemině, hodnoty větší než 1,0 zvýšené množství mikrobů ve sterilované zemině ve srovnání s množstvím v zemině nesterilované. Sterilaci je také ovlivněn rhizosférický efekt, proto je efekt sterilace vypočten zvlášť pro půdy oseté a zvlášť pro půdy neoseté. Hodnoty jsou uvedeny v tabulce IV.

Ve všech půdách byla hodnota efektu sterilace v květnu nižší než 1. V dalším období se vlivem sterilace zvyšuje množství mikrobů v půdě sterilované proti množství v půdě nesterilované a proto také hodnota efektu sterilace je vyšší než 1. Nejvyšších hodnot dosáhl tento efekt v neosetých půdách. Zvýšení efektu sterilace si můžeme vysvětlit známou skutečností, že sterilací se uvolní určité množství organických látek jednak z odumřelých mikrobů, jednak z komplexů půdní organické hmoty, což umožní silné rozmnožení těch mikrobů, které sterilaci přežily (Barthel 1918, Newhall 1958). Nejvyšších hodnot dosáhl efekt sterilace ve skupinách hnilobných bakterií a u bakterií zjišťovaných na prostředí podle Thorntona. To svědčí o tom, že sterilací byla skutečně půdní organická hmota zpřístupněna. Absolutně nejvyšších hodnot efektu sterilace bylo dosaženo v neosetě podzolované půdě z Valečova u mikrobů využívajících snadno přístupné organické látky. Efekt sterilace v této půdě u hnilobných bakterií

Osetá									
nesterilovaná					sterilovaná				
houby	hnilobné bakterie	bakt. celk. počet	aktinomy-cety	spor. bakt.	houby	hnilobné bakterie	bakt. celk. počet	aktinomy-cety	spor. bakt.
1262	11 690	9 223	759	550	200	1 352	4 446	439	0,5
473	15 709	23 640	1883	1981	832	65 837	74 892	1355	367
350	24 472	35 470	3425	3775	665	84 690	92 530	1444	376
272	3 450	2 530	226	635	20	32	169	99	36
120	14 195	15 430	538	826	295	26 289	49 326	690	180
98	13 220	10 460	461	949	106	25 340	53 050	880	53
211	5 885	4 708	2010	235	125	11	241	50	68
140	11 432	20 615	4456	643	456	32 863	31 820	4360	465
92	9 240	18 100	6300	1271	45	29 320	23 670	5800	501
203	1 743	3 335	365	243	150	1 457	1 578	241	0,5
189	5 562	8 421	678	291	635	29 342	18 345	2325	196
150	2 990	3 800	270	382	844	28 240	16 670	3290	44

dosáhl hodnoty 22, u bakterií na Thorntonově agaru 9, u hub 19, u aktinomy-cet 5. Hodnotami efektu sterilace se této půdě blíží půda z Červeného Újezda. Efekt sterilace u sporulujících bakterií byl s výjimkou půdy z Líbeznic u všech půd při všech rozborech nižší než 1.

Při bližším porovnání hodnot efektu sterilace hnilobných bakterií a bakterií na Thorntonově agaru v neosetých půdách s hodnotami obsahu živin v těchto půdách můžeme pozorovat určitou nepřímou závislost. Čím nižší je obsah živin v půdě, tím vyšší jsou hodnoty efektu sterilace u bakterií hnilobných a u bakterií na prostředí podle Thorntona. Je to způsobeno zřejmě tím, že lehce přístupné živiny uvolněné sterilací z organické hmoty jsou jednou z rozhodujících podmínek, které zvyšují množství mikroorganismů v určité době po sterilaci ve sterilované půdě. V neosetých půdách je tento vliv nejvýraznější. V osetých půdách se uplatňuje vedle vlivu sterilace ještě vliv rostlin. Tento vliv spočívá především v tom, že rostliny vylučují svými kořeny do rhizosféry organické látky (Grümm er 1955, Krasilnikov 1958 aj.), které stimulují množení některých mikroorganismů, čímž se efekt sterilace snižuje. Tomu také odpovídají celkově nižší hodnoty tohoto efektu ve všech osetých půdách. Přesto však i zde pozorujeme již zmíněnou nepřímou závislost mezi obsahem

IV. Efekt sterilace

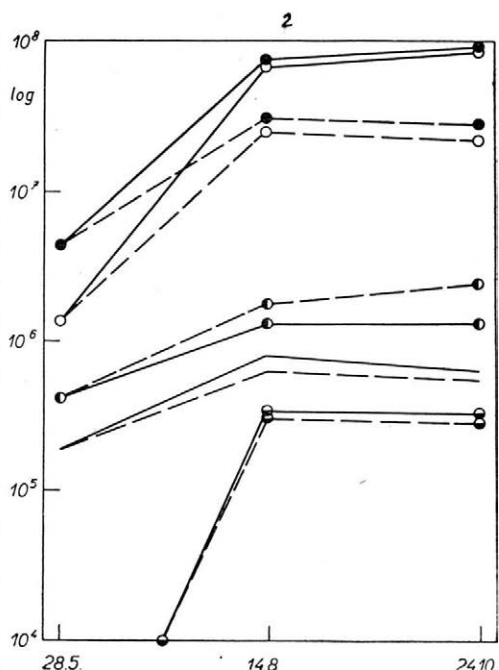
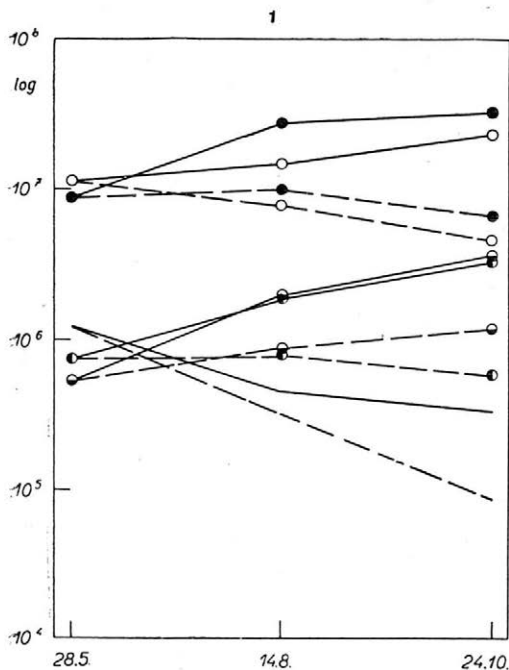
Druh půdy	Datum	Neoseté					Oseté				
		houby	hnilob. bakt.	bakt. celk. počet	akti-nomy-cety	spor. bakt.	houby	hnilob. bakt.	bakt. celk. počet	akti-nomy-cety	spor. bakt.
Hnědozem ze Soudné u Jičina	28. 5.	0,16	0,11	0,48	0,60	0,001	0,16	0,11	0,48	0,60	0,001
	14. 8.	1,89	2,76	2,91	2,07	0,48	1,76	4,19	3,17	0,72	0,18
	24. 10.	6,21	4,26	4,05	4,11	0,24	1,90	3,46	2,61	0,42	0,10
Hnědozem z Červ. Újezda	28. 5.	0,07	0,01	0,01	0,44	0,06	0,07	0,009	0,01	0,44	0,06
	14. 8.	1,85	6,50	5,35	1,09	0,58	2,46	1,85	3,21	1,28	0,22
	24. 10.	6,89	7,89	6,76	1,50	0,27	1,08	1,92	5,07	1,91	0,05
Černozem z Líbeznic	25. 8.	0,59	0,002	0,05	0,02	0,29	0,59	0,002	0,05	0,02	0,29
	14. 8.	4,37	3,79	3,47	1,27	1,35	3,26	2,87	1,54	0,98	0,72
	24. 10.	0,74	5,70	3,89	1,45	1,47	0,49	3,17	1,31	0,92	0,39
Podzol z Valečova	25. 8.	0,73	0,83	0,47	0,66	0,002	0,73	0,83	0,47	0,66	0,002
	14. 8.	19,59	8,10	1,78	5,38	0,96	3,36	5,27	2,18	3,43	0,67
	24. 10.	16,22	22,04	9,66	4,33	0,85	4,29	9,44	4,39	12,18	0,11

živin v půdě a hodnotou efektu sterilace. Tuto závislost i v osetých půdách můžeme nejmarkantněji vidět u aktinomycet. Tak například v půdě z Valečova a z Červeného Újezda je hodnota efektu sterilace u aktinomycet vyšší než 1, zatímco v půdě z Líbeznic a ze Soudné u Jičina je nižší než 1. Podobně tomu odpovídá tento efekt i ve skupině bakterií zjišťovaných na Thorntonově agaru a ve skupině hub. Efekt sterilace u sporulujících bakterií byl ve všech případech nižší než 1.

Vliv sterilace se projevil i ve výši rhizosférického efektu. Pod pojmem rhizosférický efekt, jak jej vyjádřil Katznelson (1946), rozumíme poměr množství mikroorganismů v rhizosférické půdě k množství mikroorganismů v půdě neovlivněné kořeny rostlin ($R : S$). Rhizosférický efekt je vyšší v chudších půdách, nižší v prostředí bohatším na živiny. Z tabulky V je zřejmé, že typ půdy velmi podstatně ovlivňuje hodnotu rhizosférického efektu. Nejvyšší rhizosférický efekt byl zjištěn v podzolané půdě z Valečova a nejnižší v černozemní půdě z Líbeznic. Černozemní půda měla také nejvyšší množství organických látek (4,28 %), takže množství mikroorganismů bylo i v neoseté černozemi podporováno vyšším obsahem půdního humusu a vliv dalších ústrojných látek vylučovaných kořeny jetele se již tak silně neprojevil. Obě hnědozemní půdy ovlivňovaly rhizosférický efekt přibližně shodně. Nejvyšší hodnota tohoto efektu byla zjištěna ve skupinách bakterií rostoucích na MPA a na Thorntonově agaru, protože na těchto

V. Rhizosférický efekt červeného jetele v různých půdách

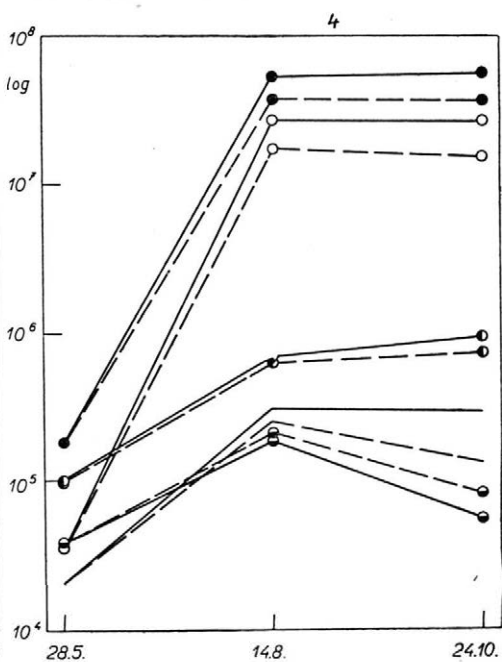
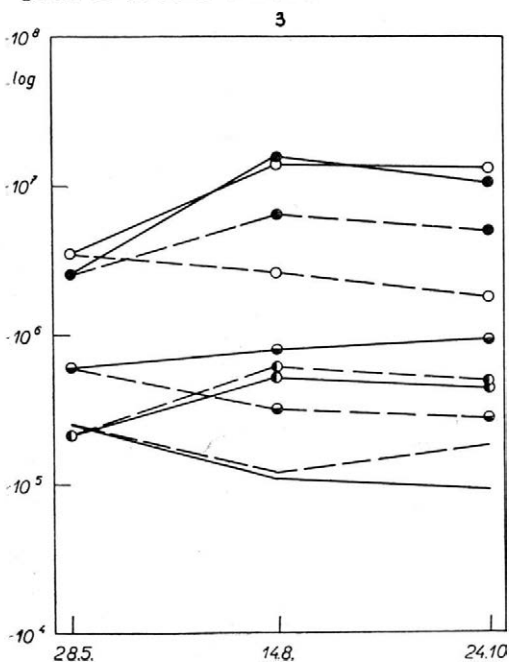
Půda	Datum	Nesterilovaná							Sterilovaná						
		houby	hnilob. bakt.	bakt. celk. počet	akti- nomy- cety	spor. bakt.	průměr		houby	hnilob. bakt.	bakt. celk. počet	akti- nomy- cety	spor. bakt.	průměr	
Hnědo- zem ze Soudné	14. 8.	1,3	1,8	2,7	2,1	2,9	2,1	3,2	1,2	2,8	2,4	0,7	1,1	1,6	1,8
	24. 10.	3,7	4,7	4,8	5,5	3,1	4,3		1,1	3,8	3,1	0,5	1,2	1,9	
Hnědo- z Červ. Újezda	14. 8.	0,8	5,4	2,3	0,9	2,4	2,3	3,2	1,2	1,5	1,3	1,9	0,9	1,3	1,4
	24. 10.	6,3	7,1	2,0	0,9	3,4	3,9		2,3	1,7	1,5	1,1	0,6	1,4	
Černo- zem z Líbeznic	14. 8.	1,5	1,6	2,6	1,1	1,6	1,7	2,2	1,1	1,2	1,1	0,9	0,8	1,0	1,1
	24. 10.	2,8	2,5	2,8	1,8	3,4	2,6		1,5	1,4	0,9	1,1	0,9	1,2	
Podzol z Vale- čova	14. 8.	2,2	4,9	2,7	5,0	1,0	3,2	4,0	0,4	3,2	3,3	3,2	0,7	2,2	2,3
	24. 10.	3,7	7,7	7,7	4,3	0,5	4,8		1,3	3,3	3,5	2,9	0,8	2,4	
Ø		2,7	4,4	3,4	2,7	2,2			1,2	2,3	2,1	1,5	0,8		



—●— houby ○—○ hnilobné (MPA) ●—● bakterie (Thornton) ○—○ aktinomycey ●—● sporulující
 — v půdě oseté - - - v půdě neoseté

1. Množství mikrobů v nesterilované půdě ze Soudné u Jičina

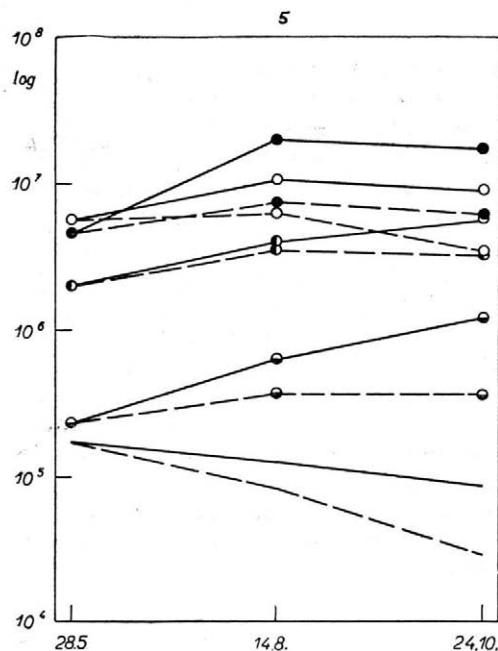
2. Množství mikrobů ve sterilované půdě ze Soudné u Jičina



—●— houby ○—○ hnilobné (MPA) ●—● bakterie (Thornton) ○—○ aktinomycey ●—● sporulující
 — v půdě oseté - - - v půdě neoseté

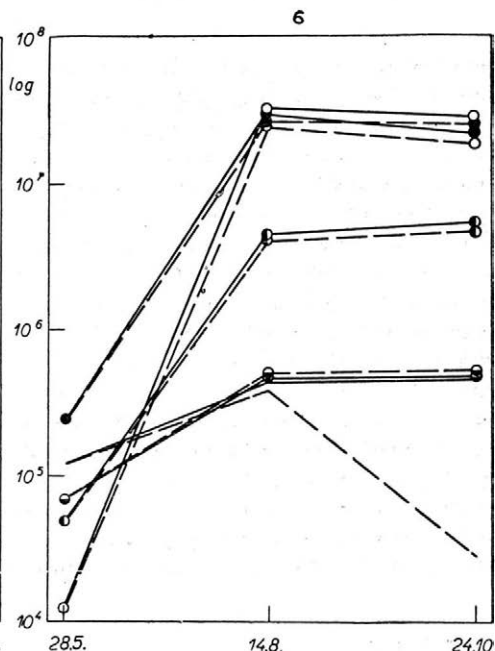
3. Množství mikrobů v nesterilované půdě z Červeného Újezda

4. Množství mikrobů ve sterilované půdě z Červeného Újezda

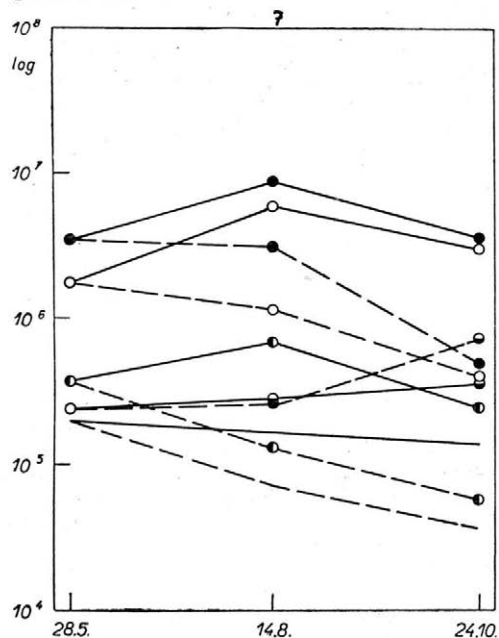


— houby ○—○ hnilobné (MPA) ●—● bakterie (Thornton) ○—○ aktinomycety ●—● sporulující
 — v půdě oseté --- v půdě neoseté

5. Množství mikrobů v nesterilované půdě z Libeznic

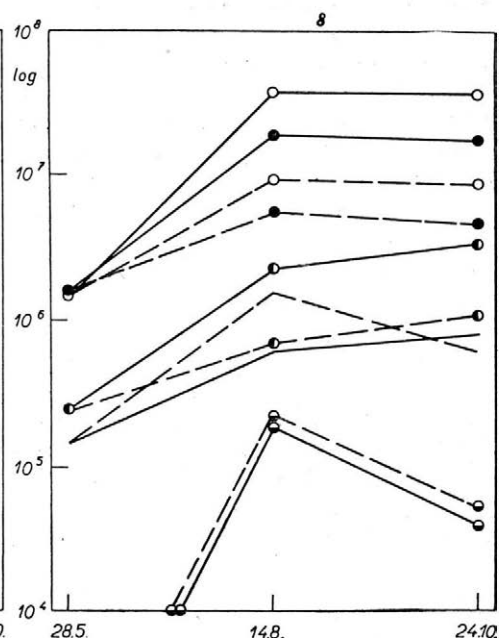


6. Množství mikrobů ve sterilované půdě z Libeznic



— houby ○—○ hnilobné (MPA) ●—● bakterie (Thornton) ○—○ aktinomycety ●—● sporulující
 — v půdě oseté --- v půdě neoseté

7. Množství mikrobů v nesterilované půdě z Valečova



8. Množství mikrobů ve sterilované půdě z Valečova

prostředích rostou nejčastěji zástupci rhizosféry mikroflóry – rodů *Pseudomonas* a *Mycobacterium*, neaktivněji využívající kořenové výměšky rostlin. Rhizosféry efekt byl ovlivněn také stářím rostlin. Za období od srpna do října, ačkoli u aktinomycet rhizosféry efekt klesl, došlo v průměru ke zvýšení rhizosféry efektu. Podstatný vzestup hodnoty rhizosféry efektu byl v půdách nesterilovaných, kde dosáhl průměrného zvýšení až o 2,2. Ve sterilovaných půdách stáří rostlin nemělo takový vliv a bylo dosaženo slabého zvýšení rhizosféry efektu v průměru jen o 0,3. Toto zvýšení se týká především půdy ze Soudné u Jičína, v ostatních půdách bylo zvýšení rhizosféry efektu menší. Srovnáme-li naše výsledky o vlivu sterilace parou na hodnotu rhizosféry efektu s výsledky Katznelsona a Richardsona (1943), získané po sterilaci zeminy formalinem a chlorpikrinem, zjišťujeme, že sterilace zeminy parou snižuje hodnotu rhizosféry efektu, zatímco sterilace zeminy chemickými prostředky hodnotu tohoto efektu zvyšuje. Znamená to, že v rhizosféře se chemikálie rychleji odbourávají, kdežto v půdě neovlivněné kořeny působí chemikálie delší dobu a brzdí rozvoj mikroflóry. Dále to také znamená, že pára za krátkou dobu svého působení zvýší ve větší míře než chemikálie množství přístupných živin pro mikroorganismy v půdě.

SOUHRN

V práci byl sledován vliv sterilace černozemě, dvou hnědozemí a jedné podzolované půdy na dynamiku rhizosféry mikroflóry a na výnos červeného jetele. Vzorky zeminy byly odebrány na pozemcích, na kterých byl v předcházejících letech pěstován červený jetel. Účelem práce bylo zjištění, zdali se sterilací zeminy parou odstraní únava půdy, která se dostavuje při dlouhodobém pěstování červeného jetele na stejném místě. Zemina byla sterilovaná v autoklavu. Sterilace se na výnosu jetele neprojevila tak nápadně, aby se mohlo říci, že odstranila jetelovou únavu. Sterilace změnila podmínky života mikroorganismů, což se projevilo v jejich množství v průběhu pokusu. Těsně po sterilaci byly u všech skupin sledovaných mikroorganismů zjištěny podstatně nižší počty než v půdách nesterilovaných, ale v dalším průběhu bylo množství mikrobů téměř ve všech sledovaných skupinách vyšší než v půdě nesterilované. Efekt sterilace byl snížen vlivem rhizosféry. Ve sterilovaných půdách byl také snížen rhizosféry efekt. Rhizosféry efekt v nesterilovaných půdách se stárnutím rostlin zvýšil.

Došlo dne 29. 4. 1965

Literatura

1. BARTHEL, C.: Kulturen von Gärungsorganismen in sterilisierter Erde. = „Zentralblatt für Bakteriologie“, II. Abt, 1918, č. 40, s. 340-349. — 2. GRÜMMER, G.: Die gegenseitige Beeinflussung höherer Pflanzen - Allelopathie. Jena 1955. — 3. KÁŠ, V.: Příspěvek k biologii našich viničných půd. = „Sborník ČAZ“, XIX, 1946, č. 1/3. — 4. KÁŠ, V.: Předběžné výsledky pokusů s podkulturou ve vinicích. = „Sborník ČSAZV - Rostlinná výroba“, 28, 1955, č. 3/4. — 5. KÁŠ, V.: Komplexní charakter tzv. únavy půdy. = In: Sborník VŠZ. Praha 1962, s. 63-68. — 6. KATZNELSON, H.: The „rhizosphere effect“ of mangels on certain groups of soil microorganisms. = „Soil. Sci.“, 1946, č. 62, s. 343-354. — 7. KATZNELSON, H. and RICHARDSON, L.: The microflora of the rhizosphere of tomato plants in relation to soil sterilisation. = „Can. Journ. of research“, 1943, č. 21, s. 249. — 8. KRASILNIKOV, N. A.: Mikroorganizmy počvy i vyssije rastenija. Izdvo AN SSSR, Moskva 1958. — 9. KRASILNIKOV, N. A. - GARKINA, N. P.: Mikrobiologičeskije faktory utomlenija počv. = „Mikrobiologija“, 15, 1946, č. 2, s. 109-114. — 10. KRA-

SILNIKOV, N. A. - KORENJAKO, A. Z. - MIRČINK, T. G.: O toxikoze podzolizovaných pův. = „Izv. AN SSSR, Ser. biol.“, 1955, č. 3, s. 33-48. — 11. KUBISTA, K.: Vliv posklizňových zbytků červeného jetele na následnou plodinu. = In: Sborník VŠZ v Praze, 1963, s. 121-130. — 12. KUBISTA, K.: Příspěvek k vysvětlení mikrobiologické povahy únavy půdy. = In: Sborník VŠZ v Praze 1962, s. 69-73. — 13. KUBISTA, K.: Vliv některých mikrobů a výluhu z posklizňových zbytků červeného jetele na růst rostlin v aseptické kultuře. = In: Sborník VŠZ v Praze, 1964. — 14. KUBISTA, K.: The effect of organic nitrogenous substances on the germination of the seed and the growth of the seedlings. = „Plant Microbes Relationships.“ ČSAV Prague 1965. — 15. MIŠUSTIN, J. N. - TRISVJATSKIJ, L. A.: Mikroby i zerno. Moskva 1963. — 16. NEWHALL, A. G.: Disinfestation of soil by heat, flooding and fumigation. Ruský překlad, Izdvo inostr. lit. Moskva 1958.

Влияние стерилизации почвы на микрофлору в ризосфере и на урожай красного клевера

A. Заключение

В работе исследовалось влияние стерилизации чернозема, двух каштановых и одной подзолистой почвы на динамику ризосферной микрофлоры и на урожай красного клевера. Образцы почв были взяты с полей, на которых в прошлые годы выращивали красный клевер. Целью работы было—установить, можно-ли, путем стерилизации почвы паром удалить ее утомление, которое возникает при длительном выращивании красного клевера на одном и том же участке. Земля была простерилизована в автоклаве. Стерилизация не отразилась на урожае клевера так отчетливо, чтобы можно было говорить об устранении клевероутомления. Она изменила условия жизни микроорганизмов, что проявилось в изменении их количества в продолжение опыта. Непосредственно после стерилизации во всех группах исследованных микроорганизмов, было обнаружено их существенно меньшее количество, чем в нестерилизованных почвах. В дальнейшем течении опыта количество микробов почти во всех исследованных группах было выше, чем в почвах нестерилизованных. Под влиянием ризосферный эффект стерилизации снизился. В стерилизованных почвах ризосферный эффект снизился. В нестерилизованных почвах с возрастом растений ризосферный эффект увеличился.

B. Текст к таблицам

- I. Содержание питательных веществ в обследуемых почвах
- II. Влияние стерильности почвы на рост красного клевера (средние величины из одного вегетационного сосуда)
- III. Количество микроорганизмов в разных почвах (в тысячах в 1 г сухой почвы)
- IV. Эффект стерилизации
- V. Ризосферный эффект красного клевера в разных почвах

B. Текст к графикам

1. Количество микробов в нестерилизованной почве из Соудне у Йичина
2. Количество микробов в стерилизованной почве из Соудне у Йичина
3. Количество микробов в нестерилизованной почве из Червеного Уезда
4. Количество микробов в стерилизованной почве из Червеного Уезда
5. Количество микробов в нестерилизованной почве из Либезниц
6. Количество микробов в стерилизованной почве из Либезниц
7. Количество микробов в нестерилизованной почве из Валечова
8. Количество микробов в стерилизованной почве из Валечова

The Effect of Soil Sterilization on the Rhizosphere Microflora and on the Yield of Red Clover

A. Summary

The paper examines the effect of sterilization of chernozem, of two samples of brown earths and of one sample of a podsollic soil, on the dynamics of the rhizosphere microflora and on the yields of red clover. Samples of the mentioned soils were taken from lots on which red clover had been grown in the preceding years. The aim of the research was to establish whether steam sterilization was

capable of removing sickness occurring in plots where red clover was being cultivated for several years. The soil samples were sterilized in autoclaves. The effect of sterilization on the yield of clover was not so striking as to enable the investigator to assert that sterilization had removed soil sickness. Nevertheless, the sterilization modified the living conditions of the microorganisms. This fact in its turn influenced strikingly the latter's number in the course of the experiment. Immediately after sterilization had been completed, a substantially reduced number of microorganisms belonging to all investigated groups was established, in comparison with those of the non-sterilized soils. Later on, however, the numbers of investigated microorganisms in almost all groups grew higher in sterilized soils than in non-sterilized ones. The effect of sterilization weakened under the influence of the rhizosphere. Also in sterilized soils the rhizosphere effect was reduced. In the non-sterilized soils the rhizosphere effect was gradually rising in proportion to the ageing of the plants.

B. Text to Tables

- I. Nutrient content in the soils examined
- II. Effect of soil sterilization on the growth of red clover (average values taken from one vegetation pot)
- III. Amount of microorganisms in various soils (in thousands per 1 gram of dried-up soil)
- IV. Effect of sterilization
- V. The rhizospheric effect of red clover in various soils

C. Text to Graphs

1. Amount of microorganisms in non-sterilized soil originating from Soudná at Jičín
2. Amount of microorganisms in sterilized soil originating from Soudná at Jičín
3. Amount of microorganisms in non-sterilized soil originating from Červený Újezd
4. Amount of microorganisms in sterilized soil originating from Červený Újezd
5. Amount of microorganisms in non-sterilized soil originating from Líbeznice
6. Amount of microorganisms in sterilized soil originating from Líbeznice
7. Amount of microorganisms in non-sterilized soil originating from Valečov
8. Amount of microorganisms in sterilized soil originating from Valečov

Adresa autora:

Inž. Karel Kubista, CSc., Vysoká škola zemědělská, katedra mikrobiologie, Suchbátka u Prahy

■ Stále se rozšiřující používání chemických látek v ochraně rostlin nutí sledovat jejich event. nepříznivé vlivy na mikroflóru a mikrobiální pochody v půdě. Jedno z předních míst jak rozsahem použití, tak rostoucím počtem nových výrobků, zaujímají herbicidy. Přehled prací zabývajících se jejich vlivem na půdní mikroflóru uvádí D o m s c h (1963) a Z e m á n e k (1964). J u n g (1964) studoval vliv Pyraminu na respiraci a nitrifikaci půdy. Z nepatrného počtu domácích publikací je to práce Š k r d l e t y, V i n t i k o v é a Š r o g l a (1964), v níž autoři sledují citlivost rhizobií k jednotlivým herbicidům.

Z uvedených přehledných prací je zřejmý značný rozvoj výzkumu v tomto směru v zahraničí a značná stagnace v našem výzkumu. Je však zřejmé, že rozšíření výzkumu na tomto úseku je v nejbližší době nezbytné.

METODIKA

Pokusy byly konány s přípravkem Pyraminem, který obsahuje 80 % pyrazonu (= 1-fenyl-4-amino-5-chlorpyridazonem-6).

Zemina hnědozemního půdního typu neutrální reakce byla inkubována ve skleněných vanách při 28° C. V pokusu s respirací půdy byly sledovány čtyři varianty:

4,5 kg zeminy

4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy

4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy a 4 ppm Pyraminu

4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy a 40 ppm Pyraminu

V krátkých časových intervalech byla stanovena aktuální dýchací mohutnost a potenciální dýchací mohutnost pro dusík metodou upravenou N o v á k e m (1956).

V dalším pokusu, ve kterém byl sledován vliv Pyraminu na pochody probíhající při rozkladu peptonu, byly založeny tyto varianty:

4,5 kg zeminy

4,5 kg zeminy se 4,5 g peptonu

4,5 kg zeminy se 4,5 g peptonu a 40 ppm Pyraminu

Zemina ve všech variantách byla stejně ovlhčena a při každém rozboru stanovena sušina. Amoniakální dusík byl stanoven kolorimetricky s Nesslerovým činidlem, nitrátový dusík kolorimetricky s kyselinou fenoldisulfonovou.

Ovlivnění růstu čistých kultur amonizačních bakterií bylo sledováno komínkovou metodou na Petriho miskách s masopeptonovým agarem. Do každého komínku bylo pipetováno 0,01 ml roztoku Pyraminu s 0,4 % a 4% koncentrací. Kultury amonizačních bakterií byly izolovány z typických kolonií, vyskytujících se v zemině hnědozemního půdního typu v Ruzyni.

VÝSLEDKY

V grafu č. 1 je uveden vliv Pyraminu na aktuální dýchací mohutnost; jak se dalo předpokládat, zemina se slámou vykazuje podstatně vyšší dýchací mo-

hutnost než zemina bez přidání slámy. Maxima bylo dosaženo ve všech třech variantách se slámou již čtvrtý den po založení pokusu. Zřetelnější vliv Pyraminu se projevil pouze v prvních dnech po založení pokusu, a to tak, že nižší dávka (4 ppm) mírně snížila a vyšší dávka mírně zvýšila dýchací mohutnost půdy, porovnáme-li ji s variantou bez aplikace Pyraminu.

Téměř stejný průběh byl při sledování potenciální dýchací mohutnosti pro dusík (graf č. 2) s tím rozdílem, že se výraznější vliv Pyraminu neprojevil ani na počátku pokusu. Lze tedy říci, že v obou případech se stimulační ani inhibiční vliv Pyraminu téměř neprojevil.

I. Vliv Pyraminu na růst amonizačních bakterií

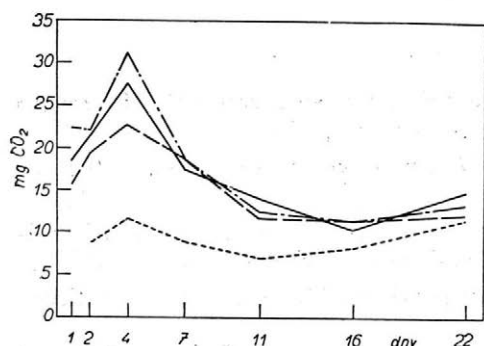
Kultura	Velikost inhibiční zóny v mm	Kultura	Velikost inhibiční zóny v mm
M 01	0	—	—
	0		—
M 02	0	M 7	0
	-2		0
M 03	0	M 8	0
	0		0
M 04	0	M 9	-3
	0		-4
M 05	0	M 10	0
	-1		0
M 06	-4-5	M 11	0
	-5-7		-3
M 07	-2	M 12	0
	-4		0
M 1	0	M 13	0
	0		0
M 2	0	M 14	0
	-1		0
M 3	0	M 16	0
	0		-1-3
M 4	0	M 18	0
	0		0
M 5	0	M 20	0
	0		0
M 6	0	M 21	0
	0		0
		M 22	0
			0
		M 23	0
			0

Z grafu č. 3 s uvedenými hodnotami amoniakálního dusíku vyplývá, že aplikace Pyraminu na průběh amonizace nepůsobila ani při vyšší dávce. Průběh křivek byl téměř shodný, ovšem podstatně se lišil od křivky s hodnotami zeminy kontrolní bez peptonu.

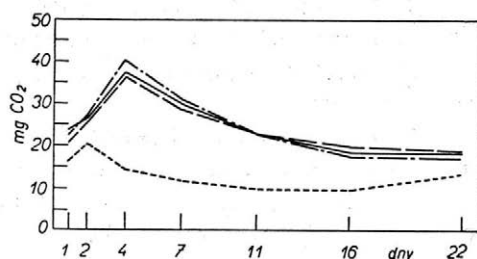
Z grafu č. 4, v kterém je uvedena tvorba nitrátového dusíku, je zřejmé mírné zvýšení množství nitrátů od sedmého dne po založení pokusu. Můžeme tedy i z těchto sledování usuzovat, že ani nitrifikace není Pyraminem potlačována.

Vliv Pyraminu na růst amonizačních bakterií uvádí tabulka I. Z této tabulky vyplývá, že pouze ve 3 případech jsme zjistili potlačení růstu bakterií.

Teprve desetinásobná koncentrace Pyraminu zvýšila počet případů na 8 z 28 použitých kultur.



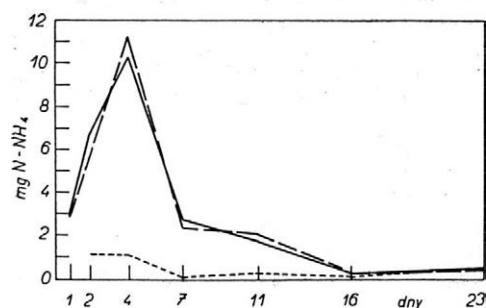
----- 4,5 kg zeminy
 — 4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy
 - - - 4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy a 4 ppm Pyraminu
 — 4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy a 4 ppm Pyraminu



----- 4,5 kg zeminy
 — 4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy
 - - - 4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy a 4 ppm Pyraminu
 — 4,5 kg zeminy s 22,5 g slámy a 4 ppm Pyraminu

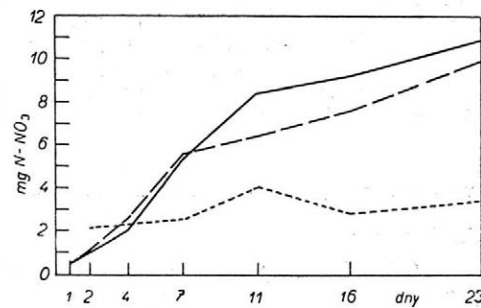
1. Vliv Pyraminu na aktuální dýchací mohutnost půdy

2. Vliv Pyraminu na potenciální dýchací mohutnost pro dusík



----- 4,5 kg zeminy
 — 4,5 kg zeminy se 4,5 g peptonu
 — 4,5 kg zeminy se 4,5 g peptonu a 4 ppm Pyraminu

3. Vliv Pyraminu na tvorbu amoniakálního dusíku



----- 4,5 kg zeminy
 — 4,5 kg zeminy se 4,5 g peptonu
 — 4,5 kg zeminy se 4,5 g peptonu a 4 ppm Pyraminu

4. Vliv Pyraminu na tvorbu nitrátového dusíku

DISKUSE

Předběžné výsledky získané v našich modelových pokusech dávají předpoklad, že dávka Pyraminu, běžná v zemědělské praxi, nepotlačuje mikrobiální pochody v půdě. Naše výsledky jsou v souladu i s výsledky provedených pokusů v zahraničí (Jung 1964). Na základě našich dalších pokusů dosud nepublikovaných lze předpokládat, že i inhibiční vliv Pyraminu na čisté kultury mikroorganismů je mnohem mírnější než řada dalších používaných herbicidů. Důležitým faktorem při použití herbicidů jsou přirozené podmínky při jejich použití v polních pokusech nebo zemědělskou praxí. V přirozených podmínkách se ještě více zmenšuje stimulační nebo inhibiční vliv použitých herbicidů. Tyto předběžné výsledky jsou počátkem soustavného a pravidelného sledování vlivu v praxi již zavedených neb perspektivních herbicidů na mikroflóru a mikrobiální pochody.

SOUHRN

1. V modelových laboratorních pokusech jsme sledovali vliv Pyraminu (80 % pyrazonu) na respiraci a rozklad peptonu v půdě.
2. Dýchací mohutnost půdy byla použitými dávkami Pyraminu ovlivněna velmi nepatrně.
3. Zvýšená dávka Pyraminu neovlivňovala průběh amonizace a od sedmého dne po založení pokusu mírně stimulovala tvorbu nitrátového dusíku.
5. Růst amonizačních bakterií byl v praxi používanou dávkou patlačen pouze u 3 z 28 sledovaných kultur.

Došlo dne 16. 9. 1965

Literatura

1. DOMSCH, K.: Einflüsse von Pflanzenschutzmitteln auf die Bodenmikroflora. Mitteilung aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Berlin-Dahlem, 1963, s. 107. — 2. JUNG, J.: Der Einfluß von Pyramin auf Bodenatmung und Nitrifikation. Vorträge anlässlich der wissenschaftlichen Aussprache über chemische Unkrautbekämpfung in Zuckerrüben mit Pyramin. Ludwigshafen am Rhein, 1964. — 3. NOVÁK, B.: Mikrobiologické pochody při tvorbě a rozkladu humusu z hlediska statkových hnojiv. = „Sborník ČSAZV-Rostlinná výroba“, 29, 1956, č. 9-10, s. 999-1032. — 4. ŠKRDLETA, V. - VINTIKOVÁ, H. - ŠROGL, M.: Citlivost hlízkových bakterií k některým herbicidům. = „Rostlinná výroba“, 10, 1964, č. 8, s. 827-834. — 5. ZEMÁNEK, J.: Herbicidy a půdní mikroorganismy. = „Studijní informace, půd. a mel.“, 1963, č. 10.

Влияние Пирамина на микробиальные процессы в почве

А. Резюме

1. В модельных лабораторных опытах нами изучалось влияние Пирамина на респирацию и разложение пептона в почве
2. Применяемые дозы Пирамина весьма мало влияли на дыхательную мощность почвы
3. Повышенная доза Пирамина не оказывала влияния на ход аммонизации и начиная с седьмого дня после закладки опыта она слабо стимулировала образование нитратного азота
4. Рост аммонифицирующих бактерий был задержан применяемой на практике дозой у трех из 28 изучаемых культур.

Б. Текст к таблице

1. Влияние Пирамина на рост аммонифицирующих бактерий

Текст к графикам

1. Влияние Пирамина на актуальную дыхательную мощность почвы
2. Влияние Пирамина на потенциальную дыхательную мощность для азота
3. Влияние Пирамина на образование аммиачного азота
4. Влияние Пирамина на образование нитратного азота.

The Effect of Pyramine on the Microbial Processes in Soil

A. Summary

1. In pattern laboratory experiments the authors examined the effect of Pyramine on the respiration and the disintegration of peptone in the soil.
2. The doses of Pyramine exerted but a very insignificant effect on the respiration capacity of the soil.
3. An increased dosis of Pyramine did not influence the course of the ammonification and from the seventh day after the start of the experiments this increased dosis stimulated the creation of nitrate nitrogen.
4. The growth of ammonifying bacteria was practically suppressed by the dosis with only three out of the 28 cultures examined.

B. Text to Table

1. Effect of Pyramine on the growth of ammonifying bacteria

C. Text to Graphs

- 1 Effect of Pyramine on the actual respiration capacity of the soil
2. Effect of Pyramine on the potential respiration capacity for nitrogen
3. Effect of Pyramine on the creation of ammonium nitrogen
4. Effect of Pyramine on the creation of nitrate nitrogen

Einfluß von Pyramin auf die mikrobiellen Vorgänge im Boden

A. Zusammenfassung

1. Bei Labor-Modellversuchen verfolgten wir den Einfluß von Pyramin auf die Respiration und Zersetzung von Pepton im Boden.
2. Die Respirationsintensität des Bodens wurde durch die angewandten Pyramin-Dosen nur geringfügig beeinflußt.
3. Eine erhöhte Pyramin-Dosis beeinflusste nicht den Verlauf der Ammonisation und stimulierte ein wenig die Bildung von Nitrat-Stickstoff vom siebenten Tag nach der Versuchsanstellung.
4. Das Wachstum von Ammonisationsbakterien wurde durch die in der Praxis angewandte Dosis nur bei drei von 28 verfolgten Kulturen eingehemmt.

B. Text zur Tafel

1. Einfluß von Pyramin auf das Wachstum von Ammonisationsbakterien

C. Text zu den graphischen Darstellungen

1. Einfluß von Pyramin auf die aktuelle Atmungsintensität des Bodens
2. Einfluß von Pyramin auf die potentielle Atmungsintensität für Stickstoff
3. Einfluß von Pyramin auf die Bildung von Ammoniakalstickstoff
4. Einfluß von Pyramin auf die Bildung von Nitratstickstoff

Adresa autorů:

Inž. Jiří Apltauer, CSc., Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, odd. půdní mikrobiologie, Praha-Ruzyně 507

Olga Skopalíková, Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, odd. půdní mikrobiologie, Praha-Ruzyně 507

Ukázka zpracování hesla o dormanci semen a pupenů z prvního svazku NAUČNÉHO SLOVNÍKU ZEMĚDĚLSKÉHO (šestisvazkové dílo vydá ÚVTI). Autor hesla, dr. Rudolf Řetovský, shrnuje dosavadní poznatky o tomto jevu a píše kromě jiného:

„Dormanci se rozumí spánek, který zpravidla prodělávají semena a všechny pupeny rostlin v některém období svého života. Semena některých rostlin vyžadují jistou dobu dormance k morfologickému nebo fyziologickému dozrávání. Obilky žita nepotřebují dormanci. Za deštivého léta žito snadno vzroste i v klasech. Obilky pšenice klíčí dobře v období mléčné zralosti, ale špatně hned po sklizni. Semena okurky jsou nejživotnější v druhém roce správného skladování. Tvrdá semena luskovin klíčí dobře v nevyzrálém stavu, kdy obsahují ještě dost vody. Dormance nebývá působena jediným činitelem. Je to zjev složitý, pročež není obecně platných směrnic pro její odstranění. Zvláště teplota hluboce zasahuje do života odpočívajícího semene jako celku. U semen ovocných stromů, kříženců broskvoní, lnu aj. lze dormanci překonat vyjmutím zárodku z nabobtnalého semene a odstraněním obou částí osemení. Tvrdá semena se mechanicky stratifikují (s pískem, kyselinami aj.). Množství neklíčivých semen luskovin zpravidla klesá skladováním za snížené teploty a zvýšené vzdušné vlhkosti.

Také pupeny prodělávají přípravnou dobu odpočinku, po níž následuje období dormance a pak teprve doba dozrávání. V našem klimatu je především teplota rozhodujícím činitelem pro nástup rašení pupenů. Pokusně lze do dormance pupenů zasahovat (zvýšenou teplotou ve skleníku, teplou lázní nebo narkotizováním éterem). Spící úžlabní pupeny jsou ve svém vývoji brzděny listem, v jehož podpaží se vyvinuly. Odstraní-li se list, vyvinuje se letorost ze spícího pupenu. Menší spící pupeny na letorostech dřevin lze podnítit k růstu odstraněním horních velkých pupenů, zatímco prodloužení dormance se i v praxi u ovocných stromů provádí postříkem např. fenolovými deriváty. Vhodnými retardačními prostředky lze také prodloužit dormanci pupenů na bramborových hlízách nebo naopak probudit pupeny k růstu u sklizených bramborů.“

První svazek NAUČNÉHO SLOVNÍKU ZEMĚDĚLSKÉHO vyjde v prvním čtvrtletí 1966 v rozsahu 110 tisk. stran a bude obsahovat hesla A—D. Hesla budou doplněna 1100 černobílými ilustracemi (pérovkami a fotografiemi) a 64 barevnými přílohami včetně map. Cena prvního svazku Naučného slovníku zemědělského v celoplátěné vazbě je 95 Kčs.

I. AMONIAKÁLNÍ A NITRÁTOVÝ DUSÍK
V PŮDĚ V ROCE VÝSEVU

■ Jedním z faktorů rozhodujících o výnosech plodin zařazovaných do osevního postupu je volba vhodné předplodiny, ovlivňující fyzikální, chemické a biologické vlastnosti půdy. Kladný vliv, především na chemické vlastnosti půdy, mají rostliny motýlokvěté, které prostřednictvím rhizobií fixují za příznivých podmínek ovzdušný dusík (Fred, Baldwin, McCoy 1932, Hlaváčková 1956). Vzhledem k této vlastnosti je výhodné zařazení leguminóz nejen jako hlavní plodiny (Vrkoč 1964), ale i meziplodiny, vyseté ke krmení nebo na zelené hnojení jako zdroj velmi kvalitní, dusíkem bohaté organické hmoty (Stewart 1959, Facek 1956, Günther 1960, Apltauer 1964). I když je značné množství prací pojednávajících o zmíněné problematice, řada otázek zůstává nejasná a sporná, zejména ve vztahu leguminóz ke klimatickým a půdním podmínkám, bakteriizaci a zejména použití dusíkatých hnojiv. Uvedené výsledky jsou součástí výzkumů řešících tuto problematiku.

METODIKA

Polní srovnávací pokusy byly založeny pracovníky oddělení ekologie polních plodin na pozemcích účelového hospodářství ÚVÚRV v Ruzyni (půdní typ hnědozem s neutrální reakcí) v roce 1963–1965. Pokusné parcely jednotlivých variant velikosti 5 × 10 m byly 5krát opakovány. Vzorky půdy byly odebírány postupně z plochy 2 × 5 m v termínech uvedených ve výsledných tabulkách. Jednotlivé varianty, doba výsevu a sklizně jsou uvedeny v tabulce I. Odrůdy byly ve všech pokusech stejné: bob Chlumecký, hrách Dětenický velkozrnný, oves Český žlutý.

Odebrané půdní vzorky byly prosety 2mm sítím. Amoniakální dusík byl stanoven kolorimetricky s Nesslerovým činidlem, nitrátový dusík též kolorimetricky s kyselinou fenoldisulfonovou. U všech odebraných vzorků půdy byla stanovena sušina.

VÝSLEDKY

Jak je patrné z tabulek II, IV a VI, bylo množství amoniakálního dusíku na počátku vegetace téměř ve všech variantách vyšší než v dalším jejím průběhu, kdy se intenzivní nitrifikace jeho množství podstatně snížila a udržovalo se na přibližně stejné úrovni až do sklizně. Vliv rostlin se projevil na počátku sledovaného období (odběr v měsíci květnu), kdy jsme zjistili rozdíly mezi jednotlivými variantami. Tyto rozdíly se však v průběhu dalšího sledování téměř vyrovnaly.

I. Doba výsevu a sklizně

Varianta pokusu	Doba výsevu v roce			Doba sklizně v roce		
	1963	1964	1965	1963	1964	1965
1 bob na zrno	11. 4.	23. 4.	3. 5.	16. 8.	—	13. 9.
2 hrách na zrno	11. 4.	23. 4.	3. 5.	6. 8.	28. 7.	18. 8.
3 bob s ovsem na zrno	10. 4.	21. 4.	3. 5.	13. 8.	30. 7.	13. 9.
4 bob s ovsem na zeleno a letní směska	10. 4.	21. 4.	3. 5.	24. 6.	23. 6.	12. 7.
5 hrách s ovsem na zeleno a letní směska	10. 4.	21. 4.	3. 5.	24. 6.	23. 6.	12. 7.
6 oves na zrno	10. 4.	21. 4.	3. 5.	2. 8.	23. 7.	3. 9.
7 úhor	—	—	—	—	—	—

II. Množství amoniakálního a nitrátového dusíku v letech 1963—65

Varianta pokusu	Rok výsevu	Množství N-NH ₄ v mg na 1000 g suché zeminy dne						
		10. 4.	16. 5.	19. 6.	2. 7.	19. 7.	5. 8.	19. 10.
1	1963	9,14	13,62	8,79	5,07	11,03	0,57	10,9
2		9,14	23,45	8,19	4,35	11,66	1,04	11,1
3		9,14	6,09	9,21	14,28	12,91	0,47	12,4
4		9,14	11,59	6,59	3,23	13,33	0,74	13,3
5		9,14	3,75	10,29	3,24	11,92	0,82	12,4
6		9,14	19,65	6,53	3,51	10,56	0,70	13,1
7		9,14	7,84	8,44	3,69	11,86	1,11	13,7

III.

Varianta pokusu	Rok výsevu	Množství N-NO ₃ v mg na 1000 g suché zeminy dne						
		10. 4.	16. 5.	19. 6.	2. 7.	19. 7.	5. 8.	19. 10.
1	1963	7,04	0,79	1,03	1,89	1,05	4,99	11,0
2		7,04	3,12	0,85	2,58	2,16	11,33	11,1
3		7,04	1,34	0,84	0,71	1,95	6,72	11,0
4		7,04	6,28	1,64	6,10	8,50	11,44	8,5
5		7,04	0,61	0,49	10,79	7,00	12,22	13,0
6		7,04	0,30	0,36	0,88	0,17	2,61	10,9
7		7,04	1,73	1,83	4,79	9,53	13,53	9,9

IV.

Varianta pokusu	Rok výsevu	Množství N-NH ₄ v mg na 1000 g suché zeminy dne					
		21. 4.	18. 5.	18. 6.	16. 7.	30. 7.	23. 9.
1	1964	5,50	9,48	1,76	5,18	2,07	1,52
2		5,50	15,18	1,57	2,57	1,07	1,67
3		5,50	19,72	1,19	1,48	1,07	2,62
4		5,50	10,80	2,31	3,07	1,14	2,57
5		5,50	12,66	2,83	4,43	0,23	2,38
6		5,50	7,76	2,56	3,43	0,87	1,25
7		5,50	8,88	1,39	4,29	0,97	2,41

V.

Varianta pokusu	Rok výsevu	Množství N-NO ₃ v mg na 1000 g suché zeminy dne					
		21. 4.	18. 5.	18. 6.	16. 7.	30. 7.	23. 9.
1	1964	5,00	6,62	0,88	4,91	9,57	14,92
2		5,00	5,50	0,38	2,89	8,94	12,38
3		5,00	8,69	2,12	0,63	2,89	7,00
4		5,00	4,21	1,50	7,43	9,76	11,88
5		5,00	4,75	10,00	14,84	7,29	11,28
6		5,00	2,27	2,67	8,51	1,85	5,05
7		5,00	9,66	12,25	20,61	14,57	14,68

VI.

Varianta pokusu	Rok výsevu	Množství N-NH ₄ v mg na 1000 g suché zeminy dne				
		26. 4.	7. 6.	9. 7.	2. 8.	27. 8.
1	1965	5,80	1,24	0,92	0,85	1,18
2		5,80	1,13	1,46	2,14	3,92
3		5,80	1,45	1,34	1,41	1,59
4		5,80	1,32	0,94	1,59	1,32
5		5,80	1,50	1,12	3,24	1,89
6		5,80	1,14	0,80	1,43	1,53
7		5,80	1,52	0,94	1,13	3,65

Varianta pokusu	Rok výsevu	Množství N-NO ₃ v mg na 1000 g suché zeminy dne				
		26. 4.	7. 6.	9. 7.	2. 8.	27. 8.
1	1965	6,60	1,50	1,25	0,63	1,09
2		6,60	1,26	0,86	2,42	11,53
3		6,60	0,95	0,56	0,22	0,79
4		6,60	2,09	0,65	1,50	0,67
5		6,60	1,25	0,71	—	0,53
6		6,60	1,33	0,56	0,16	0,50
7		6,60	1,58	5,57	9,77	17,17

Množství nitrátového dusíku (tabulky III, V, VII) bylo ovlivněno převážně vyséváním plodinami, v menší míře dešťovými srážkami. Téměř ve všech variantách, s výjimkou úhuru, jsme zjistili minimální množství nitrátů před sklizní, po sklizni však nastal mírný, nebo i zřetelný vzestup. Rozdíly mezi jednotlivými variantami byly výrazné po celé vegetační období. Nejnižší hodnoty jsme zjistili ve variantách s ovsem a směsí ovsa s bobem, naopak obsah nitrátů ve variantách s hrachem a směsí hrachu s ovsem byl vyšší. Při porovnání množství nitrátů v půdě variant s vysetými plodinami a variant bez porostu je však zřejmé, že všechny plodiny, včetně leguminóz, odčerpávaly značné množství půdního dusíku, i když bylo toto odčerpávání u jednotlivých plodin rozdílné.

Vliv dešťových srážek se zvláště projevil v roce 1965 nejen intenzivním odčerpáváním dusíku rostlinami, ale též velmi značnými ztrátami dusíku v jarních, na srážky bohatých měsících, což je zřetelně vidět na nízkém obsahu nitrátů po celé vegetační období.

DISKUSE

I když je z mnoha prací známo a praxe to potvrzuje, že leguminózy působí kladně na bilanci dusíku v půdě, vyvstává otázka, do jaké míry bude ekonomické použití dusíkatých průmyslových hnojiv k těmto plodinám. Uvedené výsledky jsou součástí výzkumu řešícího tuto problematiku a měly objasnit vliv leguminóz na obsah amoniakálního a nitrátového dusíku v půdě po dobu vegetace v porovnání s ovsem a úhorem.

Z těchto výsledků je zřejmé, že podstatnou část dusíku půdy odčerpává nejen oves v čisté kultuře a ve směsi, ale i bob s hrachem, tedy leguminózy, které ve všech třech letech měly velmi dobře nasazené hlízky. Podmínky k fixaci ovzdušného dusíku byly po dobu pokusů, až na některé výjimky, optimální. Je však nutno dodat, že sledování vlivu leguminóz na bilanci dusíku v roce výsevu je pouze částí celkového hodnocení. Stejně důležité, nebo i důležitější bude ovlivnění bilance dusíku v roce následujícím, což bude předmětem dalšího sledování.

Velmi důležitým faktorem ovlivňujícím množství amoniakálního a především nitrátového dusíku v půdě byly klimatické podmínky v jednotlivých letech.

Ovlivnily nejen vývoj rostlin, ale také průběh amonizace a nitrifikace. Dešťové srážky se projeví zvláště výrazně v roce 1965, kdy značná část dusíku byla abnormálními srážkami v jarních měsících vyplavena a tím pro rostliny ztracena. Nelze též pominout vliv klimatických podmínek na rozšíření chorob a škůdců: například v roce 1964 byl porost bobu zničen mšicemi.

Lze tedy říci, že faktorů ovlivňujících bilanci dusíku v půdě a příjem dusíku rostlinami je velmi mnoho. K tomu, aby byl půdní dusík, dusík organických a průmyslových hnojiv co nejeekonomičtěji využit rostlinami, je třeba výzkum na tomto úseku podstatně zintenzívnit.

SOUHRN

1. V polních pokusech založených na půdách hnědozemního půdního typu byl sledován vliv bobu, hrachu, ovsa a jejich směsí na množství amoniakálního a nitrátového dusíku v půdě v průběhu vegetace.

2. Množství amoniakálního dusíku v půdě jednotlivých variant bylo rozdílné na počátku vegetace, později se však rozdíly vyrovnaly. Vysoký obsah amoniakálního dusíku, zjištěný v počátečním období růstu rostlin, se vlivem intenzivně probíhající nitrifikace snížil.

3. Množství nitrátového dusíku bylo ovlivňováno převážně plodinami jednotlivých variant, zčásti též dešťovými srážkami. Nejnížší hodnoty jsme zjistili ve variantách s ovsem a ve směsi bobu s ovsem. Dusík však byl z půdy odčerpáván všemi plodinami, i když v různém množství.

4. Téměř ve všech variantách s porostem jsme zjistili pokles obsahu nitrátového dusíku až do období před sklizní. Později nastal mírný vzestup obsahu nitrátového dusíku.

Došlo dne 16. 9. 1965

Literatura

1. APLTAUER, J.: Vliv zeleného hnojení na mikrobiální pochody v půdě. Kand. dis. práce ÚVÚRV Ruzyně, 1964. — 2. FACEK, Z.: Zelené hnojení z hlediska půdoznaleckého a agrotechnického. Konference o zeleném hnojení. Brno, 1956. — 3. FRED, E. B. - BALDWIN, I. L. - MC COY, E.: Root nodule bacteria and leguminous plants. Madison, 1932. — 4. GÜNTHER, E.: Die Bedeutung des Stickstoff: Kohlenstoff-Verhältnisses der organischen Bodensubstanz. = „Organischer Landbau“, 1960, č. 3, s. 55-57. — 5. HLAVÁČKOVÁ, E.: Příprava a používání bakteriálních očkovacích látek v zemědělství. = „Sborník ČSAZV - Rostlinná výroba“, 29, 1956, č. 9-10, s. 909-936. — 6. STEWART, E. H.: Relative rates of mineralisation in soil of organic nitrogen from several forage crops. = „Agron. J.“, 51, 1959, č. 1, s. 51-53. — 7. VRKOČ, F.: Následné působení vikvovitých rostlin v osevních postupech. = „Studijní informace, Rostl. výr.“, 1964, č. 1.

Влияние культур на азотный баланс почвы

I. Аммиачный и нитратный азот в почве в год посева

A. Резюме

1. При полевых опытах на почвах буроземного типа изучалось влияние боба, гороха, овса и их смесей на количество аммиачного и нитратного азота в почве в ходе вегетации.

2. Количество аммиачного азота в почве у отдельных вариантов в начале вегетации было разным, но позже различия были выравнены. Большое количество аммиачного азота, установленное в начальном периоде роста растений, под влиянием интенсивной нитрификации уменьшилось.

3. Количество нитратного азота находилось под влиянием преимущественно культур отдельных вариантов, а отчасти — и дождевых осадков. Самые низкие величины были установлены в вариантах с овсом и в смеси боба с овсом. Однако азот из почвы расходовался всеми культурами, хотя и в разном количестве.

4. Почти у всех вариантов со стеблестоем было установлено уменьшение содержания нитратного азота вплоть до предуборочного периода, а позже оно несколько увеличилось.

Б. Текст к таблицам

I. Срок высева и уборки

II.—VII. Количество аммиачного и нитратного азота в 1963—65 гг.

The Effect of crops on the Nitrogen Balance in the Soil

I. Ammonium Nitrogen and Nitrate Nitrogen Content in the Soil in the Year of the Sowing

A. Summary

1. In field tests carried out in soils of the brown soil type the author examined the effect of bean, pea, oat and their combination on the amount of ammonium nitrogen and nitrate nitrogen content in the soil during the vegetation period.

2. The amounts of ammonium nitrogen in the soil of individual combination types, were rather different at the beginning of the vegetation period, but later, on the differences gradually disappeared. The high content of ammonium nitrogen determined in the initial phase of the growth of the plants was reduced under the effect of an intensively developing nitrification.

3. The amount of nitrate nitrogen was influenced predominantly by the crops of the various combinations and partly even by rain precipitations. Lowest values were found in the combinations involving oat and a mixture of bean and oat. Nitrogen, however, was extracted from the soil by all examined crops, though in various quantities.

4. In almost all combinations examined in the cover the authors ascertained a decreasing content of nitrate nitrogen up to the period preceding the harvest. In contradistinction to it, a slight increase of the nitrate nitrogen content was recorded later.

B Text to Tables

I. Time of sowing and time of harvest

II.—VII. Amount of ammonium nitrogen and nitrate nitrogen in the years 1963, 1964, and 1965

Adresa autora:

Inž. Jiří Apltauer, CSc., Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, odd. půdní mikrobiologie, Praha-Ruzyně 507

■ Celulóza tvoří zhruba polovinu organických látek posklizňových zbytků a kořenů rostlin. Je rozkládána poměrně úzkou fyziologickou skupinou mikroby. Celulolytická mikroflóra má značný význam nejen pro rozklad celulózy samé, ale výrazně se uplatňuje i v přeměně organických látek v půdě a ve výživě rostlin. (Waksman 1952, Alexander 1961, Unger 1963, 1964 aj.).

Na intenzitu rozkladu celulózy působí aktivita mikroflóry specificky ovlivněná průvodním substrátem, tj. např. rozdílně hnojená půda, ale i substrát sám se svými fyzikálními a chemickými vlastnostmi půdy. Intenzita rozkladu celulózy může být za určitých podmínek, např. při nedostatku půdního dusíku, ovlivněna rostlinou. Za těchto okolností může být poměrně spolehlivým indikátorem fyziologické dostupnosti půdního dusíku. Zjistili jsme, že koeficient účinnosti dusíku při rozkladu celulózy v půdním vzorku je přibližně nepřímo úměrný využitelnosti dusíku zelenými rostlinami (Kozová 1962).

V tomto sdělení předkládáme výsledky bazální a potenciální aktivity rozkladu celulózy v půdě u jednotlivých plodin sledovaného osevního postupu.

METODIKA

Rozklad celulózy jsme stanovovali v čerstvě odebraných prosátých půdních vzorcích o přirozené půdní vlhkosti v průběhu vegetace pod jednotlivými plodinami osevního postupu: ozimou pšenicí, cukrovkou, jarním ječmenem, bramborami, ozimou pšenicí, cukrovkou, jarním ječmenem s podsevem. Podrobná metodika (Škarda 1963, Pokorná-Kozová 1965).

Test rozkladu celulózy byl uspořádán do dvou stanovení: intenzita rozkladu celulózy bez přidavku dusíku — C_b a s přidavkem dusíku v síranu amonném — C_N . Zjištěné hodnoty C_b nám vyjadřují rozklad celulózy v přirozeném prostředí za určitých podmínek, tzn. přirozenou schopnost půdy jako celku rozkládat celulózu. Lze je hodnotit samostatně. Celulóza je bezdusíkatá organická látka a proto je dusík jedním z hlavních limitujících faktorů jejího rozkladu. Proto jsme půdní vzorky obohacovali čpavkovým dusíkem a sledovali probíhající rozklad. Rozklad celulózy, který probíhá při obohacení čpavkovým dusíkem za příznivého poměru $C:N$, je výrazem potenciální schopnosti půdy rozkládat celulózu za stejných fyzikálních podmínek jako bez obohacení. Vzájemný vztah využitelnosti celulózy mikroorganismy v půdním vzorku neobohaceném a obohaceném síranem amonným je pak kvocient C_N , který nám vyjadřuje účinnost čpavkového dusíku při rozkladu celulózy. Je-li roven 1, je dostatečné množství fyziologicky dostupného dusíku v půdě pro rozklad celulózy. Čím je kvocient větší, tím je v půdě méně fyziologicky využitelného dusíku.

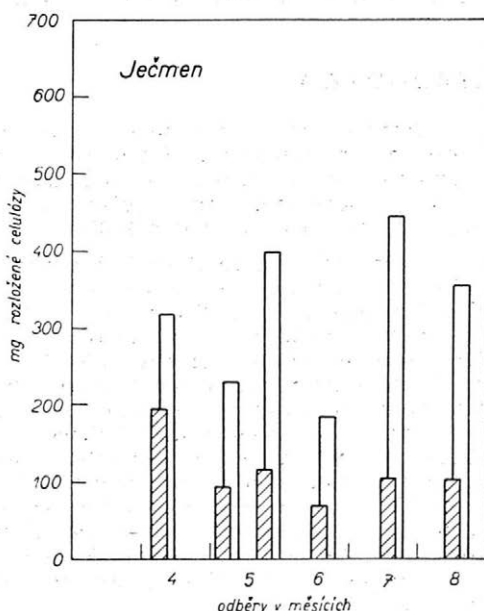
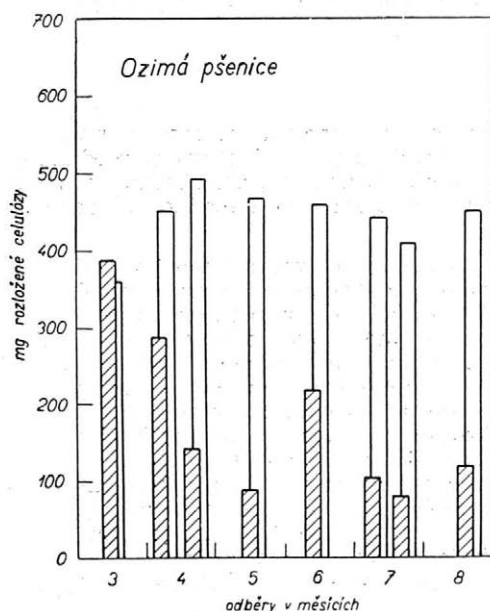
Ve všech případech sledování, které se v našich pokusech vyskytly, způsobil obohacení půdního vzorku dusíkem větší rozklad celulózy. Výsledky ukázaly, že přidavek minerálního dusíku zvyšuje intenzitu rozkladu celulózy v laboratorních inkubačních podmínkách. To znamená, že nebyla úplně využita schopnost celulolytické mikroflóry v přirozeném prostředí půdy.

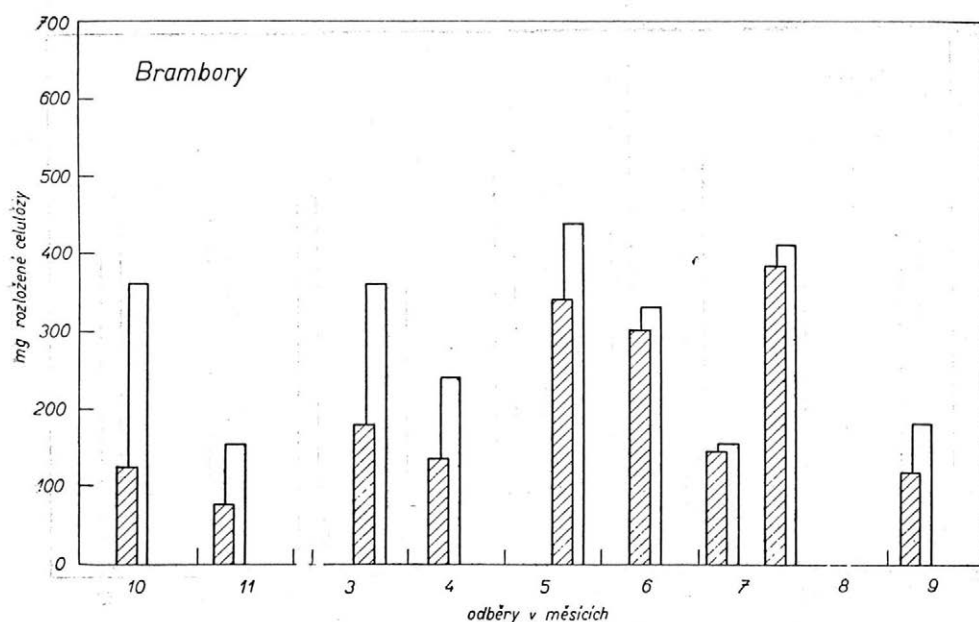
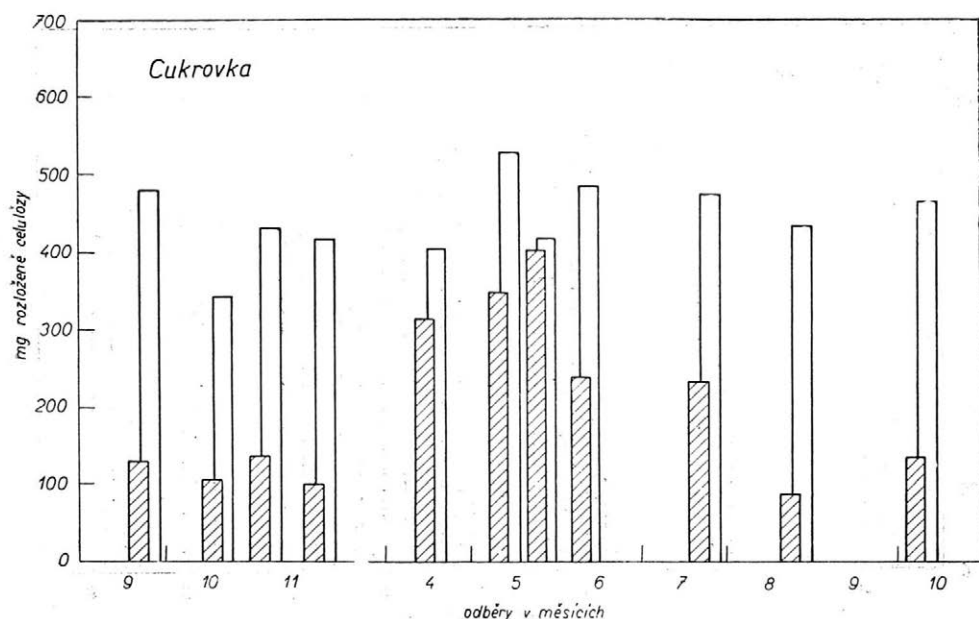
K zjištění vlivu plodin na intenzitu rozkladu celulózy uvádíme zhodnocené výsledky z kontrolních nehojených parcel. Tím byl vyloučen vliv hnojení.

Dosaženými výsledky jsme zjistili, že plodiny ovlivňují obsah přístupného dusíku v půdě. Rostliny odčerpávají minerální dusík sice plynule, ale nikoliv rovnoměrně v průběhu vegetace. Odčerpání dusíku je v korelaci s růstovou fází rostliny. Z výsledků lze vyvodit, že vliv plodin je podstatně výraznější u obilnin než u okopanin. Grafické vyhodnocení těchto výsledků je zaneseno v grafech 1—7. Tyto zaznamenávají hodnoty výsledků rozkladu celulózy půdních vzorků pod různými plodinami osevního postupu, a to bazální a potenciální schopnost.

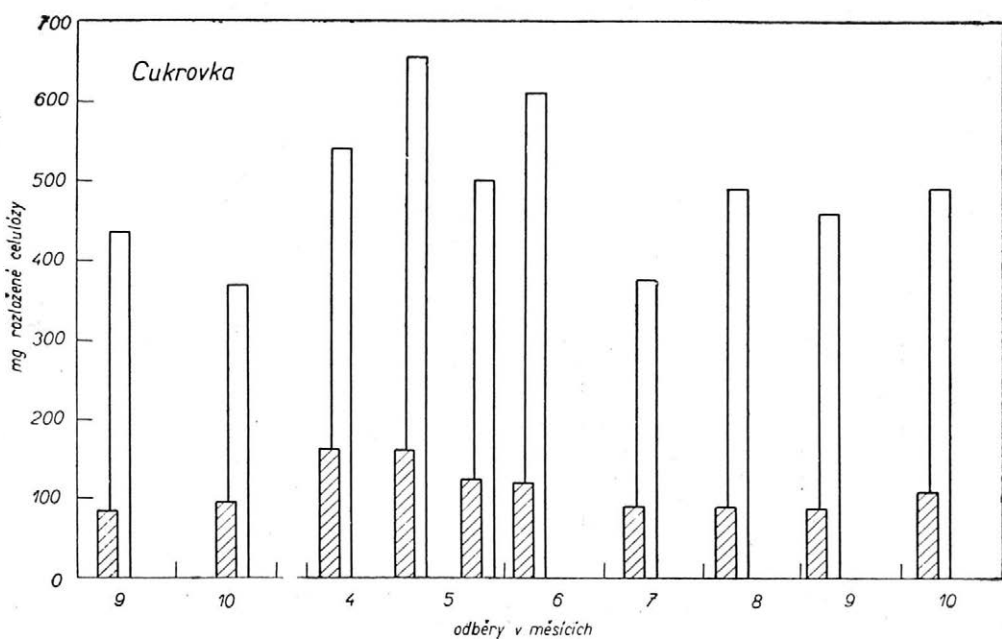
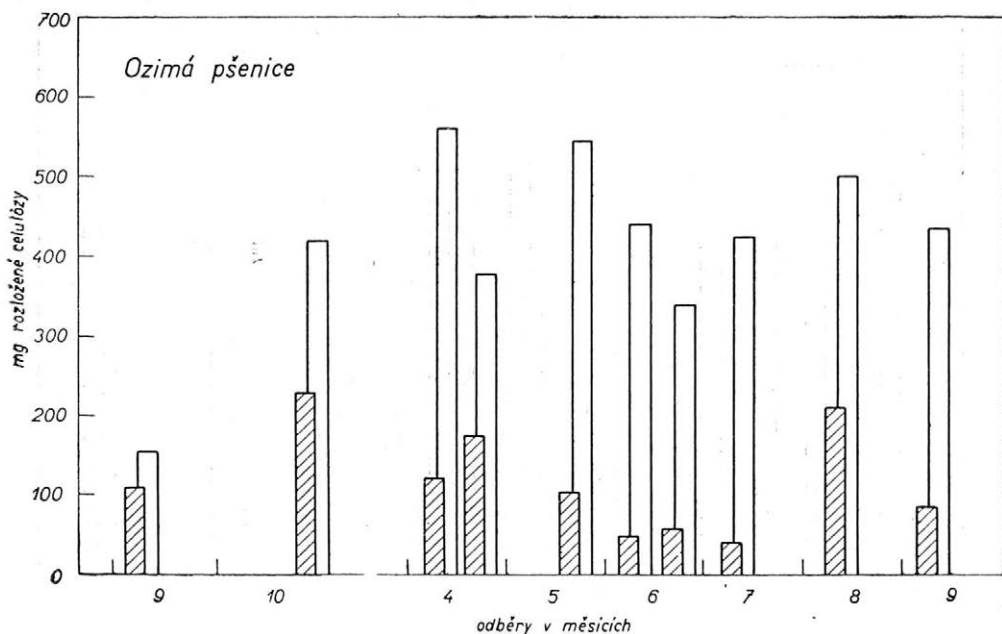
Hodnota C_N u ozimé pšenice, která následovala po vojtěšce v r. 1958 (graf č. 1), kolísá přibližně ve stejných mezích během sledovaného období. Hodnota C_B se mění v závislosti na množství fyziologicky využitelného dusíku v půdě. Z těchto výsledků vyplývá, že v období intenzivního růstu rostlin dochází k zvýšenému konzumu dusíku plodinou, což vede ke sníženému množství fyziologicky dostupného dusíku v půdě. Naopak schopnost celulolytické mikroflóry využívat dusík je po celou vegetaci celkem konstantní, jak ukazuje hodnota C_N .

V r. 1959 následovala po ozimé pšenici v osevním postupu cukrovka (graf č. 2). Bazální rozklad celulózy má do období zapojeného porostu vzestupnou tendenci, pak počíná mírně klesat až do sklizně. To naznačuje relativní pokles





fyziologicky využitelného dusíku v půdě. Biochemická aktivita celulolytických mikroorganismů indikovaná hodnotou C_N počíná též mírně klesat. Minimální rozklad celulózy se projevuje v období před sklizní cukrovky. Nízké hodnoty C_B jsme zjistili i při odběrech v pozdním podzimu a v časném jaru. V té době nebyl ještě vyrovnán poměr $C:N$ v půdě v důsledku přebytku celulózy v kořenových zbytcích předplodiny a zaoraného strniště.



Po cukrovce v r. 1960 byl zaset jarní ječmen (graf č. 3). Hodnoty C_B rozkladu celulózy ukazují pokles až do sklizně. Snížené hodnoty jsou v období intenzivního růstu ječmene. K tomuto poklesu dochází v období, kdy při růstu ječmene se zvyšuje spotřeba dusíku. Zřetelný pokles rozkladu celulózy po podmítce indikuje snížené množství fyziologicky dostupného dusíku v půdě, kdy poměr $C:N$ při přeměnách posklizňových zbytků v půdě je opět široký. Jak

ukazuje hodnota C_N , schopnost celulytické mikroflóry využívat dusík v průběhu vegetace nepatrně stoupá.

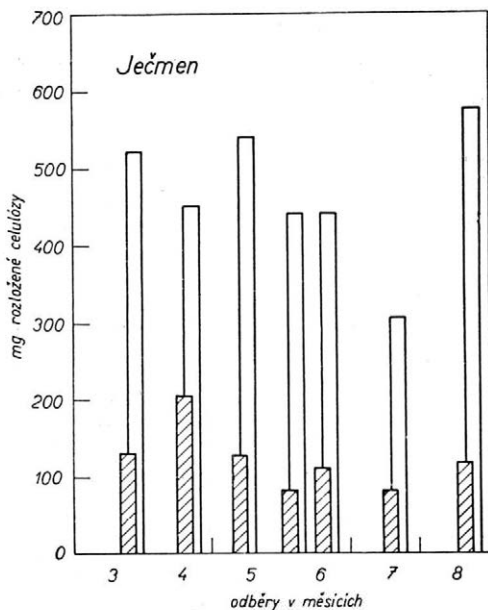
Po ječmenu následovaly v r. 1961 brambory (graf č. 4). Tato plodina je charakteristická vysokými hodnotami C_B v období plné vegetace a téměř stejně vysokými hodnotami C_N . Téměř vyrovnaná potenciální schopnost rozkladu celulózy s bazální nastává časné zjara, až po vyrovnání poměru $C : N$ v půdě v posklizňových zbytcích pšenice. Z uvedeného lze usuzovat, že brambory vytvářejí příznivé podmínky pro rozvoj celulytické mikroflóry.

Ozimá pšenice, která následovala po bramborách v r. 1962, se projevuje v dynamice rozkladu celulózy půdních vzorků velmi výrazně. Již po vyklíčení v podzimních měsících a časné zjara je možno pozorovat značné kolísání hodnot C_B i C_N . Od počátku vegetace až do plné zralosti plodin jsme zjistili značně nízké hodnoty C_B . Po podzimě hodnota C_B opět klesá. Snižuje se dostupnost dusíku potřebného k rozkladu a je nízká zejména tehdy, kdy se plně uplatňuje vliv rostlin. Potenciální schopnost celulytické mikroflóry značně kolísá. Srovnáme-li ji s potenciální schopností u ozimé pšenice, seté po vojtěšce v r. 1958, projevují se zřetelné rozdíly. Zatímco hodnota C_N u pšenice v r. 1962 vykazuje výkyvy, u pšenice v r. 1958 je po celou vegetaci téměř stálá. Z těchto poznatků můžeme soudit, že výkyvy v potenciální aktivitě celulytických mikroorganismů jsou způsobeny vlhkostními poměry v půdě, jak vysvětlujeme v práci (Pokorná - Apfelthaler 1965).

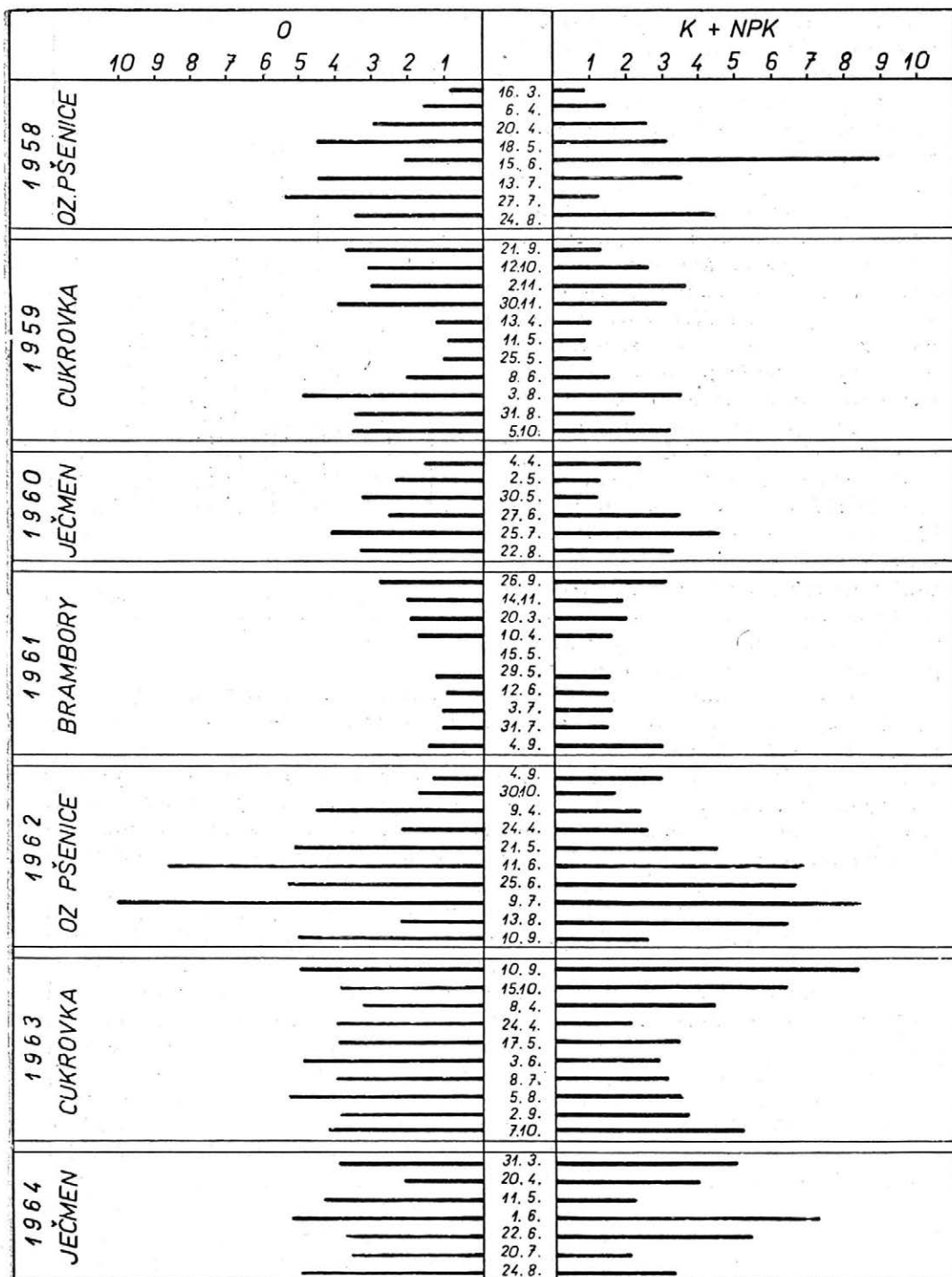
Po pšenici v r. 1963 byla zaseta cukrovka. U této plodiny se projevuje vliv rostliny podstatně výrazněji než u sledované cukrovky v r. 1959. Hodnoty C_B jsou relativně nižší, což lze vysvětlit několikaletým nehnojením této kombinace. Hodnota C_B má totožnou vzestupnou tendenci od podzimního sledování do jarního, než se uplatňuje vliv rostlin. Poté začíná též souhlasně mírně klesat až do sklizně, což opět ukazuje na relativní pokles využitelného dusíku v půdě. Aktivita celulytických mikroorganismů, indikovaná C_N hodnotami, kolísá. Ve skutečnosti však dochází k celkem malému poklesu kvocientu $C_N : C_B$, což svědčí o přibližně fyziologicky vyrovnaném vztahu uhlíku a dusíku v půdě.

Osetím parcel ječmene s podsevem v r. 1964 jsme ukončili sledování 9ti letého osevního postupu. V průběhu sledovaného vegetačního období docházelo k poklesu fyziologické účinnosti dusíku; k maximálnímu poklesu došlo v době metání až květu. V plné zralosti se nedostatek dusíku již tak výrazně neprojevil, protože v této růstové fázi rostliny již neodčerpávají tak intenzivně dusík ke své výživě. V období po sklizni, kdy je nahromaděno v půdě velké množství nerozložených organických látek, zvětšuje se opět $C_N : C_N$.

Souhrnně lze konstatovat, že plodiny se výrazně podílejí na intenzitě rozkladu celulózy. Porovnáme-li vzájemně jednotlivé plodiny osevního postupu



Grafy 1.—7. Intenzita rozkladu celulózy v průběhu osevního postupu na nehněné parcele



$$1-10 \frac{C_N}{C_0}$$

0 - nehnojeno K+NPK - hnojeno kompostem + minerálně

z toho hlediska, poznáváme, že nejmenší vliv měly okopaniny, tj. brambory, pak následovala cukrovka, poté obilniny, nejprve ječmen; největší vliv měla ozimá pšenice. Nejnížší účinnost vlivu okopanin je možné spatřovat v tom, že u nich je prováděno intenzivnější kypření půdy, což může přispívat k uvolňování dusíku z půdní zásoby. Nejvyšší účinek všech plodin se projevoval na intenzitu rozkladu celulózy v době, kdy rostliny odčerpávají maximální množství dusíku (R e n n é 1958, D u c h o ň 1948 aj.).

Dokladem bezprostředního vlivu rostlin na rozklad celulózy jsou uváděné zvýšené hodnoty kvocientů $\frac{C_N}{C_B}$ v jednotlivých fázích růstu na nehnojené kombinaci. Porovnáme-li z tohoto hlediska jednotlivé plodiny v průběhu celého osevního postupu v hodnotách $\frac{C_N}{C_B}$ na odlišných kombinacích, na nehnojené parcele a parcele hnojené kompostem + NPK (graf č. 8), zjišťujeme, že ani toto hnojení nesetřelo vliv plodiny v období plné vegetace.

Z výsledků vyplývá, že v období vegetace se uplatňují bezprostřední vlivy rostlin. Tyto vlivy jsou závislé na délce vegetace jednotlivých plodin, zejména na období maximálního odčerpávání dusíku rostlinou. Hodnocení kvocientů $\frac{C_N}{C_B}$ by naznačovalo, že vliv plodiny je výraznější než vliv hnojení. Je však třeba brát v úvahu, že větší část roku jsou jednotlivé zvolené kombinace ovlivňovány způsoby hnojení a jen v určitém, kratším období nabývají rostliny převahu. Oba tyto vlivy jsou významné a uplatňují se, ovšem rozdílně, jak lze usuzovat z výsledků prací (N o v á k 1963, P o k o r n á - K o z o v á 1965).

S O U H R N

V práci je sledován vliv jednotlivých plodin osevního postupu na intenzitu rozkladu celulózy půdních vzorků. Je zaznamenáno období 1958–1964 se sledem plodin: ozimá pšenice, cukrovka, jarní ječmen, brambory, ozimá pšenice, cukrovka a jarní ječmen s podsevem. Intenzita rozkladu celulózy v půdě je hodnocena bazální a potenciální schopností celulólytické mikroflóry na nehnojené parcele. Koficient účinnosti N je demonstrován na nehnojené kombinaci a na kombinaci hnojené kompostem + NPK.

Výsledky ukázaly, že vliv plodin na rozklad celulózy je výrazný. Výrazněji se projevuje u obilnin než u okopanin. Relativně nejnížší vliv měly brambory < cukrovka < ječmen a největší ozimá pšenice. Maximální vliv všech sledovaných plodin na rozklad celulózy se projevoval v období největší vegetace rostlin.

Došlo dne 13. 9. 1965

L i t e r a t u r a

1. ALEXANDER, M.: Introduction to soil microbiology. New York, London 1961.
- 2. BERNHARD, V.: Boden und Pflanze. Ihre Wechselbeziehungen in physikalisch-chemischer Betrachtung. Stuttgart 1961.
- 3. BIRECKI, M., CASTOLY J.: Wstepne badania wplywu roślin na powstawanie i rozklad próchnicznej substancji organicznej oraz stan struktury gleby w plodozmianach. = „Roczn. Nauk rol“, 82-A, 1960, č. 1, s. 146-190.
- 4. BOULLARD, B., MOREAU, R.: Sol, microflora et végétation. Mason, Paris, 1962.
- 5. DUCHOŇ, F.: Výživa a hnojení kulturních rostlin zemědělských. Praha, ČAZ, 1948.
- 6. KOZOVÁ J.: Mikrobiální rozklad celulózy.

Graf 8. Kvocient $\frac{C_N}{C_B}$ na nehnojené parcele a parcele hnojené kompostem + NPK

Kand. dis. práce, Praha 1961. — 7. KOZOVÁ, J.: Mikrobiologische Zellulosezer-
setzung unter natürlichen Bodenverhältnissen. = „Zbl. Bakt.“. II abt., 1963, č. 116,
s. 459-468. — 8. KRASILNIKOV, A. N.: Mikroorganizmy počvy i vyššije rastenija.
Izd. AN SSSR, Moskva 1958. — 9. LOCHHEAD, A. G., CHASE, F. E.: Qualitative
studies of soil microorganisms. V. Nutritional requirements of the predominant
bacterial flora. = „Soil Sci“, č. 55, s. 185-195. — 10. MIŠUSTIN, E. N.: Mikrobi-
ologičeskij faktor v razvitiji rastenij i problema urožajnosti. = „Vestnik AN SSSR,
1953, č. 4, s. 30-42. — 11. MIŠUSTIN, E. N., VOSTROV, I. S.: Biologické základy
zpracování půdy. = „Rostlinná výroba“, 9, 1963, č. 7-8, s. 752-756. — 12. MÜTTER-
LEIN, C.: Studien über die Zersetzung der Cellulose im Dünger und im Boden.
Halle 1913. — 13. NOVÁK B. a kol.: Vliv různých plodin v osevním postupu na
dynamiku respirace půdních vzorků. = „Vědecké práce ÚVÚRV, 1963, s. 85-94. —
14. NOVÁK, B.: Differences in the affect of grains and root crops on the respiration
of soil samples. Plant microbes relationships, ČSAV, 1965. — 15. POKORNÁ-KO-
ZOVÁ, J.: Azotobakter při různém organickém i minerálním hnojení. (v tisku)
1965. — 16. POKORNÁ-KOZOVÁ, J., APFELTHALER, R.: Použití biologických testů
při sledování fyziologicky dostupného dusíku v půdě. 1. Rozklad celulózy. (v tisku)
1965. — 17. REMY, TH.: Cit. podle G. Becker-Dillingen, Handbuch der Ernäh-
rung der landwirtschaftlichen Nutzpflanzen-Verlag von Paul Parey in Berlin, 1934,
— 18. ŘÍDKÝ, K.: Úloha mikrobů ve výživě rostlin. = „Sborník ČSAZV, XXIX,
1956, č. 9-10, s. 813-841. — 19. STEINBRENNER, K.: Mikrobiologische Veränderun-
gen durch langjährige Düngungsmaßnahmen. = „Zbl. Bakt.“ Abt. II, 116, 1963,
č. 6, s. 581-592. — 20. ŠKARDA, M.: Vliv statkových hnojiv na výnosy plodin
v osevním postupu. = „Rostlinná výroba“, 9, 1963, č. 3-4, s. 253-270. — 21. ŠKARDA,
M.: La recherche dans le domaine de la nutrition des plantes en Tchécoslovaquie.
= „Za soc. sels. nauku, 1954, č. 3, s. 185-205. — 22. TRIBE, H. T.: Microbiology of cellu-
lose decomposition in soil = „Soil Sci“, 92, 1960, č. 1, s. 61-77. — 23. ÚLEHLOVÁ, B.:
Vliv plodin v osevním postupu na koloběh uhlíku a dusíku v půdě z hlediska
mikrobiologického. Kand. dis. práce, Brno 1962. — 24. UNGER, H.: Der Zellulose-
test, eine Methode zur Ermittlung der zellulolytischen Aktivität des Bodens in Feld-
versuchen. = „Z. Pfl. Ernähr. Düng.“, 91, 1960, č. 196, s. 44-52. — 25. UNGER, H.:
Über einige in Feldversuchen mit Zellulose-testbeuteln erzielte Ergebnisse. =
„Albrecht-Thaer-Archiv“, 6, 1962, č. 2, s. 145-150. — 26. UNGER, H.: Ergebnisse des
Zellulose-testes aus orientierenden Fruchtartenversuchen in Delitzsch 1957. = „Zbl.
Bakt.“, II. Abt., 1963, č. 116, s. 268-275. — 27. UNGER, H.: Der Einfluß hoher N-Ga-
ben auf die zellulolytische Aktivität des Bodens sowie Beziehungen zwischen
Mikroorganismen-tätigkeit und Ertragsleistung einer Weidl. = „Albrecht-Thaer-
Arch.“, 8, 1964, č. 1-2, s. 215-232. — 28. WAKSMAN, S. A.: Soil microbiology. New
York, London, 1952.

Влияние разных культур в севообороте на разложение целлюлозы

A. Резюме

В работе изучается влияние отдельных культур севооборота на интенсивность раз-
ложения целлюлозы почвенных образцов. Зарегистрирован период 1958—1964 гг. с сево-
оборотом культур: озимая пшеница, сахарная свекла, яровой ячмень, картофель, озимая
пшеница, сахарная свекла и яровой ячмень с подсевом. Интенсивность разложения
целлюлозы в почве оценивается базальной и потенциальной способностью целлюлоли-
тической микрофлоры на удобренной делянке. Коэффициент эффективности азота де-
монстрируется на удобренной комбинации и на комбинации, удобренной компостом +
+ NPK.

Результаты показали, что влияние культур на разложение целлюлозы весьма отчет-
ливое. Оно резко проявляется у зерновых, чем у пропашных. Относительно самое низкое
влияние имели картофель, сахарная свекла, ячмень, а самое большое — озимая пше-

ница. Максимальное влияние всех изучаемых культур на разложение целлюлозы проявлялось в период максимальной вегетации растений.

Б. Текст к графикам

1—7. Интенсивность разложения целлюлозы в ходе севооборота

8. Квоциент $\frac{C_N}{C_B}$ на удобренной делянке и на делянке, удобренной компостом + NPK.

Effect of Various Crops in the Rotation of Crops on the Decomposition of Cellulose

A. Summary

In the paper, the author examines the effect of the individual crops pertaining to one rotation of crops on the intensity of decomposition of cellulose in soil samples. During the years 1958 to 1964 the crop-rotation recorded the following crops: winter wheat, sugar beet, spring barley, potatoes, winter wheat, sugar beet, and spring barley with an undercrop. The intensity of the cellulose decomposition in the soil is appreciated by the basal and potential capacity of cellulolytic microflora on a non-fertilized plot. The coefficient of efficiency N is demonstrated on a non-fertilized combination, as well as on a combination manured with compost and NPK (nitrogen, phosphorus, potassium).

The results showed a conspicuous effect of crops on the decomposition of cellulose. This effect appears still more conspicuously with cereals than with root crops. The relatively lowest effect was found with potatoes, sugar beet, barley, but, on the other hand, the greatest effect was stated with winter wheat. All crops examined exerted a maximum effect on the decomposition of cellulose during the period of the highest vegetation of the crops.

B. Text to Graphs

1—7. Intensity of cellulose decomposition in the course of the crop-rotation in a non-fertilized plot

8. The quotient $\frac{C_N}{C_B}$ on a non-fertilized plot and on a plot manured with compost and NPK (nitrogen, phosphorus and potassium)

Einfluß von verschiedenen Fruchtarten in der Fruchtfolge auf die Zellulosezersetzung

A. Zusammenfassung

In der Arbeit wird der Einfluß der einzelnen Fruchtarten der Rotation auf die Intensität der Zellulosezersetzung der Bodenproben verfolgt. Es wird der Zeitraum 1958—1964 vermerkt, und zwar mit folgender Fruchtfolge: Winterweizen, Zuckerrüben, Sommergerste, Kartoffeln, Winterweizen, Zuckerrüben und Sommergerste mit Untersaat. Die Intensität der Zellulosezersetzung im Boden wird durch die basale und potenzielle Fähigkeit der zellulolytischen Mikroflora auf ungedüngter Parzelle bewertet. Der Wirksamkeitskoeffizient des Stickstoffes wird auf ungedüngter Kombination und auf der mit Kompost + NPK gedüngten demonstriert.

Die Ergebnisse zeigten, daß der Einfluß der Fruchtarten auf die Zellulosezersetzung ausgeprägt ist, und zwar bei Getreidearten merkbarer als bei Hackfrüchten. Einen relativ niedrigsten Einfluß hatten Kartoffeln, Zuckerrüben, Gerste und den höchsten Einfluß verzeichnete Winterweizen. Der höchste Einfluß der sämtlichen verfolgten Fruchtarten auf die Zellulosezersetzung zeigte sich im Zeitraum der mächtigsten Vegetation der Pflanzen.

B. Text zu den graphischen Darstellungen

- 1.—7. Intensität der Zellulosezersetzung während der Fruchtfolge auf ungedüngter Parzelle
8. Quotient $\frac{C_N}{C_B}$ auf ungedüngter Parzelle und auf der mit Kompost + NPK gedüngten.
- 1.—7. Intenzita rozkladu celulózy v průběhu osevního postupu na nehnojené parcele
8. Kvocient $\frac{C_N}{C_B}$ na nehnojené parcele a hnojené kompostem + NPK

Adresa autorky:

Dr. Jaroslava Pokorná-Kozová, CSc., Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, odd. organických hnojiv, Praha-Ruzyně 507

POSKLIZŇOVÝCH ZBYTKŮ VOJTĚŠKY
NA VZCHÁZENÍ OZIMÉ PŠENICE

I. ČÁST

■ Při studiu vlivu různých předplodin na ozimou pšenici (Řídký 1962, 1963, 1964) bylo možno stanovit především význam množství jejich posklizňových zbytků a význam stupně jejich rozkladu pro vývoj a výnosy této plodiny. Nejvýrazněji se v tomto ohledu chovají vytrvalé pícniny. Jejich vliv na následnou ozimou pšenici je značně závislý na době i na způsobu jejich zapravení do půdy (Nováček, Řídký, Talafantová 1961); pozdní zaorávka drnů (krátce před výsevem ozimu) způsobí značné snížení výnosů zrna i slámy.

Vysvětlení je možno v daném případě hledat především v nepříznivém režimu živin, tj. v nedostatečném podílu již rozložené organické hmoty a vysokém množství živin blokováných mikroorganismy v době plného vývoje pšenice. Tento faktor však jistě nehraje prvořadou úlohu při klíčení a vzcházení pšenice (dostatečná zásoba živin z obilky). Přesto bylo možno pozorovat, že vzcházení pšenice bylo po pozdě zaoraných zbytcích vojtěšky vždy velmi nepravidelné; počet rostlin byl v průměru nižší o 15 %, počet produktivních stébel o 10 % proti pšenici seté až 6–7 týdnů po zaorání drnu. Poněkud méně příznivý fyzikální stav půdy (snížená vlhkost, hrudovitost) se zde rovněž nezdál být jediným nepříznivým faktorem, protože již sama skutečnost, že po zaorání drnu vytrvalých pícnin dosahuje rozkladná mikroflóra maximálního stavu v osevním postupu vůbec (Řídký 1962) spolu s poznatkami o působení antibiotik, fytoncidů a jiných biologicky účinných látek ukazovala na možnosti i jiných vlivů. Tuto domněnku podporovaly dále publikované výsledky některých autorů, kteří se zabývali přímo nepříznivým působením organické hmoty zbytků rostlin v různém stupni přeměny na rostliny jiné. Pozoruhodné údaje v tomto směru uvádí zejména Kononova (1958), Naumova (1959), Patrick, Koch (1958), Starkey (1958), Nielsen, Cuddy, Woods (1960), Guenzi, McCalla (1962), Behmer, McCalla (1963), Klope (1963), Mohtadi (1962), McCalla, Haskins (1964), Hoveland (1964), Mišustin (1965), u nás Černý (1928), Jakeš (1937), Regál (1948), Káš (1962), Kubista (1962).

V předkládané práci (je I. částí obsáhlejšího celku) se proto snažím o řešení především těchto otázek: Mohou zbytky vojtěšky ovlivnit klíčení a první fáze vývoje ozimé pšenice? Jak se takové ovlivnění může projevit? Je toto ovlivnění specifické jak ve vztahu ke zbytkům vojtěšky, tak ve vztahu k pšenici?

K osvětlení těchto otázek byl studován v této první etapě práce vliv vodního extraktu ze zbytků vojtěšky, tj. vliv látek velmi lehce uvolnitelných, které právě v přirozených podmínkách mohou mít značný význam.

MATERIÁL A METODIKA

Posklizňové zbytky vojtěšky — kořeny se stonky vojtěšky ve druhém užitkovém roce byly odebrány při zaorávce drnu prováděné bezprostředně po sklizni třetí seče této plodiny; ulpělá hlína byla odstraněna opláchnutím, zbytky usušeny při 45° C a pak rozlámány na kousky asi 4 cm dlouhé. Různé staré zbytky vojtěšky (podsev, 1. a 3. užitkový rok) byly odebrány v době odběru zbytků druhého užitkového roku a připraveny stejným způsobem.

Extrakt z posklizňových zbytků byl připravován jejich ponořením do vodovodní vody na dobu 5 hod. při laboratorní teplotě. Jako koncentrace 1 je označován extrakt, jehož bylo uvedeným postupem získáno 100 ml z 20 g zbytků. Tento základní extrakt byl podle potřeby ředěn.

Vliv extraktu byl testován v Petriho miskách Ø 10 cm se dvěma kotoučky filtračního papíru na dně (v misce 10 ml extraktu) a v Petriho miskách se 75 g zeminy (20 ml extraktu).

Působení jiných látek bylo na pšenici zkoušeno v 1% roztoku (ev. suspenzi) těchto látek v Knopově živném roztoku agarizovaném 0,4 % agaru. Extrakt s bílkovinami ze sóje byl připraven podle Hampla (1946).

Testovací plodinou byla ozimá pšenice „Diana“ (pokud neuvedeme jinak), vysazovaná po 25 obilkách na miskou. Od téže varianty (např. koncentrace extraktu) bylo zakládáno souběžně nejméně 6 misek. Klíčení pšenice se dalo za laboratorní teploty. Osmého dne od výsevu byla stanovena průměrná délka, ev. váha sušiny klíčků a kořenů.

Mikrobiologické sledování: v této části práce jenom stanovení proteolytických bakterií plotnovou metodou na agaru z bílkovinného extraktu sójové mouky (Hamp 1946, modif.).

VÝSLEDKY

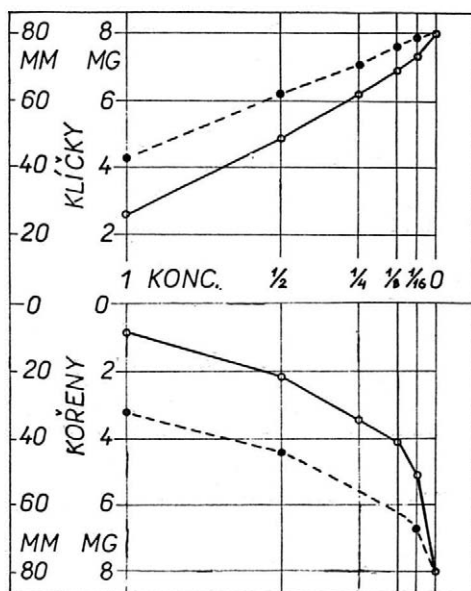
Z diagr. 1 je jasně patrné silné inhibiční působení vyšších koncentrací extraktu ze zbytků vojtěšky jak na vývoj klíčku pšenice, tak především na vývoj kořínků.

Diagr. 2 zachycuje vliv extraktu o koncentraci 1, podléhajícího postupnému mikrobiálnímu rozkladu (uveden rozvoj proteolytických bakterií) na prvé období vývoje pšenice. Je zřejmá postupující inaktivace inhibičního faktoru. Zajímavý je vlnovitý průběh obou křivek; po každém zvýšení stavu bakterií poklesne toxicita extraktu.

Tedy již průzkum extraktu z vojtěškových zbytků poskytuje vhodné informace o způsobu účinnosti těchto zbytků. Je však třeba mít na zřeteli především prostředí půdy, v níž nakonec k působení posklizňových zbytků vojtěšky dochází. Z diagramu 3 je patrné, že i v zemině se projevuje inhibiční působení extraktu (i když zemina toto působení ztlumí, což je patrné ze srovnání diagramů 3 a 1); dochází zde k postupné inaktivaci asi po 10 dnech inkubace, zřejmě v důsledku rozkladu extraktu půdní mikroflórou.

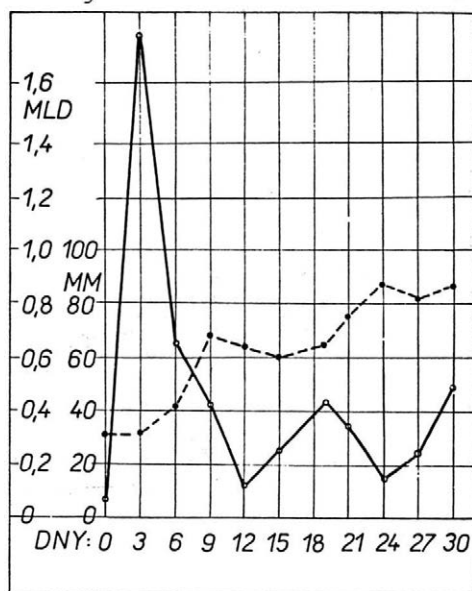
V dalším diagramu (4) je zachyceno ovlivnění pšenice extraktem ze zbytků vojtěšky jednak čerstvých, tj. většinou ještě neodumřelých, jednak odumřelých (po vysušení). Zároveň byl sledován vliv různého stáří vojtěškových zbytků. Je zřejmé, že extrakt z čerstvých zbytků nepůsobí tak toxicky jako z odumřelých. Nejvyšší inhibiční účinek vykazují zbytky ve druhém (u odumřelých ve třetím) užitkovém roce. (Uvedený účinek různě starých zbytků vojtěšky na pšenici se projevil zcela obdobně i při jejich rozkladu v zemině, a to ještě i po 45 dnech od jejich zapravení do půdy, jak ukázal jiný pokus zde neuváděný.)

Dále byla studována specifita účinku extraktu z vojtěškových zbytků na ozimou pšenici. Jak ukazuje diagr. 5, i extrakt ze zbytků silážní kukuřice může mít ve vyšších koncentracích určité inhibiční účinky na vývoj pšenice, ale při nižších koncentracích dochází k patrné stimulaci.



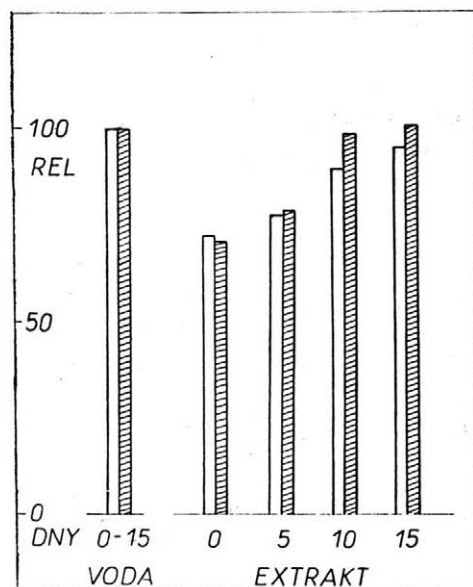
— DĚLKA
--- VÁHA SUŠINY

1. Vliv různých koncentrací extraktu ze zbytků vojtěšky na první období vývoje oz. pšenice



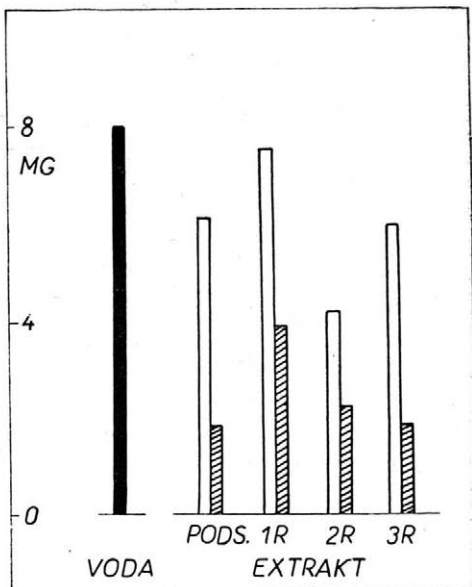
— PROTEOLYTICKÉ BAKT. (V MLD)
--- DĚLKA KLÍČKŮ

2. Rozvoj proteolytických bakterií v extraktu ze zbytků vojtěšky a změny v jeho inhibičním působení na oz. pšenici



□ DĚLKA KLÍČKŮ
▨ VÁHA " (SUŠINA)

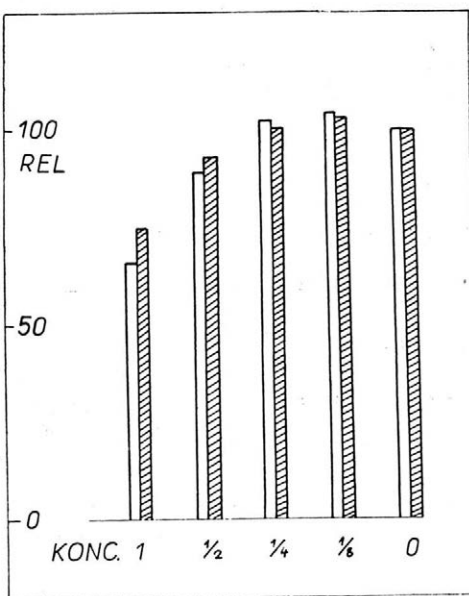
3. Vliv zeminy na inhibiční působení extraktu ze zbytků vojtěšky na pšenici



□ ZBYTKY ČERSTVÉ
▨ ZBYTKY ODUMŘELÉ

4. Působení extraktu z různě starých, čerstvých a odumřelých zbytků vojtěšky na první období vývoje pšenice (prům. váha sušiny klíčků)

5. Prvé období vývoje oz. pšenice v extraktu ze zbytků silážní kukuřice

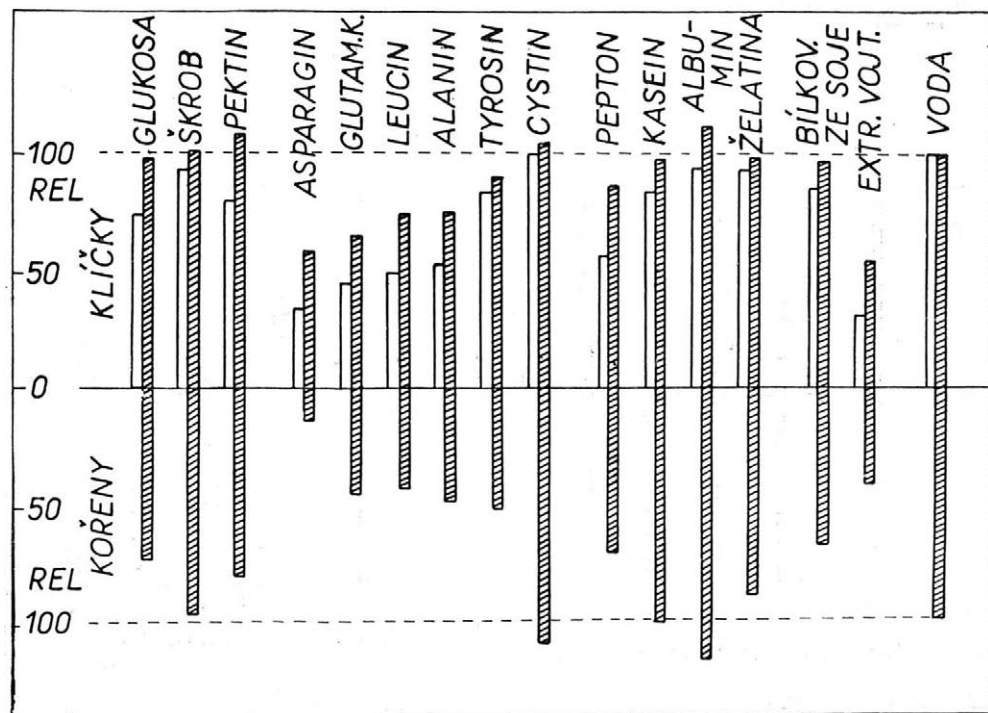


— DĚLKA KLÍČKŮ
 ▨ VÁHA " (SUŠINA)

Další diagram (6) podává přehled o vlivu roztoků (ev. suspenzí) některých čistě uhlíkatých látek, dále některých aminokyselin i několika bílkovin na vývoj nadzemních částí i kořenů pšenice. Účinnost jednotlivých zkoušených látek je zřejmá ze srovnání s vývojem pšenice ve vodě. Je možno konstatovat, že především některé aminokyseliny i bílkoviny dovedou rovněž vyvolat depresi růstu obdobnou účinku extraktu ze zbytků vojtěšky.

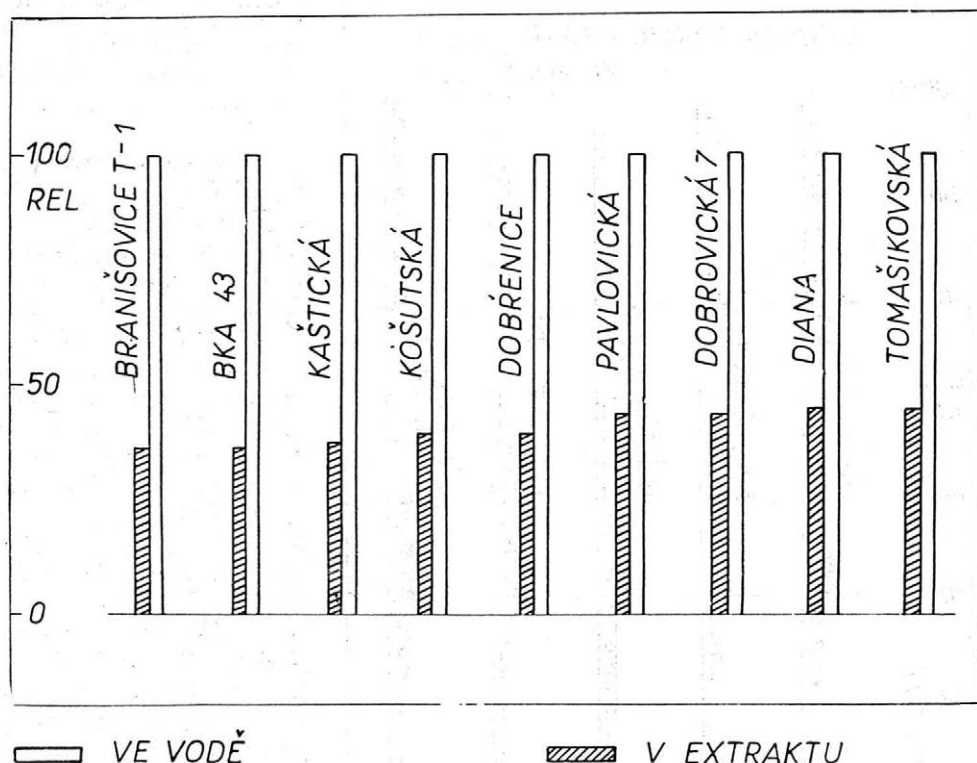
Dále byl zkoušen vliv extraktu z vojtěškových zbytků na vzcházení různých plodin. Nejprve bylo přezkoušeno několik vybraných odrůd ozimé pšenice. Určité, i když celkově ne velké rozdíly v citlivosti existují, jak je patrné z diagramu 7.

Následující diagram (8) dává přehled



— DĚLKA
 ▨ VÁHA SUŠINY

6. Vliv některých organických látek (v konc. 1 %) na první období vývoje oz. pšenice



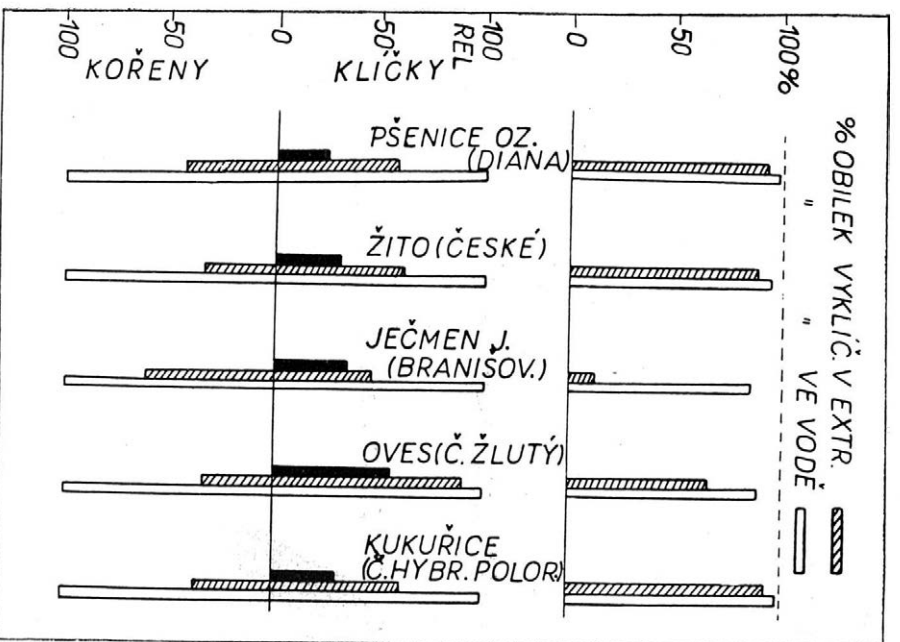
7. Citlivost některých odrůd oz. pšenice v prvním období vývoje na inhibiční působení extraktu ze zbytků vojtěšky

hled o vlivu extraktu ze zbytků vojtěšky na klíčení a vývoj nadzemní části a kořenů různých obilnin. Je patrné, že nejen na pšenici, ale i na ostatní obilniny působí extrakt inhibičně; citlivý je především kořenový systém.

ROZBOR VÝSLEDKŮ

Již prvé laboratorní pokusy potvrdily domněnku o přímém inhibičním působení dosud nerozložených zbytků vojtěšky na klíčení a nejranější období vývoje pšenice. Již i ve vodním výluhu z vojtěškových zbytků, připraveném jednoduchým způsobem, je vývoj pšenice brzděn. Postižen je hlavně kořenový systém, který se ve vyšších koncentracích extraktu buď nevyvíjí vůbec, nebo kořínky zůstávají zakrnělé, bez kořenového vlášení, se zahnědlými špičkami. Ve slabších koncentracích jsou pak silně pokroucené, „utíkají“ z prostředí.

Extrakt je svým složením zřejmě velmi dobrým prostředím pro rychlý rozvoj mikroflóry. Přitom se extrakt původně slabě kyselý (pH 6,2) alkalizuje (po 14 dnech pH 8,5) a jeho toxické působení klesá, zřejmě v důsledku chemických změn. Takto může být vysvětlen úzký vztah mezi změnou pH extraktu a jeho toxicitou, pozorovaný též Patrickem a Kochem (1958) při studiu ovlivnění dýchání rostlin tabáku extraktem ze zbytků různých plodin.



8. Citlivost různých obilnin v prvním období jejich vývoje na inhibiční působení extraktu ze zbytků vojtěšky

Extrakt připravený ze zbytků čerstvých, pověšší ně ještě neodumřelých, nepůsobí tak toxicky jako ze zbytků odumřelých. Tuto skutečnost by bylo možno vysvětlit různou možností pronikání látek z pletiva ven do prostředí. Svědčilo by to též o tom, že se v našem případě velmi pravděpodobně jedná o látky rostlinné vlastní. Tuto domněnku podporuje rovněž skutečnost, že se u těchto posklizňových zbytků vojtěšky mění se stářím plodiny. Nejméně působily na pšenici odumřelé zbytky vojtěšky získané po prvním užitém roce této plodiny.

Naskytlá se pochopitelně otázka, je-li uvedené inhibiční působení výlučnou vlastností vojtěškových zbytků nebo mohou-li je působit i látky jiné. Orientačně byl proto vyzkoušen vliv extraktu z posklizňových zbytků silážní kukuřice; vykazoval určitou inhibici jenom při vyšších koncentracích, při nižších docházelo ke stimulaci růstu pšenice.

K osvětlení dané otázky byly proto dále orientačně zkoušeny některé jiné, chemicky přesněji definovatelné organické látky. Bylo možno stanovit, že především některé aminokyseliny aplikované do prostředí (asparagin, glutaminová kyselina, leucin) dovedou rovněž vyvolat výraznou depresi vývoje jak kořenů, tak i nadzemní části pšenice. Stejně tak i některé bílkoviny (např. pepton) působí ve vyšších koncentracích inhibičně. Obdobné nepříznivé působení běžných nespécifických organických dusíkatých látek, mezi nimi rovněž i některých aminokyselin, stanovil též K u b i s t a (1962), který zkušel jejich vliv na vývoj jetele. Zatím nebylo v pokusech stanoveno, zda jde o přímé působení uvedených látek nebo již metabolitů mikroorganismů je rozkládajících. Pokusy však přesto ukázaly, že i organické látky, z nichž mnohé se mohou vyskytnout v půdě jako meziprodukty rozkladu organické hmoty, mohou působit obdobně inhibičně na vývoj pšenice jako zbytky vojtěšky, které tedy nepůsobí v tomto

směru výlučně. Obdobné poznatky získali i jiní autoři, např. Nielsen, Cuddy, Woods (1960), Kononova (1958), Behmer, Mc Calla (1963), kteří stanovili různé intenzivní inhibiční působení především rostlinného materiálu na některé plodiny. Guenzi a Mc Calla (1962) se na základě prostudovaného materiálu domnívají, že patrně většina rostlin obsahuje látky, které dovedou takto inhibičně na některé jiné rostliny působit. Námi získané poznatky o inhibičních efektech podmíněných některými aminokyselinami i bílkovinami by tomu nasvědčovaly. Na základě uvedeného je snad oprávněna domněnka, že vedle jiných látek (saponiny z vojtěšky, jak uvádějí Mišustin, Naumova 1955, a Naumova 1959) i některé rozkladné produkty především bílkovin (původem ze zbytků rostlin a dále snad i z odumírajících mikroorganismů, pokud se zde silně namnožily) mohou hrát v toxickém působení na rostliny závažnou úlohu. Tuto domněnku bude ovšem třeba prošetřit mnohem podrobnějšími pokusy a konfrontovat ji rovněž s poznatky o negativním působení heteroauxinu ve vyšších koncentracích na růst kořenů (Jakes 1937, Thimann 1937, Lundegårdh 1942, 1960, Åberg 1957) a možnostmi vzniku tohoto auxinu činností mikroflóry.

Pokus s vlivem extraktu ze zbytků vojtěšky na některé odrůdy ozimé pšenice ukázal, přes určité menší rozdíly, celkově značnou citlivost všech zkoušených odrůd k uvedenému faktoru. Rovněž ostatní druhy obilnin se ukázaly jako značně citlivé na toxické působení výluhu, který dovedl u ječmene podstatně, u ovesa částečně snížit již i klíčivost. Pokusy ukázaly, že je postižen především kořenový systém rostlin, což souhlasí s poznatkami především Nielsen, Cuddyho a Woodse (1960) i Kubisty (1962). Čerstvý extrakt z vojtěškových zbytků působí rovněž (podle našich poznatků) na klíčení a raný vývoj vojtěšky; vyšší koncentrace působí inhibiči, nižší naopak zřetelnou stimulaci.

Z uvedeného je tedy patrné, že posklizňové zbytky vojtěšky mohou značně inhibovat klíčení a vzházení ozimé pšenice. V praxi někdy pozorované zhoršené a nepravidelné vzházení ozimé pšenice, která byla zařazena po vojtěšce, je tedy plným právem možno přičítat do značné míry i tomuto vlivu.

Pokusy rovněž ukázaly, že tento negativní vliv není specifický ani pokud jde o působící substrát, ani pro ozimou pšenici, u které by byl zkoumán; jako značně citlivé se totiž projeví obdobně všechny obilniny.

Dále bylo možno stanovit, že inhibiční účinek uvedeného substrátu je silně ovlivňován mikroorganismy, které se v substrátu snadno rozvíjejí, mění jej chemicky a snižují jeho toxicitu. Tato skutečnost je významná pro studium podmínek inaktivace inhibičního faktoru v průběhu rozkladu posklizňových zbytků, o čemž bude pojednáno v další samostatné studii.

SOUHRN

Vodní výluh z posklizňových zbytků vojtěšky (v koncentraci 100 ml výluhu z 20 g zbytků, extrahováno 5 hodin ve vodovodní vodě při laboratorní teplotě) působí na klíčení a první doby růstu ozimé pšenice i ostatních obilnin značně inhibičně. Postižen je především kořenový systém. Působení není specifické; obdobně působí i některé organické látky, například některé aminokyseliny. V extraktu bohaté se rozvíjející mikroorganismy postupně snižují jeho toxicitu pro plodiny.

Došlo dne 13. 9. 1965

Literatura

1. BEHMER, D. E. - MC CALLA, T. M.: The inhibition of seedling growth by crop residues in soil inoculated with *Penicillium urticae* Bainer. = „Plant and Soil“, Vol. XIII, 1963, č. 2, s. 199-206. — 2. ČERNÝ, E.: Biochemie jetele. = „Věstník ČAZ“, 1928, č. 4. — 3. GUENZLI, W. D. - MC CALLA, T. M.: Inhibition of germination and seedling development by crop residues. = „Soil Science Society of America Proceedings“, 26, 1962, č. 5, s. 456-458. — 4. HAMPL, B.: Mikrobiologická příručka, 1946, s. 4. — 5. HOVELAND, C. S.: Germination and seedling vigor of clovers as affected by grass root extracts. = „Crop Sci.“, 4, 1964, č. 2, s. 211-213. — 6. JÁKEŠ, E.: K mikrobiologickému problému motýlokvetých a trav. = „Sborník ČAZ“, 12, 1937, č. 5. — 7. KAŠ, V.: Komplexní charakter únavy půdy = „Sborník VŠZ“, Praha 1962. — 8. KONONOVA, N. M.: Die Humusstoffe des Bodens. Berlin 1958. — 9. KLOKE, A.: Die Humusstoffe des Bodens als Wachstumsfaktoren. Berlin-Hamburg 1963. — 10. KUBISTA, K.: Příspěvek k vysvětlení mikrobiologické únavy půdy. = In: Sborník VŠZ, Praha 1962, s. 69-73. — 11. MC CALLA, T. M. - HASKINS, F. A.: Phytotoxic substances from soil microorganisms and crop residues. = „Bacteriol. Revs.“, 28, 1964, č. 2, s. 181-207. — 12. MOHTADI, S.: Beitrag zur Isolierung von pflanzenphysiologisch wirksamen Stoffen während der Rotte von Stroh. Gießen 1962. — 13. NAUMOVA, A. N.: Nakoplenije toksičeskich vėščestv v serozemnoj počve pod kulturnoj ljučernoj i vlijanije ich na mikrofloru. = „Mikrobiologija na službe sel' chozjajstvu“. Moskva 1959, s. 34-38. — 14. NIELSEN, K. F. - CUDDY, T. E.: The influence of the extract of some crops and soil residues on germination and growth. = „Canadian Journal of Plant Science“ 40, 1960, s. 188-197. — 15. NOVÁČEK, J. - ŘÍDKÝ, K. - TALAFANTOVÁ, A.: Výzkum různých způsobů oreb v osevních postupech - díleč úkol: Výzkum různé doby a způsobu zaorávky travoplného honu. Záv. zpráva ÚVÚRV Ruzyně 1961. — 16. PATRICK, L. A. - KOCH, L. W.: Inhibition of respiration and growth by substances arising during the decomposition of certain plant residues in the soil. = „Canadian Journal of Botany“, 1958, č. 36, s. 621-647. — 17. REGÁL, V.: Vliv vodního výluhu jetele červeného na klíčení různých plodin. = „Sborník ČAZ“ 1948, s. 84-91. — 18. ŘÍDKÝ, K.: Výzkum vhodných osevních postupů z hlediska mikrobiologického. Závěrečná zpráva ÚVÚRV - Výzkumná stanice základní agrotechniky a hnojení, Pohořelice u Brna 1962. — 19. ŘÍDKÝ, K.: Půdní mikroflora a pšenice oz. po různých předplodinách. Předběžné sdělení. = „Sborník Rostlinná výroba“, 1963, č. 7-8, s. 756-759. — 20. ŘÍDKÝ, K.: Vliv předplodin na ozimou pšenic. II. Význam půdní mikroflory. = „Rostlinná výroba“ 10, 1964, č. 8, s. 785-798. — 21. STARKEY: Vzaimnootnošeniya meždu mikroorganizmami i kornjami v rizosfere. = „Sel'skoje chozjajstvo za rubežom; Zemledelije“, 1958, č. 3, s. 3-27.

Влияние пожнивных остатков люцерны на всходы озимой пшеницы

I. часть

Водная вытяжка из пожнивных остатков люцерны (в концентрации: 100 мл вытяжки из 20 г остатков, выдерживалась 5 часов в водопроводной воде при лабораторной температуре) оказывает сильно ингибирующее действие на прорастивание и первый период роста озимой пшеницы и других зерновых культур. Действие неспецифическое; аналогично действуют и некоторые органические вещества, например и некоторые аминокислоты. В экстракте сильно развивающиеся микроорганизмы постепенно понижают его токсичность для культуры.

В. Текст к диаграммам

1. Влияние разных концентраций экстракта из остатков люцерны на первый период развития озимой пшеницы
2. Развитие протеолитических бактерий в экстракте из остатков люцерны и изменения в его ингибирующем действии на озимую пшеницу
3. Влияние грунта на ингибирующее действие экстракта из остатков люцерны на пшеницу
4. Действие экстракта из различно старых, свежих и отмерших остатков люцерны на первый период развития пшеницы (средний вес сухого вещества роста)
5. Первый период развития озимой пшеницы в экстракте из остатков силосной кукурузы

6. Влияние некоторых органических веществ (в концентрации 1 %) на первый период развития озимой пшеницы
7. Чувствительность некоторых сортов озимой пшеницы в первом периоде развития на ингибирующее действие экстракта из остатков люцерны.
8. Чувствительность разных зерновых в первый период их развития к ингибирующему действию экстракта из остатков люцерны.

The Effect of Post-Harvest Rests of Alfalfa on the Emerging of Winter Wheat — 1st Part

A. Summary

An aqueous extract of post-harvest remnants of alfalfa (in a concentration of: 100 ml extract prepared from 20 g of remnants, extracted for five hours in tap water at laboratory temperature) exerts a considerably inhibitory effect on the germination and in particular on the initial periods of the growth of winter wheat and other cereals.

The most affected part on the plant is in particular the root system. The influence is not specific; an analogous effect was observed also with some organic compounds, for instance some amino acids. The microorganisms vigorously developing in the extract lower gradually the latter's toxicity concerning the crops

B. Text to Graphs

1. The effect of various concentrations of extracts prepared from alfalfa remnants on the initial period of the vegetative development of winter wheat
2. The development of proteolytic bacteria in the extract prepared with alfalfa remnants and the changes occurring in its inhibitory effect on winter wheat
3. The influence of earth on the inhibitory effect exerted on wheat by the extract prepared with alfalfa remnants
4. Effect of the extract prepared from differently old, fresh and decayed remnants of alfalfa on the first period of the development of wheat (average weight of the dry matter of germs)
5. The first period of the development of winter wheat in the extract prepared from remnants of silage maize
6. The effect of some organic substances (in a 1 per cent concentration) on the initial period of the development of winter wheat
7. The sensitiveness of certain varieties of winter wheat during the initial period of development to the inhibitory effect of an extract prepared from alfalfa remnants
8. The sensitiveness of various cereals in the first period of their development to the inhibitory effect of an extract prepared from alfalfa remnants

Einfluß der Luzernereste nach der Ernte auf das Aufkommen von Winterweizen

I. Teil

A. Zusammenfassung

Die Wasserauslaugung aus den Luzerneresten nach der Ernte (in einer Konzentration von: 100 ml Auslaugung aus 20 g Resten, extrahiert 5 St. im Wasserleitungswasser bei Labortemperatur) wirkt ziemlich inhibierend auf das Keimen und auf die ersten Wachstumsperioden des Winterweizens und der übrigen Getreidearten. Das Wurzelsystem wird in erster Reihe betroffen. Die Wirkung ist nicht spezifisch; eine ähnliche Wirkung haben auch einige organische Stoffe, zum Beispiel einige Aminosäuren. Die im Extrakt sich reich entwickelnden Mikroorganismen setzen ihre Toxizität für Pflanzen allmählich herab.

B. Text zu der graphischen Darstellung

1. Einfluß verschiedener Konzentrationen des Extraktes aus den Luzerneresten auf die erste Entwicklungsperiode bei Winterweizen
2. Entwicklung proteolytischer Bakterien im Extrakt aus Luzerneresten und Änderungen seiner Inhibitionswirkung auf den Winterweizen

3. Einfluß der Erde auf die inhibitive Wirkung des Extraktes aus Luzerneresten auf den Weizen
4. Wirkung des Extraktes aus verschieden alten, frischen und abgestorbenen Luzerneresten auf die erste Entwicklungsperiode des Weizens (Durchschnittsgewicht der Trockensubstanz der Keime)
5. Erste Entwicklungsperiode des Winterweizens im Extrakt aus Silomaisresten
6. Einfluß einiger organischer Stoffe (in einer Konzentration von 1 %) auf die erste Entwicklungsperiode des Winterweizens
7. Empfindlichkeit einiger Winterweizensorten während der ersten Entwicklungsperiode auf die Inhibitionswirkung des Extraktes aus Luzerneresten
8. Empfindlichkeit verschiedener Getreidearten während ihrer ersten Entwicklungsperiode auf die Inhibitionswirkung des Extraktes aus Luzerneresten.

Adresa autora:

Dr. Karel Řídký, ÚVÚRV — Výzkumná stanice základní agrotechniky a hnojení, Pohořelice

Současné poznatky o vzniku symbiózy a o morfogenezi tkáně kořenové hlízky u vřkvvitých rostlin

Studium hlízkových bakterií a jejich symbiózy s rostlinou dosáhlo v posledních letech vynikající úrovně a je mu věnována velká pozornost jak mikrobiologů, tak fyziologů rostlin, botaniků a biochemiků. Jedním ze základních, ale až do nedávné doby velmi nedostatečně osvětleným problémem, byl vlastní proces vzniku symbiózy a morfogeneze tkáně kořenové hlízky.

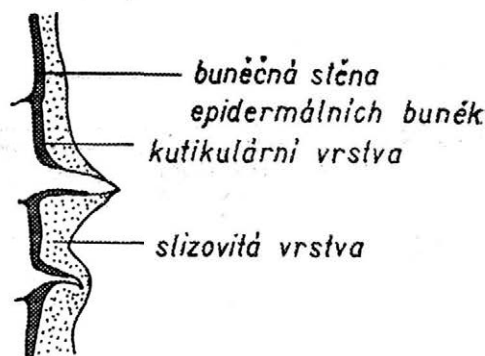
Tato práce má proto podat přehled základních literárních údajů o novějších poznatcích týkajících se vlastního infekčního procesu a morfologických změn, které tento proces doprovázejí.

RHIZOSFÉRA MOTÝLOKVĚTÝCH ROSTLIN

Dnes všeobecně akceptovaným názorem je, že infekce kořenů vřkvvitých rostlin se uskutečňuje v zásadě dvěma cestami: prostřednictvím kořenového vlásku (Allen a Allen 1958), nebo u rostlin, které postrádají kořenové vlásky (*Neptunia oleracea*), přímo infekcí kořenové epidermální buňky (Schaefer 1940).

Stejně tak jako u ostatních rostlin jsou v rhizosféře leguminóz nahromaděny především G (-) bakterie, jejichž rozvoj je včetně rhizobií stimulován kořenovými exkrekty bohatého složení (Rovira 1962).

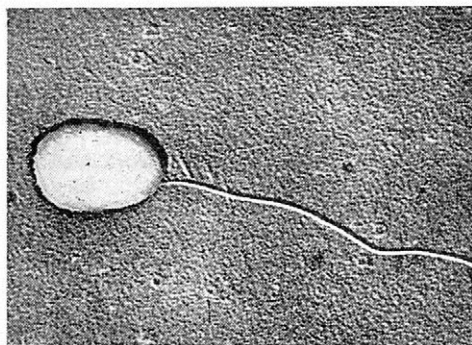
Podrobně se stavbou nejbližší rhizosféry leguminóz zabývali Dart a Mercer (1964). Na základě snímků ze světelného a elektronového mikroskopu rozlišují na povrchu inokulovaného kořene dvě, respektive tři základní vrstvy (obr. 1): amorfní vrstvu „kutikulární“ a slizovitou granulovanou vrstvu, kterou popřípadě dále dělí na dvě zóny. Slizovitá granulovaná vrstva je místem koncentrace buněk rhizobií, které jsou v různých formách přítomny v obou zónách této vrstvy („R“ a „D“). Amorfní „kutikulární“ vrstva a zóna „R“ slizovité granulované vrstvy jsou pravidelně proniknuty kořenovým vláskem. V některých případech proniká kořenový vlasek i zónu „D“. Deformované „curled“ kořenové vlásky, o jejichž významu bude pojednáno dále a infikované kořenové vlásky se



1. Schématický náčrt povrchu inokulovaného kořene vřkvvité rostliny (podle Dart a Mercera 1964a)

nalézají právě v zóně „R“ slizovité granulované vrstvy rhizosféry.

Hlavní masa rhizobií je koncentrována především v „R“ zóně, přičemž v blízkosti kořenové čepičky byly v některých případech pozorovány kolonie rychle se pohybující formy rhizobií „swarmers“, jimž je přisuzována určitá úloha při pronikání do tkáně kořenového vlásku. Současně s tím autoři zjistili na vrcholu kořenového vlásku ležícího v „R“ zóně granulované slizovité vrstvy malou svě-



2. *Rhizobium japonicum*, kmen D 174 ze sbírky oddělení mikrobiologie ÚVÚRV v Ruzyni. Normální vegetativní buňka s bičíkem. Zvětšení 30 000 X. Foto Klír

loločnou skvrnu, která by mohla, podle jejich názoru, představovat velmi lokalizovanou změnu kořenového povrchu přímo související s proniknutím rhizobií do kořenové tkáně.

CHEMISMUS INFEKČNÍHO PROCESU

Máme-li dnes k dispozici víceméně přesvědčivé dokumenty o stavbě vlastní kořenové hlízky, pak chemismus infekčního procesu zůstává dosud ve stádiu hypotéz. Je bezesporu, že tato skutečnost je především způsobena obtížností postihnout vzájemné ovlivnění mikrosymbionta a makrosymbionta ve stádiu, kdy ještě nedošlo k vytvoření morfologicky diferenciované a infikované tkáně kořenové hlízky.

Podle dosavadních výsledků jsou za hlavní činitele v chemismu infekčního procesu považovány kyselina β -indolyloctová, která je vytvářena hlízkovými bakteriemi z tryptofanu vylučovaného kořeny hostitelské rostliny Kefford, Brockwell a Zwar 1960) a zvýšená tvorba polygalakturonázy kořeny motýlokvěte rostliny, indukovaná přítomností specifické, ve vodě rozpustné látky polysacharidového charakteru, produkované hlízkovými bakteriemi (Fähræus a Ljunggren 1959, Ljunggren a Fähræus 1959, 1961, Ljunggren 1961, Lange a Alexander 1961)

Úloha β -indolyloctové kyseliny je dosud neuspokojivě vysvětlena, ale všeobecně se předpokládá, že tato látka má vliv na plasticitu buněčné stěny, a že provádí jakousi její „sensitivizaci“ v prvopočátku infekčního procesu (Thornton 1936, Nutman 1959, 1963, Kefford et al.

Vysoce pohyblivé formy hlízkových bakterií, jejichž kolonie našli Dart a Mercer (1964) na povrchu kořenového vlásku, byly popsány jako jedna z vývojových forem řadou autorů (Fred, Baldwin a McCoyová 1932, Bisset a Hale 1951, Leifson a Erdman 1958, Nutman 1959). Dart a Mercer (1964) popisují tyto pohyblivé „swarmers“ jako malé koky o průměru 0,1–0,4 μ , opatřené velkým počtem bičíků nebo bičíkům podobných fibril, které postrádaly typického vlnění, jaké je známo u bičíků agarových kultur (obr. 2).

Další formou rhizobií, která se vyskytovala přímo na mikrofibrilární síťovině celulózních vláken kořenového vlásku, byla forma bezbičíkatých koků téže velikosti jako forma pohyblivá. Mikrofibrilární síťovina celulózních vláken vytvářela interfibrilární nepravidelné prostory velikosti 0,3–0,4 μ . Podle názoru výše uvedených autorů by mohly být právě tyto interfibrilární prostory po případném působení pektolytických enzymů místem přímého vstupu křovitých forem rhizobií.

1960, Ljunggren a Fähræus 1961). Do spojitosti s účinkem β -indolyloctové kyseliny je kladena známá deformace kořenových vlásků „curling“, pozorovaná u většiny leguminóz (Nutman 1963, Sahlmanová a Fähræus 1963, Haack 1964), ačkoliv infekční vlákna hlízkových bakterií byla zjištěna i v ne-deformovaných kořenových vláscích (Nutman 1959, Burginn-Wolff 1959).

Vzájemnou souvislost mezi zvýšenou tvorbou polygalakturonázy kořeny inokulované rostliny a infekčním procesem vyvozují Ljunggren a Fähræus (1959, 1961), Ljunggren (1961), Fähræus a Ljunggren (1959) ze svých pokusů, ve kterých studovali působení rhizobiemi produkovaných slizovitých látek virulentních a nevirulentních kmenů na tvorbu polygalakturonázy. Jestliže ve svých pokusech použili virulentní kmen rhizobií, popřípadě i izolovaný a částečně vyčištěný slizovitý preparát extracelulárních polysacharidů produkovaných tímto kmenem, došlo u kořene motýlokvěte rostliny k průkaznému zvýšení produkce polygalakturonázy. V pokusech Ljunggren a (1961) nastala infekce i v případě, že byl pro inokulaci použit nevirulentní kmen *Rhizobium trifolii*, ke kterému byl přidán čistý preparát extracelulárního polysacharidu kmene viru-

lentního a v pokusech Langeho a Alexandra (1961) došlo dokonce k překročení hranice křížově — inokulační skupiny (*Melilotus* X *Trifolium* X *Astragalus*) a ke vzniku infekce i v tom případě, že ke kmeni nevirulentnímu, izolovanému z rostliny z jiné křížově — inokulační skupiny, byl přidán polysacharidový preparát kmene pro zkoušenou rostlinu virulentního.

V obou posledně jmenovaných sériích pokusů (Ljunggren 1961, Lange a Alexander 1961), kdy šlo o přímý přenos virulence prostřednictvím extracelulárního polysacharidového preparátu, se autoři domnívali, že by se na tomto přenosu mohla podílet i DNK donátorového

kmene, jejíž přítomnost v polysacharidu dokazovali Lange a Alexander (1961) působením desoxyribonukleázy, která rušila působení virulentního transformačního agens přítomného v preparátech. Funkci DNK v preparátu vysvětlovali Ljunggren (1961) a Lange a Alexander (1961) analogií se známým transformačním efektem, kterého bylo dosaženo s DNK u řady bakterií při přenosu určitých vlastností, mezi jiným i při přenosu virulence u rhizobií (Balassa 1960). Pokusy Ljunggren a Langeho a Alexandra (1961) opakovali později Humphreyová a Vincent (1963), ale s negativními výsledky.

INFEKČNÍ VLÁKNO A JEHO STAVBA

Ať už je prvotní mechanismus proniknutí hlízkových bakterií do tkáně kořenového vlásku výsledkem přímé penetrace buněk kořenového vlásku nebo mikrovaginace buněčné stěny, tak jak to např. předpokládal Nutman (1956, 1959) a Sahlmanová a Fähræus (1963), skutečnost zůstává, že přímým důkazem vlastní infekce je nálezkem morfologicky definovaného infekčního vlákna nebo jinak uspořádaného infekčního ložiska ve tkáni kořenového vlásku.

Stavbou infekčního vlákna se zabývala na různé metodické úrovni řada autorů (Nutman 1956, Gołębiowska a Sypniewska 1962, Sahlmanová a Fähræus 1963, Jordan, Grinyer a Coulter 1963, Dart a Mercer 1963a, 1964b, Mosseová 1964, Dixon 1964). V zásadě je za infekční vlákno považován nahý slizovitý provazec (nemá vlastní blánu) obalený pochvou rostlinného původu, která přímo souvisí se stěnama buněk kořenového vlásku a histochemicky reaguje podobně jako stěny okolních rostlinných buněk (celulóza, hemicelulóza, pektinové látky — McCoyová 1932 — (obr. 3).

Podle některých autorů (Thornton 1930, Mosseová 1964) pochva uzavírající mukoidní provazec není celistvá, takže vrchol infekčního vlákna je nahý. Naopak Nutman (1956, 1959, 1963) a Jordan et al. (1963) tvrdí, že vlastní masa infekčního provazce nepřichází nikdy do

přímého styku s plazmou hostitelské buňky a je po celé své délce obalena pochvou rostlinného původu.

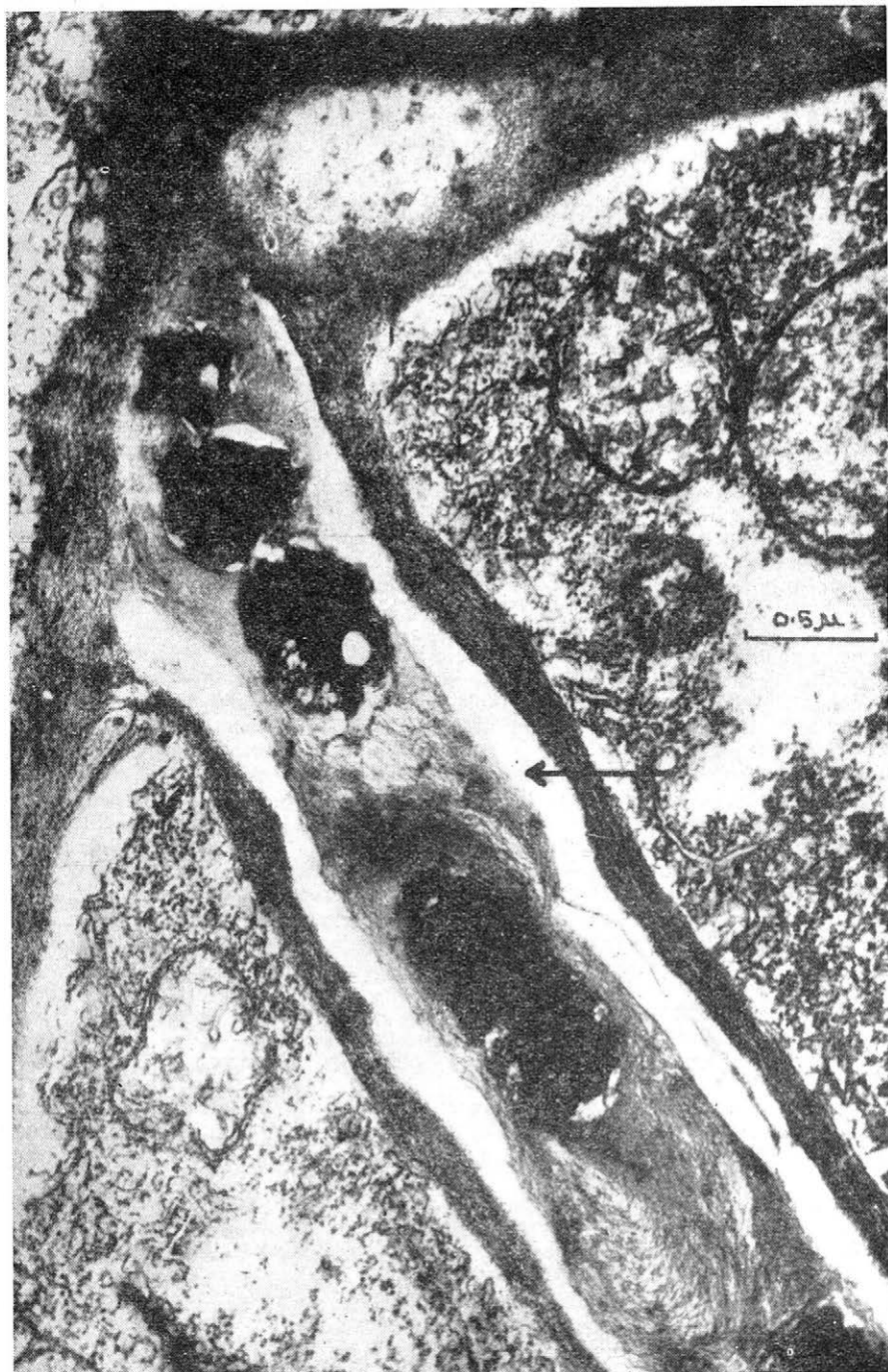
Vlastní hmota infekčního vlákna tvořená mukoidní, nestrukturní masou pravděpodobně produkovanou činností rhizobií, uzavírá v sobě tyčinkovité až oválné, nepohyblivé formy rhizobií, které jsou na některých snímcích z elektronového mikroskopu odděleny od nestrukturní masy infekčního vlákna jasnější zónou připomínající kapsule (Dart a Mercer 1963, 1964b, Sahlmanová a Fähræus 1963, Mosseová 1964, Dixon 1964). Je však na druhé straně možné, že jde o „prázdné“ prostory vzniklé jako artefakty smrštěním buněk po předchozí fixaci (Dixon 1964).

Prorůstání infekčního vlákna intercelulárními prostory kořenové tkáně je podle názoru některých autorů závislé na poloze jádra rostlinných buněk, přičemž infekční vlákno stimuluje určité tetraploidní buňky k dělení a tak k vytvoření prvotního meristemu hlízky (Wipf a Cooper 1940, Mosseová 1964). Byly však popsány i takové případy, kdy opouzdřené infekční vlákno prorostlo kořenovou buňku, aniž došlo k uvolnění rhizobií do její cytoplazmy (Jordan et al. 1963). Morfologická stavba rhizobiálních buněk v infekčním vláknu je v zásadě podobná stavbě jiných G (—) bakterií, buňky však postrádají, jak již bylo řečeno výše, bičíky.

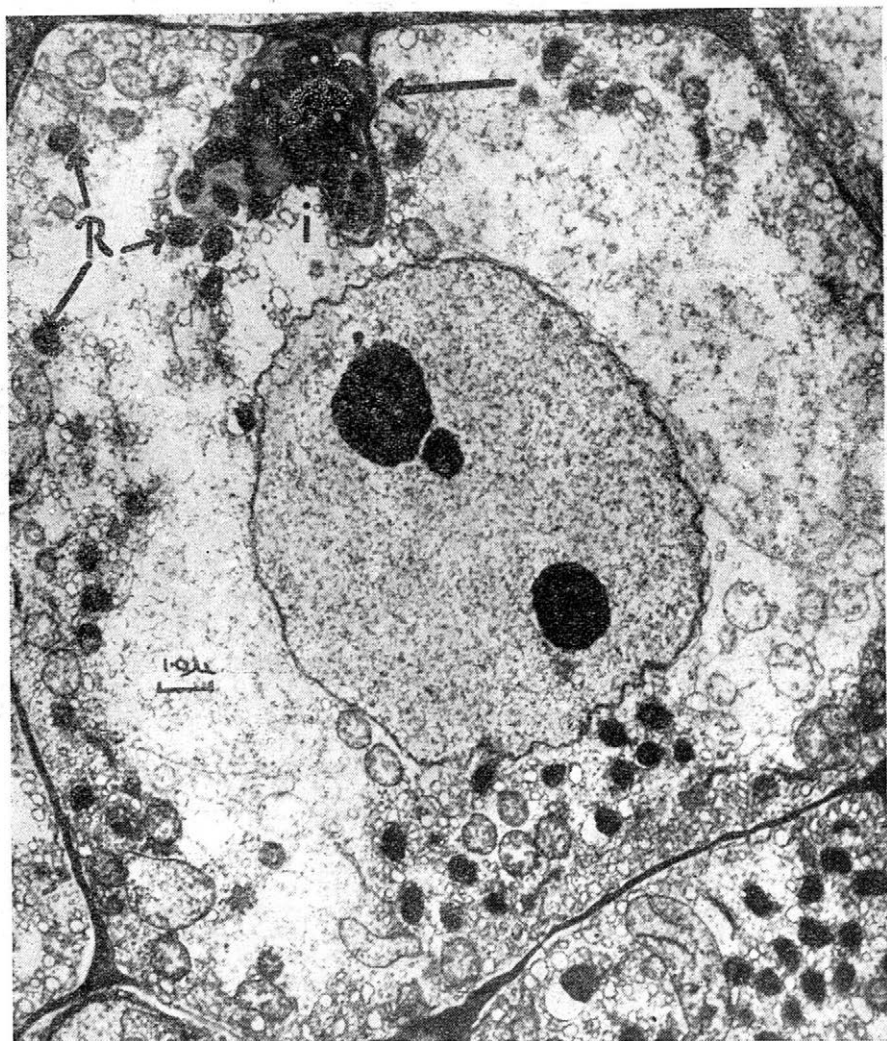
UVOLNĚNÍ BAKTERIÍ Z INFEKČNÍHO VLÁKNA DO CYTOPLAZMY HOSTITELSKÉ BUŇKY

Jakmile pronikne infekční vlákno do buňky kořenové tkáně, dochází ve většině případů k uvolnění buněk rhizobií do cytoplazmy hostitelské buňky (obr. 4). Způ-

sob uvolnění rhizobií je v zásadě dvojí: bakterie jsou buď uvolňovány do hostitelské cytoplazmy z otevřeného konce infekčního vlákna anebo v druhém případě



3. Infekční vlákno prorůstající intercelulárními prostory. *Medicago sativa*. Jordan et al. 1963



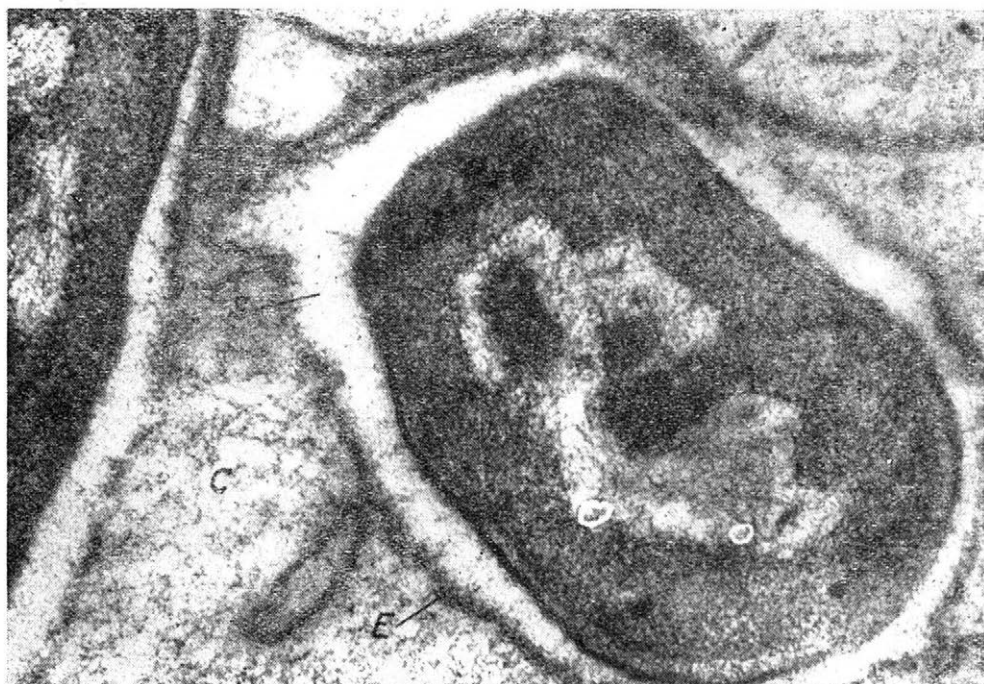
4. i — infekční vlákno ve stádiu uvolnění rhizobií do cytoplazmy hostitelské buňky. R — uvolněná rhizobia. Jordan et al. 1963. *Medicago sativa*

prasknutím laterálních výdutí (váchků), které se vytvářejí hlavně u starších infekčních vláken a uzavírají v sobě buňky rhizobií. Oba způsoby uvolňování předpokládá již Thornton (1930), uvolnění prasknutím infekčního vlákna pak Bieberdorf (1938) a prasknutím laterálních vesikul také Lechtová - Trnka (1931). Tvorbu laterálních nebo terminálních vesikul u infekčního vlákna potvrdili v poslední době Jordan et al. (1963), Dart a Mercer (1964b) a Mosseová (1964), kdežto uvolnění z neopouzdřené části infekčního vlákna bylo popsáno

především Dixonem (1964), Dartem a Mercerem (1964b) a Mosseovou (1964).

Právě uvolněné bakterie jsou ve většině případů ještě obaleny zbytkem zoogleální masy infekčního vlákna, která však velmi rychle mizí, popřípadě jsou vytlačovány z vláken i bez těchto přechodných obalů.

Schopnost dalšího množení je zachována jak u rhizobií uzavřených v infekčním vláknu, tak po určitou dobu i u buněk uvolněných do cytoplazmy, přičemž se



5. Uložení bakteroidu v hostitelské buňce — *Medicago tribuloides*. E — membránový endoplazmatický obal, C — cytoplazma hostitelské buňky, S — slizovitá vrstva mezi bakteroidem a membránovým endoplazmatickým obalem. Zvětšení 70 000 X (40 000 X 1,75). Dart a Mercer 1963a

všeobecně soudí, že rychlost množení je podstatně vyšší u právě uvolněných bakteriálních buněk. Tento předpoklad vychází především z toho, že se v infikovaných buňkách hostitele nachází podstatně větší počet buněk rhizobií než ve

hmotě infekčního vlákna. Proces uvolňování buněk z infekčního vlákna popřípadě jejich další dělení je spojováno jednak se stavem jádra hostitelské buňky, jednak se stavem a fyziologickou aktivitou její plazmy (Mossova 1964).

PŘEMĚNA TYČINKOVITÉ FORMY RHIZOBIÍ V „BAKTERIODY“

Název „bakteroid“ nebo „bakteroidní“ forma rhizobií nemá v současné době zcela vyhraněný obsah. Tento název je jednak užíván při označování forem hlízkových bakterií, které se vyskytují ve tkáni morfologicky diferenciované hlízky (leghaemoglobinová tkáň) a na druhé straně jsou tímto názvem označovány zvláštní morfologicky definované buňky v kulturách hlízkových bakterií, které se vzácně vyskytují při kultivaci.

V této práci používáme název „bakteroid“ pouze ve smyslu prvého, to znamená, že jím označujeme plně vyvinuté buňky hlízkových bakterií nacházející se v růžové tkáni hlízky, obsahující leghaemoglobin, které prodělaly určité morfo-

logické a cytologické změny po uvolnění z infekčního vlákna.

Bergersen a Briggsová (1958) považují za hlavní strukturální rozdíl mezi „bakteroidy“ a buňkami rostoucími *in vitro* menší hustotu cytoplazmy, její sníženou barvitelnost bazickými barvivami, zvětšení počtu vakuol a podstatné zvětšení velikosti. V některých případech je vznik bakteroidů charakterizován objevením se typických „Y“ tvarů. Zajímavé bylo jejich zjištění, že bakteroidy izolované z rozdrcených hlízek postrádaly buněčnou stěnu (bakteroidy z hlízek sóji). Fyziologickými a biochemickými vlastnostmi izolovaných bakteroidů se zabýval především Jordan (1960, 1962).

Nepřítomnost buněčných stěn u bakteroidů, tak jak ji zjistili Bergersen a Briggsová (1958), nebyla však jinými autory potvrzena (Dart a Mercer 1963a, b, c). Přeměna tyčinkovité formy rhizobií v bakteroid je doprovázena mnohonásobným zvětšením objemu buněk (deseti až dvanáctinásobným), disperzí jaderné hmoty a mohutným zvětšením a komplikací endoplazmatického retikula (Dart a Mercer 1963a, c). Disperze jaderné hmoty je současně doprovázena snížením intenzity Feulgenovy reakce (Heumann 1952, Bergersen 1955). Význačnou vlastností, která je charakteristická pro zralý bakteroid, je ztráta

schopností dělení (Almon 1932) a disperze plazmatických inkluzních granulí (Gołębiewska a Sypniewska 1962, Dart a Mercer 1963a, 1964b, Mosseová 1964).

Mohutný rozvoj endoplazmatického membránového retikula bakteroidů je spojován se zvýšenou enzymatickou aktivitou bakteroidů v leghaemoglobální oblasti tkáně kořenové hlízky a celý systém je považován za místo řady oxydo-redukčních reakcí přímo souvisejících s aktivací molekulárního dusíku (Bergersen 1958, 1960, Falk, Appleby, Porra 1959, Dart a Mercer 1963c).

ZMĚNY V HOSTITELSKÉ BUŇCE PO INFEKCI RHIZOBIEMI

Proniknutí infekčního vlákna do buňky kořenového vlásku a uvolnění rhizobií do cytoplazmy je pochopitelně doprovázeno výraznými změnami v ultrastruktuře hostitelské buňky.

Na základě prací Bergersena a Briggsové (1958), Bergersena (1960), Jordana et al. (1963), Darta a Mercera (1963a, b, 1964b), Mosseové (1964) a Dixona (1964) je si možno vytvořit následující schéma změn v ultrastruktuře infikované hostitelské buňky; oproti neinfikované kořenové buňce dochází k významnému zvětšení endoplazmatického retikula, zvýšení počtu ribosomů, Golgiho tělísek, mitochondrií a proplastidů. Endoplazmatické retikulum mění svou formu a rozložení v buňce, přičemž ultrastrukturální změny zasahují i perinukleární membránu, ve které se objevuje řada velkých otvorů. Jakmile se vyvinou bakteroidy, začnou se plastidy hostitelských buněk plnit škrobem a jsou spolu s mitochondriemi zatlačovány k buněčné stěně. Jak bakteroidy, tak hostitelská buňka se značně zvětší, takže je obsah buňky, až na jádro a vakuolu, prakticky zcela vyplněn bakteroidy a buněčná cytoplazma je vytlačena k periférii buňky a do úzkých pásů mezi jednotlivými bakteroidy.

Zcela novým morfologickým útvarem, který se vytváří v infikované hostitelské buňce, je systém endocytoplazmatických

membránových obalů, které obklopují a uzavírají v sobě buď každý jednotlivý bakteroid (*Trifolium subterraneum*, *Medicago tribuloides*, *Vicia atropurpurea*, *Vigna sinensis*, *Viminaria juncea*, *Acacia longifolia*, *Lupinus angustifolius*, *Pisum sativum*, *Trifolium pratense*, *Trifolium parviflorum*, *Trifolium repens*, *Medicago sativa* — obr. 5), nebo skupinu 2—6 bakteroidů (*Glycine max*). Vznik systému endocytoplazmatických membránových obalů v cytoplazmě hostitelské buňky je vysvětlován v zásadě třemi způsoby: buď je uvedený membránový systém odvozen z plazmatické membrány hostitelské buňky (Bergersen a Briggsová 1958, Dixon 1964), nebo z endocytoplazmatického retikula (Jordan et al. 1963, Mosseová 1964), popřípadě je syntetizován *de novo* enzymatickou činností hostitelské buňky (Dart a Mercer 1963a, 1964b). Všichni autoři se však shodují v tom, že endocytoplazmatické membránové obaly obklopující bakteroidy v cytoplazmě hostitelské buňky jsou rostlinného a nikoliv bakteriálního původu.

Význačnou úlohu v procesu fixace atmosférického dusíku přisuzuje Bergersen (1960a, b) právě endocytoplazmatickým membránovým obalům, které uzavírají nejen bakteroidy, ale podle jeho názoru i leghaemoglobin a na základě pokusů s ^{15}N by mohly být místem prvotní vazby molekulárního dusíku.

Došlo dne 8. 5. 1965

Literatura

1. ALLEN, E. K. - ALLEN, O. N.: Biological aspects of symbiotic nitrogen fixation, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 8, s. 48-118, Berlin. Göttingen, Heidelberg: Springer 1958. (Citováno podle Darta a Mercera, 1964 b). — 2. ALMON, L.: Concerning the reproduction of bacteroids. = „Zbl. Bakt.“, II Abt., 87, 1932, s. 289-297. — 3. BALASSA, R.: Transformation of a strain of *Rhizobium lupini*. = „Nature“, 188, 1960, s. 246-247. — 4. BERGERSEN, F. J.: The cytology of bacteroids

from root nodules of subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). = „J. gen. Microbiol.“, 1955, č. 13, s. 411-419. — 5. BERGERSEN, F. J.: The bacterial component of soybean root nodules, changes in respiratory activity, cell dry weight and nucleic acid content with increasing nodule age. = „J. gen. Microbiol.“, 1958, č. 19, s. 312-323. — 6. BERGERSEN, F. J.: Biochemical pathways in legume root nodule nitrogen fixation. = „Bact. Rev.“, 1960a, č. 24, s. 246-250. — 7. BERGERSEN, F. J.: Incorporation of ^{15}N into various fractions of soybean root nodules = „J. gen. Microbiol.“, 1960b, č. 22, s. 671-678. — 8. BERGERSEN, F. J. - MARGARET BRIGGS, J.: Studies on the bacterial component of soybean root nodules: cytology and organization in the host tissue. = „J. gen. Microbiol.“, 1958, č. 19, s. 482-490. — 9. BIEBERDORF, F. W.: The cytology and histology of the root nodules of some Leguminosae = „J. Am. Soc. Agron.“, 1938, č. 30, s. 375-389. (Citováno podle Jordana et al., 1963). — 10. BISSETT, K. A. - HALE C. M. F.: The production of swimmers in *Rhizobium* spp. = „J. gen. Microbiol.“, 1951, č. 5, s. 592-595 — 11. BURGINS-WOLFF, A.: Untersuchungen über die Infektion von Wurzeln durch Knöllchenbakterien. = „Ber. Schweiz. bot. Ges.“, 1959, č. 59, s. 75-111. (Citováno podle Darta a Mercera, 1964a). — 12. DART, P. J. - MERCER, F. V.: Development of the bacteroid in the root nodule of barrel medic (*Medicago tribuloides* Desr.) and subterranean clover (*Trifolium subterraneum* L.). = „Arch. Mikrobiol.“, 1963a, č. 46, s. 382-401. — 13. DART, P. J. - MERCER, F. V.: Membrane envelopes of legume nodule bacteroids. = „J. Bacteriol.“, 1963b, č. 85, s. 951-952. — 14. DART, P. J. - MERCER, F. V.: The intracytoplasmic membrane system of the bacteroids of subterranean clover nodules (*Trifolium subterraneum* L.). = „Arch. Mikrobiol.“, 1963c, č. 47, s. 1-18 — 15. DART, P. J. - MERCER, F. V.: The legume rhizosphere. = „Arch. Mikrobiol.“, 1964a, č. 47, s. 344-378. — 16. DART, P. J. - MERCER, F. V.: Fine structure changes in the development of the nodules of *Trifolium subterraneum* L. and *Medicago tribuloides* Desr. = „Arch. Mikrobiol.“, 1964b, č. 49, s. 209-235. — 17. DIXON, R. O. D.: The structure of infection threads, bacteria and bacteroids in pea and clover root nodules. = „Arch. Mikrobiol.“, 1964, č. 48, s. 166-178. — 18. FÄHRAEUS, G. - LJUNGGREN, H.: The possible significance of pectic enzymes in root hair infection by nodule bacteria. = „Physiol. Plantarum“, 1959, č. 12, s. 145-154. — 19. FALK, J. E. - APPLEBY, C. A. - PORRA, R. J.: The nature, function and biosynthesis of the haem compounds and porphyrins of legume root nodules. = „Symp. Soc. exp. Biol.“, 1959, č. 13, s. 73-86. (Citováno podle Darta a Mercera, 1963c). — 20. FRED, E. B. - BALDWIN, I. L. - MCCOY, E.: Root nodule bacteria and leguminous plants. Univ. Wisconsin Studies in Sci. 5, Madison, Wisc., 1932. — 21. GOŁĘBIEWSKA, J. - SYPNIEWSKA, U.: Studies on the development cycle of *Rhizobium lupini* in root nodules. = „Acta Microbiol. Polon.“, 1962, č. 11, s. 313-318. — 22. HAACK, A.: Über den Einfluß der Knöllchenbakterien auf die Wurzelhaare von Leguminosen und Nichtleguminosen. = „Zbl. Bakt.“, II Abt., 1964, č. 117, s. 343-366 — 23. HEUMANN, W.: Über Wesen und Bedeutung der Bacterioide in den Wurzelknöllchen der Erbse. = „Naturwissenschaften“, 1952, č. 39, s. 66. — 24. HUMPHREY, B. A. - VINCENT, J. M.: Polysaccharide fractions and transformations in *Rhizobium*. = „Nature“, 1963, č. 199, s. 927. — 25. JORDAN, D. C.: Preliminary investigations on *Rhizobium bacterioids*. University of Nottingham, School of Agriculture Report, 1960, s. 1-4. — 26. JORDAN, D. C. - GRINYER, I. - COULTER, W. H.: Electron microscopy of infection threads and bacteria in young root nodules of *Medicago sativa*. = „J. Bacteriol.“, 1963, č. 86, s. 125-137. — 27. KEFFORD, N. P. - BROCKWELL, J. - ZWAR, J. A.: The symbiotic synthesis of auxin by legumes and nodule bacteria and its role in nodule development. = „Aust. J. biol. Sci.“, 1960, č. 13, s. 456-467. — 28. LANGE, R. T. - ALEXANDER, M.: Anomalous infections by *Rhizobium*. = „Can. J. Microbiol.“, 1961, č. 7, s. 959-961. — 29. LECHTOVA - TRNKA, M.: Études sur les bactéries des légumineuses et observations sur quelques champignons parasites des nodosités. = „Botaniste“, 1931, č. 23, s. 301-530 (Citováno podle Jordana et al., 1963). — 30. LEIFSON, E. - ERDMAN, L. W.: Flagellar characteristics of *Rhizobium* species. Antonie van Leeuwenhoek J. Microbiol. Serol., 1958, č. 24, s. 97-110. — 31. LJUNGGREN, H.: Transfer of virulence in *Rhizobium trifolii*. = „Nature“, 1961, č. 191, s. 623. — 32. LJUNGGREN, H. - FÄHRAEUS, G.: Effect of rhizobium polysaccharide on the formation of polygalacturonase in lucerne and clover. = „Nature“, 1959, č. 184, s. 1578-1579. — 33. LJUNGGREN, H. - FÄHRAEUS, G.: The role of polygalacturonase in root-hair invasion by nodule bacteria. = „J. gen. Microbiol.“, 1961, č. 26, s. 521-528. — 34. MCCOY, E.: Infection by *Bact. radicola* in relation to the microchemistry of the host's cell walls. = „Proc. Roy. Soc. B.“, 110, 514 (Citováno

podle Mosseové, 1964). — 35 MCSSE, B.: Electron-microscope studies of nodule development in some clover species. = „J. gen. Microbiol.“, 1964, č. 36, s. 49-66. — 36. NUTMAN, P. S.: The influence of the legume in root-nodule symbiosis. = „Biol. Rev.“, 1956, č. 31, s. 109. — 37 NUTMAN, P. S.: Some observations on root-hair infection by nodule bacteria. = „J. exp. Bot.“, 1959, č. 10, s. 250-263. — 38. NUTMAN, P. S.: Factors influencing the balance of mutual advantage in legume symbiosis. = In Symp. Soc. Microbiol., 1963, č. 13, s. 51-71. — 39. ROVIRA, A. D.: Plant root exudates in relation to the rhizosphere microflora. = „Soils and Fertilisers“, 1962, č. 25, s. 167-172. — 40. SAHLMAN, K. - FÄHRAEUS, G.: An electron microscope study of root hair infection by *Rhizobium*. = „J. gen. Microbiol.“, 1963, č. 33, s. 425-427. — 41 SCHAEDE, R.: Die Knöllchen der adventiven Wasserwurzeln von *Neptunia oleracea* und ihre Bakteriensymbiose. = „Planta“ (Berl.), 1940, č. 31, s. 1-21. (Citováno podle Darta a Mercera, 1964a). — 42. THORNTON, H. G.: The early development of the root nodule of lucerne (*Medicago sativa*, L.). = „Ann. Botany“ (London), 1930, č. 44, s. 385-392. — 43. THORNTON, H. G.: The action of sodium nitrate upon the infection of lucerne root-hairs by nodule bacteria. = „Proc. Roy. Soc. B.“, 1936, č. 119, s. 474. (Citováno podle Ljunggren a Fähræuse, 1961). — 44. WIPF, L. - COOPER, D. C.: Somatic doubling of chromosomes and nodular infection in certain Leguminosae. = „Am. J. Bot.“, 1940, č. 27, s. 821. (Citováno podle Mosseové, 1964).

Vladimír SKRDLETA, prom. biolog, Inž. MARTA PLÍŠKOVÁ, RNDr. Hana MAREČKOVÁ-VINTÍKOVÁ, CSc., Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, odd. pro půdní mikrobiologii, Praha-Ruzyně 507

Mechanismus a chemismus fixace ovzdušného dusíku

Vytvořením kořenové hlízky, jejíž vznik a morfogenese byly popsány v předcházející práci (Škrdleta, Plišková, Vintiková, 1965) jsou dány předpoklady k symbiotické fixaci molekulárního dusíku u vřkovitých. V tomto literárním přehledu shrnujeme některé poznatky týkající se chemické stránky tohoto procesu.

PŘEHLED PRŮBĚHU FIXAČNÍCH REAKCÍ

Podkladem pro vypracování hypotézy o způsobu fixace ovzdušného dusíku hlízovými bakteriemi v symbióze s vřkovitými rostlinami byly výsledky plynoucí z cytologických a biochemických studií Bergersena a spol. (Bergersen, Briggs 1958, Bergersen 1961a, 1961 b). Hostitelská rostlina dodává produkt fotosyntézy, uhlikatou sloučeninu, která je bakteroidy částečně oxydována a slouží při tom jako zdroj elektronů pro redukci aktivovaného dusíku. Produkty této neúplné oxydace-ketokyseliny, zejména α -ketoglutarová kyselina jsou akceptory amoniaku za vzniku aminokyselin. Ty pak mohou být zpětně využity hostitelskou rostlinou. Mezi bakteroidy a molekulárním dusíkem se přenosu elektronů zúčastní ještě několik mezičlánků: cytochromy „b“, „c“ a dále hemoglobin, který se nachází v roztoku mezi bakteroidy a membránovým obalem. O povaze a existenci ostatních případných mezičlánků nejsou zatím žádné údaje. Chybí zejména spojovací článek mezi hemoglobinem a aktivovaným dusíkem, což je dosud nejméně probádaný stupeň mechanismu fixace vůbec. Ne zcela jasný je přenos elektronů mezi hemoglobinem a cytochromy, kde však není vyloučen ani přímý přenos elektronů mezi oběma systémy (Falk a spol. 1959). Vytváří se tak tedy mezi hlízovými bakteriemi a rostlinnou tkání těsné spojení prostřed-

nictvím přenosu elektronů ze substrátu — uhlikaté sloučeniny na aktivovaný molekulární dusík.

Proces fixace ovzdušného dusíku můžeme pak rozdělit na dvě fáze:

1. chemické reakce vedoucí ke vzniku amoniaku, který je zatím prvním dokázaným meziproductem v procesu fixace ovzdušného dusíku (Wilson, Burris 1947, Wilson 1952),
2. reakce, jimiž je amoniak vytvořený v předcházejících mezistupních zabudován do organických sloučenin a tak to předáván hostitelské rostlině.

Z tohoto hlediska lze pak za vlastní proces fixace pokládat pouze první fázi, neboť následující reakce jsou již převážně transaminačního charakteru. Stanovit stupně mezi amoniakem a molekulárním dusíkem je velmi obtížné, neboť předpokládané sloučeniny jsou pevně vázány na enzymatický komplex podílející se na redukci dusíku, a dále proto, že nejsou známy vhodné inhibitory, které by izolaci těchto meziproductů umožnily. Nepřekvapuje proto, že zatímco jsou již celkem dobře známy aminokyseliny obsahující fixovaný dusík a jejich další přeměny v rostlině, chybí přímé důkazy o existenci a chemické povaze meziproductů fixace, které předcházejí amoniaku.

ÚČAST HEMOGLOBINU A SYSTÉMU CYTOCHROMŮ NA REDUKCI MOLEKULÁRNÍHO DUSÍKU

Aktivní dusík fixující tkáň hlízky je charakterizována značným obsahem, červeného pigmentu — hemoglobinu. Podle

Virtanena a spol. (1947) se jeho obsah pohybuje kolem 4 % v sušině hlízek hrachu. Povahou a syntézou porfyrino-

vých sloučenin v účinných a neúčinných hlízkách se zabývala řada autorů, např. Virtanen (1947), Sternberg a Virtanen (1952), Ellfolk a Virtanen (1952) a Falk se spolupracovníky (1959). Některé fyzikálně-chemické vlastnosti nasvědčují tomu, že prostetická složka tohoto barviva -hem, obsahující komplexně vázané železo, je stejná jako u krevního hemoglobinu, avšak má rozdílnou molekulovou váhu, izoelektrické body a složení aminokyselin bílkovinné složky, což je důkazem odlišnosti proteinových komponent obou zmíněných barviv. Kromě toho se z rozdílných hodnot disociačních konstant usuzuje na odlišnou vazbu železa a proteinu. Důležité je zjištění, že převážná část syntézy porfyrinu probíhá v rostlinné tkáni hlízky za aktivní účasti bakteroidů (Jordan 1962). Přímou závislost mezi obsahem dusíku a obsahem hemoglobinu v hlízkách bakterizovaných rostlin pozorovalo několik autorů: u sóji Smith (1949), u hrachu Virtanen a spol. (1947), u sóji, vikve, vojtěšky Jordan a Garrard (1961), u lupiny Graham a Parker (1961) a Virtanen (1955). Není tedy pochyb o souvislosti mezi fixačním procesem a obsahem hemoglobinu v hlízce, což potvrzuje dále skutečnost, že hlízky vytvořené neúčinnými kmeny rhizobií nikdy leghemoglobin neobsahovaly ani u jednoho ze studovaných druhů.

V prvních etapách studia funkce tohoto pigmentu se vycházelo z analogií říše živočišné a hemoglobinu se přisuzovala schopnost ukládat v hlízkách a transportovat molekulární kyslík (Little a Burris 1947). Tato domněnka byla podporována zjištěním, že hemoglobin stimuluje respiraci bakteroidů a homogenátů hlízek, odporovaly jí však pokusy, při nichž respirace nebyla inhibována kyslíčným uhelnatým (Smith 1949). Virtanen a Laine (1946) připisovali hemoglobinu funkci oxidačně-redukčního katalyzátoru. V současné době se vychází ze zjištění, že extrakty účinných hlízek uvolněné ultrazvukem jeví změnu absorpce spektra, která odpovídá oxidaci $Fe^{++} \rightarrow Fe^{+++}$ (Hamilton 1950).

TENZE KYSLÍKU V HLÍZKÁCH

Údaje o nízké tenzi kyslíku v jednotce fixující dusík plynoucí z respiračních pokusů a z měření oxidačně-redukčních potenciálů (Burris, Wilson 1939, Allison a spol. 1940, Ebertová 1959) byly v poslední době potvrzeny Bergersenem (1962) a rozšířeny

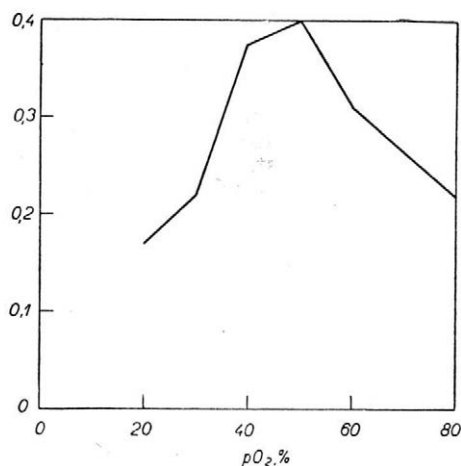
V souvislosti s tím bylo dokázáno, že bakteroidy sóji byly schopny oxydovanou formu — hemoglobin — zpětně redukovat na hemoglobin (Bergersen a Wilson 1959, Bergersen, Appleby 1960) a využívat tuto sloučeninu jako terminální respirační pigment. Bergersen (1960) pak ve své hypotéze o mechanismu fixace považuje hemoglobin za jeden z mezičlánků přenosu elektronů mezi molekulárním dusíkem a bakteroidy. Virtanen a spol. (1954) podali důkazy o schopnosti leghemoglobinu katalyzovat redukci volného hydroxylaminu nebo hydrazinu, avšak nejsou důkazy, které by potvrdily existenci těchto sloučenin jako meziproduktů při poutání ovzdušného dusíku. Pozoruhodná je dále skutečnost, že hemoglobin není všeobecně nepostradatelným faktorem při fixaci dusíku, neboť u volně žijících bakterií poutajících ovzdušný dusík nebyly hemoglobin ani jemu podobné sloučeniny nalezeny.

Mikroskopickým pozorováním redukce hemoglobinu v čerstvých homogenátech účinných hlízek sóji a jetele za anaerobních podmínek byly zjištěny ostré absorpční pásy při 551 m μ odpovídající cytochromu „c“ a při 562 m μ odpovídající cytochromu „b“ (Appleby a Bergersen 1958). Autoři dále zjistili, že v účinných hlízkách není přítomen cytochrom „a“, který však našli v hlízkách neúčinných. Nepřítomnost cytochromu „a“ u účinné bakteroidní formy považuje Appleby a Bergersen (1958) za jeden z případů, kdy biochemické přeměny provázají změnu volně žijící formy rhizobií v účinné bakteroidy. Příčiny ztráty cytochromu „a“ nejsou známy, je však zajímavé, že bakteroidy neúčinných hlízek cytochrom „a“ v malém množství obsahují (Appleby a Bergersen 1958). Na rozdíl od hemoglobinu, který se nachází v roztoku mezi bakteroidy a membránovým obalem, byla převážná část cytochromu „c“ nalezena v cytoplazmatickém membránovém obalu. Tímto způsobem by byl umožněn přímý přenos elektronů mezi řetězem respiračních reakcí probíhajících v bakteroidech a leghemoglobinem (Jordan 1962).

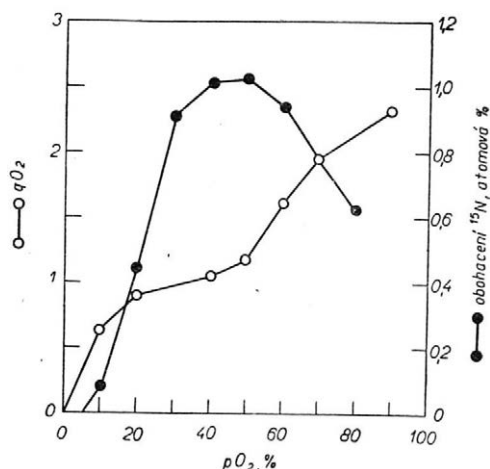
o kinetická studia, pomocí kterých autor zdůvodnil některé své dřívější představy o mechanismu fixace (Bergersen 1960 b) Jak plyne z grafu 1 a 2, je množství fixovaného dusíku i rychlost fixační reakce „v“ maximální při parciálním tlaku pO₂ 40–50 %. V tomto rozmezí je

rovněž respirační kvocient qO_2 téměř konstantní a teprve další zvyšování pO_2 až na 90 % má za následek vzrůst qO_2 , což je však již provázeno poklesem fixace dusíku (graf 2). Podle Bergersena tyto závislosti zcela odpovídají anatomické stavbě hlízky, neboť bakteroidy se nacházejí až v centrální hlízkové tkáni uzavřeny v membránových obalech, které představují také přirozenou difúzní bariéru pro kyslík. Teprve při vyšším pO_2 je tato bariéra překonána, takže zatímco první část křivky QO_2/pO_2 znázor-

ňuje respiraci hostitelské tkáně, odpovídá její druhá část respiraci bakteroidů. Při vyšší tenzi kyslíku však již kyslík začíná kompetitivně inhibovat fixaci dusíku, neboť se stává vhodným akceptorem vodíku, resp. elektronů. Podobnou inhibici pozorovali Parker a Scutt (1958) při pokusech s *Azotobacterem*. V souhlase s těmito poznatky byla spektroskopicky zjištěna i oxydace hemoglobinu hlízek sóji teprve při pO_2 40–50 % (Bergersen 1962 b).



1. Závislost rychlosti fixace dusíku „v“ na parciálním tlaku kyslíku pO_2 (plynná fáze obsahovala 10 % $^{15}N_2$) (podle Bergersena 1962 a)



2. Závislost respiračního kvocientu qO_2 a fixace dusíku na parciálním tlaku kyslíku pO_2 u hlízek 32 dní starých (podle Bergersena 1962 a)

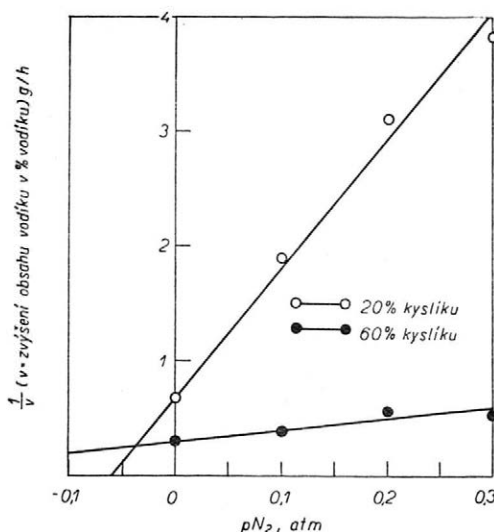
SYSTÉM HYDROGENÁZ

Ve snaze dokázat redukční charakter prvních stádií fixace molekulárního dusíku pátrala řada autorů po přítomnosti hydrogenázového systému u rhizobií. Skutečně se podařilo vývoj vodíku z oddělených hlízek sóji v některých případech dokázat (Hoch, Little, Burris 1957, Hoch, Schneider, Burris 1960, Bergersen 1963). Pokusy o stanovení dehydrogenáz v čistých kulturách rhizobií daly však negativní výsledky (Wilson a spol. 1943, Shug a spol. 1956), takže se zdá, že aktivita hydrogenázy v hlízkách se omezuje na rostlinnou tkáň (Bergersen 1960 b). Jiným nepřímým důkazem aktivity tohoto enzymu bylo pozorování spektrálních změn preparátů z rozmělněných hlízek sóji, které nastaly pouze za přítomnosti vodíku (Wilson 1956, Shug, Wilson 1954).

Hydrogenáza zjištěná u volně žijících

bakterií poutajících ovzdušný dusík je charakterizována jako molybdoflavoprotein obsahující flavin-adenindinukleotid jako prostetickou skupinu. Není specifická na substrát — redukuje metylénovou modř, cytochrom „c“, nitráty, pyridinové nukleotidy nebo kyslík. Její aktivita se u fixující kultury snižovala, jakmile byl molekulární dusík zaměněn za NH_4^+ (Virtanen, Miettinen 1963).

Pro zjištění úlohy dehydrogenázy v symbiotickém systému mají význam studie zabývající se vztahy mezi schopností hlízek uvolňovat vodík, fixovat dusík a případným ovlivněním těchto vlastností molekulárním dusíkem. Podařilo se dokázat, že časový průběh množství uvolňovaného vodíku a fixovaného dusíku jsou podobné a schopnost oddělených hlízek vyvíjet vodík klesá v souhlase s poklesem fixace dusíku následkem oddělení hlízek od kořene (Hoch



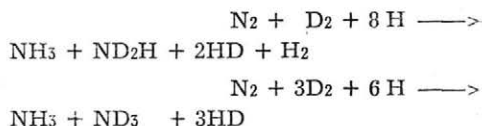
3. Kompetitivní inhibice uvolňování vodíku dusíkem (podle Bergersena 1963)

a spol. 1957). V dalších pracích pak byla demonstrována inhibice uvolňování vodíku molekulárním dusíkem (Hoch, Schneider, Burris 1960). Kompetitivní povaha této inhibice byla později znovu dokázána Bergersenem (1963, graf č. 3). Jiným důkazem aktivity hydrogenáz je tzv. „výměnná reakce“, tj. tvorba HD z D_2 a donátoru vodíku z media nebo z hlízek. Na rozdíl od uvolňo-

vání molekulárního vodíku je v tomto případě nezbytná přítomnost molekulárního dusíku, aby „výměnná reakce“ proběhla. Na každý mol fixovaného dusíku se při tom vytvoří 2–3 moly HD, přičemž toto množství jen málo závisí na stáří hlízek a použitím tlaku pO_2 (Bergersen 1963).

Tyto poznatky přispívají k osvětlení způsobu primární vazby molekulárního dusíku a vedou autory k upřesnění představ a vytvoření nových pracovních hypotéz o počátečních stádiích fixace dusíku.

Tak např. průběh uvedené „výměnné reakce“ by podle Bergersena (1963) mohl nasvědčovat schématu



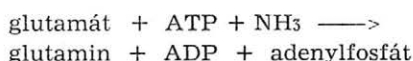
Často je mezi významné sloučeniny při prvních stádiích fixace dusíku počítán i hydrázin. Pravděpodobně je jeho další redukce na amoniak (Hoch a spol. 1960, Manil 1963). Podle výzkumů prováděných Bachem (1957) je však možná i přímá reakce hydrázinu s ketokyselinami za vzniku azinů. Virtanen (1963) se však domnívá, že Bachem nalezené aziny budou spíše vedlejšími produkty fixačních reakcí, podobně jako oximino-kyseliny vznikající z hydroxylaminu.

PŘÍJEM FIXOVANÉHO DUSÍKU HOSTITELSKOU ROSTLINOU

Vytvořením amoniaku je ukončen vlastní proces poutání ovzdušného dusíku. Rostlina tento dusík přijímá ve formě aminosloučenin, které se tvoří pravděpodobně přímou aminací příslušných ketokyselin. Pomocí izotopického dusíku N^{15} bylo zjištěno, že fixovaný dusík je přednostně začleňován do kyseliny glutamové, asparagové a do jejich amidů, dále pak do serinu a alaninu (Zelitch 1952, Aprison a spol. 1954, Turčin 1959). Wilson nezjistil kvantitativní ani kvalitativní rozdíly v obsahu značených látek při asimilaci N_2^{15} a $N^{15}H_4^+$. Z posledních výzkumů Kennedého (os. sdělení) však vyplynulo, že první sloučeninou obsahující fixovaný dusík je kyselina glutamová, která byla nejvíce obohacena značeným N^{15} a teprve po ní následovala kyselina asparagová, zatímco alanin, γ -aminomáselná kyselina, amidy a některé jiné neidentifikované sloučeniny vykazovaly minimální obohacení. Enzymatická aktivace amoniaku, pozorova-

vaná u bezbuněčných extraktů připravených z hlízek sóji, závislá na ATP, byla však při tom u nečištěných bakteroidních extraktů velmi nízká (Ellfolk, Katanuma 1959). Vysoce aktivní jsou naopak tomu v bakteroidních extraktech reverzibilní transaminace mezi glutamovou kyselinou, asparagovou kyselinou a alaninem, resp. mezi jejich ketokyselinovými prekursory.

Mezi organickými sloučeninami vytvořenými při fixaci zjistil Leaf (1959) také glutamin, za jehož vznik je zodpovědná glutaminová syntetáza katalyzující reakci



Enzym v hlízkách vojtěšky a lupiny dokázal Loomis (1959), při tom však nebyly zjištěny rozdíly v jeho obsahu v účinných a neúčinných hlízkách. Jordan (1960) popsal syntézu glutamátu

u bakteroidů z hlízek jetele z α -ketoglu-
tarové kyseliny a různých donátorů ami-
noskupin jako je kyselina asparagová,
alanin, izoleucin, histidin a valin.

Důkazy o rychlé přeměně uhlohydrátů
v aminosloučeniny přes ketokyseliny přine-
sly pokusy s bakteriizovanými rostlina-
mi pěstovanými určitou dobu v atmosfé-
ře s $C^{14}O_2$ a v bezdušikátém mediu. Sou-
časné bylo zjištěno, že zastoupení amino-
kyselin v kořenové šťávě do určité míry
odráží fixační reakce probíhající v hlíz-
kové tkáni a jejich napojení na uhlíkový
metabolismus rostliny (Wieringa 1958).
Většina autorů se shoduje v tom, že jen
malý počet aminokyselin je transporto-
ván xylémem z kořenů do nadzemních
částí. Podle Pateho (1962) jsou jednot-
livé aminokyseliny v kořenové šťávě hra-
chu bakterizovaného účinným kmenem
rhizobií zastoupeny ve stadiu 6 listů
takto.

aminokyselina	přibližné množství mg/ml
k. asparagová	0,9
asparagin	1,4
k. glutamová	0,01
glutamin	0,8
homoserin	0,09
valin	0,008
leucin/izoleucin	0,012

Ve šťávě kontrolních rostlin nebyly na-

proti tomu nalezeny žádné aminokyseli-
ny nebo jen stopová množství kyseliny
asparagové a homoserinu.

Pozoruhodné však je, že v exudátu ne-
byla většinou autorů nalezena kyselina
glutamová buď vůbec nebo jen ve velmi
malém množství (Wieringa, Bak-
huis 1957, Wieringa 1958, Pate
1962, Pate, Wallace 1964). Tento po-
znatek je ve zdánlivém rozporu se zjiště-
ním, že kyselina glutamová je jedním
z prvních produktů fixace ovzdušného du-
síku. Vysvětlení je však možno hledat
v její rychlé přeměně na glutamín,
v účasti při transaminačních reakcích,
popřípadě v její schopnosti zapojit se do
syntézy proteinů ještě dříve, než může
být dopravena do nadzemních částí
(Wieringa 1958). Nejvyšší obohacení
značeným C^{14} vykazovala kyselina aspa-
ragová, asparagin, glutamín a homoserin.
Přítomnost kyseliny glutamové, valinu a
leucinu, které neobsahovaly značený
uhlík, je pravděpodobně výsledkem pro-
teolýzy nebo jiné metabolické činnosti
kořenů. Podle Pateho (1962) je tedy
možno předpokládat, že převážná část
dušikatých sloučenin kořenové šťávy ode-
brané bezprostředně po oddělení nadzem-
ních částí rostliny je výsledkem fixační
aktivity, která je však závislá na nepre-
tržitém přísunu uhlohydrátů z fotosynte-
tizujících tkání.

Došlo dne 14. 9. 1965

Literatura

1. ALLISON, F. E. - LUDVIG, C. A. - HOOVER, S. R. - MINOR, F. W.: Bio-
chemical nitrogen fixation studies. B. Evidence for limited oxygen supply within
the nodule. = „Botan. Gaz.“, 1940, č. 101, s. 513. — 2. APPLEBY, C. A. - BERGER-
SEN, F. J.: Cytochromes of Rhizobium. = „Nature“, 1958, č. 182, s. 1174. —
3. APRISON, M. H. - MAGEE, W. E. - BURRIS, R. H.: Nitrogen fixation by excised
soybean root nodules. = „J. Biol. Chem.“, 1954, č. 208, s. 29. — 4. BACH, M. K.:
Hydrazine and biological nitrogen fixation. = „Biochim. Biophys. Acta“, 1957, č. 26,
s. 104-113. — 5. BERBERSEN, F. J.: Incorporation of ^{15}N into various fractions of
soybean root nodules. = „J. gen. Microbiol.“, 1960 a, č. 22, s. 671-678. — 6. BERGER-
SEN, F. J.: Biochemical pathways in legume root nodule nitrogen fixation. =
„Bact. Rev.“, 1960 b, č. 24, s. 246-250. — 7. BERGERSEN, F. J.: The effects of partial
pressure of oxygen upon respiration and nitrogen fixation by soybean root nodules.
= „J. gen. Microbiol.“, 1962 a, č. 29, s. 113-125. — 8. BERGERSEN, F. J.: Oxyge-
nation of leghaemoglobin in soybean root-nodules in relation to the external oxygen
tension. = „Nature“, 1962 b, s. 1059-1061. — 9. BERGERSEN, F. J.: The relationship
between hydrogen evolution, hydrogen exchange, nitrogen fixation, and applied
oxygen tension in soybean root nodules. = „Austr. J. Biol. Sci.“, 1963, č. 16, s. 669-
680. — 10. BERGERSEN, F. J. - BRIGGS, M.: Studies on the bacterial component
of soybean root nodules: cytology and organisation in the host tissue. = „J. gen.
Microbiol.“, 1958, č. 19, s. 482-490. — 11. BERGERSEN, F. J. - WILSON, P. W.:
Further spectrophotometric studies of soybean nodule extracts. = „Proc. Natl. Acad.
Sci., U. S.“, 1959, č. 45, s. 1641-1646, cit. podle BERGERSEN 1960 b. — 12. BURRIS,
R. H. - WILSON, P. W.: Respiratory enzyme systems in symbiotic nitrogen fixation.
= „Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol.“, 1959, č. 7, s. 349-361., cit. podle Ber-
gersen 1960 b. — 13. EBERTOŮVÁ, H.: Redox potentials in soybean nodules during
the vegetative period. = „Nature“, 1959, č. 184, s. 1046-1047. — 14. ELLFOLK, N. -

- KATANUMA, N.: The occurrence of ammonia-activating enzyme in various organisms. = „Arch. Biochem. Biophys.“, 1959, č. 81, s. 521. — 15. ELLFOLK, N. - VIRTANEN, A. I.: The molecular weight of leghaemoglobin. = „Acta Chem. Scand.“, 1952, č. 6, s. 411-420. — 16. FALK, J. E. - APPLEBY, C. A. - PORRA, R. J.: The nature, function and biosynthesis of the haem compounds and porphyrins of legume root nodules. = „Symposia Soc. Exptl. Biol.“, 1959, č. 13, s. 73-86, cit. podle Bergersen 1960 b. — 17. GRAHAM, P. H. - PARKER, C. A.: Leghaemoglobin and symbiotic nitrogen fixation. = „Austr. J. Sci.“, 1961, č. 23, s. 231-232. — 18. HOCH, G. E. - LITTLE, H. N. - BURRIS, R. H.: Hydrogen evolution from soybean root nodules. = „Nature“, 1957, č. 179, s. 430-431. — 19. HOCH, G. E. - SCHNEIDER, K. C. - BURRIS, R. H.: Hydrogen evolution and exchange and conversion of N_2O to N_2 by soybean root nodules. = „Biochim. Biophys. Acta“, 1960, č. 37, s. 273. — 20. JORDAN, D. C.: Preliminary investigations on Rhizobium bacteroids, p. 35-38. Univ. of Nottingham School of Agriculture Report. Sutton Bonington, Nottinghamshire. cit. podle Jordan 1962. — 21. JORDAN, D. C.: The Bacteroids of the Genus Rhizobium = „Bact. Rev.“, 1962, č. 26, s. 119-141. — 22. JORDAN, D. C. - GARRARD, E. H.: Studies on the legume root nodule bacteria. I. Detection of effective and ineffective strains. = „Can. J. Bot.“, 1951, č. 29, s. 360-372. — 23. KEILIN, D. - SMITH, J. D.: Haemoglobin and nitrogen fixation in the root nodules of leguminous plants. = „Nature“, 1947, č. 159, s. 692-694. — 24. KEILIN, D. - WANG, Y. L.: Haemoglobin of the root nodules of leguminous plants. = „Nature“, 1945, č. 155, s. 227-229. — 25. LEAF, G.: Biochemical aspects of nitrogen fixation. = „Advance of Sci“, 1959, č. 60, s. 386-393, cit. podle Jordan 1962. — 26. LITTLE, H. N. - BURRIS, R. H.: Activity of the red pigment from leguminous root nodules. = „J. Amer. Chem. Soc.“, 1947, č. 69, s. 838-841. — 27. LOOMIS, W. D.: Amide metabolism in higher plants. III. Distribution of glutamyl transferase and glutamine synthetase activity. = „Plant Physiol.“, 1959, č. 34, s. 541-546. — 28. MANIL, P.: Les Rhizobium et la fixation symbiotique de l'azote. A propos de la taxonomie et de la classification des Rhizobium. Quelques données récentes sur déterminisme biochimique de la fixation. = „Annales de l'Institut Pasteur“, 1963, č. 105, s. 4067. — 29. PARKER, C. A. - SCUTT, P. B.: Competitive inhibition of nitrogen fixation by oxygen. = „Biochim. Biophys. Acta“, 1958, č. 29, s. 662. — 30. PATE, J. S.: Root-exudation studies on the exchange of C^{14} labelled organic substances between the roots and shoot of the nodulated legume. = „Plant and Soil“, 1962, č. 17, s. 333-356. — 31. PATE, J. S. - WALLACE, W.: Movement of assimilated Nitrogen from the Root System of the field pea (*Pisum arvense* L.). = „Annals of Botany, N. S.“, 1964, č. 28, s. 83-99. — 32. SHUG, A. L. - HAMILTON, P. B. - WILSON, P. W.: Hydrogenase and nitrogen fixation, p. 344-360. In W. D. Mc Elroy (ed.). Symposium on inorganic nitrogen metabolism. Johns Hopkins Press, Baltimore. cit. podle Jordan 1962. — 33. SHUG, A. L. - WILSON, P. W. - GREEN, D. R. - MAHLER, H. R.: The role of molybdenum and flavin in hydrogenase. „J. Amer. Chem. Soc.“, 1954, č. 26, s. 3355. — 34. SMITH, J. D.: Haemoglobin and oxygen uptake of leguminous root nodules. „Biochem. J“, 1949, č. 44, s. 591-598. — 35. STERNBERG, H. - VIRTANEN, A. I.: Studies on the absorption spectrum of leghaemoglobin, especially of leghaemoglobin. = „Acta Chem. Scand.“, 1952, s. 1342-1352. — 36. TURČIN, F. V.: Novýje danyje o mechanizme fiksacii atmosfernogo azota v klubeňkach bobovych rastěnij. = „Počvověděnije“, 1959, č. 10, s. 14-24. — 37. VIRTANEN, A. I.: Symbiotic nitrogen fixation. = „Nature“, 1954, č. 155, s. 747-748. — 38. VIRTANEN, A. I.: The biology and chemistry of nitrogen fixation by legume bacteria. = „Biol. Rev.“, 1947, č. 22, s. 239. — 39. VIRTANEN, A. I. Biological nitrogen fixation. Proc. Intern. Congr. Biochem. (Brussels), 3rd Congr., 425. cit. podle Bergersen 1960 b. — 40. VIRTANEN, A. I. - ERKAMA, J. - LINKOLA, H.: On the relation between nitrogen fixation and leghaemoglobin. Content of leguminous root nodules. „Acta Chem. Scand.“, 1947, č. 1, s. 861-870, cit. podle Graham, Parker 1961. — 41. VIRTANEN, A. I. - JORMA, J. - LAINE, T.: The iron and haemin content of leghaemoglobin. Suomen Kemistilehti B 18, 1945, 50-52, cit. podle Virtanen, Miettinen 1963. — 42. VIRTANEN, A. I. - JORMA, J. - LINKOLA, H. - LINNASALMI, A.: On the relation between nitrogen fixation and leghaemoglobin content of leguminous root nodules. = „Acta Chem. Scand.“, 1947, č. 1, s. 90-111, cit. podle Virtanen, Miettinen 1963. — 43. VIRTANEN, A. I. - KEMPPI, A. - SALMENOJA, E. L.: Reduction of hydroxylamine in the root nodules of leguminous plants. = „Acta Chem. Scand.“, 1954, č. 8, s. 1729-1730, cit. podle Virtanen, Miettinen 1963. — 44. VIRTANEN, A. I. - LAINE, T.: Red, brown and green pigments in leguminous root nodules. = „Nature“, 1946, č. 157, s. 25,

cit. podle Bergersen 1960 b. — 45. VIRTANEN, A. I. - MIETTINEN, J. K.: The effect of haemoglobin on the formation of ammonia from hydrazine. Suomen Kemistilehti, 1958, B 31, 192, cit. podle Virtanen, Miettinen 1963. — 46. VIRTANEN, A. I. - MIETTINEN, J. K.: Biological Nitrogen fixation = „Plant Physiology.“ Vol. III., Inorganic Nutrition of Plants, London 1963, s. 539-669. — 47. WIERINGA, K. T.: Transport of amino-acids in leguminous plants. Nutrition of the legumes. London, s. 257-265. — 48. WIERINGA, K. T. - BAKHUIS, J. A.: Chromatography as a means of selecting effective strains of rhizobia. = „Plant and Soil“, VIII, 1957, s. 254-262. — 49. WILSON, P. W.: The comparative biochemistry of nitrogen fixation. „Advances in Enzymol.“ 1952, č. 13, s. 345. — 50. WILSON, P. W.: Hydrogenase in biological nitrogen fixing agents. „Science“, 1956, č. 123, s. 686. — 51. WILSON, P. W. - BURRIS, R. H. - COFFEE, W. B.: Hydrogenase and symbiotic nitrogen fixation. = „J. Biol. Chem.“, 1943, č. 147, s. 475-481. — 52. WILSON, P. W. - BURRIS, R. H.: The mechanisms of biological nitrogen fixation. = „Bact. Rev.“ 1947, č. 11, s. 41. — 53. ZELITCH, I. - WILSON, P. W. - BURRIS, R. H.: The aminoacid composition and distribution of N^{15} in soybean root nodules supplied N^{15} enriched N_2 . = „Plant Physiol.“, 1952, č. 27, s. 1-8.

Inž. Marta PLÍŠKOVÁ, Vladimír ŠKDRLETA, prom. biolog, RNDr Hana MAREČKOVÁ-VINTIKOVÁ, CSc., Ústřední výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně 507

Drobníková V.: Oxydace nukleové kyseliny v půdě	3
Apfelthaler R.: Možnosti interferometrické analýzy respiračních plynů, zvláště kyslíku, pro účely půdní mikrobiologie	9
Hamatová E.: Vliv chronického ozařování hrachu paprsky gama na tvorbu hlízek	15
Škrdleta V.: Složení polysacharidových slizů produkovaných kmeny <i>Rhizobium japonicum</i>	23
Seifert J., Mrázková Z.: Vliv vysoušení zeminy na biogenost a intenzitu nitrifikace	29
Kubista K.: Vliv sterilace půdy na rhizosférní mikroflóru a na výnos červeného jetele	35
Apltaufer J., Skopalíková O.: Vliv na mikrobiální pochody v půdě	47
Apltaufer J.: Vliv plodin na bilanci dusíku v půdě. — I. Amoniakální a nitrátový dusík v půdě v roce výsevu	53
Pokorná-Kozová J.: Vliv různých plodin v osevním postupu na rozklad celulózy	59
Řídký K.: Vliv posklizňových zbytků vojtěšky na vzcházení ozimé pšenice. — I. část	69
Tematické přehledy	
Škrdleta V., Plišková M., Marečková-Vintíková H.: Současné poznatky o vzniku symbiozy a o morfogenezi tkáně kořenové hlízky u vřesovitých rostlin	79
Plišková M., Škrdleta V., Marečková-Vintíková H.: Mechanismus a chemismus fixace ovzdušného dusíku	88

СОДЕРЖАНИЕ

В. Дробникова: Окисление нуклеиновой кислоты в почве (7). — Р. Апельтальер: Возможности интерферометрического анализа респираторных газов, в особенности кислорода, для целей почвенной микробиологии (13). — Э. Гаматова: Влияние хронического облучения гороха гамма-лучами на образование клубеньковых бактерий (20). — В. Шкрдлета: Состав полисахаридных слизей, вырабатываемых штаммами *Rhizobium japonicum* (26). — Я. Сайферт, З. Мразкова: Влияние высыхания почвы на биогенность и интенсивность нитрификации (33). — К. Кубиста: Влияние стерилизации почвы на микрофлору в ризосфере и на урожай красного клевера (45). — И. Аплтауэр, О. Скопаликова: Влияние Пирамина на микробные процессы в почве (51). — И. Аплтауэр: Влияние культур на азотный баланс почвы. I. Аммиачный и нитратный азот в почве в год посева (57). — Д. Покорна-Козова: Влияние разных культур в севообороте на разложение целлюлозы (70). — К. Ржидки: Влияние пожнивных остатков люцерны на всходы озимой пшеницы I. часть (76).

CONTENT

Drobníková V.: Oxidation of Nucleic Acid in the Soil (8). — Apfelthaler R.: The Possibilities of Interferometrical Analysis of Respiration Gases, with Particular Respect to Oxygen for Purposes of the Soil Microbiology (13). — Hamatová E.: The Influence of Chronic Irradiation of Peas with Gamma Rays on the Forming of Tubers (20). — Škrdleta V.: The Composition of the Polysaccharide Gum Produced by Strains of *Rhizobium japonicum* (26). — Seifert J., Mrázková Z.: The Effect of Soil Drying on the Number of Bacteria and the Degree of Nitrification (33). — Kubista K.: The Effect of Soil Sterilization on the Rhizosphere Microflora and on the Yield of Red Clover (45). — Apltaufer J., Skopalíková O.: The Effect of Pyramine on the Microbial Processes in Soil (51). — Apltaufer J.: The Effect of crops on the Nitrogen Balance in the Soil. — I. Ammonium Nitrogen and Nitrate Nitrogen Content in the Soil in the Year of the Sowing (60). — Pokorná-Kozová J.: Effect of Various Crops in the Rotation of Crops on the Decomposition of Cellulose (67). — Řídký K.: The Effect of Post-Harvest Rests of Alfalfa on the Emerging of Winter Wheat — Ist Part (77).

INHALT

Drobníková V.: Die Oxydation der Nukleinsäure im Boden (8). — Apfelter R.: Möglichkeiten der interferometrischen Analyse der Respirationsgase, besonders des Sauerstoffes, zu Zwecken der Bodenmikrobiologie (14). — Hamatová E.: Einfluß der chronischen Bestrahlung von Erbsen mit Gammastrahlen auf die Knöllchenbildung (21). — Škrdleta V.: Die Zusammensetzung von Polysaccharid-Schleimen die von den Stämmen des *Rhizobium japonicum* produziert werden (27). — Seifert J., Mrázková Z.: Einfluß des Austrocknens von Bodenproben auf die Zahl von Bakterien und auf die Nitrifikations-Intensität (34). — Kubista K.: Der Einfluß der Bodensterilisation auf die Mikroflora der Rhizosphäre und auf den Ertrag von Rotklee (46). — Apltauer J., Skopalíková O.: Einfluß von Pyramin auf die mikrobiellen Vorgänge im Boden (res. En/51). — Apltauer J.: Einfluß der Fruchtarten auf die Stickstoffbilanz im Boden. — I. Der Ammoniakal- und Nitratstickstoff im Boden im Aussaatjahr (res. En/58). — Pokorná-Kozová J.: Einfluß von verschiedenen Fruchtarten in der Fruchtfolge auf die Zellulosezerersetzung (67). — Řídký K.: Einfluß der Luzernereste nach der Ernte auf das Aufkommen von Winterweizen I. Teil (77).

TABLE DES MATIÈRES

Drobníková V.: L'oxydation de l'acide nucléique dans le sol (res. An/8, Al/8). — Apfelter R.: Les possibilités de l'analyse interférométrique des gazes de respiration, en particulier de l'oxygène, pour les buts de la microbiologie du sol (res. An/13, Al/14). — Hamatová E.: L'influence de l'irradiation chronique du bois par les rayons gamma sur la formation des nodules (res. An/20, Al/21). — Škrdleta V.: La structure des mucilages polysaccharides produits par les souches de *Rhizobium japonicum* (res. An/26, Al/27). — Seifert J., Mrázková Z.: L'influence du dessèchement du sol sur le caractère biogène et sur l'intensité de la nitrification (res. An/33, Al/34). — Kubista K.: L'influence de la stérilisation du sol sur la microflore rhizosphérique et sur le rendement du trèfle violet (res. An/45, Al/46). — Apltauer J., Skopalíková O.: L'influence du Pyramin sur les processus microbiens dans le sol (res. An/51). — Apltauer J.: L'influence de la culture sur le bilan de l'azote dans le sol I. L'azote ammoniacal et nitrique dans le sol dans l'année du semis (res. An/60). — Pokorná-Kozová J.: L'influence de différents plants l'assolement sur la décomposition de la cellulose (res. An/67, Al/67). — Řídký K.: L'influence des résidus de récolte de la luzerne sur la levée du froment d'hiver, partie I (res. An/77, Al/77). — Škrdleta V., Plišková M., Marečková-Vintíková H.: Les notions actuelles sur l'origine de la symbiose et sur la morphogenèse de tissu des nodules des racines des viviacées. — Plišková M., Škrdleta V., Marečková-Vintíková H.: Le mécanisme et le chimisme de la fixation de l'azote atmosphérique.