

ROSTLINNÁ VÝROBA

2

ROČNÍK 15 (XLII)
PRAHA,
ÚNOR 1969
CENA 18 Kčs

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

Člen korespondent ČSAV prof. dr. ing. Václav Káš, DrSc. [předseda], doc. ing. Jozef Belej, CSc., akademik Ctibor Blatný, doc. ing. Karel Červenka, CSc., dr. Zbyněk Facek, CSc., ing. Jiljí Fiedler, CSc., ing. Jozef Habovštiak, prof. dr. ing. Ladislav Hruška, DrSc., prof. dr. Jan Hruza, prof. dr. ing. Vladimír Kosil, DrSc., prof. dr. ing. František Landovský, ing. Jozef Lopatník, CSc., člen korespondent ČSAV ing. František Mareček, ing. Vladimír Martinek, CSc., ing. František Mráz, CSc., ing. Jaroslav Neuberg, DrSc., ing. Ctirad Patejdl, dr. František Pospíšil, doc. ing. Jaroslav Prugar, CSc., doc. ing. Václav Rybáček, CSc., doc. ing. Vladimír Segefa, CSc., ing. Miloslav Schmied, doc. ing. Vladimír Skládal, Jaroslav Skolil, ing. Josef Slepíčka, doc. ing. Antonín Straňák, CSc., ing. Juraj Uhliár, RNDr. ing. Jaroslav Zakopal.

Vedoucí redaktorka Milena Sovová

© Ústav vědeckotechnických informací, Praha 1968

Vědecký časopis ROSTLINNÁ VÝROBA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru rostlinné výroby. Vydává Ústav vědeckotechnických informací. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7. Telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 216,—.

Научный журнал ROSTLINNÁ VÝROBA публикует обзоры, анализы и научные статьи о решенных заданиях по научному исследованию в области растениеводства. Издает Институт научно-технической информации. 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.

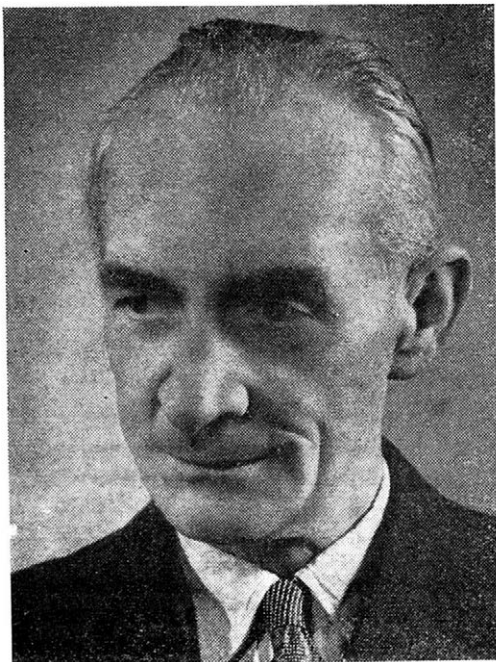
Die wissenschaftliche Zeitschrift ROSTLINNÁ VÝROBA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebieten der pflanzlichen Produktion. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen. Erscheint monatlich. Redaktion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

Le journal scientifique ROSTLINNÁ VÝROBA publie 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. Publié chaque mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7.

Sedmdesátiny prof. dr. ing. Václava Káše, Dr.Sc.

Při přehlídce posledního půlstoletí čs. zemědělských věd a výzkumnictví setkáváme se pravidelně od r. 1920 s jménem Václava Káše, dnešního řádného profesora zemědělské mikrobiologie a děkana AF na Vysoké škole zemědělské, nositele státní ceny a člena korespondenta ČSAV.

Jubilant se narodil v Praze dne 21. 2. 1899. Po návratu z první světové války a absolutoriu tehdejšího Vysokého učení zemědělského v Praze nastoupil už v r. 1920 na trnitou, ale okouzlující dráhu zemědělského výzkumníka.



Stal se výpomocnou vědeckou silou na tehdejší Biochemickém ústavu, odd. rostlinářských ústavů, řízených prof. dr. Stoklasou, slavné paměti. V Grébově vile ve skromných poměrech se specializoval na půdní mikrobiologii a již prvními pracemi se zapsal do dějin této dnes významné disciplíny. Jeho původní práce směřovaly k objasnění funkce půdních mikrobů a edafonu vůbec. První u nás stanovil počet mikrobů ve statkových hnojivech, prověřil jejich podíl na tvorbě výnosů zemědělských plodin a pak se věnoval studiu rhizobií jako obdivuhodných kombinátů na asimilaci vzdušného dusíku. Dvě práce z tohoto úseku půdní mikrobiologie z let 1927 a 1928 — „K otázce příbuznosti hlízkových bakterií“ a „K vývojevému cyklu hlízkových bakterií“ — zařadily svého autora již na počátku jeho vědecké dráhy mezi světově proslulá jména tohoto oboru půdní mikrobiologie a jsou částí klasického fondu světové literatury o rhizobiích.

Po založení Svazu výzkumných ústavů ČSR v Praze byl od počátku jeho činným členem a pracoval jako vědecký expert v oddělení půdní mikrobiologie až do r. 1945. Napsal a vydal metodické příručky mikrobiologických rozborů půd v rámci spisů tohoto Svazu. Tuto instituci, sdružující jak státní, tak zemské i soukromé ústavy a stanice s neobyčejně rozsáhlou sítí, uchránil pak v době protektorátu před zánikem. O jeho nebojácnosti při hájení vědy svědčí, jak reagoval na jeho správu výzkumných ústavů v ministerstvu zemědělství tehdejší zmocněnec prof. Kertscher: „Vy, doktore, řeknete ‚Jawohl Herr Professor‘ a pak si stejně uděláte co chcete.“

Tuto ochrannářskou funkci konal do r. 1945 jako referent ministerstva zemědělství v Praze a v téže roce se vrátil do zemědělského výzkumnictví, aby v Ústředních ústavech v Dejvicích založil a vybudoval ústav zemědělské mikrobiologie, který řídil až do r. 1951.

Do tohoto období spadá i jeho činnost v periodikách Svazu, v jeho Věstníku a v příloze Zemědělský pokrok.

Již v r. 1924 stal se řádným členem Československé akademie zemědělské, kde fungoval jako člen předsednictva jeho I. odboru. I v tomto směru se zase objevila statečnost V. Káše, který jen s několika členy výzkumu se postavil vzdor teroru tehdejší vládnoucí pravice agrární strany a odepřel podpis proti založení Akademie. Redigoval některé časové spisy, např. Anketu o nutnosti hospodaření vodou, ve které bylo poukázáno na dnes stále akutní cesty k řešení tohoto problému. V práci pro Akademii vytrval až do doby jejího neblahého zrušení.

V r. 1951 přechází na VŠZ v Brně, kde se již v r. 1947 habilitoval, je zde v r. 1954 jmenován profesorem; i zde buduje ústav a školí mladé pracovníky, je mu svěřena funkce děkana agronomické a později ekonomicko-provozní fakulty. Konečně v r. 1960 se vrací do Prahy jako profesor mikrobiologie na VŠZ, v r. 1963 je zvolen členem-korespondentem ČSAV a v r. 1966 děkanem agronomické fakulty VŠZ v Praze.

Neúnavná je činnost prof. Káše v četných odborných funkcích, počínaje prací tajemníka I. odboru předválečné Zemědělské akademie, členstvím v Masarykově akademii práce, činností ve Svazu výzkumných ústavů zemědělských až k řadě funkcí v Československé akademii zemědělských věd a Československé akademii věd, členství ve vědeckých radách Mikrobiologického ústavu ČSAV, ÚVÚRV v Ruzyni a jinde, práci vědeckého redaktora Naučného slovníku zemědělského a členství v redakčních radách významných vědeckých časopisů domácích i zahraničních; zde všude vykonal prof. Káš obrovskou organizační, pedagogickou a popularizační práci.

Vydal mnoho původních prací, odborných statí, příruček a knih z oboru mikrobiologie půdy, mezi nimiž zvláště vynikají jeho mikrobiologická praktika a učebnice „Zemědělská mikrobiologie“ (1964), kniha světové úrovně, pokládaná za jednu z nejlepších tohoto druhu. Toto dílo, svazek o 465 stranách, samo o sobě prokazuje univerzální přehled v zemědělských disciplínách a zakotvuje mikrobiologii jako moderní vědu ve vědách agrotechnických.

Jako zkušený autor se ujal redakci Sborníků Vysoké školy zemědělské i vědeckého časopisu Rostlinná výroba.

Rozsah a význam badatelské práce prof. Káše v oboru mikrobiologie půdy a organických hnojiv byly zaslouženě oceněny udělením státní ceny. Byl první, kdo uplatnil vědecký výzkum mikrobiologie půdy jako součást půdoznaleckého průzkumu půd a je jedním z prvních badatelů, kteří přispěli k vysvětlení činnosti půdní mikroflóry v genetickém půdním procesu. Práce, které publikoval na tomto úseku v letech 1930–1950, mají nejen světovou úroveň, ale nacházejí i praktické uplatnění při ovlivňování půdní úrodnosti.

Originální jsou studie prof. Káše o únavě půdy a vlivu sucha na rozvoj půdní mikroflóry; svými studiemi o humusotvorných pochodech v půdě a statkových hnojivech vnesl mnoho nového do teorie ošetřování a použití hnojiv a položil teoretické základy technologie průmyslových kompostů.

Významné jsou rovněž práce prof. Káše zabývající se mikroorganismy v lesních půdách a jejich vztahy k tvorbě lesního humusu.

Prof. Káš navazoval na domácí tradici, raženou našimi klasiky, ať to byl prof. Stoklasa nebo prof. Kroulík, neopomenul kriticky zhodnocovat jejich díla ve vzpomínkách na ně a lze jen s úctou sledovat jeho objektivitu a krásný český jazyk, kterým jsou charakterizovány jeho pečlivě vypracované statě.

Téměř padesátiletá vědecká činnost prof. Káše vytvořila výraznou vědeckou školu půdních mikrobiologů, pro niž je charakteristický biochemický a biofyzikální přístup k řešení vztahů mezi mikroorganismy a půdou a výzkum energetických procesů v těchto vztazích.

Je zásluhou dojena našich půdních mikrobiologů, že tato věda se stala užitečnou součástí pokrokové agrotechniky, že Československo je uznávanou velmocí v tomto vědním oboru: vlastní vědeckou prací dosáhl světové úrovně, vychoval řadu žáků a dokázal stimelit tématicky odlišná pracoviště v dokonale spolupracující česko-slovenský celek, což právem budí obdiv v zahraničí. Zásluhu na tom má nejen uznávaná vědecká autorita prof. Káše, ale i jeho osobní skromnost, trpělivost a preciznost, neúnavná píle a pracovitost, kritičnost a především spravedlivé, v plném smyslu slova demokratické vystupování a kultivované a noblesní jednání. Pro to vše má profesor Káš přátelství svých kolegů, oblibu a vážnost u studentů, úctu a lásku svých žáků.

Ti všichni spolu s širokou zemědělskou obcí oceňují dnes jeho práci, radují se z jeho svěžesti, pracovního elánu i smyslu pro suchý humor i v nejtíživějších situacích a přejí jubilantovi všechno nejlepší do dalších let.

Prof. dr. František Duchoň, DrSc.,
Vysoká škola zemědělská, Praha-
Suchbát

Doc. dr. Eva Hamatová, CSc.,
Výzkumné ústavy rostlinné výroby,
Ústav výživy rostlin, Praha - Ruzyně

RESPIRACE VZORKŮ Z PROFILŮ HLAVNÍCH PŮDNÍCH TYPŮ

B. NOVÁK

NOVÁK B. (*Research Institutes of Crop Production, Institute of Plant Nutrition, Praha - Ruzyně*). *Respiration of Samples taken from the Profiles of the Principal Soil Types*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2): 151—155, 1969.

The indication of the microflora activity was recorded by means of a respirometric test as well as the availability of nitrogen, the stability of the organic soil substance, and the suitability of physical conditions for the activity of the microflora. Three soil types (chernozem, grey-brown podzolic soil, and illimerized soil) in the whole soil profile were examined. The activity of the microflora and the stability of organic substances are highest in the surface soil layers and smallest in the subsoil. The physical conditions for the development of the microflora are also most suitable in the surface soil layers. The changes in the soil properties indicated by the respirometric test in the different horizons of the same soil profile were markedly smaller in chernozem than in grey-brown podzolic soil and in illimerized soil.

activity of microflora; humus stability; nitrogen convertibility; conditions of microflora development

V genezi půdy se významnou měrou uplatňují biologické, zejména mikrobiologické pochody. Přes to je genetický půdní typ většinou autorů charakterizován převážně stratigrafií horizontů na základě jejich chemického složení. Tento nedostatek se u nás snažil odstranit K á š (1939 a, b, c, 1941, 1943 aj). Zúčastnil se komplexního půdoznaleckého průzkumu řady lokalit, doplnil charakteristiku zkoumaných půd studiem hlavních skupin mikrobů a zaznamenal jejich celkovou biochemickou aktivitu. Zejména studoval respiraci půdy, amonizaci, nitrifikaci, fixaci molekulárního dusíku a rozklad celulózy.

Tyto práce našly bohužel málo následovníků, takže jsou dodnes jedinými soustavnými charakteristikami mikrobiologických a biochemických poměrů půd střední Evropy. Stávají se proto právem vzorem pro další práce na tomto úseku (Novák 1960, Ambrož a Balátová-Tuláčková 1968, Knotková 1968 aj).

Káš ve svých pracích poprvé použil v respirometrickém testu půdních vzorků přísadků snadno využitelných organických látek (zejména glukózy) ke stanovení potenciální mikrobiální aktivity. Tato metoda byla v poslední době dále rozvinuta a její pomocí lze získat další cenné informace o zkoumaných půdách (Novák 1965). Předložená práce je toho dokladem.

MATERIÁL A METODY

Použili jsme půdních vzorků poskytnutých dr. J. Němečkem, získaných při komplexním půdoznaleckém průzkumu půd ČSSR. Vzorky byly usušeny na vzduchu, prosáté 2mm sítí a uloženy až do jejich zpracování v suchém stavu při pokojové teplotě. Před založením našich analýz byly ovlhčeny na 20% vláhu a uloženy 24 hod. při teplotě +4°C (aby rovnoměrně provlhly). Pak byl založen respirometrický test podle Nováka a Apfeltera (1964). Stanovili jsme bazální respiraci (B) a potenciální formy respirace: s přísadkem dusíku (N), glukózy (G) a dusíku a glukózy (NG).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Tabulky (I, II, III) shrnují hlavní výsledky respirometrického testu, získané ze vzorků 3 hlavních typů půd na našem území: z černozemě (tab. I), hnědozemě (tab. II) a illimerizované půdy (tab. III).

Ve všech případech je bazální i potenciální respirační aktivita největší v ornici a nejmenší v nejhlubších půdních horizontech. Kromě vzorků z černozemní půdy byla největší respirační aktivita naměřena v nejsvrchnější vrstvě

I. Hodnoty respirometrického testu vzorků černozemní půdy (Činěves). — Values of respirometric testing of chernozem soil samples (Činěves)

Hloubka cm Respirometrická hodnota	3—13	15—25	30—40	70—80
B (mg CO ₂ /100 g/hod.)	0,60	0,65	0,51	0,31
N (mg CO ₂ /100 g/hod.)	0,62	0,65	0,54	0,33
G (mg CO ₂ /100 g/hod.)	3,59	3,72	2,64	1,03
NG (mg CO ₂ /100 g/hod.)	38,14	39,21	21,30	7,15
N : B	1,03	1,00	1,06	1,06
G : B	5,98	5,72	5,18	3,32
NG : B	63,57	60,32	41,76	23,06
NG : N	61,52	60,32	39,44	21,67
NG : G	10,62	10,54	8,07	6,94
NG : G N : B	10,31	10,54	7,61	6,55

II. Hodnoty respirometrického testu vzorků hnědozemní půdy (Netlice). — Values of respirometric testing of brown soil samples (Netlice)

Hloubka cm Respirometrická hodnota	0—10	10—20	30—40	50—60
B (mg CO ₂ /100 g/hod.)	1,36	0,84	0,27	0,12
N (mg CO ₂ /100 g/hod.)	1,47	0,83	0,27	0,13
G (mg CO ₂ /100 g/hod.)	6,14	3,34	0,67	0,19
NG (mg CO ₂ /100 g/hod.)	34,18	14,27	2,33	0,38
N : B	1,08	0,99	1,00	1,08
G : B	4,51	3,98	2,48	1,58
NG : B	25,13	16,99	8,63	3,17
NG : N	23,25	17,19	8,63	2,92
NG : G	5,57	4,30	3,48	2,00
NG : G N : B	5,16	4,34	3,48	1,83

III. Hodnoty respirometrického testu vzorků illimerizované půdy (Drhovice). — Values of respirometric testing of gray-brown podzolic soil samples (Drhovice)

Hloubka cm Respirometrická hodnota	2—12	20—29	29—39	50—60
B (mg CO ₂ /100 g/hod.)	0,82	0,36	0,26	0,11
N (mg CO ₂ /100 g/hod.)	0,94	0,38	0,30	0,14
G (mg CO ₂ /100 g/hod.)	4,19	1,00	0,49	0,16
NG (mg CO ₂ /100 g/hod.)	28,12	3,86	1,04	0,26
N : B	1,15	1,06	1,15	1,27
G : B	5,11	2,78	1,88	1,45
NG : B	35,51	10,72	4,00	2,09
NG : N	29,91	10,16	3,47	1,64
NG : G	6,71	3,86	2,12	1,44
NG : G N : B	5,83	3,64	1,84	1,13

půdy. U černozemi byla největší aktivita ve spodní polovině orniční vrstvy. Rozdíly mezi aktivitou vzorků ze svrchní a spodní poloviny ornice jsou však velmi malé.

Položíme-li bazální respirační aktivitu (B) ve vzorku ze svrchní vrstvy půdy rovnou 1, dostaneme pro ostatní vzorky tyto relativní hodnoty:

černozem 15—25 cm : 1,08; 30—40 cm : 0,85; 70—80 cm : 0,52
 hnědozem 10—20 cm : 0,62; 30—40 cm : 0,20; 50—60 cm : 0,09
 illimerizovaná půda 20—29 cm : 0,44; 29—39 cm : 0,35; 50—60 cm : 0,13

Ubývá tedy bazální respirační aktivity směrem do hloubky v černozemi daleko pomaleji než v hnědozemi a illimerizované půdě. Vezmeme-li zkoumaný půdní profil jako určitý celek, můžeme vypočíst průměrný pokles bazální respirační aktivity s postupující hloubkou půdního horizontu. Tato hodnota činí u černozemní půdy 0,69%/cm, vztaženo na bazální respiraci vzorku povrchové vrstvy půdy. U hnědozemě je tato hodnota 1,82%/cm a u illimerizované půdy 1,66%/cm.

Potenciální respirační aktivita, s výjimkou hodnoty N, klesá směrem do hloubky půdního profilu rychleji než respirace bazální. Charakteristické jsou zejména změny hodnot NG. Vzorek z hloubky 70—80 cm půdního profilu černozemě má jen 18,7% aktivitu vzorku povrchové vrstvy, vzorek z hloubky 50 až 60 cm hnědozemě dokonce jen 1,1% aktivitu vzorku ornice těže půdy a vzorek z těže hloubky illimerizované půdy jen 0,8% aktivitu vzorku ornice. V průměru tedy klesá potenciální respirační hodnota NG v půdě černozemního typu o 1,16% na 1 cm hloubky, v půdě hnědozemní a illimerizované o 1,98%. Tedy i potenciální respirační aktivita klesá směrem do hloubky u černozemní půdy pomaleji než u druhých zkoumaných půd.

Zatímco relativní využitelnost dusíku indikovaná kvocientem N : B se v půdním profilu mění velmi nepravidelně, stabilita organických látek měřená

kvocienty $G : B$, $NG : B$ i $NG : N$ směrem do hloubky klesá. Nejpomaleji klesá opět v půdě černozemního typu, nejrychleji u illimerizované půdy.

Podle dosud známých skutečností (Káš 1939 a, c, 1941, 1943, Novák 1960) bylo možno pokles stability půdní organické hmoty v hlubších profilech všech zkoumaných půd očekávat. Podle Kášových výzkumů bylo možno očekávat i nalezené rozdíly mezi jednotlivými půdními představiteli.

Překvapující však byla skutečnost, že fyziologická přístupnost N , měřená kvocientem $N : B$, se mění velmi nepravidelně. Tento jev lze vysvětlit tím, že v hlubších půdních horizontech je nejen malá potenciální aktivita mikrobů, ale i málo organického substrátu pro tuto mikroflóru. Za těchto okolností je přídavek minerálního N vždycky málo účinný. Kvocient $NG : G$ ukazuje, že při zvýšené hladině substrátu v půdním vzorku je přídavek minerálního N do půdního vzorku se stoupající hloubkou horizontu relativně stále méně účinný, obdobně jako přídavek C .

Kvocient komplexního působení živin (C a N) vyjádřený složeným zlomkem $(NG : G) : (N : B)$ je indikátorem vhodnosti fyzikálních podmínek prostředí pro půdní mikroflóru (Novák 1965). Černozemní půda má příznivější fyzikální podmínky pro rozvoj mikroflóry než druhé dvě zkoušené půdy. Ve všech případech byly indikovány nejpříznivější fyzikální podmínky v ornici, nejméně příznivé v nejhlubších půdních horizontech.

Literatura

- AMBROŽ Z., BALÁTOVÁ - TULÁČKOVÁ E., 1968, K poznání biologické a humusové složky půdy u fytocenos řádů *Magnocaricetalia* a *Molinietalia* v oblasti jihozápadního Slovenska (Zahorie). *Preslia* 40 : 80-93.
- KÁŠ V. a), 1939, Mikrobiologická charakteristika klimatogenetických půdních typů. Sborník ČAZ 14 : 86-100.
- KÁŠ V. b), 1939, Mikrobiologický průzkum půdy. Spisy výzkumných ústavů zemědělských v Praze, č. 63.
- KÁŠ V. c), 1939, Porovnání půd třetihorních, rulových a žulových z jižních Čech podle mikrobiologického průzkumu. Sborník ČAZ 14 : 120-126.
- KÁŠ V., 1941, Hlavní půdní typy na algonických horninách z okolí Práhonice u Prahy. II. část. Charakteristika mikrobiologická. Sborník ČAZ 16 : 286-290.
- KÁŠ V., 1943, České křídové slinovatky. IV. Mikrobiologické poměry. Sborník ČAZ 18 : 167-171.
- KNOTKOVÁ E., 1968, Použití respirometrické metody při studiu otázek geneze a úrodnosti půd. Kand. dis. práce, Praha.
- NOVÁK B., 1960, Mikrobiologie při studiu geneze půd. Rostlinná výroba 6 : 1029-1032.
- NOVÁK B., 1965, Využití biochemických testů v půdní mikrobiologii. Habilitační doc. práce, Praha.
- NOVÁK B., APFELTHALER R., 1964, Příspěvek k metodice stanovení respirace jako indikátoru mikrobiologických pochodů v půdě. Rostlinná výroba 10 : 145-150.

Došlo dne 31. 10. 1968

NOVÁK B. *Respirace vzorků z profilů hlavních půdních typů*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 151-155, 1969.

Respirometrickým textem byla indikována aktivita mikroflóry, využitelnost dusíku, stabilita půdní organické hmoty a vhodnost fyzikálních podmínek pro činnost mikroflóry ve třech půdních představitelích (černozemi, hnědozemi a ilimerizované půdě) v celém půdním profilu. Aktivita mikroflóry a stabilita organických látek je největší v povrchových vrstvách půdy a nejmenší ve spodních. Fyzikální podmínky pro rozvoj mikroflóry jsou rovněž nejvhodnější v povrchových vrstvách půdy. Změny půdních

vlastností indikované respirometrickým testem v různých horizontech téhož půdního profilu byly u černozemí zřetelně menší než u hnědozemí a u illimerizované půdy. aktivita mikroflóry; stabilita humusu; využitelnost dusíku; podmínky rozvoje mikroflóry

НОВАК Б.: (Научно-исследовательские институты растениеводства, Институт питания растений, Прага-Ружыне). Респирация образцов из профилей главных почвенных типов. Rostlinná výroba (Прага) 15 (2) : 151-155, 1969.

При помощи respiromетрического теста определялась активность микрофлоры, использование азота, стабильность почвенной органической массы и пригодность физических условий для деятельности микрофлоры в трех почвенных типах (чернозем, бурозем и иллиммеризованная почва) во всем почвенном профиле. Активность микрофлоры и стабильность органических веществ самая большая в поверхностных слоях почвы и самая малая в нижних. Также в поверхностных слоях почвы имеются наиболее подходящие физические условия для развития микрофлоры. Изменения почвенных свойств, индцированные respiromетрическим тестом в разных горизонтах того же почвенного профиля, были у чернозема гораздо меньшими, чем у бурозема и иллиммеризованной почвы.

активность микрофлоры; стабильность гумуса; использование азота; условия развития микрофлоры

Adresa autora:

Ing. dr. Bohumír Novák, DrSc., Výzkumné ústavy rostlinné výroby,
Ústav výživy rostlin, Praha - Ruzyně

SYMPOSIUM „FIXACE DUSÍKU“

Zasedání Královské Společnosti Velké Británie konané v červnu 1968 v Londýně bylo věnováno tematu „Biologická fixace molekulárního dusíku“ jako jedné z nejaktuálnějších otázek současné půdní mikrobiologie. Na zasedání byli pozváni přednášející z domácích i zahraničních pracovišť, aby v jejich referátech byla zahrnuta celá šíře tohoto problému — nejnovější poznatky chemismu uplatňujícího se v procesu fixace, stav výzkumu u sinic a jiných volně žijících mikroorganismů, symbióza u leguminóz i neleguminóz. V dalším jsou ve stručnosti uvedeny obsahy jednotlivých sdělení.

1. První stupně biologické fixace dusíku. P. W. Wilson, University of Wisconsin.

Úvodem k biochemickým referátům byl předložen krátký historický přehled počínaje lety 1930. Toto období vyvrcholilo použitím moderních technik bezbuněčných preparátů fixujících dusík.

2. Nejnovější vývoj chemismu fixace. J. Chatt, F. R. S., University of Sussex.

Před rokem 1965 nepřinesla chemie žádné řešení ke studiu procesu fixace dusíku biologickými systémy. V současné době se dostává podpory názoru, že dusík se zpočátku přechodně váže na kov v nitrogenáze. Předpokládá se, že nitrogenáza obsahuje tranzitní kov, pravděpodobně nízkospinové železo, na něž se dusík váže dostatečně pevně a může proběhnout redukce na čpavek. V komplexech laboratorně připravených byl čpavek pravděpodobně vázán slabě a ihned nahražován dusíkem, čímž se cyklus uzavřel. V nepřítomnosti dusíku může být čpavek nahrazen vodíkem, tím vzniká klidové stadium. To by vysvětlovalo kompetitivní inhibici fixace vodíkem. Je-li uvedená úvaha správná, není pravděpodobné, že by Mo vytvářel aktivní centra, protože teorie předpokládá nízkospinové ionty, kde v d-sféře je plný počet nevazebných elektronů. Tato podmínka by byla splněna pouze v nulovém oxidačním stavu, což je nepravděpodobný „biologický“ stav.

3. Pokrok v biochemii fixace. R. H. Burris, University of Wisconsin.

Rozpusťný enzymatický systém fixujících mikroorganismů byl rozložen na dva proteiny, které samostatně jsou inaktivní, avšak ve spojení vykazují enzymatickou aktivitu. Pro fixaci dusíku je nezbytně vyžadován ATP. U rekonstruovaných systémů slouží jako elektronový donor běžně $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, u *Clostridium pasteurianum* redukován ferridoxin, u jiných mikroorganismů nebyl definován.

4. Speciální aspekty fixace dusíku u sinic. Rosalie M. Cox, University of Bristol, P. Fay, Westfield College, London.

Práce s neporušenými buňkami a bezbuněčnými extrakty sinic ukazují, že fixace elementárního dusíku u těchto fotosyntetických organismů může v zásadě probíhat podle podobných mechanismů jako u nefotosyntetických. Poměr dekarboxylace kyseliny pyrohroznové k fixaci dusíku 3 : 1, stanovený u *Anabaena cylindrica* souhlasí s hypotézou, že prvotně působí jako H donor při redukci dusíku. Schopnost fixace dusíku je omezena na ty druhy sinic, které tvoří diferencované buňky — heterocysty, jako reakci na nepřítomnost sloučenin dusíku v prostředí.

5. Biologická a ekologická hlediska na fixaci dusíku u volně žijících mikroorganismů. W. D. P. Stewart, Westfield College, London.

V referátu byly hodnoceny metody stanovení a měření fixace in situ. Fotosyntetické sinice fixují dusík výkonněji než bakterie, avšak po kratší období a pouze v určitých oblastech, jejich příspěvek k celkové bilanci fixace dusíku se však zdá být důležitější než se dříve předpokládalo.

6. Biologie a ekologie symbiotických neleguminózních společenstev fixujících dusík. W. S. Silver, Indiana State University.

Symbiotické organismy jsou dosud velmi špatně určeny, protože v mnoha případech nebyly dosud izolovány v čisté kultuře. Práce zabývající se rostlinnou sukcesí ve společenstvech ukázaly na průkopnický charakter nodulujících neleguminózních rostlin na půdě s nízkým obsahem dusíku.

7. Fixace dusíku v kořenových hlízkách leguminóz: biochemická studia. F. J. Bergersen, C. S. I. R. O., Canberra.

Ze studií se sází, že schopnost fixace je odvislá od symbiotické formy hlízkových bakterií — bakteroidů, které jsou podrobeny řadě metabolických změn, v nichž získávají nitrogenázu. Primární produkt reakce při fixaci je NH_3 , který v neporušených hlízkách je přeměňován na α -aminosloučeniny, které jsou dále využívány hostitelskou rostlinou. V suspenzích bakteroidů a jejich bezbuněčných extraktech končí reakce vznikem NH_3 , který je uvolňován do média. Redukující síla pro redukci dusíku je v hlízkách získávána z produktů fotosyntézy hostitele, v suspenzi bakteroidů je vyžadován sukcinát nebo podobný substrát. Přírodní redukční látka nebyla dosud identifikována.

8. Genetika symbiózy a fixace dusíku u leguminóz. P. S. Nutman, F. R. S. Rothamsted Experimental Station.

Dědičné faktory hostitele ovládají všechny fáze symbiózy: počáteční infekci kořenů, růst hlízek i množství fixovaného dusíku. Faktory mající vliv na růst kořenů jsou důležité v regulaci množství vytvořené tkáně fixující dusík. Vznik bakteroidů je rovněž silně ovlivněn hostitelským genem. Některé geny ovlivňují tvorbu bakteroidů pouze u určitých kmenů.

Ing. Hana Marečková, CSc.

ZMĚNY NĚKTERÝCH BIOLOGICKÝCH A CHEMICKÝCH VLASTNOSTÍ PŮDY VLIVEM IZOLOVANÉHO PŮSOBNÍ ORGANICKÝCH A MINERÁLNÍCH HNOJIV

R. APFELTHALER, B. NOVÁK

APFELTHALER R., NOVÁK B. (*Research Institutes of Crop Production, Institute of Plant Nutrition, Prague - Ruzyně*). *Changes of Certain Biological and Chemical Soil Properties Caused by Isolated Acting of Organic and Mineral Fertilizers*. Rostlinná výroba, (Praha) 15 (2) : 157—162, 1969

On parcels that had been kept free of plants for 10 years a quantity of compost corresponding to a dose of 80 metric tons per hectare was worked-in every year to a depth of 10 cm, and 160 tons per hectare to a depth of 20 cm. In the same way NPK fertilizers were applied in equivalent doses. The control parcels were not fertilized, tilled in to a depth of 10 and 20 cm, or not tilled at all. Compost fertilizing increased the content of organic matter of the soil, and that proportionally to the quantity used (by 61 or 127 per cent). The stability of carbonaceous substances indicated by the production of CO₂ with regard to the total carbon content did not depend on the depth of the tillage of the compost. However, the potential mineralization of N-substances was higher in the variant tilled into a depth of 20 cm. In the case of compost fertilizing also with a strongly increased carbon content almost the same C:N ratio was maintained as in the non-tilled control variant (9.1). Full mineral NPK fertilization lowered the content of organic substances in the soil by 11 per cent below the level of the non-fertilized parcel together with a pronounced lowering of the C:N ratio (6.8, or 6.1). Ammonia nitrogen predominates over nitrate nitrogen especially in the non-fertilized variants, and the largest relative enriching with nitrates is typical for parcels that had received mineral fertilizers. The ability of the microflora to utilize organic forms of nitrogen was highest where the supply of nutrients had been limited — both in organic and inorganic form. organic and mineral fertilizing; biological activity; humification; mineralization

Používání organických a minerálních hnojiv výrazně působí na fyzikální, chemické i biologické vlastnosti půdy, přímo i nepřímo ovlivňuje výživu rostlin a výnos pěstovaných plodin. Různě hnojené rostliny pak opět sekundárně působí na vlastnosti vlastního stanoviště.

Obvykle používané dávky organických a minerálních hnojiv působí poměrně malé změny půdního stavu, takže mají-li být analyticky charakterizovány, je třeba jejich aplikaci pravidelně opakovat po řadu let (K o l b e, S t u m p e 1967, R a u h e 1962, R a u h e, L e h n e 1966 aj.). Práci lze někdy urychlit tím, že v modelovém pokusu se použije větších dávek než je v praxi obvyklé (B r e m n e r 1951, 1954 aj.).

Ve svých pokusech jsme využili obou těchto možností. Použili jsme zhruba desetinásobných dávek hnojiv, než je v praxi vůbec možné a takto jsme opakovaně hnojili příslušné parcely každoročně po 10 let. Abychom vyloučili sekundární působení rostlin na půdu, udržovali jsme pokusné parcely bez porostu.

MATERIÁL A METODY

Pokus byl založen na iluviální půdě v Ruzyni a měl tyto varianty:

1. Parcela hnojená dávkou 800 q kompostu na hektar zapraveného do hloubky

10 cm. To odpovídá obohacení hnojené vrstvy o 0,1% C, 5 mg% N, 2 mg% P_2O_5 a 6 mg% K_2O ročně.

2. Parcela hnojená dávkou 1600 g kompostu/ha ročně, zapraveného do hloubky 20 cm. Hnojená vrstva je tedy obohacena stejnou dávkou živin jako v parcele 1.

3. Parcela hnojená síranem amonným, monokalciumpfosfátem a chloridem draselným, zapravenými do hloubky 10 cm. Dávka hnojiv odpovídala množství NPK dodaných kompostem v parcele 1.

4. Parcela hnojená dvojnásobkem dávky hnojiv použitých na parcele 3; hnojivo bylo zapraveno do hloubky 20 cm.

5. Parcela nehnojená, každoročně překopávaná do hloubky 10 cm.

6. Nehnojená parcela, každoročně překopávaná do hloubky 20 cm.

7. Parcela neobdělávaná.

Parcely byly hnojeny a překopávány v květnu. V průběhu roku byly soustavně zbavovány plevelů (vytrhávání). Jinak nebyly parcely ošetřovány. Půdní vzorky byly odebírány z hloubky 0–20 cm, zemina byla homogenizována a upravena prosátím nebo strouháním na přibližně 2mm částice. K analýzám jsme použili přirozeně vlhkou zeminu. Stanovení produkce CO_2 bylo prováděno interferometricky po 20 hodinách inkubace při 27 °C (Apfelthaler 1966, Novák, Apfelthaler 1964) ve vzorcích neobohacených (B), obohacených síranem amonným (N), glukózou (G), jejich směsí (NG) a peptonem (Pep). V amonizačních testech byl stanoven jednak okamžitý obsah amoniakálního dusíku (A_a), dále jeho množství po 8denní inkubaci (K_a) a množství produkované po 24 hodinách inkubace s peptonem (Pep). Podobně i v nitrifikačním testu byl kolorimetricky pomocí fenoldisulfonové kyseliny stanoven okamžitý obsah nitrátů (A_n), množství po 8denní inkubaci (K_n) a potenciální nitrifikační aktivita po 8denní inkubaci s přidávkou síranu amonného (R_n) (Novák a sp. 1963).

Obsah uhlíku byl stanoven jodometricky po spálení na mokré cestě, obsah dusíku podle Kjeldahla.

VÝSLEDKY

Východním údajem k hodnocení biologické aktivity je obsah půdní organické hmoty, zjednodušeně a pouze po kvantitativní stránce definovaný obsahem uhlíku a dusíku a jejich vzájemným poměrem. Z tabulky I je patrné, že hnojením kompostem se pronikavě zvýšila hladina půdní organické hmoty, a to úměrně zapravenému množství bez ohledu na hloubku zapravení. Rovněž poměr C : N zůstává stejný při obou extrémních dávkách kompostu při různé hloubce zapravení. Soustavné hnojení NPK hnojivy vedlo ke snížení obsahu C (z 1,30 % na 1,16 %), přičemž obsah dusíku se jen mírně zvýšil ve srovnání s kontrolní parcelou. Výsledný poměr C : N, který takto nabyl velmi nízké hodnoty, vede k předpokladu, že limitujícím faktorem obohacování půdy dusíkem je přítomnost dostatečného množství uhlíkatého substrátu jako zdroje energie i plastického materiálu. Hlubší zapravení NPK hnojiv (20 cm) ve zvýšené dávce zajišťuje poněkud vyšší obsah N v půdě (tab. II), ale nemá vliv na rozkladný účinek přidávky minerálních hnojiv vůči půdní organické hmotě. Pouhé mechanické zpracování půdy stejného rozsahu jako při hnojení neovlivňuje téměř mineralizaci dusíkatých látek, ale vyvolává zřetelné ochuzení půdy uhlíkatými látkami. Mělké překopání mělo v tomto případě intenzivnější účinek než překopání do hloubky 20 cm. Poměr C : N zůstává blízký hodnotám získaným u nehnojené parcely a parcel hnojených kompostem (tab. I).

Vlastní biologická aktivita vyjádřená v tomto pokusu produkcí CO_2 /hod během 20 hod. inkubace není závislá jen na množství půdní organické hmoty, ale do značné míry na podílu lehce rozložitelných součástí. Nejvyšší rychlostí bazální tvorby CO_2 se vyznačovala varianta hnojená 1600 g kompostu, nejnižší pak parcela prokypřovaná do 10 cm. Vztáhneme-li tyto údaje mineralizační akti-

I.

Varianta	Respirace mg CO ₂ /100 g, hod					Kvocienty účinnosti				C _{ox} %	$\frac{B}{C_{ox}} 100$	C _{ox} : N _t
	B	N	G	NG	Pep	N : B	G : B	NG : G	Pep : NG			
Kompost ¹ 10 cm	0,33	0,74	3,13	16,55	29,55	2,24	9,48	5,29	1,79	2,10	15,7	9,1
Kompost ² 20 cm	0,47	0,73	2,28	16,73	25,19	1,55	4,85	7,34	1,51	2,96	15,8	9,0
NPK ¹ 10 cm	0,24	0,60	1,52	18,23	29,26	2,50	6,33	11,99	1,61	1,16	20,6	6,8
NPK ² 20 cm	0,24	0,60	1,34	9,74	17,32	2,50	5,58	7,67	1,78	1,16	20,6	6,1
0	0,18	0,39	1,21	6,63	30,89	2,17	6,72	5,48	4,66	1,15	15,6	8,2
10 cm	0,26	0,48	1,16	6,23	38,94	1,87	4,46	5,37	6,25	1,19	21,8	9,1
0	0,42	0,38	1,02	10,35	23,32	0,90	2,43	10,15	2,25	1,30	32,3	9,3

II.

Varianta	Amonizace mg N-NH ₄ /100 g				Nitrifikace mg N-NO ₃ /100 g			Celková mineralizace mg N/100 g, 8 dní			N _t
	A _a	K _a	NG _a	Pep _a	A _n	K _n	R _n	K _a + K _n	A _a + A _n	rozdíl	
Kompost ¹ 10 cm	21,12	19,48	106,72	238,0	0,91	3,35	18,21	22,03	22,84	+ 0,80	0,23
Kompost ² 20 cm	21,08	24,29	98,26	272,0	1,61	4,54	27,22	22,69	28,83	+ 6,14	0,33
NPK ¹ 10 cm	19,83	19,07	98,58	138,0	3,70	4,06	3,75	23,53	23,13	- 0,40	0,17
NPK ² 20 cm	18,22	21,48	80,10	172,0	1,88	2,49	0,54	20,10	23,97	+ 3,87	0,19
0	10,07	10,92	98,72	293,0	0,25	3,30	3,23	10,32	14,22	+ 3,90	0,14
10 cm	12,43	12,43	78,13	262,0	0,30	2,75	4,42	12,72	15,16	+ 2,44	0,13
0	12,57	14,17	105,12	279,0	0,36	2,22	4,47	12,93	16,39	+ 3,46	0,14

vity mikroflóry na obsah uhlíku v půdě $\left(\frac{B}{C_{ox}} \cdot 100; \text{tab. I} \right)$, pak relativně nejstálejší organickou hmotu nacházíme ve variantách hnojených kompostem (15,7, resp. 15,8) a variantě nehnojené, prokypřené do 10 cm (15,6), zatímco hmotu nejméně odolnou rozkladu nacházíme u parcely vůbec neošetřované. Tento zdánlivý paradox lze vysvětlit účinkem pronikavé změny fyzikálních vlastností půdy, ke které došlo laboratorním zpracováním půdy, částečným ovlhčením, což vede k jevu tzv. reaktivní respirace (Drob ník 1962).

Respirační test s přidavkem minerálního dusíku indikuje závislost mobilizace dalších podílů organické hmoty na výživě mikroflóry dusíkem. Z respiračních kvocientů v tabulce II je patrné, že účinnost amoniakálního dusíku je vyšší ve variantě s mělkým zapravením kompostu než při zapravení hlubším. To nasvědčuje tomu, že mělké zapravení kompostu přispívá k pevnějšímu poutání organického dusíku. U parcel každoročně hnojených dusíkem v minerální formě je účinnost dusíku při mineralizaci dalšího podílu uhlíkatých látek překvapivě vysoká, zvláště při úzkém poměru C : N, který tyto varianty charakterizuje. U nehnojených parcel se vliv dodatečně přidávaného dusíku na mineralizační aktivitu půdní mikroflóry snižuje v pořadí: překopávka 10 cm, překopávka 20 cm a u překopávané varianty byl zřejmě dusík ve zvýšené míře využit k syntetickým pochodům (N : B menší než 1). Tento závěr lze podepřít i údaji amonizačního testu, kde za přítomnosti glukózy bylo z přítomného množství N-NH₄ vázáno do organických vazeb 93 %.

Schopnost mikroflóry využívat glukózu během 20 hod. byla nejvyšší ve variantě hnojené 800 q kompostu/ha a klesá s ubývajícím intenzitou hnojivých a mechanických zásahů. Vyšší aktivitou se vyznačují vždy varianty mělce zpracovávané.

Organické zdroje dusíku ve formě peptonu (a pochopitelně též uhlík) jsou půdní mikroflórou nejsnáze využitelné. Zvláště vysoká schopnost mineralizovat pepton provází parcely obdělávané, ale nehnojené. Je tedy proteolytická aktivita půdní mikroflóry spjata s adaptací mikroorganismů na půdní organickou hmotu jako jediného zdroje živin a energie. Přisun jiných forem živin včetně organické hmoty kompostu redukuje tyto schopnosti.

Spolu se změnami ve využívání a mineralizaci uhlíku dochází vlivem různého druhu a způsobu hnojení ke změnám v metabolismu dusíku. Hnojení kompostem zvýšilo obsah amoniakálního dusíku ve srovnání s kontrolou o 65 %, plné minerální hnojení o 50 %. Při hnojení kompostem jsou příznivější podmínky pro nitrifikaci při hlubším zapravení kompostu, při hnojení NPK je zvýšené množství nitrátů naopak zaznamenáno ve variantě obdělávané pouze do 10 cm. Nitrifikační činnost mikroflóry nehnojených variant je podle očekávání nízká. Převažující směr přeměny dusíkatých látek v půdě lze posoudit bilancováním hodnot amonizace a nitrifikace před a po 8denní inkubaci podle tabulky II ($K_a + K_n$) — ($A_a + A_n$). Zatímco u nehnojených parcel se intenzita mineralizace dusíkatých látek příliš neliší, u variant organicky a minerálně hnojených je pro rozsah mineralizace rozhodující hloubka zapravení hnojiv (tab. II).

Testem, ve kterém je zjišťován úbytek amoniakálního dusíku přidaného k půdě spolu s glukózou, lze posoudit především schopnost mikroflóry syntetizovat buněčnou hmotu (tj. biologickou immobilizaci dusíku) a dále klasifikovat zdroje využitelného dusíku v půdě. Půdní mikroflóra omezovaná prostředím na čerpání živin z obtížně využitelných zdrojů syntetizuje po převedení do bohatšího prostředí (shift up) intenzivně buněčné bílkoviny. Vysoká immo-

bilizace N byla zaznamenána ve variantách nehnojené s překopávkou do 10 cm a nehnojené bez mechanického zásahu. Z původně přítomného a přidaného $N-NH_4$ bylo immobilizováno 90, resp. 93 %. Prokypřování do hloubky 20 cm vyvolává výrazné snížení immobilizace, což souvisí zřejmě s využíváním dusíku z půdní zásoby.

DISKUSE

Význam organického hnojení pro udržení alespoň stálé hladiny humusu je dostatečně známý, i když ne vždy v praxi respektovaný. Výsledné příznivé působení jakostní půdní organické hmoty na růst rostlin je souhrnem celé řady přímých i zprostředkovaných faktorů. Mezi ně patří i změny půdních vlastností, vyvolané mechanickými zásahy v souvislosti s hnojením. Podle Krzysche (1964) vede hlubší zpracování půdy (do 25 cm) ke zvýšení biologické aktivity o 25 %, zatím co mělké zpracování snižuje aktivitu právě ve vrstvě 15–20 cm. Tyto změny jsou přisuzovány vlivu provzdušení (např. Abrosimov, Revut 1964), obnovení styčných povrchů mezi půdní organickou hmotou a mikroorganismy, změnou vodního režimu a výměny plynů (Swaby 1963). Podle našich výsledků činilo toto zvýšení aktivity u nehnojené parcely 44 %, u parcel hnojených minerálně nebyly mezi mělkým a hlubokým zapravením zjištěny rozdíly v bazální respiraci obou variant. U varianty hnojené kompostem činí toto zvýšení 42 %, jelikož však množství přivedené organické hmoty bylo dvojnásobné, nejde toto zvýšení na úkor půdní organické hmoty.

Na parcelách nehnojených a hnojených pouze minerálně klesá obsah humusu v půdě ve srovnání s neošetřenou parcelou. Někteří autoři toto hodnotí jako průvodní zjev minerálního hnojení (např. Jegorov 1966), podle jiných údajů je tento úbytek kompenzován vyšší produkcí rostlinných zbytků na minerálně hnojených parcelách (Swaby 1963). Určitý podíl půdního uhlíku může být však mineralizován zvýšenou aktivitou mikroflóry po laboratorní úpravě půdního vzorku. Tím lze vysvětlit i vysokou mineralizační aktivitu mikroflóry na parcele kontrolní, jejíž fyzikální stav a podmínky výživy musely být pro biologickou činnost velmi nepříznivé. Lze očekávat, že čím blíže bude půdní prostředí odpovídat optimu podmínek převažujících mikrobiálních společenstev, tím méně se tento jev uplatní při studiu mineralizace organických látek mikroflórou půdních vzorků.

Literatura

- ABROSIMOVA L. N., REVUT I. B., 1964, Biologičeskaja aktivnost' i sostav vozducha pachotnogo sloja počvy. Počvovedenije 7 : 34-35.
- APFELTHALER R., 1966, Možnosti interferometrické analýzy respiračních plynů, zvláště kyslíku pro účely půdní mikrobiologie. Rostlinná výroba 12 : 9-14.
- BREMNER J. M., 1951, A review of recent work on soil organic matter. I. J. Soil Sci. 2 : 67-82.
- BREMNER J. M., 1954, A review of recent work on soil organic mater. II. J. Soil Sci. 5 : 214-232.
- DROBNÍK J., 1962, Využití respirometrie pro studium půdního metabolismu. Teoretické předpoklady. III. konference půdní mikrobiologie, Liblice.
- JEGOROV V. E., 1966, Vlijanije dlitelnogo primenenija udobrenij i plodosmena na soďeržanije i sostav gumusa. Izv. Timirjazev. s.-ch. Akad. 2 : 49-56.
- KOLBE G., STUMPE H., 1967, Die Wirkung verschieden gelagerter Stallmiste auf Pflanzenenertrag und Bodeneigenschaften. I. Albrecht-Thaer-Arch. 11 : 947-962.
- KRZYSCH G., 1964, Zur Beeinflussung der Bodenatmung durch langjährige Düngung und Bodenbearbeitungsmaßnahmen. Z. Acker- u. PflBau 120 : 339-368.
- NOVÁK B., APFELTHALER R., 1964, Příspěvek k metodice stanovení respirace jako indikátoru mikrobiologických pochodů v půdě. Rostlinná výroba 10 : 155-160.

- NOVÁK B., KOZOVÁ J., LÖBL F., APFELTHALER R., 1963, Vliv organických látek v různém stupni humifikace na mikrobiologické a biochemické pochody v půdě. Rostlinná výroba 9 : 774-783.
- RAUHE K., 1962, Die Bedeutung des Stallmistes für die Steigerung der Erträge und der Bodenfruchtbarkeit. Dtsch Landw. 13 : 166-168.
- RAUHE K., LEHNE I., 1966, Betrachtungen zu den Ergebnissen des Dauerdüngungsversuches „Ewiger Roggenbau“ in Halle im Hinblick auf die Erhaltung der Bodenfruchtbarkeit. I. Albrecht-Thaer-Arch. 10 : 3-18.
- SWABY R. S., 1963, Cultivation practices in relation to soil organic matter levels. FAO/IAEA Tech. Meet. Brunswick-Völkenrode 23-31.

Došlo dne 31. 10. 1968

APFELTHALER R., NOVÁK B. *Změny některých biologických a chemických vlastností půdy vlivem izolovaného působení organických a minerálních hnojiv*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 157—162, 1969.

Na parcelách udržovaných během 10 let bez rostlin bylo každoročně zapraveno množství kompostu odpovídající dávce 300 q/ha do hloubky 10 cm a 1600 q/ha do hloubky 20 cm. Stejným způsobem bylo hnojeno NPK hnojiv v ekvivalentních dávkách. Kontrolní parcely byly nehnojené, překopávané do 10 a 20 cm a nepřekopávané. Hnojením kompostem se zvýšil obsah půdní organické hmoty, a to úměrně zapravenému množství (o 61 %, resp. 127 %). Stabilita uhlíkových látek indikována produkcí CO_2 vztaženou na celkový obsah uhlíku nezávisela na hloubce zapravení kompostu. Potenciální mineralizace N-látek byla však vyšší u variant s obděláváním do 20 cm. Při hnojení kompostem byl i při silně zvýšeném obsahu uhlíku zachován téměř stejný poměr C:N jako u kontrolní neobdělávané varianty (9,1). Plně minerální hnojení NPK snížilo obsah organických látek v půdě o 11 % pod úroveň nehnojené parcely za pronikavého snížení poměru C:N (6,8, resp. 6,1). Amoniakální dusík převládá nad nitrátovým zvláště u nehnojených variant, největší relativní obohacení nitráty je typické pro minerálně hnojené parcely. Schopnost mikroflóry využívat organických forem dusíku byla nejvyšší tam, kde byl omezen přísun živin — jak v organické, tak anorganické formě.

organické a minerální hnojení; biologická aktivita; humifikace; mineralizace

АПФЕЛТАЛЕР Р., НОВАК Б.: (Научно-исследовательские институты растениеводства, Институт питания растений, Прага-Ружыне). Изменения некоторых биологических и химических свойств почвы под влиянием изолированного действия органических и минеральных удобрений. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 157-162, 1969.

На делянках, поддерживаемых в течение 10 лет без растительного покрова, ежегодно заделывался компост в количестве, соответствующем дозе 800 ц/га на глубину 10 см и 1600 ц/га — на глубину 20 см. Таким же способом удобрялись делянки NPK в эквивалентных дозах. Контрольные делянки не удобрялись, они вскапывались на глубину 10 и 20 см и не вскапывались. В результате удобрения компостом повысилось содержание почвенной органической массы, а именно пропорционально заделанному количеству (на 61 % или 127 %). Стабильность углеродных веществ, индицированная продукцией CO_2 , в пересчете на общее содержание углерода, не зависела от глубины заделки компоста. Однако, потенциальная минерализация N-веществ была более высокой у варианта, обработанного на глубину 20 см. При удобрении компостом даже при более высоком содержании углерода соблюдалось почти одинаковое отношение C:N, как и у контрольного необработанного варианта (9,1). Полностью минеральное удобрение NPK понижало содержание органических веществ в почве на 11 % ниже уровня неудобренной делянки при резком понижении отношения C:N (6,8 или 6,1). Аммиачный азот преобладает над нитратным, в особенности у неудобренных вариантов; самое большое относительное обогащение нитратами характерно для минерально удобренных делянок. Самая большая способность микрофлоры использовать органические формы азота наблюдалась там, где была ограничена подача питательных веществ — как в органической, так и в неорганической форме.

органическое и минеральное удобрение; биологическая активность; гумификация; минерализация

Adresa autorů:

Ing. Roman Apfelthaler, CSc., doc. ing. dr. Bohumír Novák, DrSc.,
Výzkumné ústavy rostlinné výroby, Ústav výživy rostlin, Praha - Ruzyně

VLIV POSKLIZŇOVÝCH ZBYTKŮ VOJTĚŠKY NA VZCHÁZENÍ OZIMÉ PŠENICE

II. ČÁST

K. ŘÍDKÝ

ŘÍDKÝ, K. (Institute of Basic Agrotechnique, Hrušovany near Brno. *The Influence of Post-Harvest Residues of Lucerne on the Emergence of Winter-Wheat. Part II. Rostlinná výroba* (Praha) 15 (2) : 163—171, 1969.

In laboratory tests with winter wheat, extracts of lucerne post-harvest residues were shown to exercise phytotoxic activity especially so during the first days of germination of caryopses. The inhibitory effects of the residues on winter wheat are decreasing with their progressing decomposition by microorganisms. The phytotoxicity disappears most rapidly and most effectively at a medium (50 per cent of maximum capillary capacity) or lower soil humidity. At higher soil moistures (70 per cent maximum capillary capacity and more) the degradation of the inhibitory substances is slowed down. The results obtained support the demand for a timely ploughing-in of lucerne residues before the sowing of winter wheat.

phytotoxicity; microbial decomposition; moisture of environment.

Práce poukazující na možnost fytotoxického působení různých rostlinných zbytků v půdě jsou ve světové literatuře v poslední době stále častější (Sapanovič, Maksimova a Chomenko 1956, Guenzia McCalla 1966, Mišustina Erofejev 1966, Guenzi, McCalla a Norstadt 1967, Kimber 1967, Biebera Hoveland 1968, Norstadt a McCalla 1968, Toussoun, Weinhold a Linderman 1968). Domnívám se, že je tím především jasně demonstrována nutnost podrobnějšího studia vztahu prostředí a rostliny. V rámci studia tohoto druhu jsem ve své předchozí práci (Řídký 1966) poukázal na inhibiční vliv extraktů ze zbytků vojtěšky na klíčení a vzcházení ozimé pšenice i jiných obilovin. Obdobný vliv vojtěšky byl zjištěn v poslední době i Stachurskou-Backovou a Szuwalskou (1965) a Megiem, Pearsonem a Hiltboldem (1967).

Vzhledem k tomu, že rostliny i půda jsou živé systémy, je jejich vzájemný vztah určován i stupněm jejich vývoje. Z tohoto hlediska a v návaznosti na dříve získané výsledky byla proto blíže studována citlivost ozimé pšenice v různém stupni klíčení a vzcházení vůči inhibičním účinkům extraktu z posklizňových zbytků vojtěšky, dále pak vliv postupujícího rozkladu těchto odumřelých zbytků na inhibiční efekt vůči klíčící pšenici. Byla věnována pozornost jak rozkladu zbytků nimo zeminu (spíše z teoretických důvodů), tak v zemině, v obou případech i při různých (do značné míry extrémních) stupních vlhkosti, kterými bylo dosahováno odlišné složení coenozy půdní mikroflóry a tedy i typ rozkladu zbytků.

MATERIAL A METODY

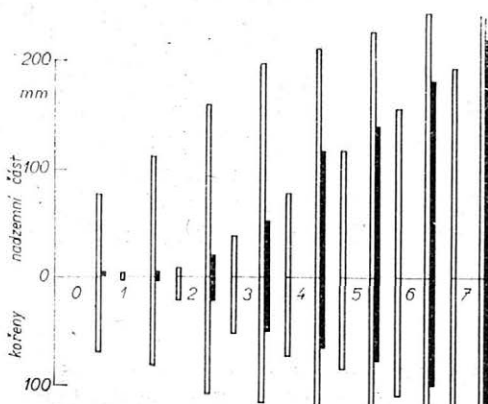
Posklizňové zbytky vojtěšky byly odebrány při zaorávce drnu v druhém užitkovém roce, opláchnutím zbaveny hlíny, usušeny při 40 °C a jejich délka upravena na 4—5 cm. Extrakty posklizňových zbytků vojtěšky byly připraveny

vyluhováním destilovanou vodou nebo Knoppovým živným roztokem po 5 hodin při laboratorní teplotě. Na 20 g zbytků bylo dáno tolik vyluhovadla, aby po zfiltrování zůstalo 100 ml extraktu. Vliv extraktu na růst různě naklíčené pšenice byl testován v kalíšcích z plastické hmoty (výška 7 cm, horní Ø 8 cm, spodní Ø 6 cm — v potravinářství používány k prodeji krémů), ve víčku byl vyříznut otvor Ø 7 cm, mezi víčko a misku naplnuta řídká gáza, kalíšek naplněn Knoppovým živným roztokem až po gázu a vyseto po 20 obilkách pšenice. Po 1, 2 atd. až po 7 dnech pěstování byl Knoppův roztok vyměněn za čerstvý a) bez extraktu ze zbytků vojtěšky, b) s extraktem z těchto zbytků, a sledován růst pšenice další 4 dny. Rozklad zbytků vojtěšky byl prováděn rovněž v uvedených kalíšcích. Zbytky byly inkubovány 1) samy bez zeminy (v kalíšku 20 g zbytků, přikryto víčkem Petriho misky) po dobu 0 až 30 dnů, vlhkost upravena takto: A — slabě ovlhčeno 6 ml destilované vody, B — zbytky ponechány 20 min. v destilované vodě k nasáknutí vodou, C — inkubovány ponořené v destilované vodě. Po příslušné době inkubace byly z variant A a B připraveny extrakty výše popsaným způsobem; množství H₂O odpovídalo poměru: zbytky/H₂O u varianty C. Účinek extraktů byl testován v Petriho miskách o Ø 10 cm; do misky bylo napipetováno 10 ml extraktu nebo destilované vody (kontrola) a umístěno 20 obilek pšenice. 2) Rozklad zbytků v zemině: v kalíšku bylo inkubováno 180 g zeminy po vojtěšce (tmavěji hnědá humózní hlína) a 18 g zbytků, popřípadě jako kontrola pouze zemina po vojtěšce. Vlhkost vzorků byla upravena na 10, 50 a 90 % maximální kapilární kapacity (m. k. k.) a kalíšky uzavřeny víčky Petriho misek. Vlhkost byla průběžně kontrolována vážením. Před výsevem pšenice byla vlhkost všech vzorků upravena na 50 % m. k. k. Od každé varianty (doba rozkladu × vlhkost) bylo založeno souběžně 10 opakování. Kalíšky pro různou dobu inkubace (při 22 °C) byly připravovány postupně, takže výsev pšenice (20 obilek na kalíšek) byl u všech variant pokusu proveden téhož dne. Stanovení délky a sušiny pšeničných rostlin bylo provedeno 6. dne po výsevu, není-li uvedeno jinak. Testovací plodinou byla ozimá pšenice 'Diana I'.

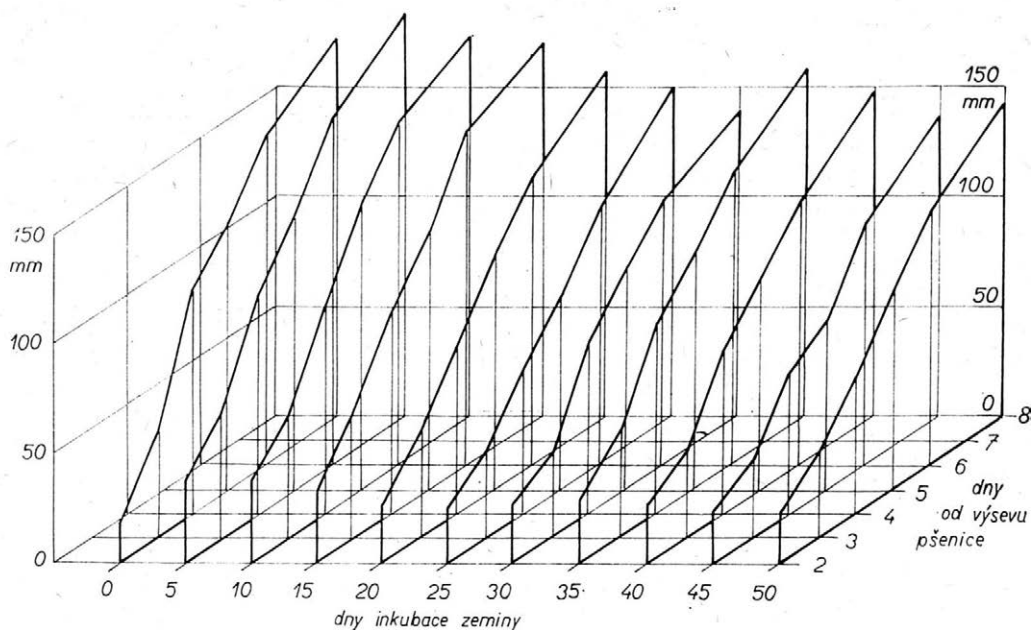
Mikrobiologická sledování: běžnou plotnovou metodou byly stanoveny počty mikrobů u kultivačních skupin proteolytických bakterií (na agaru z bílkovinného extraktu ze sójové mouky — Hampl 1946, modif.), na Thorntonově agaru a na agaru pro rozkladače celulózy. K prvému ředění byl použit obsah celého kalíšku.

VÝSLEDKY

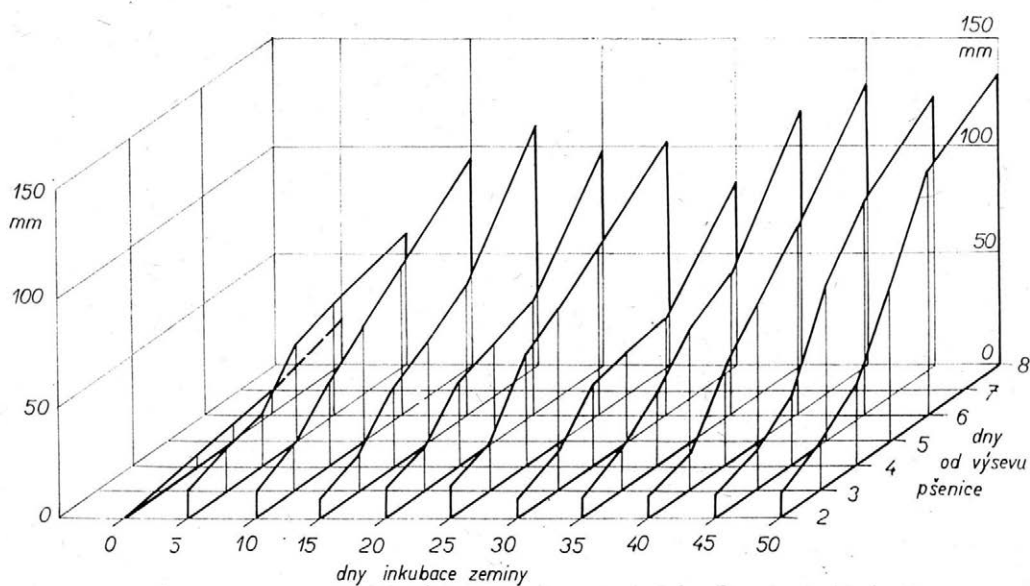
Graf 1 dává přehled o fyto toxickém vlivu extraktu z posklizňových zbytků vojtěšky na růst pšenice, která se s tímto extraktem setkala v různých etapách klíčení a vzházení. Je patrné, že v prvních dnech svého vývoje je pšenice na inhibiční působení velmi citlivá. Citlivý je především její kořenový systém; kořínky v extraktu přestávají prakticky růst vůbec; jejich špičky zahnědnou



1. Reakce pšenice staré 0 až 7 dnů na fyto toxicitu extraktu ze zbytků vojtěšky. Prvý prázdný sloupec — délka rostliny předpěstované v Knoppově roztoku (číslíce — dny předpěstování). Druhý prázdný sloupec — délka rostliny po dalších 4 dnech růstu v Knoppově roztoku bez extraktu ze zbytků vojtěšky. Plný sloupec — totéž, s extraktem ze zbytků vojtěšky. — Response of wheat 0 to 8 days old to the phytotoxicity of an extract from alfalfa residues. 1st white column — length of the plant pre-cultivated in Knopp's solution (Nos — pre-cultivation days); 2nd white column — plant length after further four days of growth in Knopp's solution without an extract from alfalfa residues; black column — ditto with extract from alfalfa residues



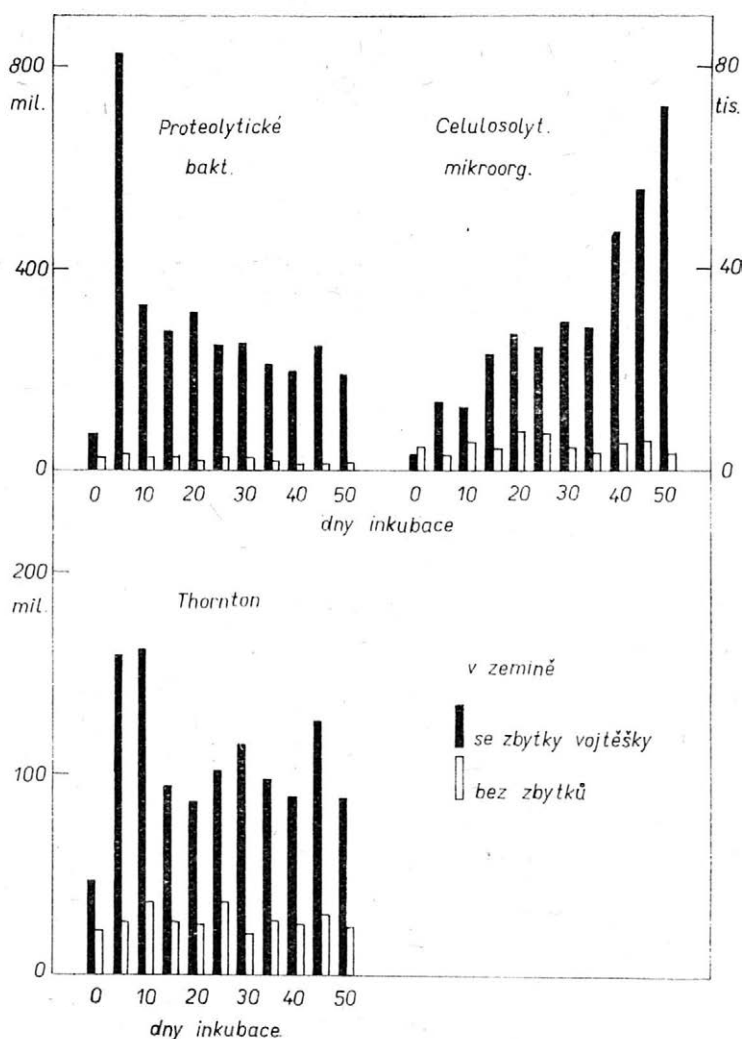
2. Růst ozimé pšenice (nadzemní část) v zemině bez zbytků vojtěšky inkubované 0 až 50 dnů — Growth of winter wheat (above-ground part) in soil without alfalfa residues incubated for 0 to 50 days



3. Růst ozimé pšenice (nadzemní část) v zemině se zbytky vojtěšky inkubované 0 až 50 dnů. — Growth of winter wheat (above-ground part) in soil with alfalfa residues incubated for 0 to 50 days

a odumírají, kořenové vlášení je poškozeno. Nadzemní část reaguje rovněž silně zbrzděným růstem. U rostliněk již poněkud vyvinutějších, to znamená asi od 4. dne předklíčení, se rozdíl začínají snižovat.

Z uvedeného je patrné, že v prvních dnech vývoje může být pšenice poškozena nejcitelněji, a proto především tato etapa jejího vývoje byla předmětem dalšího studia vztahů k fytotoxicitě vojtěškových zbytků. Že vojtěškové zbytky v běžných půdních podmínkách podléhají nutně postupnému mikrobiálnímu rozkladu, je zřejmé. Do jaké míry je v průběhu jejich začínající degradace narušována i jejich fytotoxicita, ukazují grafy 2 a 3. Je zde možno porovnat růst pšenice od 2. do 8. dne od výsevu jak v zemině se zbytky vojtěšky, tak i bez nich, inkubované různě dlouhou dobu (0 až 50 dnů při vlhkosti 70 % m. k. k.). Na



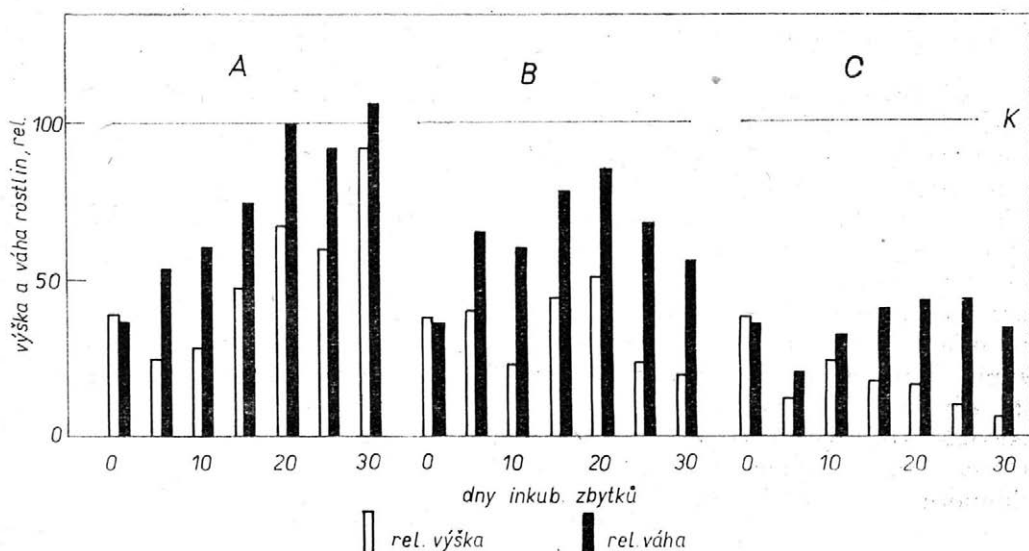
4. Rozvoj mikroflóry v zemině bez zbytků a se zbytky vojtěšky inkubované 0 až 50 dnů. — Microflora development in soil without and with alfalfa residues incubated for 0 to 50 days

prvý pohled je zde zřejmý silný inhibiční vliv zbytků vojtěšky, k jehož pozvolnému snižování dochází s postupující dobou inkubace. Je však překvapivé, že ani růst pšenice v zemině zbavené zbytků není jednotný, ale vykazuje po určitých obdobích inkubace jakési „vlny“ nebo cykly zlepšení či zhoršení; ty jsou patrné i při růstu pšenice v zemině se zbytky.

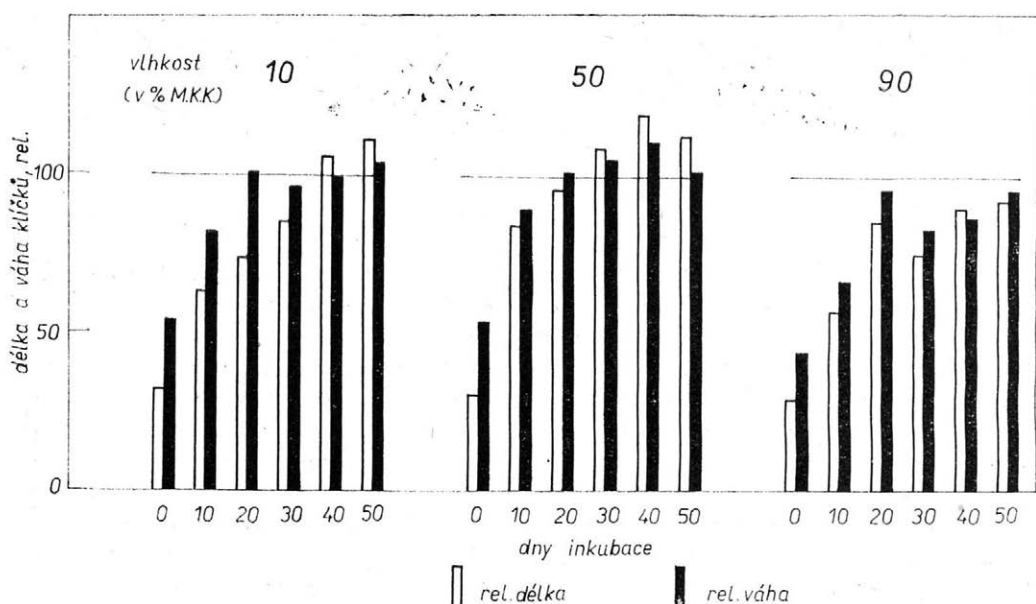
Graf č. 4 ukazuje rozvoj mikroflóry orientačně sledovaný u tří kultivačních skupin; je zde patrný podstatný rozdíl v množství mikroorganismů u zeminy bez zbytků a se zbytky i specifičnost rozvoje každé skupiny.

Různé složení a vývoj mikrobiální coenozy musí nutně zapříčinit i různost výsledků její činnosti, pro nás konkrétně degradaci inhibičního faktoru ze zbytků vojtěšky. Z podmínek prostředí hraje v tomto směru jistě prvořadou úlohu obsah vlhkosti. Byl proto orientačně vyzkoušen vliv různého stupně ovlhčení zbytků vojtěšky inkubovaných mimo zeminu na fytotoxickou účinnost. Jak je patrné z grafu 5, nejrychleji a nejpronikavěji se snižovala toxicita u zbytků slabě ovlhčených (A), na kterých se rozvinuly bohatě především aktinomycety a mikroskopické houby. U zbytků nasáklých vodou (B) s povrchovou bakteriálně-mikromycetovou asociací byla rychlost ztráty fytotoxicity značně menší a dokonce po 20 dnech se inhibiční efekt opět zvýšil. U zbytků ponořených do vody (C — s patrným, pouze bakteriálním povlakem) se v průběhu inkubace fytotoxicita ještě zvyšovala. I při tomto kratším časovém období pokusu zůstává však patrný určitý „cyklický“ charakter změn intenzity inhibice.

Vliv různé vlhkosti byl dále prošetřován i u odumřelých zbytků zapravených do zeminy a graf 6 podává výsledky testu na fytotoxicitu vůči pšenici.



5. Relativní délka a váha ozimé pšenice v extraktu z posklizňových zbytků vojtěšky (inkubovány 0 až 30 dnů): A — slabě ovlhčených, B — nasáklých vodou, C — ponořených ve vodě, K — růst ve vodě (kontrola = REL 100). — Relative length and weight of winter wheat in an extract of post-harvest alfalfa residues (incubated for 0 to 30 days). A — slightly moistened; B — soaked with water; C — submersed in water; K — growth in water (control — REL 100)

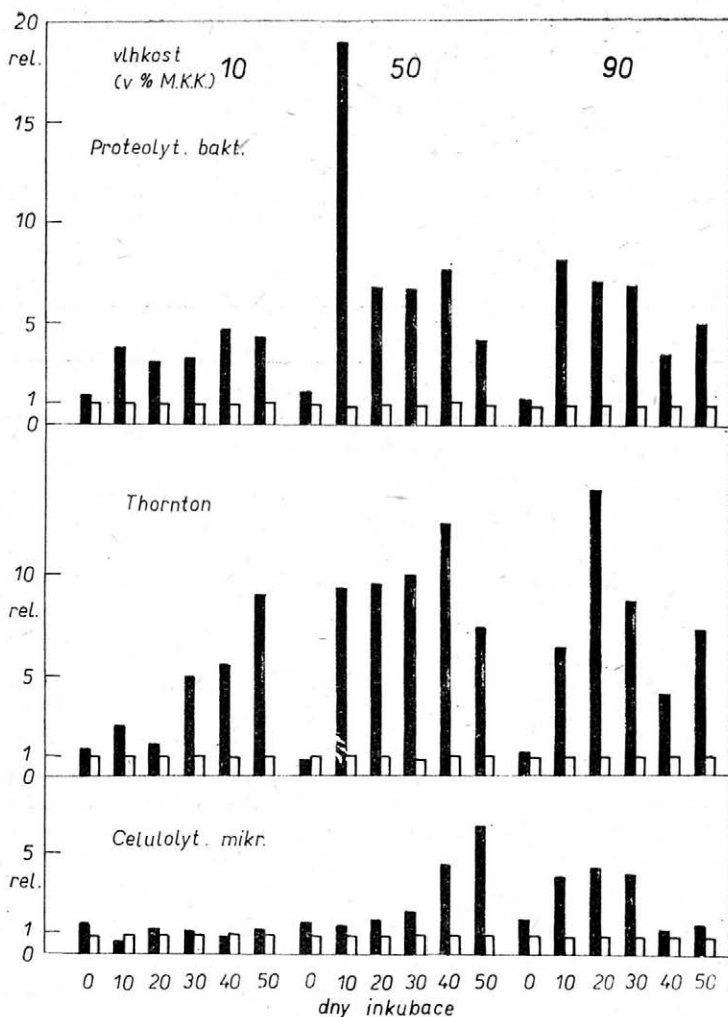


6. Relativní délka a váha ozimé pšenice v zemině se zbytky vojtěšky inkubované 0 až 50 dnů při vlhkosti 10, 50 a 90 % maximální kapilární kapacity; vztaženo k délce a váze pšenice v zemině beze zbytků inkubované stejnou dobu za stejných podmínek (REL 100). — Relative length and weight of winter wheat in soil with alfalfa residues incubated for 0 to 50 days at 10, 50 and 90 per cent of moisture of a maximum capillary capacity; referred to the length and weight of wheat in soil without alfalfa residues incubated for an identical period under the same conditions (REL 100)

Nejrychleji a nejúčinněji byla fytotoxicita odstraněna při vlhkosti 50 % m. k. k., a to mezi 20.—30. dnem inkubace. Poměrně značně vysoká vlhkost (90 % m. k. k.) nevedla ani po 50 dnech k úplnému odstranění fytotoxicity; při značně nízké vlhkosti došlo k vymizení inhibice až po 40 dnech inkubace. Orientační sledování rozvoje několika skupin mikroflóry (graf 7) ukazuje nejrychlejší a intenzivní rozvoj při střední vlhkosti, a to především u složek využívajících bílkoviny a jejich štěpné produkty (obdobné výsledkům u grafu 3). Při nízké vlhkosti se mikroflóra rozvíjí poměrně zvolna a méně intenzivně, vysoká vlhkost umožní sice její intenzivní rozvoj, ale ve třetí a hlavně čtvrté dekádě inkubace dochází ke značnému snížení. Tabulka I ukazuje vliv vlhkosti na zastoupení mikroskopických hub a aktinomycet z celkového počtu mikrobů jednotlivých skupin, které je úměrné vlhkosti: je nejvyšší v půdě poměrně značně suché. Lze mít tedy zato, že jak rychlost a intenzita rozvoje mikroflóry, tak velmi pravděpodobně i poměrné zastoupení základních skupin (bakterie, aktinomycety, mikromycety) hraje významnou úlohu při degradaci tohoto dosud blíže neurčeného inhibitoru.

ZÁVĚR

Uvedené výsledky naznačily složitost vztahů mezi půdním prostředím a posklizňovými zbytky vojtěšky a vzcházením ozimé pšenice. Jak se v pokusech ukázalo, je pšenice především v prvních dnech svého vývoje velmi citlivá na



7. Relativní množství některých skupin mikroorganismů v průběhu inkubace zeminy se zbytky vojtěšky při různých vlhkostech; vztaheno k množství mikroorganismů v zemině bez zbytků inkubované za stejných podmínek (REL 1). — Relative number of several groups of microorganisms during soil incubation from alfalfa residues at various contents of moisture; referred to the number of microorganisms in soil without alfalfa residues incubated under the same conditions (REL 100)

inhibiční látky z těchto zbytků. Poškozovány jsou na prvním místě kořeny, hlavně kořenové špičky. Růst koleoptile je pravděpodobně brzděn až v důsledku poškození kořenů. V tomto období vývoje pšenice je v polních podmínkách zvýšené nebezpečí vážného poškození klíčících obilíků především tam, kde dojde k bezprostřednímu jejich styku s kusy organických zbytků.

Se začínajícím rozkladem odumřelých zbytků vojtěšky se toxicita mění; má přitom značnou úlohu vlhkost prostředí. V půdě je inhibiční faktor neúčinněji odstraňován při střední vlhkosti (50 % m. k. k.), kdy po 20–30 dnech

1. Procentové zastoupení aktinomycet a mikroskopických hub v zemině se zbytky vojtěšky inkubované za různých vlhkostí (od 10. do 50. dne). — Percentage representation of *Actinomycetes* and microscopic fungi in soil with alfalfa residues incubated at various contents of moisture (from 10th to 50th day)

Kultivační skupina mikroorganismů	Vlhkost prostředí v % m. k. k.		
	10	50	90
Proteolytické	2 — 4	0,5 — 3,0	0,5 — 1,8
Thornton	17 — 36	4 — 10	1 — 4
Celulózolytické	40 — 80	14 — 35	8 — 16

ustává fyto toxické působení vůbec. Vysoká vlhkost (70—90 % m. k. k.) je pro odstranění fyto toxicity málo příznivá a mohla by vést v některých případech, zvláště při značném nahromadění zbytků v jednom místě, i k zesílení toxicity. Podobné poznatky s jinými rostlinnými materiály ve vztahu k vysoké vlhkosti získali i někteří jiní autoři (Patrick a Koch 1958, Mišustina a Erofejev 1966). Poměrně nízká vlhkost je v tomto směru mnohem příznivější.

Pokusy ukázaly, že v průběhu inkubace zeminy nejen se zbytky vojtěšky, ale i bez nich se střídají periody lepšího a horšího růstu pšenice. Obdobné cykly toxicity v půdě se zbytky různých plodin konstatovali rovněž Patrick, Tousseoun a Snyder (1963) a Norstadt a McCalla (1968); posledně jmenovaní se domnívají, že se budou pravděpodobně vyskytovat všude v půdě, pokud v ní budou mikrobiálně rozkládané zbytky plodin. Naše poznatky by tomu nasvědčovaly. Vzhledem ke zvýšené fyto toxické citlivosti raných stádií klíčících rostlin bude právě tato etapa vyžadovat další podrobné studium.

Z praktického hlediska uvedené výsledky osvětlují důvody nepříznivého působení posklizňových zbytků vojtěšky na vzcházení ozimé obiloviny, pokud je seta krátce po zaořávce těchto zbytků. Zdůvodňují zároveň již v dřívější práci (Nováček, Řídký a Talafantová 1961) požadované zaořání těchto zbytků v patřičném časovém odstupu před výsevem ozimé obiloviny, které umožní v poměrně teplém a sušším pozdně letním období rychlý rozvoj mikroflóry v coenosách vhodným pro rychlé odstranění uvedené fyto toxicity.

Literatura

- BIEBER G. L., HOVELAND C. S., 1968, Phytotoxicity of plant materials on seed germination of crown vetch, *Coronilla varia* L. Agron. J. 60 : 185-188.
 GUENZI W. D., McCALLA T. M., 1966, Phenolic acids in oats, wheat, sorghum, and corn residues and their phytotoxicity. Agron. J. 58 : 303-304.
 GUENZI W. D., McCALLA T. M., NORSTADT F. A., 1967, Presence and persistence of phytotoxic substances in wheat, oat, corn, and sorghum residues. Agron. J. 59 : 163-164.
 HAMPL B., 1946, Mikrobiologická příručka. Praha.
 KIMBER R. W. L., 1967, Phytotoxicity from plant residues. I. The influence of rotted wheat straw on seedling growth. Austr. J. agric. Res. 18 : 361-374.
 MEGIE C. A., PEARSON R. W., HILTBOLD A. E., 1967, Toxicity of decomposing crop residues to cotton germination and seedling growth. Agron. J. 59 : 197-199.
 MIŠUSTIN E. N., EROFEEV N. S., 1966, Priroda toxičeskich sojedinenij razlagajuščesja v počve solomy. Mikrobiologija 35, 1 : 150-154.

- NORSTADT F. A., McCALLA T. M., 1968, Microbially induced phytotoxicity in stubble-mulched soil. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 32 : 241-245.
- NOVÁČEK J., ŘÍDKÝ K., TALAFANTOVÁ A., 1961, Pokusy se zaorávkou vojtěško-travního drnu v oblasti jižní Moravy. Rostl. výroba 7 : 489-514.
- PATRICK L. A., KOCH L. W., 1958, Inhibition of respiration and growth by substances arising during the decomposition of certain plant residues in the soil. Canad. J. 36 : 621-647.
- PATRICK Z. A., TOUSSOUN T. A., SNYDER W. C., 1963, Phytotoxic substances in arable soils associated with decomposition of plant residues. Phytopathology 53 : 152-161.
- ŘÍDKÝ K., 1966, Vliv posklizňových zbytků vojtěšky na vzcházení oz. pšenice. I. část. Rostl. výroba 12 : 69-78.
- SAPANKEVIČ P. V., MAKSIMOVA N. A., CHOMENKO B. P., 1965, Vlivy vodnoj vytjažki iz kornevišč svinoroja na prorastanije semjan nekotorych sel'skochoz-jajstvennych rastenij i rost ich koreškov. Agrobiologija 6 : 915-916.
- STACHURSKA-BAC A., SZUWALSKA Z., 1965, O wpływie wyciągów z niektórych roślin strukturotwórczych na wzrost pomidorów, pszenicy i jęczmienia w kulturach wodnych. Zesz. nauk. wysz. Szkoły rolniczej we Wrocławiu, Rolnictwo 19, 60 : 165-174.
- TOUSSOUN T. A., WEINHOLD A. R., LINDERMAN R. G., 1968, Nature of phytotoxic substances produced during plant residue decomposition in soil. Phytopathology 58 : 41-45.

Došlo dne 31. 10. 1968

ŘÍDKÝ K. *Vliv posklizňových zbytků vojtěšky na vzcházení ozimé pšenice. II. část.* Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 163—171, 1969.

Laboratorními pokusy bylo prokázáno, že extrakt z posklizňových zbytků vojtěšky působí fyto toxicky na ozimou pšenici, zvláště v prvních dnech klíčení obilí. S postupujícím mikrobiálním rozkladem zbytků v zemině se jejich inhibiční působení na ozimou pšenici snižuje. Nejrychleji a neúčinněji fyto toxicita mizí v prostředí středně vlhkém (50 % m. k. k.) až sušším. Vyšší vlhkost prostředí (70 % m. k. k. a více) degradaci inhibičních látek zpomaluje. Dosaženými výsledky je zdůvodňována nutnost včasné zaorávky zbytků vojtěšky před výsevem ozimé pšenice.

fyto toxicita; mikrobiální rozklad; vlhkost prostředí

РЖИДКИ К.: (Институт общего земледелия. Группованы у Брно). Влияние послеуборочных остатков люцерны на всходы озимой пшеницы. II часть. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 163-171, 1969.

При помощи лабораторных опытов было доказано, что экстракт из послеуборочных остатков люцерны фитотоксично действует на озимую пшеницу, в частности в первые дни прорастания зерновок. Ингибиционное действие послеуборочных остатков на озимую пшеницу понижается с прогрессирующим микробиальным разложением их в почве. Быстрее всего и наиболее эффективно фитотоксичность исчезает в средневлажной (50 % макс. капил. вл.) и даже более сухой среде. Более высокая влажность среды (70 % макс. капил. вл. и более) замедляет деградацию ингибиционных веществ. Полученные результаты подчеркнули необходимость своевременной заделки остатков люцерны до посева озимой пшеницы.

фитотоксичность; микробиальное разложение; влажность среды

Adresa autora:

RNDr. Karel Řídký, CSc., Ústav základní agrotechniky, Hrušovany u Brna

**VÝBĚR Z NOVÝCH PŘÍRŮSTKŮ
ÚSTŘEDNÍ ZEMĚDĚLSKÉ A LESNICKÉ KNIHOVNY ÚVTI
Z ÚSEKU ROSTLINNÁ VÝROBA**

Uvedené publikace je možno si vypůjčit osobně i písemně v ÚZLK, ÚVTI, výpůjční oddělení, Praha 2 — Vinohrady, Slezská 7. Výpůjční doba: pondělí — pátek: 9—18 hod. U každé žádané publikace uveďte signaturu!

Rouse, R. D. D 22.374/375

Soil test theory and calibration for cotton, corn, soybeans and coastal bermudagrass. Auburn (Alabama), Agric. exp. station 1968. 67 s. 35 obr. tb. Bulletin 375. (Půda — zkoušení — pěstování hospodářských rostlin — brožury)

D 27.270/38/14

Total content of nine mineral elements in fifty selected benchmark soil profiles of California. Berkeley, Univ. of California 1967. S. 541—556. tb. Hilgardia Vol. 38. No. 14. (Půdní profily — látky minerální — obsah — výzkum — USA — California — Benchmark)

Ross, D. J. — Roberts, H. S. D 55.709/106

A study of activities of enzymes hydrolysing sucrose and starch and of oxygen uptake in a sequence of soils under tussock grassland. Oxford, Clarendon press 1968. S. 186—196. Offprint from The Journal of soils science Vol. 19, No. 1, March 1968. (Půda — travní porost — lipnice — sacharosa — enzymu — vliv — výzkum / Lipnice — kyslík — příjem — enzymy — vliv — výzkum)

Doekes, G. J. D 33.393/205

Comparison of wheat varieties by starch-gel electrophoresis of their grain proteins. Wageningen, Inst. v. graan, meel en brood TNO 1968. S. 169—176. obr. tb. Mededeling Nr. 205. (Bílkoviny — pšenice — odrůdy — výzkum — elektroforesa — Holandsko)

Crohain, A. D 55.403/99

La preparation du sol pour une emblavure de froment après betterave sucrière. Gembloux, Station de phytotechnie de l'état 1968. S. 30—37. Extrait du Colloque d'information scientifique. (Pšenice — půda — příprava — po cukrovce — výzkum — Belgie)

Walther, F. C 17.622/372

Strahlenbiologische Untersuchungen an Getreidearten. 1. Unterschiedliche Strahlensensibilität bei deutschen Winterweizensorten. Jülich, Kernforschungsanlage 1966. S. 67—80. tb. obr. Berichte 372. (Pšenice ozimá — odrůdy — záření — citlivost — výzkum — NSR)

Reuther, G. C 17.622/426

Vergleichende Untersuchungen zur Strahlenresistenz von Weizensorten in frühen Stadien der Samenkeimung. Jülich, Kernforschungsanlage 1966. S. 433—443. Berichte 426. (Pšenice ozimá — odrůdy — klíčení — záření — odolnost — výzkum)

KOLORIMETRICKÁ METODA STANOVENÍ AKTIVITY PROTEOLYTICKÝCH ENZYMŮ V PŮDĚ

J. MACURA, K. VÁGNEROVÁ

MACURA J., VÁGNEROVÁ K. (Microbiological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Prague). *The Colorimetric Method Applied for the Determination of the Activity of Proteolytic Enzymes in Soil*. Rostlinná výroba (Praha) (2) : 172—180, 1969.

The proteolytic activity in soil incubated with different sources of carbon and nitrogen was investigated. In the presence of glucose alone and in combination with secondary ammonium phosphate, and also after the addition of casein the activity of proteolytic enzymes in the soil increased while casein hydrolysate (Vitamin-free Casamino Acids Difco) had a slight effect. Alanine stimulated the activity of protease in the soil, glycine and tryptophan exercised no effect. The protease activity increased in the soil amended with glucose in relation with glucose in relation with the increasing concentration of ammonium phosphate; nitrate had no effect up to a concentration of 1 per cent.

The activity of proteolytic enzymes was determined by means of the modified colorimetric method described by Charney et Tomarelli (1947). This method is based on a measuring of the the colour component split off in the course of the enzymatic digestion from the complex of diazotized arylamine with protein, the so-called azocasein.

enzymes in the soil; soil proteases; determination of the proteolytic soil activity

V posledních letech se značně rozmnožil počet prací věnovaných problematice studia půdních enzymů (Kiss 1958, Briggs a Spedding 1963, Durand 1965, Skujins 1967). Nicméně zůstává řada základních otázek nevyjasněna a také údaje o některých enzymech jsou dosti vzácné. Týká se to i půdní proteázy, jejímuž studiu se soustavně věnuje jen Ambrož (1963, 1965a, b, 1966).

Aktivita proteolytických enzymů v půdě se posuzuje podle intenzity rozkladu bílkovinných látek, především želatiny. Hofmann a Niggemann (1953) usuzují na proteolytickou aktivitu podle rychlosti ztekucování želatiny. Vhodnější jsou metody, které spočívají na stanovení dusíku aminokyselin, uvolněných při rozkladu bílkovinného substrátu. Takový postup popsali Hoffmann a Teicher (1957), Ambrož (1965) a Voets a Dedeken (1964). Ambrož (1965a) použil jako bílkovinného substrátu pro měření proteolytické aktivity kromě želatiny také kasein a ovalbumin.

Charney a Tomarelli (1947) popsali kolorimetrickou metodu pro stanovení proteolytické aktivity duodenální šťávy. Při použití této metody se měří intenzita barevné složky rozpustné v trichloroctové kyselině, odštěpené v průběhu enzymatické digesce z komplexu diazotovaného arylaminu s proteinem, tzv. azokaseinem. Vzhledem k zjevným výhodám tohoto postupu oproti předchozím jsme se pokusili použít uvedenou metodu při studiu aktivity proteolytických enzymů v zemině.

MATERIÁL A METODY

V pokusech jsme použili vzorky líbeznické černozemě s obsahem uhlíku 1,92 %, dusíku 0,22 % a pH ve vodě 7,9.

Kyslíčník uhlíčitý, produkovaný při rozkladu přidaných organických látek v zemině, byl absorbován v roztoku hydroxidu sodného a stanoven titrací chlorovodíkovou kyselinou na fenoftalein po přidání roztoku chloridu barnatého nebo automatickou titrací přístrojem Radiometer Titrator TTT1.

Aktivitu proteolytických enzymů v zemině jsme stanovili takto: K 1 g zeminy vyschlé na vzduchu se přidá 0,4 ml toluolu a nechá se 15 minut stát; je možno použít i vyšší navážky do 5 g zeminy a příslušně zvýšit množství toluolu. Pak se přidají 2 ml 2,5% roztoku azokaseinu (nebo takové množství, aby bylo dosaženo koncentrace azokaseinu 100 mg na 1 g zeminy) o pH 8,3 a inkubuje se po dobu 24 hodin při teplotě 37 °C na vodní lázni; směs se občas promíchá. Hodinu před ukončením inkubace se přidají 3 ml 1% roztoku kyselého uhličitanu sodného. Pak se z čiré tekutiny nad usazeninou odebere určitý podíl (3,5 ml), přidá se stejný objem 5% trichloroctové kyseliny, promíchá se a filtruje přes filtrační papír. Odebere se 5 ml filtrátu, přidá se 5 ml 0,5 N-NaOH a měří se v spektrofotometru při vlnové délce 430 m μ . Srovnáním s kalibrační křivkou se vypočítá množství hydrolyzovaného kaseinu, popřípadě procento hydrolyzy azokaseinu. Bližší údaje o použité metodě jakož i o přípravě azokaseinu lze najít v citované práci (Charney a Tomarelli 1947).

Při studiu účinku různých látek na tvorbu proteolytických enzymů půdní mikroflóry jsme použili tento postup: 20 g zeminy prosáté sítím o průměru ok 2 mm jsme umístili v nádobce o obsahu 250 ml. Organické substráty (glukóza, kasein, hydrolyzát kaseinu [Vitamin-free Casamino Acids Difco], aminokyseliny) byly přidány v množství 120 mg k 20 g zeminy, sekundární fosforečnan amonný v koncentraci 24 mg, pokud není uvedeno jinak. Zemina byla ovlhčena na 60 % maximální vodní kapacity. Kyslíčník uhlíčitý byl jímán v hydroxidu sodném; k tomuto účelu bylo dáno 1,8 ml 20% NaOH do skleněného kalíšku, který byl umístěn na povrchu zeminy. Kyslíčník uhlíčitý byl stanoven postupem uvedeným výše.

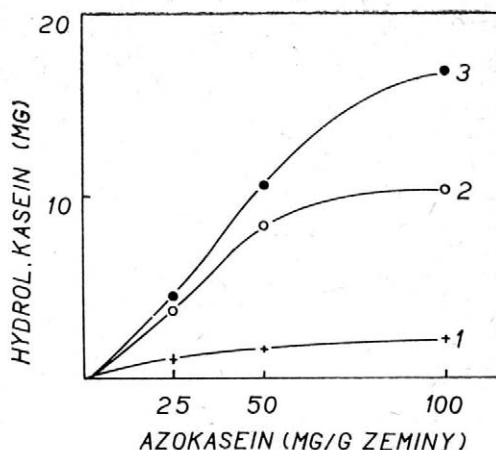
VÝSLEDKY

V sérii předběžných pokusů, v nichž jsme použili zeminu vyschlou na vzduchu, ovlhčenou na 60 % maximální vodní kapacity i obohacenou různými zdroji uhlíku a dusíku, jsme si ověřili, že popsanou metodu lze použít ke stanovení proteolytické aktivity půd. Navážka zeminy použité v testu se může pohybovat v rozmezí 1–5 g. Inkubace zeminy s azokaseinem po dobu 24 hodin je dostačující. Jako nejvhodnější se ukázala koncentrace azokaseinu v množství 100 mg na 1 g zeminy. Vztah mezi rychlostí hydrolyzy azokaseinu, vyjádřenou v množství hydrolyzovaného substrátu, a koncentrací azokaseinu použitého pro stanovení proteolytické aktivity v zemině vyschlé na vzduchu a ovlhčené na 60 % absolutní vodní kapacity a inkubované po dobu 24 a 48 hodin, je uveden na obr. 1. Podobné závislosti mezi proteolytickou aktivitou a koncentrací substrátu jsme zjistili i při použití zeminy předběžně inkubované s glukózou, glukózou a fosforečnanem amonným i s kaseinem.

Rozptyl hodnot, zjištěných při paralelních stanoveních aktivity proteolytických enzymů v zemině kontrolní a obohacené glukózou nebyl podstatný (tab. I). Variační koeficienty jednotlivých sérií měření v témže vzorku se pohybovaly v rozmezí 1,57–4,19 %. Větší rozdíly jsme zaznamenali při současném stanovení proteolytické aktivity ve třech vzorcích téže zeminy.

V dalších pokusech jsme sledovali, jak je ovlivněna aktivita proteolytických enzymů mikroflórou v zemině inkubované s různými zdroji uhlíku a dusíku. Kromě aktivity proteolytických enzymů jsme také stanovili rychlost a celkovou

1. Vztah mezi rychlostí hydrolýzy a koncentrací azokaseinu v zemině vyschlé na vzduchu (1) a ovlhčené na 60 % maximální vodní kapacity a inkubované po dobu 24 hodin (2) a 48 hodin (3) při teplotě 28 °C. — Relation between the rate of hydrolysis and the concentration of azocasein in air-dried soil (1) and moistened to 60 per cent of maximum water capacity, incubated for 24 hr (2) and 48 hr (3) at 28 °C

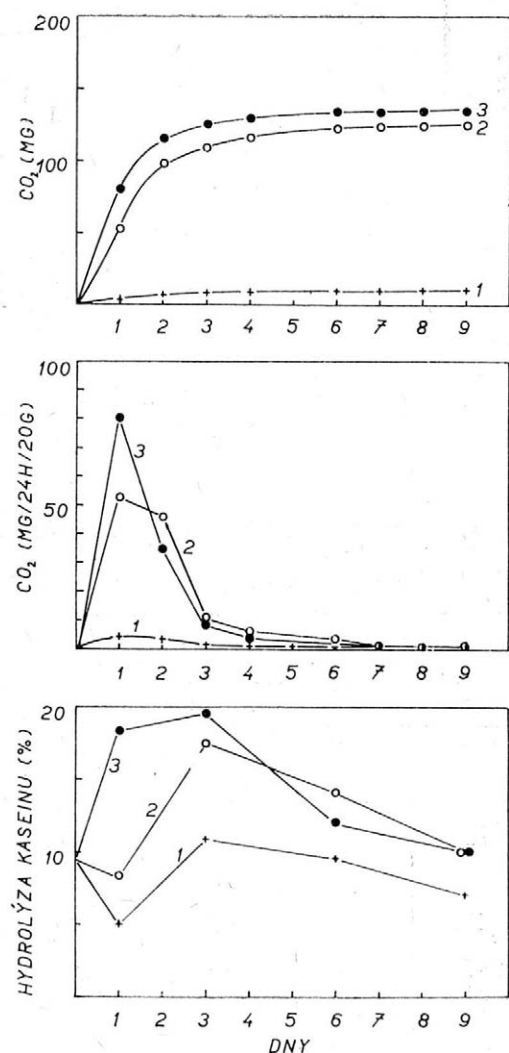


I. Rozptyl hodnot při paralelním stanovení aktivity proteolytických enzymů v různých vzorcích zeminy a v téměř vzorku. — Distribution of values showing the activity of proteolytic enzymes in various soil samples and in one sample

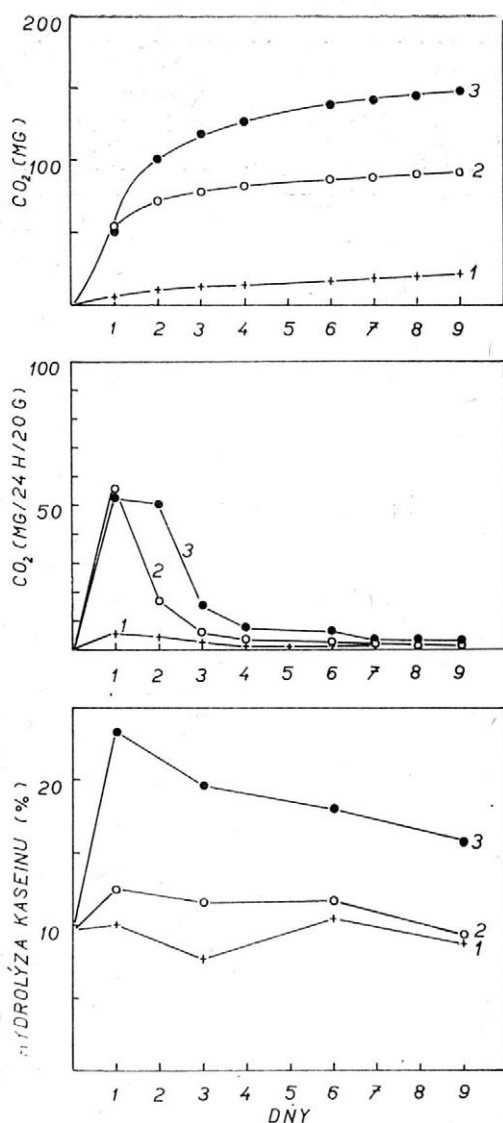
Doba inkubace zeminy (dny)	Jednotlivá stanovení ve vzorcích		Paralelní stanovení v 1 vzorku			
	zemina + H ₂ O		zemina + H ₂ O		zemina + glukóza	
	opakování	průměr	opakování	průměr	opakování	průměr
1	6,05 5,86 4,88	5,60	5,88 6,25 5,88	6,0	9,93 9,19 9,19	9,44
3	5,86 5,47 4,96	5,34	5,51 5,33 5,33	5,39	9,74 9,19 9,01	9,31
6	5,08 5,08 4,30	4,82	4,96 5,33 5,15	5,15	6,98 6,98 6,62	6,86

tvorbu kysličníku uhličitého. Ukázalo se, že v zemině inkubované s glukózou a fosforečnanem amonným byla proteolytická aktivita vyšší po celou dobu pokusu než v kontrolní zemině (obr. 2). Přídavek minerálního dusíku a fosforu se projevil v prvním dnu inkubace jak vyšší rychlostí vývoje kysličníku uhličitého, tak i vyšší aktivitou proteolytických enzymů. V rozsahu mineralizace glukózy byl mezi oběma variantami jen malý rozdíl.

Aktivita proteáz se výrazně zvýšila v zemině inkubované s kaseinem (obr. 3). Nejvyšší hodnoty hydrolýzy kaseinu jsme zaznamenali po 24 hodinách inkubace, pak se proteolytická aktivita postupně snižovala. Hydrolyzáte kaseinu (Vitamin-free Casamino Acids Difco) neměl zdaleka takový účinek jako kasein a aktivita proteolytických enzymů v zemině byla v tomto případě jen o málo vyšší než v kontrole. Celkové množství kysličníku uhličitého vyvinu-



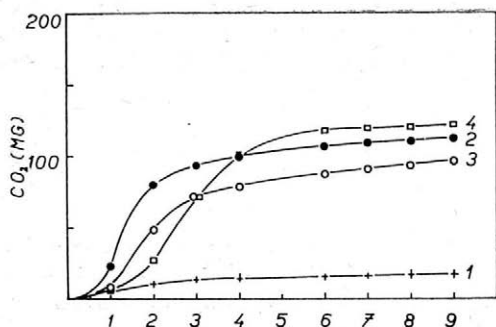
2. Celková tvorba CO_2 , rychlost tvorby CO_2 a proteolytická aktivita v zemině kontrolní (1) a obohacené glukózou (2) a glukózou + $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (3). — Cumulative curves of CO_2 evolved, rate of CO_2 evolution, and the proteolytic activity in the check soil (1), in the soil amended with glucose (2) and glucose + $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (3).



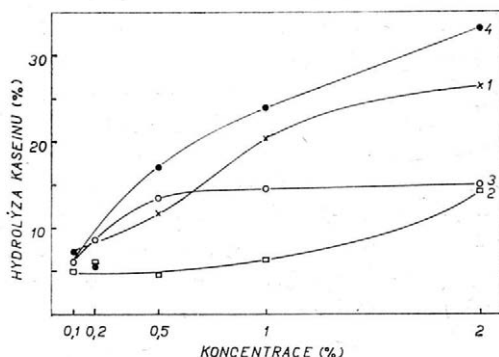
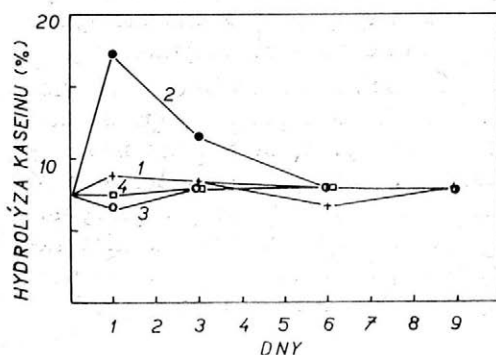
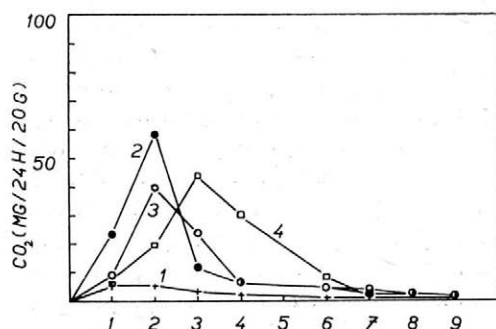
3. Celková tvorba CO_2 , rychlost tvorby CO_2 a proteolytická aktivita v zemině kontrolní (1), obohacená hydrolyzátem kaseinu (2) a kaseinem (3). — Cumulative curves of CO_2 evolved, rate of CO_2 evolution, and the proteolytic activity in the check soil (1), in the soil amended with casein hydrolysate (2) and casein (3).

tého při rozkladu kaseinu bylo vyšší než v zemině obohacené hydrolyzátem kaseinu. V rychlosti vývoje kysličníku uhličitého byl rozdíl v délce trvání maxima, které bylo delší v zemině inkubované s kaseinem.

Ze zkoušených aminokyselin ovlivnil tvorbu proteolytických enzymů v zemině jen α -alanin (obr. 4). Aktivita proteáz byla výrazně vyšší než v kontrolní zemině po 24 hodinách inkubace, ještě třetího dne byly rozdíly patrné a od



4. Celková tvorba CO₂, rychlost tvorby CO₂ a proteolytická aktivita v zemině kontrolní (1), obohacené α-alaninem (2) glycinem (3) a tryptofánem (4). — Cumulative curves of CO₂ evolved, rate of CO₂ evolution, and the proteolytic activity in the check soil (1), in the soil amended with α-alanine (2), glycine (3), and tryptophan (4).



5. Účinek různých zdrojů dusíků na aktivitu proteolytických enzymů v zemině inkubované s glukózou. 1 - (NH₄)₂HPO₄, 2 - KNO₃, 3 - hydrolyzát kaseinu, 4 - kořenové výměšky. — Effect of various sources of nitrogen on the activity of proteolytic enzymes in soil incubated with glucose. 1 - (NH₄)₂HPO₄; 2 - KNO₃; 3 - casein hydrolysate; 4 - root exudates

šestého dne se proteolytická aktivita nelišila od kontrolní zeminy. Další zkoumané aminokyseliny, glycin a tryptofán, neměly na aktivitu proteáz vliv. V rychlosti i rozsahu oxidace uvedených aminokyselin jsme pozorovali rozdíly.

V uvedených pokusech jsme nezjistili bezprostřední vztah mezi aktivitou proteolytických enzymů a oxidací přidaných látek, měřenou rychlostí vývinu kyslíčnicku uhlíkatého. Aktivita proteáz, pokud byla jejich tvorba stimulována, byla však vždy vyšší v počátečních fázích inkubace zeminy s organickým substrátem a klesala po jeho vyčerpání a po poklesu respirační aktivity.

V zemině inkubované s glukózou měl na aktivitu proteolytických enzymů výrazný vliv sekundární fosforečnan amonný v celém rozmezí zkoumaných koncentrací (obr. 5). Dusičnan draselný ovlivnil proteolytickou aktivitu jen v nejvyšší koncentraci. Dusík v organické formě, přidaný v podobě hydrolyzátu kaseinu, zvýšil aktivitu proteolytických enzymů až do koncentrace 0,5 %. Kořenové výměšky, zahrnující směs aminokyselin, cukrů a organických kyselin,

stimulovaly proteolytickou aktivitu v celém rozsahu použitých koncentrací; v tomto případě se zřejmě projevil účinek organických uhlikatých látek podporujících růst mikrobiální populace v zemině.

DISKUSE

Popsaná metoda, použitá původně pro stanovení proteolytické aktivity duodenální šťávy (Charney a Tomarelli 1947), se ukázala vhodnou i při studiu aktivity proteolytických enzymů v půdě. Má některé výhody ve srovnání s dosud používanými technikami, které posuzují proteolytickou aktivitu podle množství dusíku aminokyselin, uvolněných při rozkladu bílkovinného substrátu, především želatiny (Hoffmann a Teicher 1957, Ambrož 1963a, 1965a, Voets a Dedeken 1964). Konečným produktem proteolýzy není jednotlivá látka, nýbrž směs peptidů nebo aminokyselin. Jednotlivé aminokyseliny dávají s příslušnými činidly různě intenzivní zbarvení a mohou být v půdě sorbovány nebo degradovány (Schmidt, Putnam a Paul 1960). Proto se zdá, že měření barevné složky komplexu diatozovaného arylaminu s kaseinem, která navíc není v půdě sorbována, může být spolehlivým kritériem proteolytické aktivity půdních enzymů. Na druhé straně však použitá metoda dovoluje stanovit jen enzymy aktivní při alkalické reakci. Inkubační směs se udržuje při pH 8,3, protože azokasein je nerozpustný při kyselém pH. Je třeba pokusit se zvýšit citlivost metody, protože inkubační doba 24 hodin je pro enzymologické studie příliš dlouhá, i když není neobvyklá při studiu půdních enzymů.

Studium aktivity proteolytických enzymů v zemině inkubované s různými zdroji uhlíku a dusíku mělo spíše dokumentovat možnosti použití popsané metody, než přispět k objasnění podmínek tvorby proteolytických enzymů nebo jejich funkce v půdě. Výsledky tento předpoklad potvrdily. Ukázaly dále, že není přímý vztah mezi tvorbou kysličníku uhličitého a proteolytických enzymů. Avšak ve všech případech byla proteolytická aktivita nejvyšší v počátečních fázích rozkladu organických látek a poklesla po jejich vyčerpání, což souhlasí s výsledky Ambrože (1965a, b) a ukazuje na vztah mezi růstem a syntézou enzymů.

Jednotlivé aminokyseliny se lišily účinkem na tvorbu proteolytických enzymů půdními mikroorganismy. Vzhledem k tomu, že některé aminokyseliny buď jednotlivě nebo ve směsi mohou potlačovat tvorbu proteáz (Chaloupka, Křečková a Říhová 1963, Chaloupka 1966, Levison a Aronson 1967, May a Elliot 1968) lze podobné interakce očekávat i v půdě. Tím spíše, že v našich pokusech jsme pozorovali některé shodné rysy v tvorbě proteolytických enzymů půdní mikroflórou ve srovnání s čistými kulturami (Chaloupka 1966). Byl to například příznivý účinek glukózy a fosforečnanu amonného na tvorbu proteolytických enzymů.

Autoři děkují za technickou spolupráci pí. L. Šůrové a M. Cimrhakové.

Literatura

- AMBROŽ Z., 1963, O některých faktorech ovlivňujících rozklad bílkovin v půdě. Rostlinná výroba 9 : 891-902.
AMBROŽ Z., 1965a, O proteolytickém komplexu, štěpícím bílkoviny v půdě. Rostlinná výroba 11 : 161-170.

- AMBROŽ Z., 1965b, O vlivu prostředí na produkci proteáz půdními mikroby. Rostlinná výroba 11 : 1081-1087.
- AMBROŽ Z., 1966, O některých příčinách rozdílného výskytu proteáz v půdách. Rostlinná výroba 12 : 1203-1210.
- BRIGGS M. H., SPEDDING D. J., 1963, Soil enzymes. Sciences Progress 51 : 217-225.
- DURAND G., 1965, Les enzymes dans le sol. Rev. Ecol. Biol. Sol, T. II, 2 : 141-205.
- HOFMANN E., NIGGEMANN J., 1953, Über das Enzymsystem unserer Kulturböden. III. Proteinase. Biochem. 324 : 308-310.
- HOFMANN G., TEICHER K., 1957, Das Enzymsystem unserer Kulturböden. VII. Protease. Pflernähr. Düng. 77 : 243-251.
- CHALOUPKA J., KŘEČKOVÁ P., ŘÍHOVÁ L., 1963, Repression of protease in *Bacillus megaterium* by single amino acid. Biochem. Biophys. Res. Commun. 12 : 380.
- CHALOUPKA J., KŘEČKOVÁ P., 1966, Regulation of the formation of protease by *Bacillus megaterium*. II. Formation of the enzyme by non-growing cells. Fol. microbiol. 11 : 89-94.
- CHARNEY J., TOMARELLI M., 1947, A colorimetric method for the determination of the proteolytic activity of duodenal juice. J. Biol. Chem. 5 : 171-501.
- KISS I., 1958, Talajenzimek. Addendum M. J. Csapó, Talajtan s. 491-622. Mezőgazdasági és Erdészeti Állami Könyvtár, Bukarest.
- LEVISSOHN S., ARONSON A. I., 1967, Regulation of extracellular protease production in *Bacillus cereus*. J. Bacteriol. 93 : 1023-1030.
- MAY B. K., ELLIOT W. H., 1968, Characteristics of extracellular protease formation by *Bacillus subtilis* and its control by amino acid repression. Biochem. Biophys. Acta 157 : 607-615.
- SCHMIDT E. L., PUTNAM H. D., PAUL E. A., 1960, Behavior of free amino acids in soil. Proc. Soil Sci. Soc. Am. 24 : 107-109.
- SKUJINS J. J., 1967, Enzymes in soil. Soil Biochemistry (A. D. McLaren and G. H. Peterson Eds.), 371-414. M. Dekker Inc. New York.
- VOETS J. P., DEDEKEN U., 1964, A new method for measuring the activity of proteolytic soil enzymes. Naturwiss. 51 : 267-268.

Došlo dne 31. 10. 1968

MACURA J., VÁGNEROVÁ K. Kolorimetrická metoda stanovení aktivity proteolytických enzymů v půdě. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 173-180, 1969.

Byla zkoumána proteolytická aktivita v zemině inkubované s různými zdroji uhlíku a dusíku. V přítomnosti glukózy samotné i v kombinaci se sekundárním fosforečnanem amonným a rovněž po přidání kaseinu se aktivita proteolytických enzymů v zemině zvýšila, hydrolyzát kaseinu (Vitamin-free Casamino Acids Difco) měl slabý účinek. Alanin stimuloval aktivitu proteázy v zemině, glycin a tryptofan byly bez vlivu. V zemině obohacené glukózou se aktivita proteázy zvyšovala se zvyšující se koncentrací fosforečnanu amonného, nitrát neměl vliv až do koncentrace 1 %. Aktivita proteolytických enzymů byla stanovena modifikovanou kolorimetrickou metodou, kterou popsali Charney a Tomarelli (1947). Při použití této metody se měří barevná složka odštěpená v průběhu enzymatické digesce z komplexu diazotovaného arylaminu s proteinem, tzv. azokaseinu.

enzymy v půdě; půdní proteázy; stanovení proteolytické aktivity půdy

МАЦУРА Й., ВАГНЕРОВА К. (Научно-исследовательский институт микробиологии Чехословацкой академии наук, Прага). Кolorиметрический метод установления активности протеолитических энзимов в почве. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 173-180, 1969.

Исследовалась протеолитическая активность в грунте, инкубированном с разными источниками углерода и азота. В присутствии глюкозы в отдельности и в комбинации с вторичным фосфорнокислым аммонием, а также после прибавления казеина активность протеолитических энзимов в грунте повысилась, продукт гидролиза казеина (Vitamin-free Casamino Acids Difco) имел слабое действие. Аланин стимулировал активность протеазы в почве, на глицин и триптофан не было оказано влияния. В почве, обогащенной глюкозой, активность протеазы повышалась с возрастающей концентрацией фосфорно-кислого аммония, нитрат вплоть до концентрации 1 % не оказывал влияния. Активность протеолитических энзимов была

установлена модифицированным методом, который описали Charney и Tomarelli (1947 г.). При использовании этого метода измеряется цветной компонент, отделенный в ходе энзиматической дигестии из комплекса диазотированного ариламина с протеином, так наз. азоказеина.

энзимы в почве; почвенные протеазы; установление протеолитической активности почвы

Adresa autorů:

Dr. Jiří Macura a dr. K. Vágnerová, Mikrobiologický ústav ČSAV, oddělení
půdní mikrobiologie, Praha 4 - Krč, Budějovická 1083

NITRIFIKACE V ZEMINĚ NA VZDUCHU VYSUŠENĚ A ZNOVU OVLHČENĚ

J. SEIFERT

SEIFERT J. (Faculty of Natural Science, Charles' University, Prague). *Nitrification in an Air-Dried and Remoistened Soil*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 181—184, 1969.

The soil predried at laboratory temperature to various degrees of soil moisture and moistened to the same incubation moisture in each case, produces different quantities of nitrate. The lower the water content in the soil to be dried up, the higher the intensity of nitrification. The production of nitrates, expressed in log ppm No_3N , is directly proportionate to the difference of values for pF in soil dried and earth brought to the incubation moisture.

moisture; nitrification

Produkce nitrátů zeminou, inkubovanou za jinak stejných podmínek, je značně rozdílná podle toho, zda ke stanovení intenzity nitrifikace vycházíme ze zeminy přirozeně vlhké, nebo ze zeminy na vzduchu vyschlé. Prvý, kdo na tuto skutečnost upozornil, byl Buddin (1914). Od té doby se tímto problémem zabývala řada badatelů (Káš 1926, Harpstead a Brage 1958, Birch 1958, 1959, 1960, Munro a Mac Kay 1964). Nikomu z nich se nepodařilo jednoznačně zjistit příčiny tohoto jevu.

Vzhledem k tomu, že vyšetření zmíněné otázky má značný teoretický i praktický význam, začali jsme se tímto problémem zabývat i v naší laboratoři. Z první naší práce, zaměřené k této otázce (Seifert a Mrázková 1966), vyplynulo, že k tomu, abychom poznali podstatu rozdílného chování zeminy na vzduchu vyschlé a zeminy přirozeně vlhké nestačí zaměřit se pouze na tyto krajní případy, nýbrž je nezbytné studovat, jak se chová zemina v procesu vysušení.

MATERIÁL A METODY

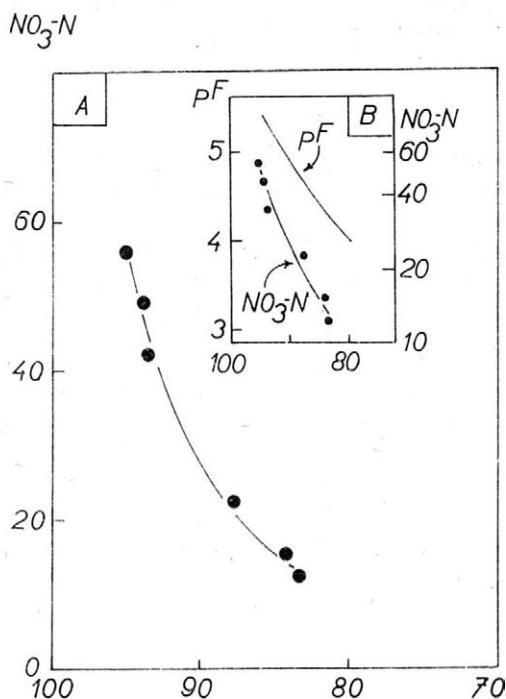
K pokusu jsme si vybrali dvě rendziny z karlístejské oblasti. Jedna byla z podrostu *Quercus pubescens*, druhá z pole před tím osetého směskou.

Ve své práci jsme postupovali tak, že jsme obě zeminy po odběru prosáli dvoumilimetrovým sítem a rozprostřené v cca dvoucentimetrové vrstvě jsme dali vysychat. Jak zeminy postupně ztrácely vláhu, odebírali jsme z nich vzorky k inkubaci. Inkubovali jsme vzorky o váze 25 g. Obsah vláhy jsme před inkubací upravovali na 30 % absolutní vláhy. Inkubace trvala 7 dní při 22 °C. Odebírání vzorků k inkubaci trvalo až do doby, kdy zeminy na vzduchu vyschlé již neměnily obsah vláhy. Potom byl pokus skončen.

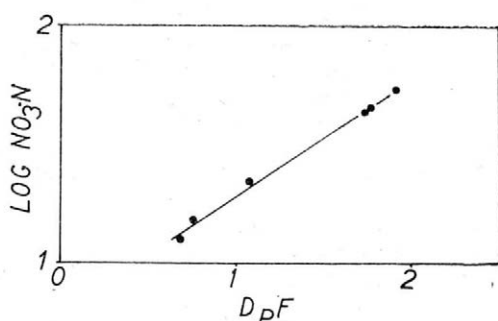
Obsah nitrátů jsme stanovili pomocí fenoldisulfonové kyseliny fotokolorimetricky. Pro zjištění hodnoty vodního potenciálu půdy jsme kombinovaly metodu kryoskopickou a desikační (Klika, Novák a Gregor 1954).

VÝSLEDKY

Když jsme po proběhlé inkubaci vzájemně porovnali produkci nitrátů se stupněm vláhý jakou měla zemina před uvedením na inkubační vláhu, zjistili jsme, že přírůstek nitrátů je tím vyšší, čím byla nižší výchozí vláha zeminy. Z grafického vyhodnocení výsledků, v němž jsme stanovené přírůstky nitrátů vztáhli k výchozím vláhám, jsme zjistili, že intenzita nitrifikace s poklesem výchozí vláhý přirůstá přibližně exponenciálně (obr. 1 A). Z charakteru křivky bylo zřejmé, že příčiny tohoto jevu nemůžeme hledat v pouhé vláze, nýbrž patrně v celkovém postavení, které vláha v půdě zaujímá. Poněvadž vztahy vláhý k pevné fázi půdy vyjadřuje nejlépe vodní potenciál půdy, obrátili jsme svou pozornost k němu. Během hledání souvislostí se ukázalo být vhodným vyjadřovat vodní potenciál půdy hodnotami pF a přírůstky nitrátů v jejich logaritmech. Po této úpravě byla již souvislost produkce nitrátů se silami, které poutají vláhu k pevné fázi půdy, zřetelnější (obr. 1 B). Shodný průběh závislosti pF a $\log \text{NO}_3\text{-N}$ na obsahu vláhý nás podnítl k vzájemnému porovnání. Ukázalo



1 A. Závislost produkce nitrátů na stupni vysušení zeminy. Osa x — procento sušiny v zemině před uvedením na inkubační vláhu. Osa y — produkce nitrátového dusíku v ppm $\text{NO}_3\text{-N}$. 1 B. Souvislost mezi produkcí $\text{NO}_3\text{-N}$ a hodnotami pF vysušené půdy. Osa x — jako v části A. Osa y vpravo — hodnoty pF. Osa y vlevo — $\log \text{NO}_3\text{-N}$. — 1 A. Dependence of the production of nitrates on the degree of soil predrying. Axis x — percentage of dry matter in soil before adjusting to incubation moisture. Axis y — production of nitrate nitrogen in ppm $\text{NO}_3\text{-N}$. — 1 B. Connection between the production of $\text{NO}_3\text{-N}$ and the pH values of predried soil. Axis x — as in A; axis y — right hand = pH values, left hand = $\log \text{ppm NO}_3\text{-N}$



2. Závislost produkce nitrátů na D_{pF} mezi výchozí a inkubační vláhou. Osa x — D_{pF} . Osa y — $\log \text{ppm NO}_3\text{-N}$. — Dependence of the production of nitrates on D_{pF} between the initial and the incubation moisture. Axis x — D_{pF} ; axis y — $\log \text{ppm NO}_3\text{-N}$

se, že mezi hodnotami pF příslušejícími výchozí vláze a mezi log ppm $\text{NO}_3\text{-N}$ existuje přímá úměrnost. Vzájemný vztah mezi hodnotami pF a produkcí nitrátů lze vyjádřit rovnici

$$\frac{\log P}{D \text{ pF}} = K$$

V rovnici $\log P = \log$ produkce $\text{NO}_3\text{-N}$ v ppm, D pF vyjadřuje rozdíl mezi pF zeminy s výchozí a inkubační vláhou. Správnost rovnice dokládá obr. 2.

DISKUSE

K tomu, abychom námi zjištěný jev mohli vysvětlit, je třeba si ujasnit, co znamenají hodnoty pF a co vyjadřuje rozdíl hodnot pF naměřených v půdě nasycené na výchozí a na inkubační vláhu. Jak již bylo shora řečeno, jsou hodnoty pF záporným logaritmem sacího tlaku půdy. Sací tlak půdy, který je vlastně pouze jiným termínem pro vodní potenciál půdy, vyjadřuje velikost sil, jimiž je voda poutána k pevné fázi půdy. Tím je současně i měřítkem práce nutné k tomu, aby jednotka objemu vláhy byla přenesena z půdy do jakéhokoliv jiného systému. V našem případě z půdy do bakteriální buňky. Čím je obsah vody v půdě menší, tím je třeba k přenesení jednotky objemu vody z půdy do bakteriální buňky vykonat větší práci a tedy vynaložit více energie. Zatím co v tekutém substrátu může bakterie věnovat téměř veškerou získanou energii na vlastní reprodukci, tj. na produkci biomasy, musí v půdě značnou část této energie vydat na získání vody. Čím je vody v půdě méně, tím je vázána většími silami a tím je třeba vynaložit více energie na její převedení do buňky.

Jestliže půdu ovlhčíme, síly, které poutají vodu k pevné fázi, se zmenší, čímž výdej energie nutné k získání vody poklesne. Ta část energie, která slouží bakterii v suché půdě k získání vody, může být nyní použita ke zvýšení reprodukce. Té napomáhá i to, že zvýšením obsahu vláhy v půdě se zvětší i prostor, z něhož bakterie čerpají živiny. Zvýšení růstu vede ke zvýšení metabolické aktivity, k rychlejšímu zpracování zdrojů energie a tedy i ke zvýšení obsahu nitrátů v půdě. (Seifert 1968). Uvedené vysvětlení je plně v souladu se získanými výsledky. Má však některá hypotetická místa, která bude třeba doplnit dalšími studiemi.

Literatura

- BIRCH H. F., 1958, The effect of soil drying on humus decomposition and nitrogen availability. *Plant and Soil* 10 : 9-31.
 BIRCH H. F., 1959, Further observations on humus decomposition and nitrification. *Plant and Soil* 11 : 262-286.
 BIRCH H. F., 1960, Nitrification in soils after different periods of dryness. *Plant and Soil* 12 : 81-96.
 BUDDIN W., 1914, Note on the increased nitrate content of a soil subjected to temporary drying in the laboratory. *Journ. Agr. Sci.* 6 : 452-455.
 HARPSTEAD M. I., BRAGE B. L., 1958, Storage of soil samples and its effect upon the subsequent accumulation of nitrate nitrogen during controlled incubation. *Soil. Sci. Soc. Amer. Proc.* 22 : 326-328.
 KAŠ V., 1926, Příspěvek k vysvětlení fyziologicky různého chování půdy vlhké, vyschlé a několikrát vysoušené. *Sborník ČSAZ* 1 : 89-152.
 KLIKA J., NOVÁK V., GREGOR A., 1954, Praktikum fytoecologie, ekologie, klimatologie a půdoznalství. ČSAV Praha.
 MUNRO D. C., MAC-KAY D. C., 1964, Effect of incubation method and storage conditions on nitrate production of incubated soil samples. *Soil. Sci. Soc. Amer. Proc.* 28 : 778-781.

SEIFERT J., MRÁZKOVÁ Z., 1966, Vliv vysoušení zeminy na biogenost a intenzitu nitrifikace. Rostlinná výroba 12 : 29-34.

SEIFERT J., 1968, Growth of nitrifying bacteria in the soil. Acta Univ. Carol. Biologica (v tisku).

Došlo dne 31. 10. 1968

SEIFERT J. *Nitrifikace v zemině na vzduchu vysušené a znovu ovlhčené*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 181—184, 1969.

Zemina, kterou necháváme za laboratorní teploty vysoušet na různý stupeň vláh a potom ji ovlhčíme vždy na stejnou inkubační vláhu, produkuje během inkubace různé množství nitrátů. Čím je obsah vláh ve vysušené zemině nižší, tím je intenzita nitrifikace větší. Produkce nitrátů vyjádřena v log ppm $\text{NO}_3\text{-N}$ je přímo úměrná rozdílu hodnot pF v zemině vysušené a v zemině uvedené na inkubační vláhu.

vláha; nitrifikace

СЕЙФЕРТ Й. (Естественный факультет Карлового университета, Прага). Нитрификация высушенного на воздухе и снова увлажненного грунта. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 181-184, 1969.

Почва, высушиваемая нами при лабораторной температуре до разной степени влажности и затем увлажненная всегда до одинаковой инкубационной влажности, в период инкубации продуцирует разное количество нитратов. Чем ниже содержание влажности в высушенной почве, тем больше интенсивность нитрификации. Продукция нитратов, выраженная в log ppm $\text{NO}_3\text{-N}$, прямо пропорциональна разности значений pF в высушенной почве и в почве, увлажненной до инкубационной влажности.

влажность; нитрификация

Adresa autora:

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

PŘEMĚNA A POHYB DUSÍKU V PŮDĚ

J. APLTAUER, O. SKOPALÍKOVÁ

APLTAUER J., SKOPALÍKOVÁ O. (Research Institutes of Crop Production, Institute of Plant Nutrition, Praha-Ruzyně). *The Transformation and Motion of Nitrogen in the Soil*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 185-196, 1969.

In the summer and winter periods model field experiments were carried out for an examination of the transformation and movement of the ammonium sulphate nitrogen, calcium nitrate, calcium-ammonium nitrate, urea and of the slow-acting fertilizers ureaform (ČSSR), Floranid (GFR), and IBDU (Japan) in the grey-brown podzolic soil. In the last collecting of soil samples a minimum quantity of ammonium nitrogen was found in almost all the fertilizer variants and layers of arable soil. Nitrification occurred also in the case of low temperatures in the winter period. The released nitrogen of slow-acting fertilizers was nitrified very rapidly. The considerable motion of nitrates in the arable soil and from the arable to deeper layers depended mainly on rainfall. The transformation of the nitrogen of slow-acting fertilizers differed mutually, but it was slower than in the classical fertilizers. In lysimeters we examined the washing out of the ammonium sulphate nitrogen, urea and calcium nitrite. Most intensive was the washing out of the calcium nitrite nitrogen, less intensive was that of ammonium sulphate and urea. The experiments were completed with a determination of the quantity of nitrogen in the rain water.

synthetic nitrogenous fertilizers; transformation; motion of nitrogen

V posledních letech je přeměně a pohybu dusíku v půdě věnována mimořádná pozornost, tím větší, čím vyšší dávky dusíku jsou v zemědělské praxi používány. Především je studován vliv hlavních půdních a klimatických faktorů na přeměnu dusíku v půdě v modelových laboratorních i přirozených podmínkách (Sakai 1959, Ishizawa 1962, Ishizawa 1962, Jung 1963, van Schreven 1963, Allison 1966). Bezprostředně s přeměnou souvisí pohyb dusíku v ornici neb v celém půdním profilu. Tomuto pohybu byla věnována pozornost mnoha pracovníků především z hlediska ztrát, které mohou vzniknout vyplavováním dusíku z půdy (Gasser 1959, Kaila a Hänninen 1961, Allison 1966, Pratt 1967). Zdrojem dusíku byla ve většině případů průmyslová dusíkatá hnojiva, především nová neb dodávaná do půdy ve velkém množství (Jung 1963, Nommik a Nilsson 1963). Obdobnou problematikou jsme se zabývali též v naší práci.

MATERIÁL A METODY

V našich pokusech jsme sledovali přeměnu a pohyb dusíku pomocí dřevěných ráků, vnitřních rozměrů 50×50 cm, 20 cm vysokých, zapuštěných 15 cm do orniční vrstvy. Dusíkatá hnojiva byla aplikována v množství 2,5 g dusíku do vrchní 5cm vrstvy půdy. Množství amoniakálního dusíku, stanoveného kolorimetricky Nesslerovým činidlem, a množství nitrátového dusíku, stanoveného kolorimetricky kyselinou fenoldisulfonovou, bylo sledováno v 5cm vrstvách půdy do 25cm hloubky ornice po určité časové období, uvedené v následující tabulce:

Zemina každé 5cm vrstvy půdy z uvedené plochy byla pečlivě promíchána a po promíchání byl odebrán vzorek o váze 1–2 kg. Modelové pokusy byly založeny

Rok	Aplikace hnojiv		Rok	Odběr vzorků	
	podzim	jaro		jaro	léto
1965	1. 12.	—	1965	—	—
1966	25. 10.	26. 4.	1966	22., 23. 3.	11., 12. 8.
1967	22. 11.	10. 4.	1967	29. 3.	14. 8.
1968	—	26. 4.	1968	2. 4.	5. 8.

na hnědozemním půdním typu s pH 7,2—7,6, s dobrou zásobou P_2O_5 a střední zásobou K_2O . Z dusíkatých hnojiv byl používán síran amonný (25,50 % N), ledek vápenatý (16,06 % N), ledek vápenato-amonný (24,80 % N), močovina (45,40 % N), z pomalu působících dusíkatých hnojiv ureaform, vyrobený MCHZ Ostrava (40,73 % N), tj. derivát močoviny s formaldehydem (M : F = 1,75 : 1), se 17,6 % N nerozpustného ve studené vodě, Floranid vyrobený v NSR (28,01 % N) a IBDU původem z Japonska (32,33 % N).

V dalších modelových pokusech bylo sledováno vyplavování dusíku průmyslových dusíkatých hnojiv z půdy lysimetrů s 20 kg zeminy. Do vrchní 5 kg vrstvy zeminy každého lysimetru byl stejnoměrně promíchán 1 g dusíku v ledku vápenatém (16,06 % N), v síranu amonném (20,5 % N) a v močovině (45,4 % N), kontrolní zemina byla bez dodaného dusíku. V pokusech byla použita zemina hnědozemního půdního typu a hnědé půdy s následující charakteristikou na počátku pokusu:

	hnědozem I	hnědozem II	hnědá půda
N — NH_4	0,279 mg/100 g	0,220 mg/100 g	0,454 mg/100 g
N — NO_3	0,421 mg/100 g	1,000 mg/100 g	0,244 mg/100 g
N_t	0,191 %	0,117 %	0,149 %
C_{ox}	1,190 %	1,490 %	1,937 %
pH	7,3		6,5

Vyplavování dusíku bylo sledováno ve dvou obdobích, od 13. 12. 1966 do 4. 5. 1967 (hnědozem II) a od 7. 5. do 15. 12. 1967 (hnědozem I). Ve výluhu z lysimetrů byl dusík stanovován stejnými metodami jako v polních modelových pokusech.

V období let 1965—1968 bylo sledováno množství amoniakálního a nitrátového dusíku ve srážkách získaných z dešťoměru meteorologické stanice v Ruzyni.

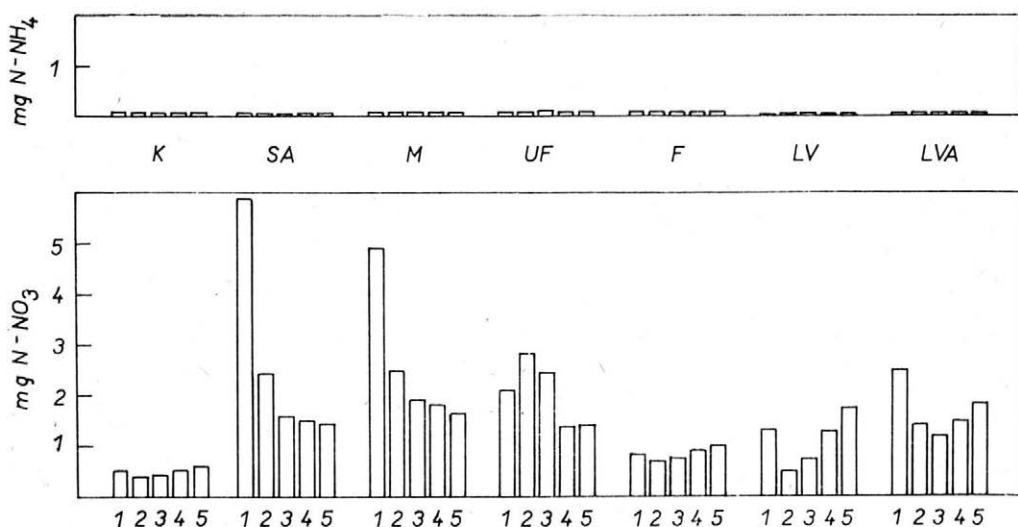
VÝSLEDKY

V grafech 1—3 je uvedeno množství amoniakálního a nitrátového dusíku v 5cm vrstvách ornice v průběhu tří let, vždy po uplynutí zimního období. Ve všech vrstvách ornice sledovaných variant jsme zjistili minimální množství amoniakálního dusíku s výjimkou vrchní 5cm vrstvy u varianty se síranem amonným v období 1966—1967 a u variant se síranem amonným a močovinou v období 1967—1968. V uvedených vrstvách stanovené vyšší množství amoniakálního dusíku však nedosahovalo hodnot původně dodaného dusíku. Zjistili jsme, že převážná část minerálního dusíku byla téměř ve všech variantách a vrstvách ornice ve formě nitrátové, což svědčí o intenzivní nitrifikaci, která i v zim-

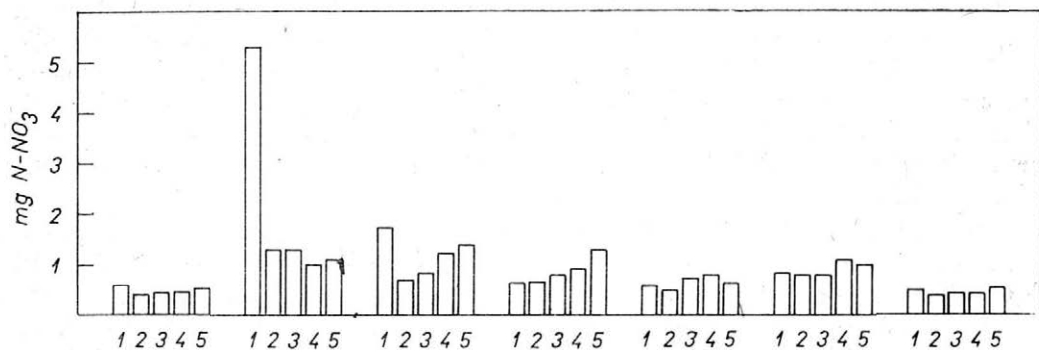
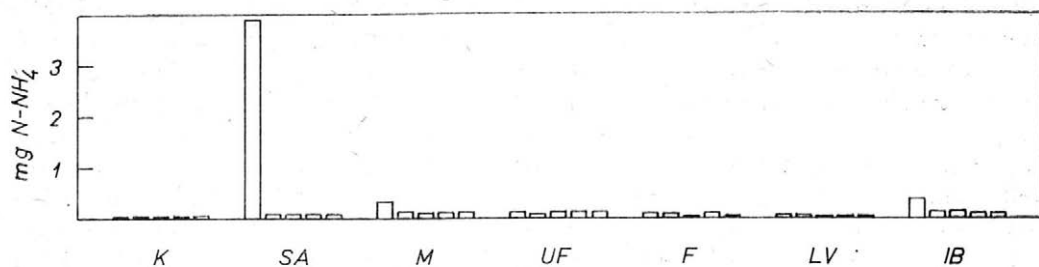
ním období probíhala. Rozložení nitrátů v profilu ornice však bylo u použitých hnojiv rozdílné. Ve variantách se síranem amonným a močovinou bylo zřetelně nejvyšší množství nitrátů ve vrchní 5cm vrstvě, v ostatních variantách bylo jejich množství vyrovnanější. Z porovnání skutečně zjištěného množství dusíku na konci sledovaného období a teoreticky zjištěného množství dusíku při aplikaci hnojiv, tj. přibližně 15,6 mg na 100 g suché zeminy vyplývá, že nastalo velmi značné vyplavování dusíku do nižších vrstev ornice i dalších vrstev půdního profilu. Pohyb dusíku byl výrazný především u síranu amonného, močoviny, ledku vápenato-amonného a ledku vápenatého. Pohyb dusíku pomalu působících dusíkatých hnojiv byl limitován jeho pozvolným uvolňováním. Je však zřejmé, že i dusík pomalu působících hnojiv byl vyplavován z vrstvy, do které byl aplikován, i když ve značně menším množství než u hnojiv klasických. Přeměna dusíku byla ovlivňována především teplotou, pohyb dusíku dešťovými srážkami. Tím, že došlo k nitrifikaci amoniakálního dusíku i při nízkých teplotách v průběhu zimního období, došlo k pohybu popřípadě k vyplavení snadno pohyblivých nitrátů.

V grafech 4—6 jsou uvedeny výsledky stanovení množství amoniakálního a nitrátového dusíku po uplynutí letního klimaticky značně příznivějšího období. Vyšší teplota půdy měla příznivý vliv na průběh nitrifikace, což se projevilo s výjimkou vrchní vrstvy u varianty se síranem amonným ve všech třech letech a u dvou vrstev varianty IBDU minimálním množstvím dusíku ve všech vrstvách sledovaných variant.

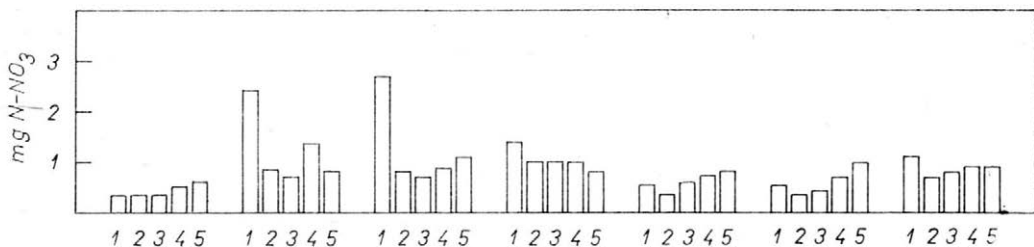
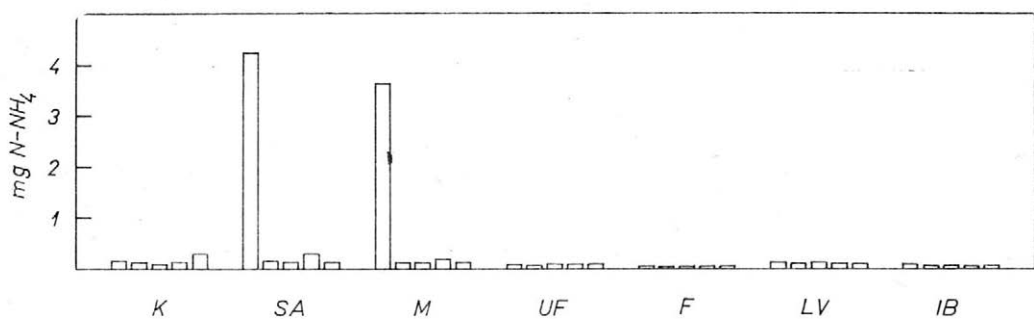
Zjištěné množství nitrátů v 5cm vrstvách půdy jednotlivých variant bylo rozdílné. Zřetelně se projevil vliv jednotlivých pokusných let. Nejnižší hodnoty nitrátového dusíku jsme zjistili v roce 1966 se zřetelným posunem dusíku do nižších půdních vrstev u všech hnojiv. V roce 1967 byl tento pohyb zřetelný především u klasických hnojiv a pomalu působícího IBDU. V posledním roce sledování byl posun nitrátů méně zřetelný a jeho maximální množství jsme



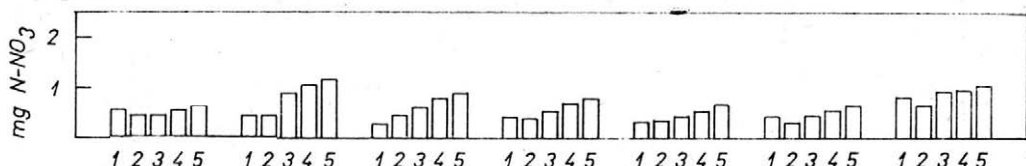
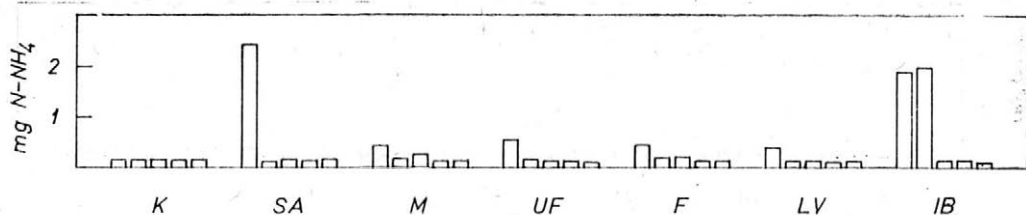
1. Množství amoniakálního a nitrátového dusíku v půdě (1965/66). — Amount of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen in soil (1965/66)



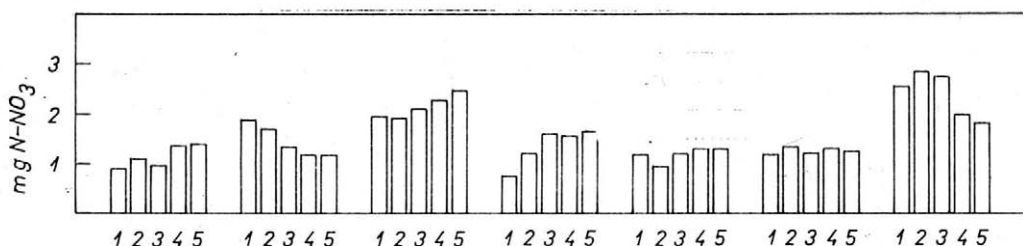
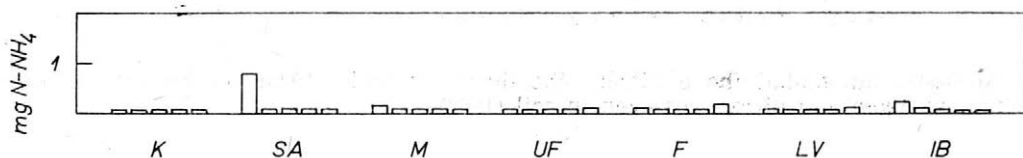
2. Množství amoniakálního a nitrátového dusíku v půdě (1966/67). — Amount of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen in soil (1966/67)



3. Množství amoniakálního a nitrátového dusíku v půdě (1967/68). — Amount of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen in soil (1967/68)



4. Množství amoniakálního a nitrátového dusíku v půdě (1966). — Amount of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen in soil (1966)

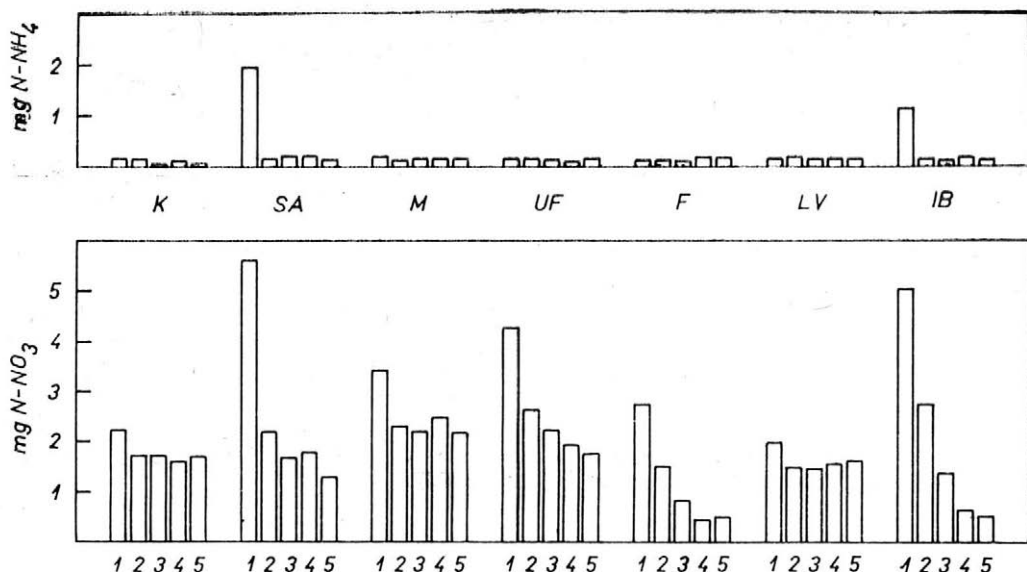


5. Množství amoniakálního a nitrátového dusíku v půdě (1967). — Amount of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen in soil (1967)

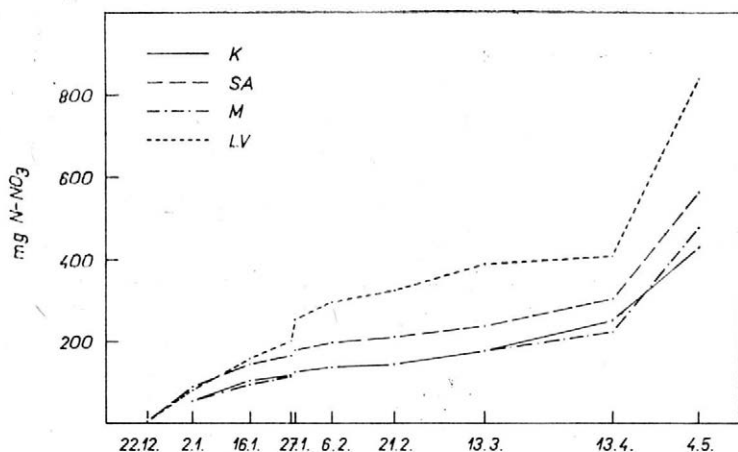
zjistili ve vrchní 5cm vrstvě. Rozdíly v množství dusíku jednotlivých vrstev mezi sledovanými variantami byly nejmenší v roce 1966 a naopak v roce 1968 se projeví nejzřetelněji.

Z výsledků pokusu s lysimetry, uvedených v grafu 7, je zřejmé, že v zimním období byl nejintenzivněji vyplavován dusík ledku vápenatého, méně síranu amonného a nejméně močoviny. Vlivem rychle probíhající přeměny dusíku síranu amonného a močoviny byl zjištěný dusík převážně ve formě nitrátové. Také v letním období (graf 8 a 9), ve kterém bylo sledováno vyplavování dusíku tří průmyslových hnojiv ze zeminy dvou půdních typů, byl nejintenzivněji vyplavován dusík ledku vápenatého. Mezi síranem amonným a močovinou se však projeví rozdíly. Z hnědé půdy byl vyplavován ve větším množství dusík močoviny než síranu amonného, u hnědozemě však bylo množství vyplaveného dusíku obou hnojiv téměř stejné, v obou případech závislé v první řadě na množství srážek.

Z grafů 10 a 11 je zřejmé, že dusík ve srážkách byl převážně v amoniakální formě a jeho množství se v jednotlivých letech podstatně lišilo.



6. Množství amoniakálního a nitrátového dusíku v půdě (1968). — Amount of ammonia nitrogen and nitrate nitrogen in soil (1968)

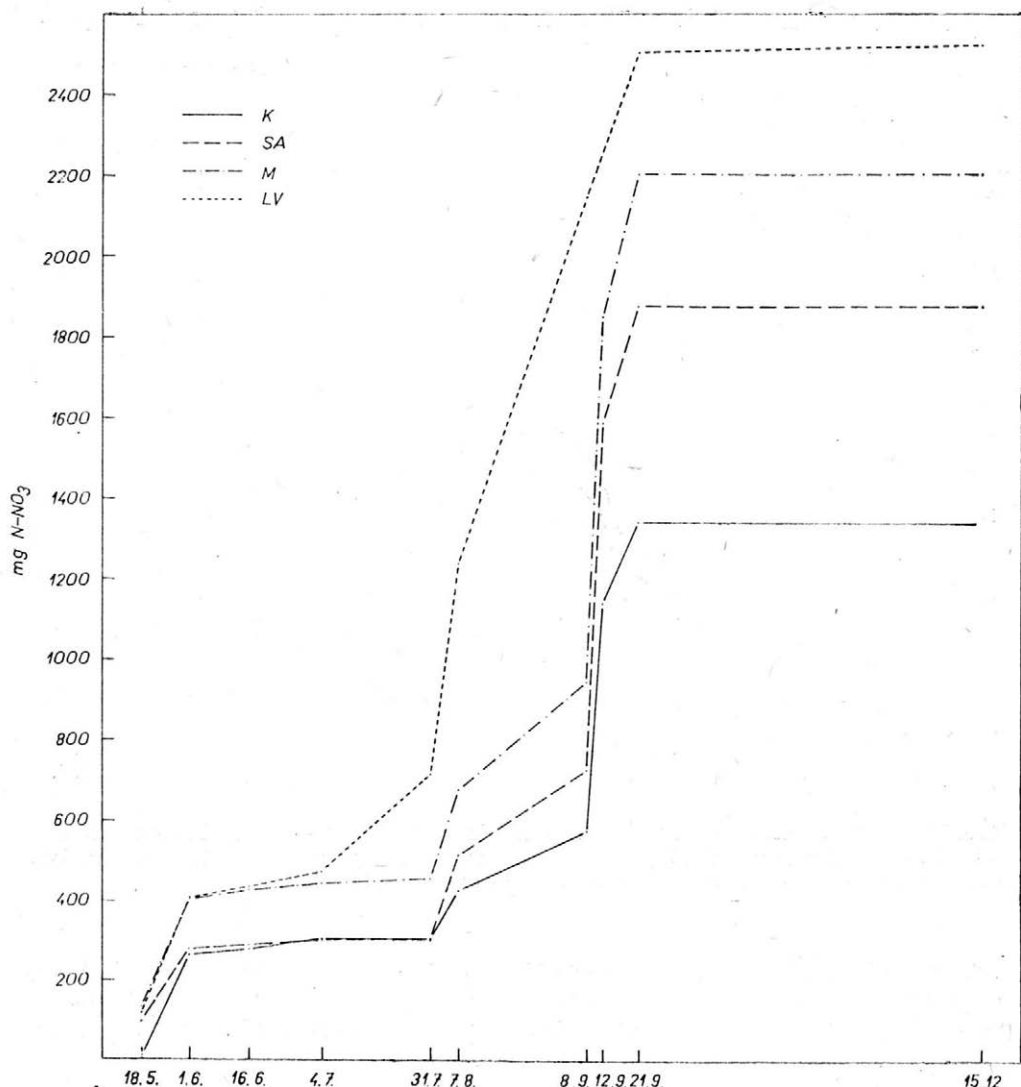


7. Množství nitrátového dusíku vyplaveného z půdy lysimetrů (hnědozem 13. 12. 1966—4. 5. 1967). — Amount of nitrate nitrogen washed out from the soil of the lysimeters (gray-brown podzolic soil, Dec. 12, 1966—May 4, 1967)

DISKUSE

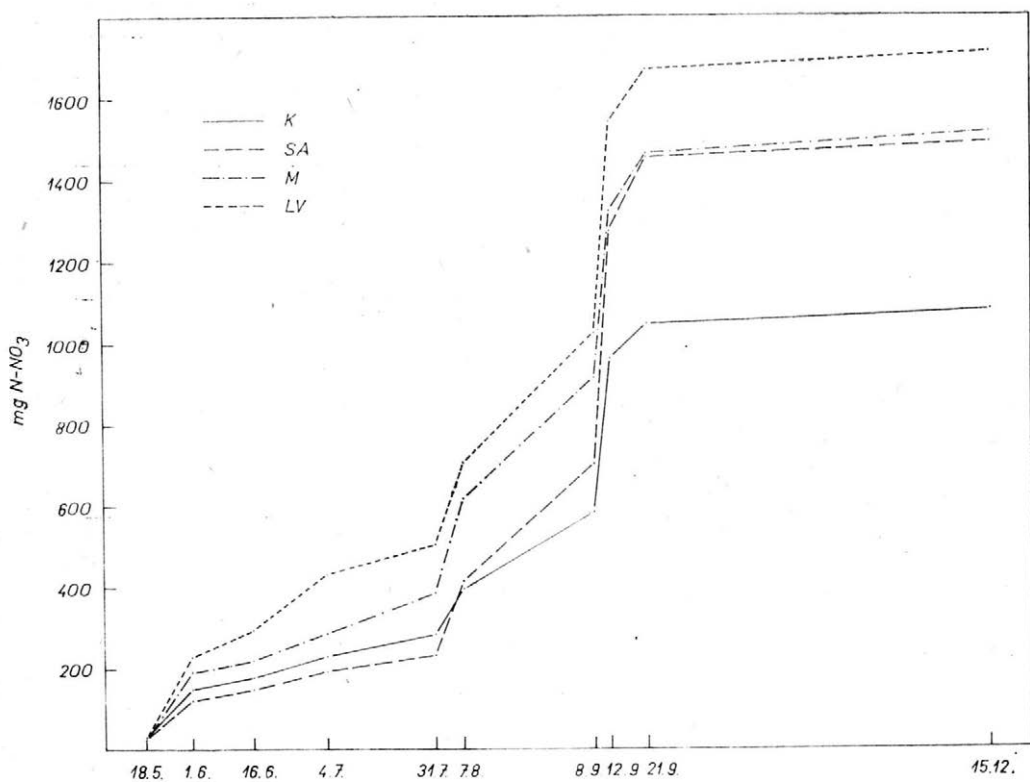
V práci byla sledována přeměna a pohyb dusíku průmyslových dusíkatých hnojiv, používaných běžně v zemědělské praxi a hnojiv používaných v omezeném množství, především močoviny a některých pomalu působících dusíkatých hnojiv.

Cílem práce, jejíž část uvádíme, je omezování ztrát a maximální využití stále stoupajících dávek dusíku průmyslových dusíkatých hnojiv. V první části



8. Množství nitrátového dusíku vyplaveného z půdy lysimetrů (hnědá půda 7. 5. — 15. 12. 1967). — Amount of nitrate nitrogen washed out from the soil of the lysimeters (brown forest soil, May 7 — Dec. 15, 1967)

práce jsme se zaměřili na sledování přeměny a pohybu dusíku v ornici, i když jsme si vědomi toho, že dusík je pro rostliny ztracen pouze v tom případě, je-li vyplaven z půdního profilu (Apltauer, Mouchová, Lišťanská 1968). Přeměna i pohyb dusíku a s tím související ztráty vyplavením jsou ovlivňovány několika hlavními faktory, což je zřejmé i z uvedených výsledků. Pro praktickou podzimní aplikaci dusíkatých hnojiv je důležité zjištění, že nitrifikace amoniakálního dusíku probíhá i při nízkých teplotách v průběhu zimního období. Je tedy hranice teploty půdy 10 °C, uváděná v souvislosti s omezením nitrifikace, velmi nejistá (Košenský 1967) a je nutné počítat s přeměnou dusíku prů-

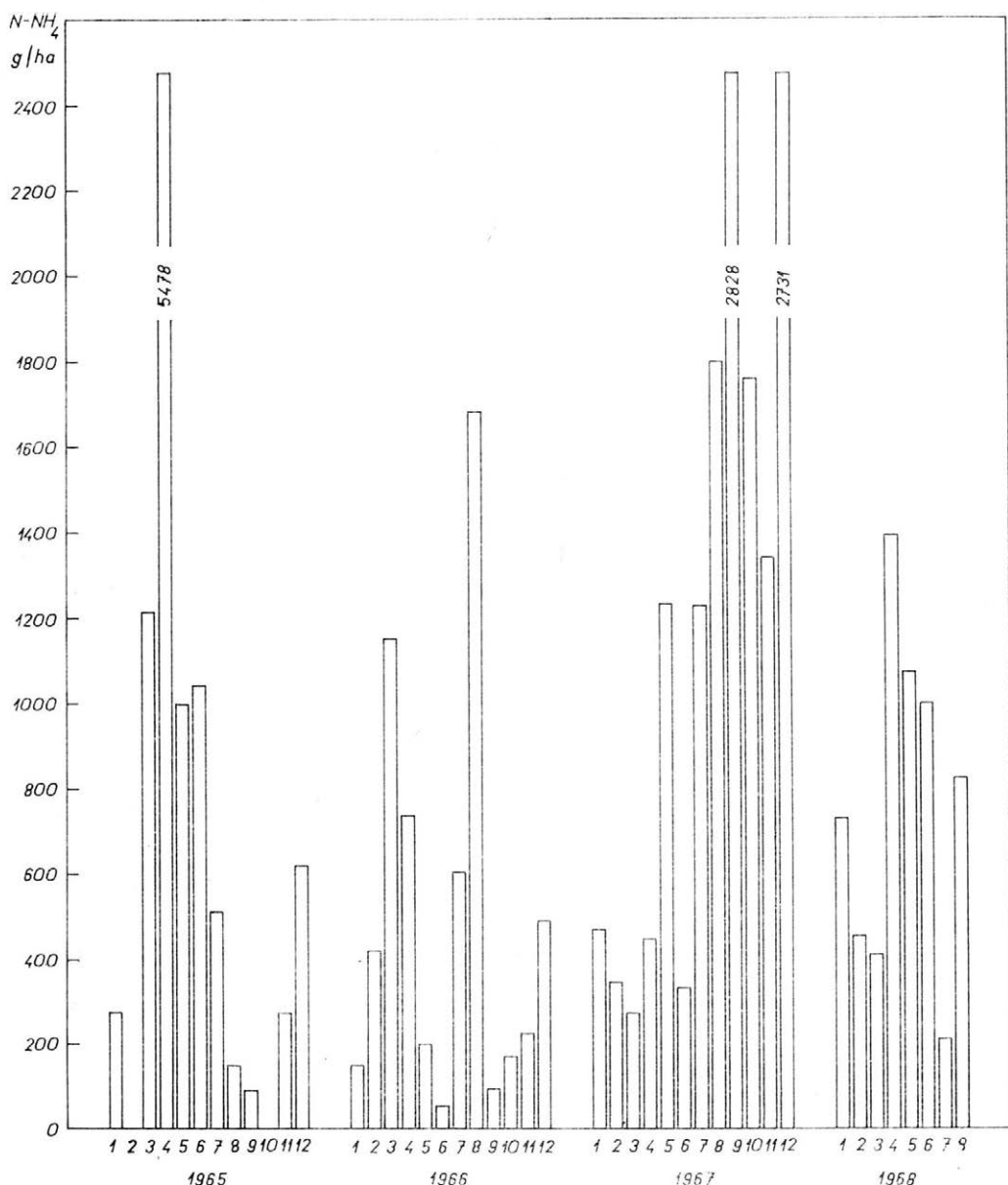


9. Množství nitrátového dusíku vyplaveného z půdy lysimetrů (hnědozem 7. 5. — 15. 12. 1967). — Amount of nitrate nitrogen washed out from the soil of the lysimeters (gray-brown podzolic soil, May 7 — Dec. 15, 1967)

myslových dusíkatých hnojiv aplikovaných i těsně před zámrazem půdy (Liš-
ťanská 1968). S průběhem nitrifikace velmi těsně souvisí i pohyb dusíku
v půdě. Čím je nitrifikace rychlejší, tím větší je nebezpečí ztrát dusíku vyplav-
ením, což se projevilo i v našich pokusech.

V posledních letech byla značná pozornost věnována výzkumu pomalu pů-
sobících dusíkatých hnojiv (K o p 1967, J u n g 1963 atd.). Jejich význam spo-
čívá především v pozvolném uvolňování dusíku a postupném zásobování rost-
lin v průběhu vegetace. Tato vlastnost se projevila i v našich pokusech poma-
lejší uvolňováním dusíku a rychlou nitrifikací tohoto uvolněného dusíku.
Rychlost přeměny dusíku však nebyla u všech pomalu působících dusíkatých
hnojiv stejná a byla závislá na typu hnojiva.

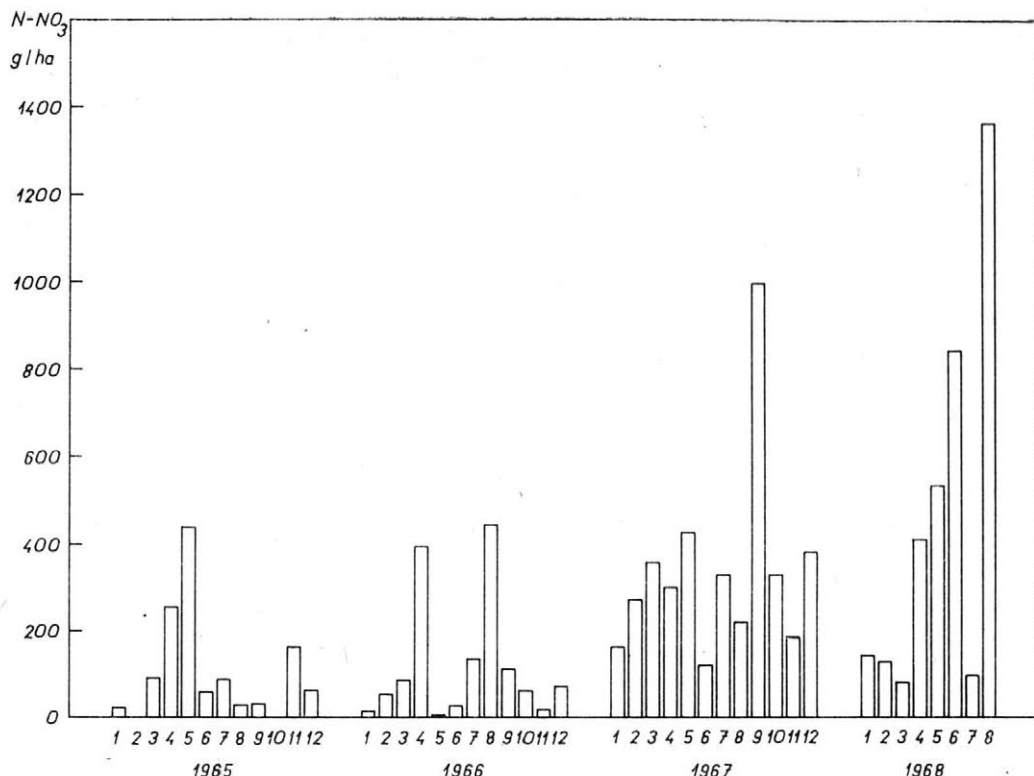
Pro přesnější sledování množství vyplavovaného dusíku jsou již běžně po-
užívány lysimetry nejrůznějších velikostí a tvarů. V našich pokusech jsme po-
užili lysimetrů s půdou dvou odlišných půdních typů a sledovali jsme vyplavo-
vání dusíku tří průmyslových dusíkatých hnojiv bez porostu v přirozených pod-
mínkách, na rozdíl od jiných autorů, kteří používají lysimetry s porostem a uměle
půdu zavlažují (C a r t e r, B e n n e t, P e a r s o n 1967, P f a f f 1963). Množ-
ství vyplaveného dusíku bylo pochopitelně závislé na množství srážek a v zim-
ním období též na střídání mrazu a tání. Také v tomto případě nás mimo-
řádně zajímalo zimní období proto, že velmi těsně souvisí s možností podzemního



10. Množství amoniakálního dusíku ve srážkách (1965/68). — Amount of ammonia nitrogen in precipitations (1965/68)

zapravení dusíkatých hnojiv. V našich pokusech jsme zjistili, že chování síranu amonného a močoviny bylo téměř stejné, což potvrdila i Lišťaňská (1968) v modelových laboratorních i polních pokusech.

Při sledování bilance dusíku v půdě nemůžeme pominout i poměrně malé množství dusíku ve srážkách, které nám mohou do určité míry ovlivnit bilanci dusíku v půdě.



11. Množství nitrátového dusíku ve srážkách (1965/68). — Amount of nitrate nitrogen in precipitations (1965/68)

Legenda pro všechny grafy: K — kontrola, SA — síran amonný, M — močovina, UF — ureaform, F — Floranid, LV — ledek vápenatý, IBDU — IB hnojivo z Japonska.

Označení vrstev ornice: 1 = 0—5 cm, 2 = 5—10 cm, 3 = 10—15 cm, 4 = 15—20 cm, 5 = 20—25 cm.

K — control; SA — ammonium sulphate; M — urea; UF — ureaform; F — Floranid; LV — calcium nitrate; IBDU — IB fertilizer from Japan.

Arable soil: 1 = 0—5 cm; 2 = 5—10 cm; 3 = 10—15 cm; 4 = 15—20 cm; 5 = 20—25 cm

Literatura

- ALLISON E. F., 1966, The fate of nitrogen applied to soils. *Advances Agron.* 18 : 219-258.
- APLTAUER J., LIŠŤANSKÁ J., MOUCHOVÁ H., 1968, Ztráty dusíku průmyslových dusíkatých hnojiv v půdě. *Studijní informace ÚVTI*, v tisku.
- CARTER J. N., BENNET O. L., PEARSON R. W., 1967, Recovery of fertilizer N under field conditions using nitrogen — 15. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 31 : 50-56.
- GASSER J. K. R., 1959, Soil nitrogen. IV. — Transformations and movement of fertiliser nitrogen in a light soil. *J. Sci. Food Agric.* 10 : 192-197.
- ISHIZAWA S., MATSUGUCHI T., 1962, Studies on the nitrification in soil, with special reference to the population of nitrifier. Part 2 Nitrogenous fertilizers and their effectiveness as substrate for nitrification. *Soil Sci. Plant Nutr.* 8 : 245-252.
- ISHIZAWA S., MATSUGUCHI T., 1962, Studies on the nitrification in soil, with special reference to the population of nitrifier. Part 1, Effect of temperature,

- pH, and moisture on the nitrification of urea in soil. *Soil Sci. Plant Nutr.* 8 : 240-244.
- JUNG J., 1963, Langsam wirkende Stickstoffdünger synthetischer Herkunft. *Landwirtschaftliche Forschung*, 17. Sonderheft : 148-160.
- KAILA A., HÄNNINEN P., 1961, Fertilizer nitrogen in soil. *J. Sci. Agric. Soc. Finland* 33 : 169-184.
- KNOP K., 1967, Mineralizace dusíku močovinoformaldehydových hnojiv (ureaformů). III. sdělení: Průběh mineralizace zbytků ureaformů nerozpustných za horka v zemích s různým pH. *Rostlinná výroba* 13 : 509-520.
- KOŘENSKÝ F., 1967, Zjištění možnosti podzimní aplikace bezvodého čpavku v různých půdních a klimatických podmínkách ČSSR. Kandidátská disertační práce, ÚVÚRV Praha-Ruzyně.
- LIŠŤANSKÁ J., 1968, Chování močoviny a jejích derivátů v půdě. Kandidátská disertační práce, ÚVÚRV Praha-Ruzyně.
- NOMMIK H., NILSSON K., 1963, Nitrification and movement of anhydrous ammonia in soil. *Acta Agric. Scand.* 13 : 205-219.
- PFÄFF C., 1963, Der Verhalten des Stickstoff im Boden nach langjährigen Lysimeterversuchen. I. Mitteilung. *Z. Acker- u. Pflbau* 117 : 77-99.
- PRATT P. F., CANNELL G. H., GARBER M. J., BAIR F. L., 1967, Effect of three nitrogen fertilizers on gains, losses, and distribution of various elements in irrigated lysimeters. *Hilgardia* 38 : 265-283.
- SAKAI H., 1959, Effect of temperature on nitrification in soils. *Soil Plant Food* 4 : 159-162.
- SCHREVEN van D. A., 1963, Nitrogen transformations in the former subaqueous soils of polders recently reclaimed from Lake IJssel. II. Losses of nitrogen due to nitrification and leaching. *Plant and Soil* 18 : 163-175.

Došlo dne 31. 10. 1968

APLTAUER J., SKOPALÍKOVÁ O. *Přeměna a pohyb dusíku v půdě*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 185-196, 1969.

V modelových polních pokusech byla v letním a zimním období sledována přeměna a pohyb dusíku síranu amonného, ledku vápenatého, ledku vápenato-amonného, močoviny a pomalu působících hnojiv ureaformu (ČSSR), Floranidu (NSR) a IB hnojiva (Japonsko) v půdě hnědozemního půdního typu. V konečných odběrech půdních vzorků bylo zjištěno minimální množství amoniakálního dusíku téměř ve všech variantách i vrstvách ornice. Nitrifikace probíhala i při nízkých teplotách v zimním období. Uvolněný dusík pomalu působících hnojiv byl rychle nitrifikován. Pohyb nitrátů v ornici i z ornice do hlubších vrstev byl značný, závislý především na dešťových srážkách. Přeměna dusíku pomalu působících hnojiv byla navzájem rozdílná, ale pomalejší než u hnojiv klasických. V lysimetrech jsme sledovali vyplavování dusíku síranu amonného, močoviny a ledku vápenatého. Nejintenzivněji byl vyplavován dusík ledku vápenatého, méně síranu amonného a močoviny. Pokusy byly doplněny stanovením množství dusíku v dešťových srážkách.

průmyslová dusíkatá hnojiva

АПЛТАУЕР Й., СКОПАЛИКОВА О.: (Научно-исследовательские институты растениеводства, Институт питания растений, Прага-Рузыне). *Превращение и движение азота в почве*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 185-196, 1969.

В модельных полевых опытах в летний и зимний периоды изучались преобразование и движение азота сульфата аммония, известковой селитры, известково-аммиачной селитры, мочевины и медленно действующих удобрений уреаформы (ЧССР), Флоранида (ФРГ) и IBDU удобрения (Япония) в почве буроземного почвенного типа. В окончательных отборах почвенных образцов почти во всех вариантах и слоях пахотного слоя было установлено минимальное количество аммиачного азота. Нитрификация проходила и при низких температурах в зимний период. Освобожденный азот медленно действующих удобрений быстро нитрифицируется. Передвижение нитратов в пахотном слое и из пахотного слоя в нижерасположенные слои было значительным и зависело прежде всего от атмосферных осадков. Преобразование азота медленно действующих удобрений взаимно различное, однако оно

более медленное по сравнению с классическими удобрениями. В лизиметрах нами изучалось вымывание азота сульфата аммония, мочевины и известковой селитры. Наиболее интенсивно вымывался азот известковой селитры, меньше — сульфата аммония и мочевины. Опыты были дополнены определением количества азота в атмосферных осадках.

минеральные азотные удобрения; преобразование; движение азота

Adresa autorů:

Ing. Jiří Apltauer, CSc., Olga Skopalíková, Výzkumné ústavy rostlinné výroby, Ústav výživy rostlin, Praha-Ruzyně

VLIV CHRONICKÉHO ZÁŘENÍ GAMA NA NODULUJÍCÍ SÓJU

E. HAMATOVÁ

HAMATOVÁ E. (Research Institutes of Crop Production, Institute of Plant Nutrition, Prague - Ruzyně). *The Influence of Chronic Gamma-Irradiation on Nodulating Soya*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 197-200, 1969.

Inoculated soya plants were cultivated in a gamma field, and exposed during vegetation to chronic irradiation with gamma rays in doses sinking gradually from 5454 r to 59 r. It was investigated the influence of irradiation on the weight of the dry matter of the plants, on the accumulation of nitrogen in the plants, and the number, volume and weight of nodules formed during one and two passages of the inoculation strain of *Rh. japonicum* through irradiated plants. The second passage of *Rh. japonicum* through irradiated soya showed a higher effectivity of symbiosis than was the case with the first passage. A remarkable increase of nodulation and of the effectiveness of symbiosis was found particularly in the case of irradiation of plants with low doses of gamma rays (295—71 r) during vegetation.

inoculation of leguminous plants

V pokusech s radiostimulací se v současné době obrací pozornost k vysvětlování podmínek, které ovlivňují její projevení. Významným faktorem produktivity motýlokvětných rostlin je tvorba hlízek na kořenech těchto rostlin a symbióza rhizobií s hostitelskými rostlinami během vegetace; přitom práce o vlivu chronického záření gama na tyto jevy nebo na vlastnosti rhizobií v hlízkách ozařovaných rostlin nám nejsou známy. Je tedy možno předpokládat, že výzkumy v tomto směru mohou přinést nové poznatky.

MATERIÁL A METODY

Inokulované rostliny sóji byly pěstovány na gamapoli a vystaveny během vegetace chronickému ozařování paprsky gama v dávkách postupně klesajících od 5454 r do 59 r. Byl studován vliv ozařování na váhu sušiny rostlin, nahromadění dusíku v rostlinách, počet, váhu a objem hlízek při jedné a dvou pasážích inokulačního kmene *Rh. japonicum* přes ozařované rostliny.

1. pokus

Dezinfikované osivo sóji 'Mukden' bylo inokulováno vodní suspenzí buněk *Rh. japonicum* D 211 a zaseto na kruhové výseči gamapole Čs. akademie věd ve Straněch u Prahy v koncentrických mezikružích tak, že první řádek byl umístěn 10 m od zářiče, poslední 97,5 m, šířka mezi řádky činila 0,5 m. Dávky záření, kterému byly rostliny vystaveny v jednotlivých řádcích, jsme vypočítali z tabulek, udávajících intenzitu ozařování pro jednotlivé vzdálenosti od zářiče při respektování přirozeného rozpadu Co^{60} a z tabulek o časovém průběhu ozařování na gamapoli v příslušných dnech a měsících r. 1965. Suma záření v první izodóze činila 5454 r a se vzdáleností od zářiče se postupně snižovala až na 59 r v poslední izodóze. Na zastíněné výseči gamapole bylo vyseto inokulované kontrolní osivo. Rostliny byly sklizeny na počátku tvorby semen, z každého řádku bylo odebráno po 2—10 rostlinách v závislosti na rozšiřování výseče; z hlízek byla zpětně izolována rhizobia pro další práci.

2. pokus

K inokulaci bylo použito 67 kultur *Rh. japonicum*, které reprezentují první pasáž výchozího kmene D 211 přes rostliny ozařované různými dávkami paprsků gama v prvním pokuse. Sója 'Mukden' byla zaseta na gamapole tak, aby rostliny, inokulované jednotlivými reisoláty *Rh. japonicum* byly během vegetace vystaveny obdobným dávkám záření jako v předchozím pokusu. Za kontrolu sloužily rostliny, inokulované výchozím kmenem D 211 a první pasáží tohoto kmene přes neozařované rostliny.

VÝSLEDKY

Při chronickém ozařování inokulované sóji paprsky gama v dávkách od 5454 do 59 r byly zjištěny rozdíly ve váze sušiny rostlin a v nahromadění dusíku rostlinami v různých izodózách gamapole a stanoveny 3 zóny stimulace; nejpriznivější vliv vykázaly v daném pokusu střední hodnoty záření gama, které činily 909, 873 a 839 r a odpovídaly izodózám 30, 31 a 32 (Hamatová 1968). Počet hlízek byl ozařováním rostlin velmi výrazně snížen — u 54 % ozařovaných rostlin bylo zjištěno pouze po jedné hlízce, a to i u rostlin ve stimulačních zónách; tyto hlízky však měly značný objem i váhu (Hamatová l. c.).

Pokus s druhou pasáží *Rh. japonicum* přes ozařovanou sóju se od první pasáže liší všeobecně vyšší efektivitou symbiózy. Přitom při aplikaci vysokých dávek záření v hodnotách 5454 — 1180 r a středních dávek, odpovídajících 947—586 r, se toto zvýšení projevilo v nasazení hlízek a nahromadění dusíku, ne však při tvorbě rostlinné hmoty. Při ozařování nízkými dávkami během vegetace — 295 — 71 r — pak pozorujeme téměř ve všech izodózách zdvojnásobení tvorby rostlinné hmoty i nahromadění dusíku ve srovnání s hodnotami, zjištěnými při první pasáží kmene D 211 přes rostliny na gamapoli (obr. 1).

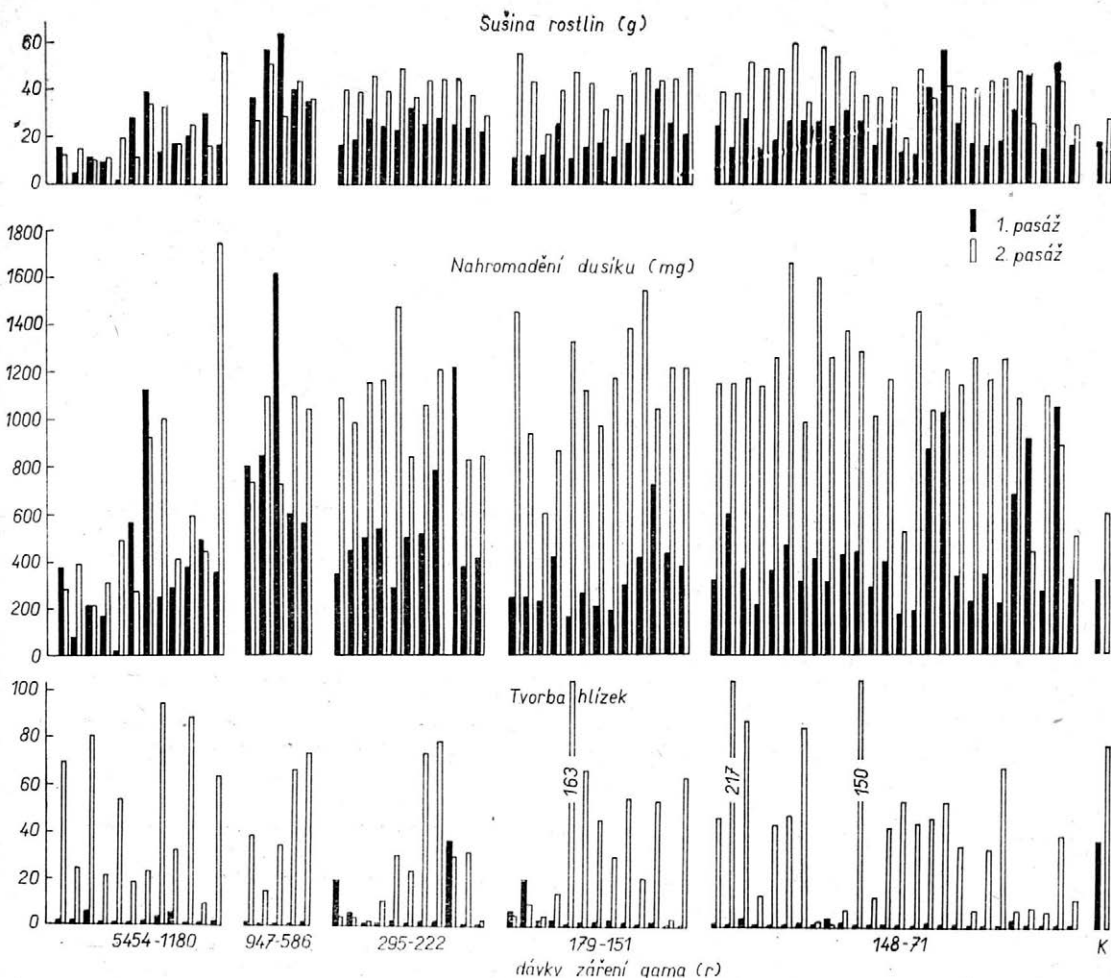
Nasazení hlízek je v tomto pokuse pozoruhodné nejen početností (obr. 1), ale především objemem i váhou sušiny, které vzrůstají se snižováním dávek záření (tabulka I).

DISKUSE

Čisté kultury rhizobií jsou značně rezistentní vůči vysokým dávkám ionizačního záření (Jordan 1952, Hamatová 1964) a předosevní ozařování osiva nebo jednorázové ozáření rostlin nebrání tvorbě hlízek na kořenech mo-

I. Vliv chronického záření gama na tvorbu hlízek u sóji, inokulované *Rh. japonicum*
fluence of gamma radiation on the formation of nodules of soya, inoculated by *Rh.*
values

1. pasáž				
gama záření r	hlízky			
	počet		objem ml	váha sušiny g
	kusů	% případů		
0	22	—	0,9	0,34
5454— 68	2— 8	40,5	0,4 — 1,4	0,02 — 0,24
4505— 59	1	54,0	0,2 — 0,7	0,02 — 0,27
1887—112	11—89	5,5	0,4 — 2,9	0,05 — 0,56



1. Vliv chronického záření gama na nasazení hlízek, tvorbu sušiny a nahromadění dusíku rostlinami sóji, inokulované *Rh. japonicum* D 211 při první a druhé pasáži přes hostitele. — The influence of chronic gamma radiation on the formation of nodules, dry matter formation and on nitrogen accumulation by soya plants inoculated by *Rh. japonicum* D 211 during the first and second passage through the host plant.

D 211 při první a druhé pasáži přes hostitele (mezí hodnoty na 1 rostlinu). — *In-japonicum* D 211 during the 1st and the 2nd passage through the host plant (limiting per plant)

2. pasáž				
gama záření r	hlízky			
	počet		objem ml	váha sušiny g
	kusů	% případů		
0	38	—	3,8	0,79
5454—106	54—95	28,3	3,3—6,8	0,37—1,42
3227—88	15—48	46,3	1,2—4,4	0,26—0,89
1364—94	2—10	20,9	0,2—2,3	0,25—0,44
169—102	150—217	4,5	2,4—7,7	0,40—1,47

týlokvětých. Manil a Demalsy (1965) zjistili změny v počtu a charakteru hlízek na kořenech jednorázově ozářených rostlin vojtěšky, Migahid aj. (1959) stanovoval počet hlízek u jetele a pískavice vypěstovaných z ozářeného osiva.

Na rozdíl od těchto studií je cílem naší práce zjistit vliv chronického záření gama na symbiózu rhizobií s hostitelem. Přesto, že v pokusech tohoto druhu je nesnadné rozlišit primární a sekundární vlivy ozařování, snažíme se přispět k problematice citlivosti leguminóz vůči chronickému ozařování paprsky gama studiem některých aspektů nodulace jako faktoru, který může reakci rostlin vůči záření ovlivnit. V práci se pokračuje stanovením morfologických a fyziologických vlastností kultur *Rh. japonicum*, reisolovaných z hlízek ozařovaných rostlin.

Literatura

- HAMATOVÁ E., 1965, Vliv záření gama na fixační aktivitu *Rhizobium japonicum* u dvou odrůd sóje. Vědecké práce ÚVÚRV Praha 8:155-162.
HAMATOVÁ E., 1968, Některé poznatky o inokulaci sóji, pěstované na gamapoli. Vědecké práce ÚVÚRV Praha, v tisku.
JORDAN D. I., 1952, Studies on the Legume Root Nodule Bacteria II. The Production and Behaviour of Colonial Mutants Produced by X-ray Irradiation. Canad. Journ. Botan. 30:125.
MANIL P., DEMALSY P., 1965, Effets sur *Medicago sativa* L. de l'irradiation gamma en doses aiguës. Radiation Botany 5:109-114.
MIGAHID A. M., EL NADY A. F., ABD EL RAHMAN A. A., 1959, The Effect of Gamma Radiation on Bacterial Nodule Formation. Plant and Soil 11:139-144.
Došlo dňa 31. 10. 1968

HAMATOVÁ E. Vliv chronického záření gama na nodulující sóju. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2):197-200, 1969.

Inokulované rostliny sóji byly pěstovány na gamapoli a vystaveny během vegetace chronickému ozařování paprsky gama v dávkách, klesajících postupně od 5454 r do 59 r. Byl studován vliv ozařování na váhu sušiny rostlin, nahromadění dusíku v rostlinách, počet, objem a váhu hlízek při jedné a dvou pasážích inokulačního kmene *Rh. japonicum* přes ozařované rostliny. Pokus s druhou pasáží *Rh. japonicum* přes ozařovanou sóju vykázal vyšší efektivitu symbiózy než první pasáž; pozoruhodné zvýšení nodulace i účinnosti symbiózy bylo zjištěno zvláště při ozařování rostlin nízkými dávkami paprsků gama (295—71 r) během vegetace. Obdobné práce — pokud je nám známo — nebyly dosud publikovány.

inokulace motýlkovitých rostlin

ГАМАТОВА Е. (Научно-исследовательские институты растениеводства, Институт питания растений, Прага-Рузыне). Влияние хронического гамма-излучения на образование клубеньков сои. Растlinná výroba (Praha) 15 (2):197-200, 1969.

Инокулированные растения сои выращивались на гамма-поле и в течение вегетации подвергались хроническому облучению гамма-лучами в дозах, постепенно понижающихся от 5454 рентгена до 59 рентгенов. Изучалось влияние облучения на сухой вес растений, накопление азота в растениях, количество, объем и вес клубеньков при одном и двух пассажах инокуляционного штамма *Rh. japonicum* через облученные растения. Опыт с другим пассажем *Rh. japonicum* через облучаемую сою показал более высокую эффективность симбиоза, чем первый пассаж; заслуживающее внимания повышение образования клубеньков и эффективности симбиоза было установлено особенно при облучении растений небольшими дозами гамма-лучей (295—71) в течение роста. Подобные работы — насколько нам известно — не были до сих пор опубликованы.

инокуляция бобовых растений

Adresa autorky:

Doc. dr. Eva Hamatová, CSc., Výzkumné ústavy rostlinné výroby, Ústav výživy rostlin, Praha - Ruzyň

VPLYV REZIDUÁLNEHO PÔSOBNIA PRÍPRAVKU MELIPAX NA VIRULENTNOSŤ A FIXAČNÚ AKTIVITU *Rhizobium meliloti*

L. HABÁN

HABÁN L. (Research Institute of Crop Production, Piešťany). *The Influence of the Residual Activity of the Melipax Preparation on the Virulence and Fixation Activity of Rhizobium meliloti*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2): 201-208, 1969.

In the case of both methods of introduction of Melipax in pot experiments with siliceous sand there occurred almost no lowering of the number of nodules (98.3 per cent, 99.7 per cent). After inoculation with isolates of nodules that had been obtained from plants that had been top-dressed during the vegetation period there occurred a considerable decrease in the forming of nodules (68.6 per cent). In the case of application of gradated doses it can be seen that a dose of 30 mg did not affect the forming of nodules (99.5 per cent). In the case of a dose of 50 mg there occurs a slight decreasing (90.2 per cent) and in the case of a dose of 100 mg there occurs a pronounced decreasing of the number of nodules (77 per cent). The quantity of produced lucerne matter a partial decrease of the forming of green matter occurs in the case of both methods of application before the sowing (89.8 and 81.7 per cent). However, the smallest quantity of matter formed after top dressing (54.2 per cent). Increasing doses resulted in a decrease of the quantity of the produced green matter (81.3, 75, and 68.9 per cent). The results obtained in the case of dry matter of lucerne are similar, only the quantities of substance after doses of 30 and 50 mg do not differ mutually.

Dôležitou úlohou výskumu, okrem rozširovania palety čo najúčinnnejších chemických prípravkov v boji proti burinám, chorobám a škodcom v rastlinnej výrobe je tiež sledovať vplyv týchto látok, ktoré sa v značnom množstve priamo či nepriamo dostávajú do pôdy. Prítomnosť týchto látok v pôde môže veľmi citlivo ovplyvniť predovšetkým jej živú zložku — pôdnu mikroflóru. Ich účinok bude však závisieť od veľkého počtu faktorov, predovšetkým od chemických a fyzikálnych vlastností prípravku, jeho formy, dávky, času a spôsobu aplikácie, ďalej od pôdných a klimatických faktorov, pestovanej plodiny, agrotechniky a v neposlednej miere od citlivosti samých mikroorganizmov.

Na prítomnosť týchto chemických prípravkov citlivo reagujú tiež hrčkotvorné baktérie. Veľký počet prác poukazuje nielen na zmeny v počte týchto baktérií, ale predovšetkým na zmeny ich charakteristických vlastností, fixačnej aktivity a virulencie. Najviac autorov sa zaoberá vplyvom herbicídov na rhizobia (Carlyle a Thorpe 1947, Wróbel 1952, Fletcher a Alcorn 1958, Vintikova, Škrdleta a Šrogl 1965, Kaszubiak 1966 a. i.). Značná pozornosť je venovaná fungicídmi (Jakubisiak a Golebiowska 1963, Wróbel 1963) a tiež insekticídmi (Brakel 1963).

V literatúre je pomerne málo údajov o vplyve následného pôsobenia pesticídov na vlastnosti rhizobií, fixačnú aktivitu a virulentnosť.

MATERIÁL A METÓDA

V nádobových pokusoch s kremičitým pieskom sa skúšal následný účinok prípravku Melipax na virulentnosť a fixačnú schopnosť hrčkotvorných baktérií u lucerny. Preparát Melipax obsahuje 10 % účinnej látky toxafénu. Je to chlórovaný

polycyklický uhlovodík (zmes chlorovaných camphenov) v praxi používaný ako insekticíd.

Z prvej etapy, v ktorej sa vo vegetačných nádobách skúšal priamy účinok Melipaxu pri rôznych dávkach, spôsobe a dobe zapracovania na rhizóbia, sa získali z jednotlivých variantov pokusu z rastlín lucerny izoláty *Rhizobium meliloti*.

Lucerna sa po dobu 60 dní pestovala v nádobách so sterilným kremičitým pieskom za použitia Prianišnikovho živného roztoku s redukovanou dávkou N. Sterilné semená lucerny boli inokulované izolátmi získanými z hrčiek rastlín nasledovných variantov, v ktorých bol Melipax použitý v troch spôsoboch: a) Melipax zapracovaný do piesku pri plnení nádob a sterilizovaný; b) Melipax nesterilný, zapracovaný do piesku tesne pred sejbou; c) Melipax aplikovaný na list po 30 dňoch vegetácie lucerny. Pri všetkých týchto spôsoboch bol skúšaný tento prípravok v troch dávkach:

1. dávka 30 mg na nádobu, tj. 75 ppm
2. dávka 50 mg na nádobu, tj. 125 ppm
3. dávka 100 mg na nádobu, tj. 250 ppm

Pri kontrole boli semená lucerny očkované izolátom získaným z hrčiek variantu, kde u predchádzajúceho pokusu nebol Melipax aplikovaný.

V nádobách sa pestovali 4 rastliny a každý variant mal 6 opakovaní.

Pri vyhodnotení pokusu sa zisťoval počet hrčiek na koreňoch lucerny, váha rastlín, nadzemnej časti a koreňov v čerstvom stave a po vysušení. Výsledky boli štatisticky vyhodnotené Wilcoxonovým α -testom a Studentovým t-testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V prvej etape pokusov pri priamom použití Melipaxu sa znížil pri všetkých spôsoboch aplikácie počet vytvorených hrčiek. Najdepresívnejšie pôsobil pri porovnaní s kontrolou bez použitia Melipaxu spôsob, pri ktorom sa Melipax zapracoval do piesku tesne pred sejbou (55 %). Pri zapracovaní prípravku do piesku a po sterilizácii sa vytvorilo 64,2 % hrčiek, kým pri aplikácii na list po 30 dňoch vegetácie až 72 % hrčiek. Stupňujúcimi dávkami Melipaxu (30, 50 a 100 mg) klesal počet vytvorených hrčiek (77,6, 61,3, 52,3 %).

Melipax výrazne depresívne vplýval aj na množstvo vyprodukovanej hmoty lucerny. Najmenej zelenej hmoty sa vytvorilo pri zapracovaní prípravku do piesku tesne pred sejbou (43,9 %). Po Melipaxe zapracovanom do piesku pri plnení nádob a po sterilizácii sa vytvorilo 52,2 % a pri aplikácii na list až 80,9 % zelenej hmoty. Stúpajúcimi dávkami klesala úroda zelenej hmoty v poradí 73,5, 52,3 a 51,2 %. Získané výsledky suchej hmoty sú ešte výraznejšie. Rastliny lucerny ošetrované Melipaxom vytvárali tiež v priemere menší počet internódii.

V druhej etape sa použili pri porovnaní následného pôsobenia i bez priamej aplikácie Melipaxu ku inokulácii iba izoláty z variantov predchádzajúcich pokusov (tab. I).

Výsledky pri porovnávaní reziduálneho vplyvu na virulentnosť ukázali, že pri spôsobe zapracovania Melipaxu do piesku tesne pred sejbou, pri dávke 30 a 50 mg, sa počet hrčiek na rastlinách nelíšil od kontroly bez Melipaxu, ba bol ešte na týchto variantoch o málo vyšší (103,3 %, 105,7 %). Najvyššia dávka 100 mg pôsobila pri tomto spôsobe aplikácie depresívne (86,8 %). Tieto rozdiely sú štatisticky nepreukazné. Podobný obraz možno zaznamenať aj pri druhom spôsobe aplikácie, pri ktorom hrčky týchto variantov boli vystavené účinku Melipaxu zapracovaného do piesku pri plnení do vegetačných nádob a potom sterilizovaného. Pri nižšej dávke (30 mg) sa zvyšuje počet hrčiek (114,8 %) a pri strednej dávke sa počet hrčiek oproti kontrole takmer nelíši

I. Počet hrčiek vytvorených na koreňoch lucerny inokulovanej rhizóbiami ovplyvnenými rôznymi dávkami a spôsobom aplikácie Melipaxu. — Number of nodules formed on the roots of alfalfa inoculated by rhizobia, influenced by various doses of Melipax and the method of application

Variant	Počet celkom	Ø na rastlinu	Ø na rastlinu v %	Variant	Počet celkom	Ø na rastlinu	Ø na rastlinu v %
Kontrola bez Melipaxu	22 21 33 14 13 19	5,50 5,25 8,25 3,50 3,25 4,75	5,08 100,00	50 mg Melipaxu do piesku a sterilizovaného	21 16 19 20 16 28	5,25 4,00 4,75 5,00 4,00 7,00	5,00 98,40
30 mg Melipaxu do piesku tesne pred sejbou	18 16 29 27 20 16	4,50 4,00 7,25 6,75 5,00 4,00	5,25 103,30	100 mg Melipaxu do piesku a sterilizovaného	18 9 30 14 16 17	4,50 2,25 7,50 3,50 4,00 4,25	4,33 85,20
50 mg Melipaxu do piesku tesne pred sejbou	34 20 16 16 20 23	8,50 5,00 4,00 4,00 5,00 5,75	5,37 105,70	30 mg Melipaxu aplikovaného na list	21 14 17 14 16 16	5,25 3,50 4,25 3,50 4,00 4,00	4,08 80,30
100 mg Melipaxu do piesku tesne pred sejbou	14 23 17 15 17 20	3,50 5,75 4,25 3,75 4,25 5,00	4,41 86,80	50 mg Melipaxu aplikovaného na list	18 9 15 5 12 19	4,50 3,00 3,75 1,25 3,00 4,75	3,37 66,40
30 mg Melipaxu do piesku a sterilizovaného	21 22 30 22 23 22	5,25 5,50 7,50 5,50 5,75 5,50	5,83 114,80	100 mg Melipaxu aplikovaného na list	12 16 11 14 12 7	3,00 4,00 2,75 3,50 3,00 1,75	3,00 59,00

II. Množstvo zelenej a suchej hmoty lucerny inokulovanej rhizóblami ovplyvnenými rôznymi dávkami a spôsobom aplikácie Melipaxu. — Amount of green and dry matter of alfalfa inoculated by rhizobia under the influence of various doses of Melipax and the method of application

Variant	Zelená hmota v g				Suchá hmota v g			
	celkové množstvo	Ø na nádobu	Ø na rastlinu	%	celkové množstvo	Ø na nádobu	Ø na rastlinu	%
Kontrola bez Melipaxu neočkovaná	3,42	0,56	0,14	44,0	0,536	0,089	0,022	49,1
Kontrola bez Melipaxu očkovaná	7,77	1,28	0,32	100,0	1,091	0,181	0,045	100,0
30 mg Melipaxu pred sejbou	6,66	1,10	0,27	85,7	0,983	0,163	0,040	90,0
50 mg Melipaxu pred sejbou	6,78	1,13	0,28	87,2	1,050	0,174	0,043	96,2
100 mg Melipaxu pred sejbou	7,49	1,24	0,30	96,4	1,076	0,179	0,044	98,6
30 mg Melipaxu sterilizovaného	7,54	1,25	0,31	97,0	1,062	0,176	0,043	97,3
50 mg Melipaxu sterilizovaného	6,58	1,08	0,27	84,7	1,012	0,168	0,041	92,7
100 mg Melipaxu sterilizovaného	4,92	0,82	0,20	63,3	0,749	0,124	0,030	68,6
30 mg Melipaxu na list	4,79	0,79	0,19	61,6	0,644	0,107	0,027	59,0
50 mg Melipaxu na list	4,20	0,69	0,18	54,0	0,629	0,104	0,026	57,6
100 mg Melipaxu na list	3,65	0,61	0,15	47,0	0,526	0,088	0,022	48,2

(98,4 %), avšak pri najvyššej dávke, podobne ako u predchádzajúceho spôsobu aplikácie, dochádza pri tvorbe hrčiek k depresívnemu účinku (85,2 %). Tento rozdiel je podľa Wilcoxonovho α -testu preukazný, avšak podľa Studentovho t -testu nepreukazný.

Výsledky dosiahnuté pri aplikácii Melipaxu na list sú úplne v protiklade s výsledkami získanými v prvej etape pokusov. Tento spôsob aplikácie pri priamom použití Melipaxu pôsobil na tvorbu hrčiek najmenej depresívne, kým pri následnom pôsobení sa na týchto variantoch pri všetkých troch dávkach vytvorilo najmenej hrčiek (80,3, 66,4 a 59,0 %). Rozdiely pri dávke 30 mg sú nepreukazné, avšak pri dávkach 50 a 100 mg sú podľa $W\alpha$ -testu preukazné a podľa t -testu vysoko preukazné (tab. II).

Pri zhodnotení intenzity fixácie, posudzovanej podľa váhy zelenej hmoty rastlín lucerny, vidieť, že najväčšie množstvo hmoty sa vytvorilo na kontrolnom variante bez Melipaxu a očkovanom. Najmenej hmoty sa vytvorilo na variante bez Melipaxu, ktorý nebol očkovaný; váha tu činila pri porovnaní s kontrolou 44,0 %. Po aplikácii Melipaxu pred sejbou, nastáva určité zníženie tvorby zelenej hmoty, avšak neprejavil sa tu vplyv stupňovaných dávok. Pri dávke 30 mg činila váha zelenej hmoty 85,7, pri dávke 50 mg 87,2 % a pri dávke 100 mg sa znižuje len veľmi málo (96,4 %). Zníženie je pri dávke 30 mg podľa $W\alpha$ — preukazné a podľa t -testu vysoko preukazné; pri dávke 50 mg sú rozdiely podľa oboch štatistických metód preukazné. Množstvo zelenej hmoty lucerny, vypro-

III. Štatistické zhodnotenie jednotlivých variantov pokusu podľa Wilcoxonovho α -testu vzhľadom ku kontrole bez Melipaxu. — Statistical evaluation of individual variants of the experiment according to Wilcoxon's α -test with regard to the control without Melipax application

Variant	Počet hrčiek		Zelená hmota		Suchá hmota		Variant	Počet hrčiek		Zelená hmota		Suchá hmota	
	$W\alpha$	preuk.	$W\alpha$	preuk.	$W\alpha$	preuk.		$W\alpha$	preuk.	$W\alpha$	preuk.	$W\alpha$	preuk.
30 mg Melipaxu do piesku pred sejbou	8	—	0	+	3	—	100 mg Melipaxu do piesku sterilizovaného	0	+	0	+	0	+
50 mg Melipaxu do piesku pred sejbou	2,5	—	0	+	7	—	30 mg Melipaxu na list	1	—	0	+	0	+
100 mg Melipaxu do piesku pred sejbou	1,5	—	8	—	6	—	50 mg Melipaxu na list	0	+	0	+	0	+
30 mg Melipaxu do piesku sterilizovaného	3	—	7	—	9	—	100 mg Melipaxu na list	0	+	0	+	0	+
50 mg Melipaxu do piesku sterilizovaného	5	—	0	+	3	—	Bez Melipaxu neočkované			0	+	0	+

$W\alpha 0,05 = 0,3$

dukované po inokulácii izolátmi získanými z rastlín, pri ktorých bol aplikovaný Melipax zapravený do piesku a sterilizovaný pri dávke 30 mg, sa takmer nelíšilo od kontrolného variantu (97,0 %). Pri dávke 50 mg možno zaznamenať pri tomto spôsobe aplikácie ďalšie zníženie (84,7 %) a dávka 100 mg už pôsobila výrazne depresívne (63,3 %). Tieto rozdiely (50, 100 mg) sú podľa $W\alpha$ -testu preukazné a podľa t -testu vysoko preukazné (tab. III).

Preukazné rozdiely boli ďalej štatisticky hodnotené podľa Studentovho t -testu (tab. IV).

IV. Štatistické zhodnotenie podľa Studentovho t -testu. — Statistical evaluation according to Student's t -test

Variant	Počet hrčiek		Zelená hmota		Suchá hmota	
	hodnota t	preukaz.	hodnota t	preukaz.	hodnota t	preukaz.
30 mg Melipaxu do piesku pred sejbou			4,179	++		
50 mg Melipaxu do piesku pred sejbou			2,777	+		
50 mg Melipaxu do piesku sterilizovaného			8,839	++		
100 mg Melipaxu do piesku sterilizovaného	2,187	—	9,368	++	7,073	++
30 mg Melipaxu na list	2,171	—	4,723	++	3,284	+
50 mg Melipaxu na list	5,538	++	15,699	++	23,053	++
100 mg Melipaxu na list	4,633	++	14,880	++	13,818	++
Bez Melipaxu neočkované			12,288	++	10,492	++

$t_{0,05} = 2,571$

$t_{0,01} = 4,032$

Podobne ako pri tvorbe hrčiek, výrazne depresívne pôsobila na tvorbu zelenej hmoty aplikácia Melipaxu počas vegetácie na list. Už pri dávke 30 mg možno konštatovať výrazne depresívny vplyv, keď sa vytvorilo na tomto variante iba 63,3 % zelenej hmoty. Dávka 50 mg spôsobila ďalšie zníženie (54 %) a množstvo zelenej hmoty získanej po dávke 100 mg sa takmer vyrovná množstvu, ktoré sa získalo u lucerny bez inokulácie (47,0 %). Toto zníženie je vo všetkých prípadoch podľa $W\alpha$ -testu preukazné a podľa t -testu vysoko preukazné.

Výsledky získané po vysušení zelenej hmoty ukázali nepatrný vplyv následného pôsobenia Melipaxu pri aplikácii pred sejbou pri všetkých troch dávkach i pri aplikácii do piesku po sterilizácii okrem najvyššej dávky 100 mg. Pri

1. Počet hrčiek, váha zelenej a suchej hmoty v percentách pod vplyvom následného pôsobenia Melipaxu. — Number of nodules, percentage weight of the green and the dry matter under the influence of the subsequent action of Melipax

tejto dávke je množstvo suchej hmoty podľa $W\alpha$ -testu preukazné a podľa t -testu vysoko preukazne nižšie.

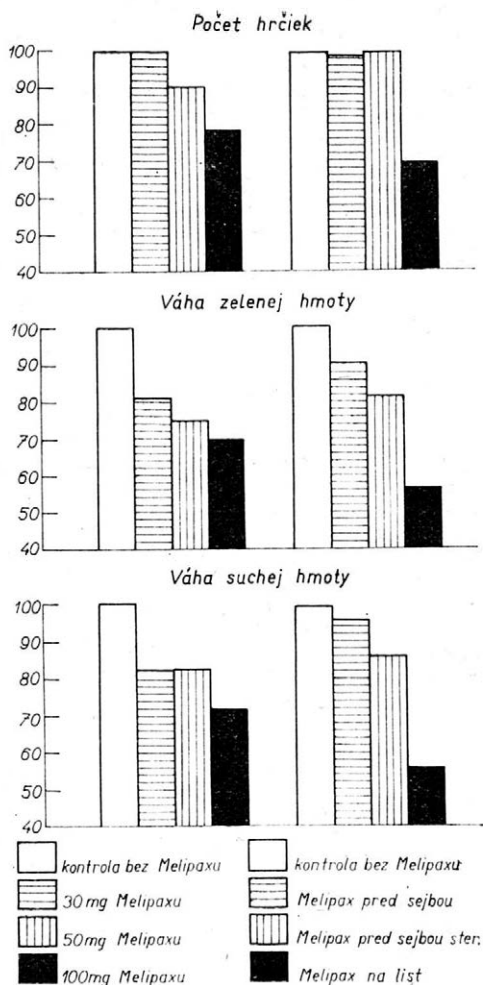
Depresívny vplyv aplikácie na list vo všetkých troch dávkach tu bol ešte výraznejší. Všetky tieto rozdiely sú podľa $W\alpha$ -testu preukazné, podľa t -testu vysoko preukazné (obr. 1).

Pri sumárnom hodnotení jednotlivých spôsobov aplikácie (obr. 1) vidieť, že pri následnom pôsobení Melipaxu zapraveného do piesku sa pri oboch spôsoboch takmer nezníži tvorba hrčiek (98,3 % a 99,7 %, kým pri tvorbe zelenej hmoty možno zaznamenať určitý pokles (89,8 %), výraznejší pri Melipaxe sterilizovanom (81,7 %)). Pri hodnotení suchej hmoty sú rozdiely menšie (94,9 a 86,2 %). Výrazne depresívny účinok sa prejavil po aplikácii na list u všetkých troch sledovaných ukazovateľov, ako tvorba hrčiek (68,6 %), množstvo zelenej hmoty (54,2 %) a suchej hmoty (54,9 %).

Sumárne hodnotenie stupňovaných dávok ukázalo pri dávke 30 mg nepatrný vplyv na tvorbu hrčiek (99,5 %) a určitý depresívny vplyv na tvorbu zelenej (81,3 %) a suchej (82,1 %) hmoty. Ďalším stupňovaním dávok Melipaxu klesá tvorba hrčiek a množstvo hmoty lucerny. Pri dávke 50 mg sa ich vytvorilo 90,2 %, ďalej 75,0 % zelenej a 82,2 % suchej hmoty. Veľmi markantný je tento pokles pri najvyššej dávke 100 mg, keď počet hrčiek pri porovnaní s kontrolou činil len 77 % a množstvo zelenej hmoty lucerny 68,9 % a suchej hmoty 71,8 %.

Literatúra

- BRAKEL J., 1963, Action sur le *Rhizobium* de divers fongicides et insecticides commerciaux. Ann. Inst. Pasteur, 105 : 143-149.
CARLYLE R. E., THORPE J. D., 1947, Some effects of amonium and sodium 2,4 dichlorophenoxyacetates on legumes and the *Rhizobium* bacteria. J. Agron., 39 : 929-936.



- FLETCHER W. W., ALCORN J. W. S., 1958, The effect of translocated herbicides on rhizobia and the nodulation of legumes. *Nutrition of the Legumes*. Butterworths, Lond., 284-288.
- KASZUBIAK H., 1966, The effect of herbicides on *Rhizobium* I. Susceptibility of *Rhizobium* herbicides. *Acta microbiol. Polon.*, 15 : 357-364.
- JAKUBISIAK B., GOLEBIEWSKA J., 1963, Influence of fungicides on *Rhizobium*. *Acta microbiol. Polon.*, 12 : 196-202.
- VINTIKOVÁ H., ŠKRDLETA V., ŠROGL M., 1965, The sensitivity of nodule bacteria to several herbicides. *Plant Microbes Relationships*, Prague, Czechosl. Akad. Sci. pp. 264-268.
- WRÓBEL T., 1952, Wpływ herbicydu 2,4-D na rozwój rhizobium. *Acta microbiol. Polon.*, pp. 39-41-1963, Influence of fungicides on symbiosis of *Rhizobium* with pea and lupine. *Acta microbiol. Polon.*, 12 : 203-207.

Došlo dne 31. 10. 1968

HABÁN L. Vplyv reziduálneho pôsobenia prípravku Melipax na virulentnosť a fixačnú aktivitu *Rhizobium meliloti*. *Rostlinná výroba* (Praha) 15 (2) : 201-208, 1969.

Pri oboch spôsoboch zapravenia prípravku Melipax v nádobových pokusoch s kremičitým pieskom sa takmer neznižil počet hrčiek (98,3, 99,7 %). Po inokulácii izolátmi hrčiek, ktoré boli získané z rastlín ošetrovaných počas vegetácie na list, značne poklesla tvorba hrčiek (68,6 %). Pri stupňovaných dávkach vidieť, že dávka 30 mg nepôsobila na tvorbu hrčiek (99,5 %). Pri dávke 50 mg poklesol mierne (90,2 %) a pri 100 mg výrazne počet hrčiek (77 %). V množstve vytvorenej hmoty lucerny sa čiastočne znížila tvorba zelenej hmoty pri oboch aplikáciách pred sejbou (89,8 a 81,7 %). Najmenej hmoty sa vytvorilo po aplikácii na list (54,2 %). Stúpajúcimi dávkami klesalo množstvo vytvorenej zelenej hmoty (81,3, 75 a 68,9 %). Výsledky získané pri suchej hmote lucerny sú podobné, iba množstvo hmoty po dávke 30 mg a 50 mg sa navzájom nelíši.

ГАБАН Л. (Научно-исследовательский институт растениеводства, Пиештяны). Влияние остаточного последствия препарата Melipax на вирулентность и фиксирующую активность *Rhizobium meliloti*. *Rostlinná výroba* (Praha) 15 (2) : 201-208, 1969.

При обоих способах заделки препарата Melipax в вегетационные сосуды с кремневым песком число клубеньков почти что не снижается (93,3 %, 99,7 %). После инокуляции изолятами клубеньков, полученными из растений, обработанных в период вегетации внекорневой подкормкой, произошло значительное понижение образования клубеньков (68,6 %). При дифференцированных нормах очевидно, что доза 30 мг препарата Melipax не действовала на образование клубеньков (99,5 %). При дозе 50 мг происходит небольшое (90,2 %), а при 100 мг — резкое понижение числа клубеньков (77 %). В количестве образовавшейся массы люцерны частичное понижение образования зеленой массы происходит при обоих способах обработки до посева (89,8 % и 81,7 %). Однако, меньше всего образуется массы после внекорневой подкормки (54,2 %). Количество образовавшейся зеленой массы понижается с ростом вносимых доз (81,3 %, 75 % и 68,9 %). Результаты, полученные у сухого вещества люцерны, аналогичны, так как количество массы после 30 мг и 50 мг доз не отличается друг от друга.

Adresa autora:

Ing. Ladislav Habán, CSc., Výskumný ústav rastlinnej výroby, Piešťany

O PŮSOBNÍ BENTONITU NA ENZYMATICKOU AKTIVITU PŮDNÍ MIKROFLÓRY

Z. AMBROŽ

AMBROŽ Z. (University of Agriculture, Brno). *On the Effect of Bentonite on the Enzymatic Activity of the Soil Microflora. Rostlinná výroba* (Praha) 15 (2) : 209-214, 1969.

The presence of bentonite (0,1-2 per cent) in a sandy and in a liquid environment with proteins stimulates the forming of neutral and alkaline proteases in mixed bacterial cultures as well as the catalase activity. In the case of a concentration of over 5 per cent in the nutrient environment a depressive influence predominates. In the presence of bentonite the accumulation curves of enzymes reach their maxima earlier than they do in the control medium. Proteases absorbed by 15 % bentonite are inactivated by 75 per cent.

protein decomposition; clay minerals; bacterial stimulation

Jílovitá frakce půdy je pokládána za neobyčejně důležitou při určování půdních vlastností. Na činnosti mikrobů se může projevovat jak nepřímá sorpcí živin, mikrobiálních metabolitů, produktů autolýzy i přímým působením koloidních částic s buňkami mikrobů.

O schopnosti jílových minerálů fixovat různé organické sloučeniny a tím je do jisté míry chránit před rozkladem existuje rozsáhlá literatura, která byla v poslední době shrnuta v monografii Calveta (1963). Z experimentálních pokusů jsou zajímavé výsledky Talibudeena (1965), Pincka, Dyala, Allisona (1954) a dále McLarena se spolupracovníky (1958), ze kterých vyplývá, že organické látky, především bílkoviny, mohou být jílovými minerály vázány různým způsobem, závislým na vzájemném poměru mezi minerálem a bílkovinou. V úvahu přichází i možnost povrchové koncentrace bílkoviny na jílovém minerálu současně s proteolytickými enzymy, čímž je za určitých podmínek, jak uvádí Estermanová a spol. (1959), dána možnost intenzivnějšího rozkladu.

Durand (1966) studoval fixaci purinových a pyrimidinovýchází bentonitem. Zjistil, že v kyselém prostředí jde o výměnu kationtů tvořených bazemi za ionty H^+ a Al^{3+} bentonitu. Současně s kyselinou močovou může být vázána i urikáza, čímž je její aktivita snižována. Enzym působí i v sorbovaném stavu a nemusí být předem vytěsněn do roztoku.

Uváděné pokusy se sorpcí organických látek na jílové minerály byly v převážné míře konány za abiotických podmínek, kdy rozklad byl uskutečněn přidáním příslušných enzymatických preparátů. Za přítomnosti mikrobů je situace komplikovanější. Vedle možnosti sorpce a desorpce organických látek, mezi nimi i enzymů, uplatňuje se i jejich dostupnost pro mikroby. Na tento stav reagují mikroby odchylným způsobem, lišíc se od rozkladu samotné organické látky. Mimo to mohou podléhat sorpci i mikroby, takže jejich životní projevy jsou přímo ovlivňovány. Práce, zabývající se účastí mikrobů v popisovaných procesech, jsou poměrně skrovné a proto uvádím jako příspěvek k řešení tohoto problému některé vlastní výsledky.

MATERIÁL A METODY

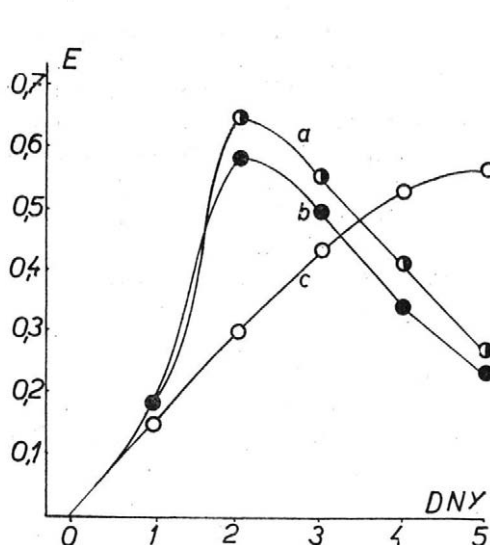
Vliv bentonitu na proteolytickou mikroflóru byl sledován v Petriho miskách naplněných pískem s přidavkem základních minerálních látek (minerální živiny z Thorntonovy půdy) a bílkoviny v koncentraci nejčastěji 1 %. Jako bílkovina byla používána želatina, kasein, ovalbumin nebo sušený vaječný bílek. V dalších pokusech bylo pracováno s tekutým protřepávaným prostředím, složeným z roztoku bílkoviny, minerálních solí a bentonitu v různých koncentracích. Očkováno bylo půdní suspenzí a inkubace probíhala při 28 °C nebo za laboratorní teploty. Každý den po dobu 1 týdne byly v založených pokusech sledovány enzymatické projevy mikroflóry.

Aktivita proteáz byla měřena kolorimetrickou metodou popsanou dříve (Ambrož 1966), aktivita katalázy stanovována běžným způsobem manganometricky.

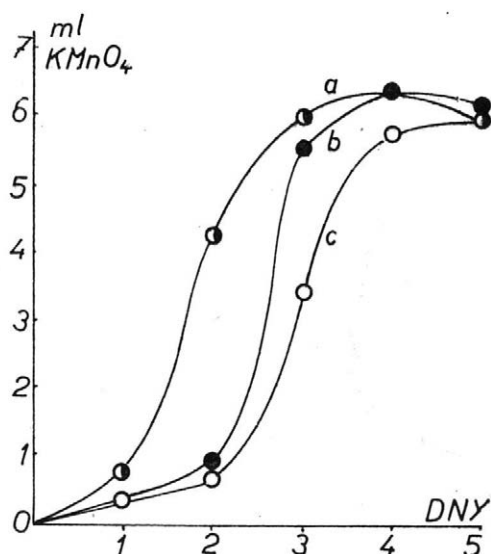
Používán byl bentonit z Braňan, jehož hlavní složkou je montmorillonit s příměsí kaolinitu.

VÝSLEDKY

V pokusech s bentonitem byly vybrány dvě skupiny bakteriálních proteáz, z nichž jedna má optimum pH 6,5 a je označována jako neutrální proteáza (NP), pro druhou je vzhledem ke zvýšenému optimálnímu pH 8,5 používáno označení alkalická (AP). Po vícenásobném provedení pokusů se projevoval vliv bentonitu následovně: při nízkých koncentracích od 0,1–2 % působil na mikrobiální produkci proteáz výrazně stimulačně (Obr. 1, 2).



1. Aktivita neutrálních proteáz během inkubace tekutého prostředí s 1 % želatiny a přidavkem bentonitu: a — 0,1 %; b — 1 %; c — kontrola bez bentonitu. — Activity of neutral proteases during the incubation of a liquid medium and 1 per cent of gelatine with the addition of bentonite (a = 0.1 per cent; b = 1 per cent; c = control without bentonite)

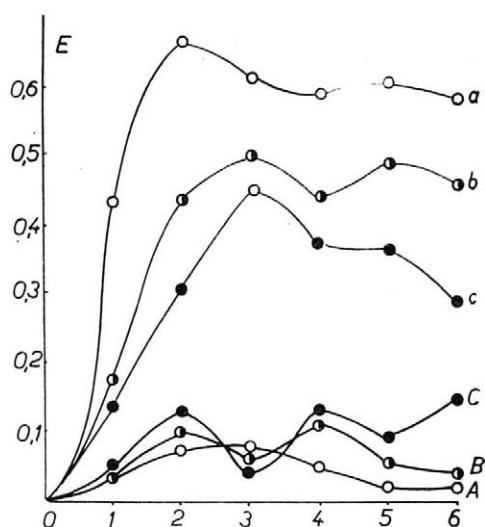


2. Aktivita katalázy v tekutém prostředí s 1 % želatiny a přidavkem bentonitu: a — 0,1 %; b — 1 %; c — kontrola bez bentonitu. — Activity of the catalase in a liquid medium with 1 per cent of gelatine and the addition of bentonite. a = 0.1 per cent; b = 1 per cent; c = control without bentonite

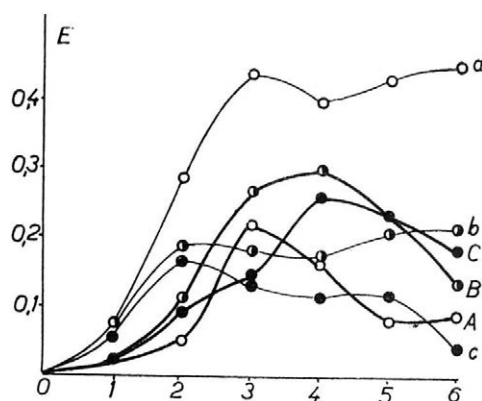
Při zvýšeném obsahu bentonitu v prostředí na 2–5 % nebyl jeho vliv jednoznačný, při vysokých dávkách nad 10 % se často objevovala deprese aktivity proteáz i katalázy. V prostředí s bentonitem se dostavovalo maximum enzymatické aktivity dříve, a to i ve značném počtu případů, kdy již působil depresivně. Přehledně jsou výsledky enzymatických analýz uvedeny v tabulce I.

I. Vliv bentonitu na enzymatickou aktivitu mikrobů (uvedeno % kladných výsledků). — Influence of bentonite on the enzymatic activity of microbes (given as percentage of positive results)

Stimulace enzymů			
	bentonit 0,1–2 %	bentonit 2–4 %	bentonit 5–20 %
Neutrální proteázy	93 % (15 pokusů)	66 % (6 pokusů)	28 % (7 pokusů)
Alkalické proteázy	87 % (15 pokusů)	50 % (6 pokusů)	14 % (7 pokusů)
Kataláza	93 % (15 pokusů)	83 % (6 pokusů)	28 % (7 pokusů)
Předstih enzymového maxima			
Neutrální proteázy	100 % (14 pokusů)	86 % (7 pokusů)	43 % (7 pokusů)
Alkalické proteázy	85 % (14 pokusů)	71 % (7 pokusů)	30 % (7 pokusů)
Kataláza	93 % (14 pokusů)	100 % (7 pokusů)	71 % (7 pokusů)



3. Dynamika volných (a, b, c) a sorbovaných (A, B, C) neutrálních proteáz v tekutém prostředí s 0,8 % vaječného bílku. a, A — přidavek 1 % bentonitu; b, B — 10 % bentonitu; c, C — 20 % bentonitu. — Dynamics of free (a, b, c) and absorbed (A, B, C) neutral proteases in a liquid medium with 0.8 per cent of egg albumin. a, A — supplement of 1 per cent of bentonite; b, B — 10 per cent of bentonite; c, C — 20 per cent of bentonite



4. Dynamika volných (a, b, c) a sorbovaných (A, B, C) alkalických proteáz v tekutém prostředí s 0,8 % vaječného bílku. a, A — přidavek bentonitu 1 %; b, B — 10 % bentonitu; c, C — 20 % bentonitu. — Dynamics of free (a, b, c) and absorbed (A, B, C) alcaleic proteases in a liquid medium with 0.8 per cent of egg albumin. a, A — supplement of 1 per cent of bentonite; b, B — 10 per cent of bentonite; c, C — 20 per cent of bentonite

Stimulační, respektive depresivní efekt se projevoval jak v prostředí tekutém, tak i pískovém. Nepředpokládal jsem, že by spočíval pouze v mechanickém kontaktu částic bentonitu s těly mikrobů. Pozornost jsem věnoval především sorpčním vlastnostem bentonitu.

V další sérii byl učiněn pokus o sledování dynamiky proteáz a jejich frakcionaci na volné a bentonitem poutané. Sorbované proteázy byly stanovovány nepřímo z rozdílu celkové aktivity vzorků s bentonitem a aktivity po jeho odstředění (obr. 3 a 4).

Z výsledků vyplývá, že aktivita volných proteáz se zvyšující se koncentrací bentonitu klesá, naproti tomu aktivita sorbovaných vzrůstá. Alkalické proteázy jsou bentonitem silněji poutány než neutrální.

Jak silně inaktivuje bentonit proteázy, ukazuje propočet v tabulce II.

II. Výpočet sorpce a inaktivace proteáz vázaných 15 % bentonitu. — Calculation of the sorption and inactivation of proteases bound by 15 per cent of bentonite

	Neutr. proteázy %	Alkal. proteázy %
A. Původní aktivita enzymů	100 %	100 %
B. Aktivita po přidavku 15 % bentonitu	73 %	59 %
C. Aktivita po odstředění bentonitu	63 %	45 %
D. Na bentonit sorbováno (A — C)	37 %	55 %
E. Aktivita sor. enzymů $\frac{B - C}{D} \cdot 100$	27 %	25 %
F. Inaktivace sorbovaných enzymů (A — E)	73 %	75 %

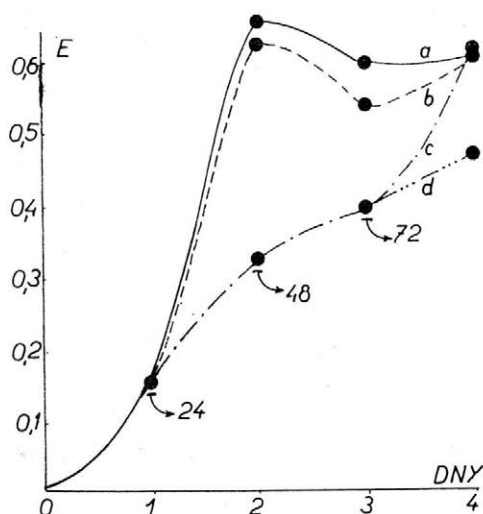
V dalším pokusu s tekutým prostředím, obsahujícím 5 % bentonitu, byl postupně po 24,48 a 72 hod. mírným odstředěním odstraněn ze značné části bentonit a prostředí dále inkubováno. I když byla tímto zásahem část mikroflóry odstraněna, přesto se enzymatická aktivita po odstředění zvýšila a dosahovala hodnot kontroly bez bentonitu. Depresní účinek nespočíval zřejmě ve výměnném uvolňování některých látek z bentonitu, ale v jeho sorpční schopnosti.

DISKUSE

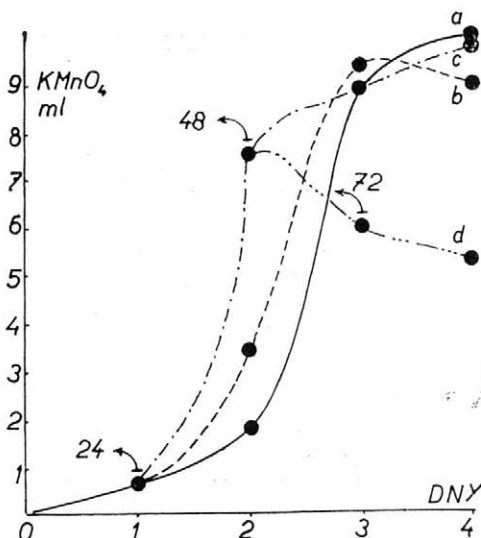
Údaje o vlivu jílových minerálů na biochemickou aktivitu mikrobů jsou značně protichůdné. Existují data o depresních účincích sorbentů na mikroby (Hattori a Furusaka 1961, Durand 1966, Lahav a Keynan 1962, Zvjagincev 1959). Naproti tomu řada autorů se setkala se stimulačním efektem. Příznivý účinek nízkých koncentrací bentonitu na fixační schopnost Azotobaktera konstatuje např. Macura a Pavel (1959), na rozvoj různých skupin mikrobů Filip (1967).

V čem spočívá stimulační efekt jílových minerálů, který nemusí souviset pouze se sorpčními jevy, ale uplatňuje se i za přítomnosti látek, které jsou sorbovány pouze nepatrně, lze dosud těžko říci.

Za podmínek popsanych v předložené práci by mimo koncentrování substrátu a enzymů na povrchu jílových minerálů mohl přicházet v úvahu ještě



5. Vliv odstranění bentonitu (5 %) na dynamiku neutrálních proteáz. a — kontrola bez bentonitu; bentonit odstraněn: b — po 24 hod. inkubace; c — po 48 hod.; d — po 72 hod. — Influence of the removal of bentonite (5 per cent) on the dynamics of neutral proteases. a — control without bentonite; removed bentonite; b — after 24 hr of incubation; c — after 48 hr; d — after 72 hr



6. Vliv odstranění bentonitu (5 %) na dynamiku katalázy. a — kontrola bez bentonitu. Bentonit odstraněn: b — po 24 hod. inkubace; c — po 48 hod.; d — po 72 hod. — Influence of the removal of bentonite (5 per cent) on the dynamics of the catalase, a — control without bentonite; removed bentonite; b — after 24 hr of incubation; c — after 48 hr of incubation; d — after 72 hr of incubation.

další moment. Částečnou sorpcí se vytváří za přítomnosti bentonitu prostředí s relativně sníženým obsahem přístupných živin a reakcí mikrobů na tento stav může být vyšší enzymatická produkce. Při vyšších koncentracích bentonitu by intenzivnější tvorba enzymů byla maskována silnou jejich sorpcí a inaktivací. Na tuto možnost ukazují i některé výsledky, ale v několika případech i poměrně vysoké dávky bentonitu natolik stimulovaly mikroby, že se depresní efekt neobjevil.

Předstih enzymového maxima v prostředí s bentonitem souvisí pravděpodobně s jevem, popsáným Novákovou (1968), která zjistila zkrácení lagové fáze při studiu vlivu bentonitu na růstovou křivku *E. coli*. Hattori a Furusaka (1961) popisují podobný jev u *Azotobacter agile* a domnívají se, že je způsoben vazbou určité buněčné nukleotidové frakce sorbentem, která vyvolává latenční fázi.

Literatura

- AMBROŽ Z., 1966, Some notes on the determination of activities of certain proteases in the soil. *Acta Univ. agric. Brno* 1: 57-62.
 CALVET R., 1963, Mise au point bibliographique: les complexes organiques des argiles. *Annales Agron.* 14, 1: 31-117.
 DURAND G., 1966, Contribution à l'étude de la biologie du sol. Sur le catabolisme des acides nucléiques et de leurs dérivés. Diss. Nr. 260, Université de Toulouse, fac. des sciences, p. 233.

- ESTERMANN E., McLAREN A. D., 1959, Stimulation of bacterial proteolysis by adsorbents. *J. Soil Sci.* 10, 1 : 64-78.
- FILIP Z., 1968, Vliv nízkých dávek bentonitu na rozvoj některých skupin mikroorganismů v půdní kultuře. *Rostlinná výroba* 14, 2 : 209-216.
- HATTORI T., FURUSAKA C., 1961, Chemical activities of *Azotobacter agile* adsorbed on a resin. *J. Bioch.* 50 : 312-315.
- LAHAV N., KEYNAN A., 1962, The influence of bentonite and attapulgite on the respiration of *Bacillus subtilis*. *Canad. J. Microbiol.* 8 : 565-572.
- MACURA J., PAVEL L., 1959, The influence of montmorillonite on nitrogen fixation by *Azotobacter*. *Folia Microbiol.* 4, 2 : 82-90.
- McLAREN A. D., PETERSON G. H., BARSHAD J., 1958, The adsorption and reactions of enzymes and proteins on clay minerals. *Soil Sci. Amer. Proc.* 22 : 239-244.
- NOVÁKOVÁ J., 1968, Vliv bentonitu a kaolinitu na růstovou křivku *E. coli*. Ref. na 7. výroč. sjezdu Čs. spol. mikrobiol. při ČSAV, Luhačovice.
- PINCK L. A., DYAL R. S., ALLISON F. E., 1954, Protein-montmorillonite complexes, their preparation and the effects of soil microorganisms on their decomposition. *Soil Sci.* 78 : 109-118.
- TALIBUDEEN O., 1950, Interlamellar adsorption of protein monolayers on pure montmorillonoid clays. *Nature* 116 : 236.

Došlo dne 8. 7. 1968

AMBROŽ Z. O působení bentonitu na enzymatickou aktivitu půdní mikroflóry. *Rostlinná výroba* (Praha) 15 (2) : 209-214, 1969.

Přítomnost bentonitu (0,1—2 %) v písčivém i tekutém prostředí s bílkovinou stimuluje u smíšených bakteriálních kultur tvorbu neutrálních alkalických proteáz i aktivitu katalázy. Nad 5 % koncentrace v živném prostředí převažuje depresivní vliv. Akumulační křivky enzymů dosahují za přítomnosti bentonitu dříve maxima než v kontrolním prostředí. Proteázy sorbované 15 % bentonitu jsou ze 75 % inaktivovány.

rozklad bílkovin; jílové minerály; bakteriální stimulace

АМБРОЖ З. (Сельскохозяйственный институт, Брно). К вопросу о влиянии бентонита на enzymaticкую активность почвенной микрофлоры. *Rostlinná výroba* (Прага) 15 (2) : 209-214, 1969.

Наличие бентонита (0,1—2 %) в песчаной и жидкой среде с белком стимулирует у смешанных бактериальных культур образование нейтральных щелочных протеаз и активность каталазы. В питательной среде с концентрацией свыше 5 % преобладает депрессивное влияние. Кривые аккумуляции энзимов при наличии бентонита достигают максимума раньше, чем в контрольной среде. Протеазы, сорбированные 15 % бентонита, инактивированы на 75 %.

разложение белков; илестые минералы; бактериальные стимуляции

Adresa autora:

Doc. ing. Zdeněk Ambrož, CSc., Vysoká škola zemědělská, Brno, Zemědělská 1

VLIV RŮZNÉHO MNOŽSTVÍ BENTONITU A KAOLINITU NA MINERALIZACI GLUKÓZY

II. ČÁST*)

J. NOVÁKOVÁ

NOVÁKOVÁ J. (University of Agriculture, Prague). *The Influence of Different Quantities of Bentonite and Kaolinite on Glucose Mineralization*. II. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 215-220, 1969.

A 1 per cent concentration of bentonite, Na-bentonite, and Ca-bentonite stimulates the mineralization of glucose by the soil microflora in a mineral solution. A lower concentration (0,1 per cent) does not influence mineralization, a higher concentration (3 per cent) exercises a depressive effect. All tested concentrations (0,1, 1, and 3 per cent) of kaolinite, Na-kaolinite, and Ca-kaolinite have a depressive effect on the mineralization of glucose.

glucose mineralization; clays; stimulation of microbial activity; inhibition of microbial activity

Značný vliv různé koncentrace jílových minerálů na růst půdních mikroorganismů a jejich činnost a aktivitu půdních enzymů zaznamenalo již mnoho autorů (Macura a Pavel 1959, Lahav a Keynan 1962, Stotzky 1966, Ambrož 1966, Filip 1967, Macura 1967 a jiní). Ve svých dřívějších pracích jsme popsali výrazný vliv různé koncentrace bentonitu a kaolinitu na růst *E. coli* v čisté kultuře (Nováková 1968) a podstatný vliv koncentrace jílu na stimulaci a inhibici mineralizace glukózy půdní mikroflórou v písku (Nováková 1967).

V této práci chceme předložit výsledky pokusů, ve kterých byla zkoumána mineralizace glukózy půdní mikroflórou při různé koncentraci bentonitu a kaolinitu a jejich monoionických Na- a Ca-forem v minerálním roztoku, tedy v prostředí značně odlišném od písku.

METODIKA

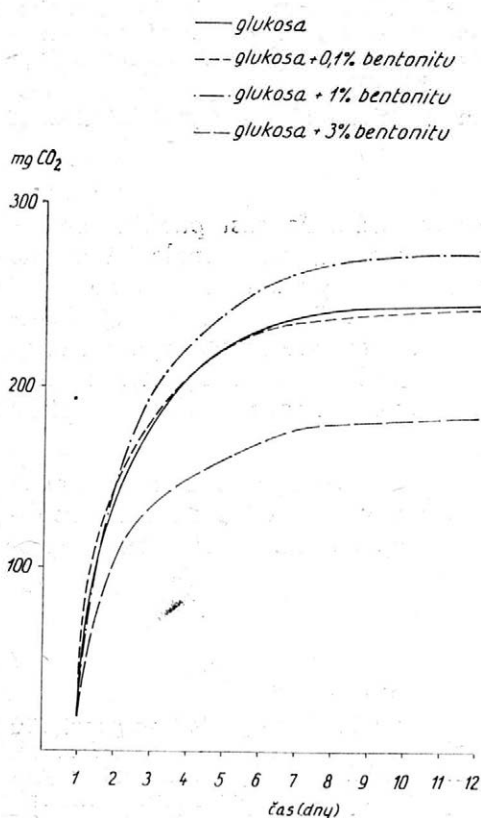
Pokusy byly založeny takto: Do minerálního roztoku jsme přidali suspenzi jílu (braňanského bentonitu separovaného na frakci $< 2 \mu$ nebo komerčního přípravku kaolinitu a jejich monoionických Na- a Ca-forem), která byla třepána 8 hodin s glukózou. Použili jsme 0,1 %, 1 % a 3 % jílu a 0,2 % glukózy. V pokusech jsme používali půdní inokula. Mineralizace glukózy byla sledována denním titračním stanovením uvolněného CO_2 po dobu 12 dnů. Hodnoty endogenní respirace byly ve všech pokusech odečteny.

*) Vliv různého množství bentonitu a kaolinitu na mineralisaci glukosy. I. Uveřejněno Humus et Planta 1967, Praha. (V tisku.)

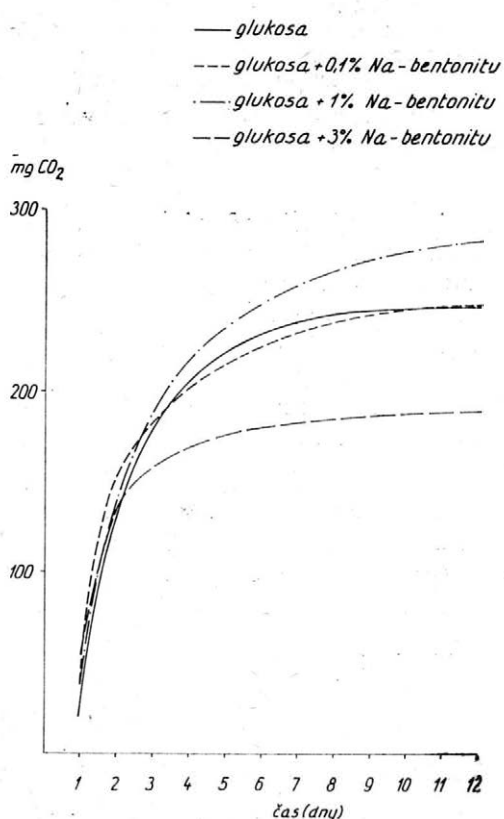
VÝSLEDKY A DISKUSE

Maximální množství CO_2 uvolněného mineralizací glukózy činností půdní mikroflóry v živném minerálním roztoku bylo naměřeno druhý den inkubace. Během prvních dnů inkubace bylo mineralizováno větší množství substrátu než v průběhu dalších 10 dnů, kdy byl pokus ukončen. Za celé období bylo zmineralizováno 84,1 % uhlíku dodaného substrátem.

Přídavek nesaturovaného bentonitu zvětšil v prvních 24 hodinách inkubace respiraci ve všech pokusných koncentracích (graf 1). Se stoupající koncentrací bentonitu se jeho stimulační vliv na mineralizaci substrátu v prvním období zmenšoval. V dalších fázích přeměny glukózy dochází ke zřetelnému zpoždování mineralizace substrátu ve variantě s 3 % bentonitu a depresivní vliv této koncentrace bentonitu se projevil i ve výsledku celkové mineralizace, která byla o 24,75 % nižší než v kontrolní variantě. Přídavek 1 % bentonitu zvyšoval re-



1. Kumulativní křivky CO_2 uvolněného mineralizací glukózy v přítomnosti 0,1 %, 1 % a 3 % bentonitu, půdní mikroflórou v minerálním roztoku. — Cumulative curves of CO_2 released by the mineralization of glucose at 0.1, 1 and 3 per cent of bentonite by the soil microflora in a mineral solution



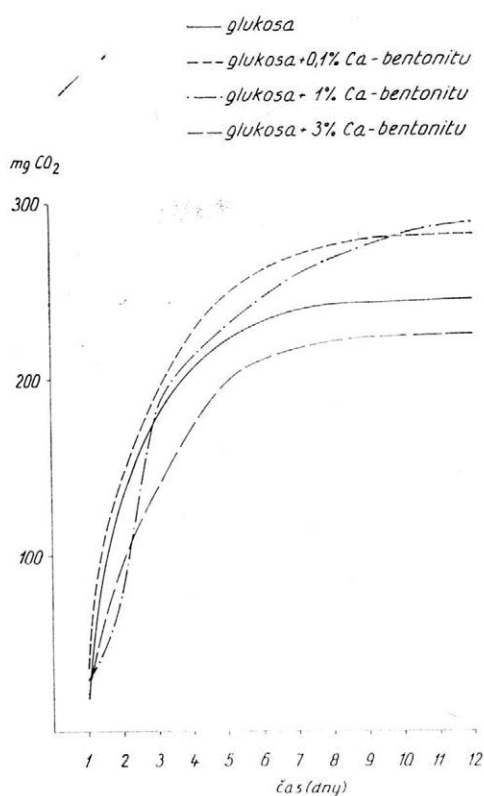
2. Kumulativní křivky CO_2 uvolněného mineralizací glukózy v přítomnosti 0,1 %, 1 % a 3 % Na-bentonitu, půdní mikroflórou v minerálním roztoku. — Cumulative curve of CO_2 released by the mineralization of glucose at 0.1, 1 and 3 per cent of Na-bentonite by the soil microflora in a mineral solution

spiraci až do 8. dne pokusu a celkové množství CO_2 uvolněného za 12 dnů pokusu bylo v této variantě o 11,2 % větší než v kontrolní variantě. Celková mineralizace glukózy a její průběh ve variantě s 0,1 % bentonitu nebyly tímto malým množstvím jílu téměř ovlivněny.

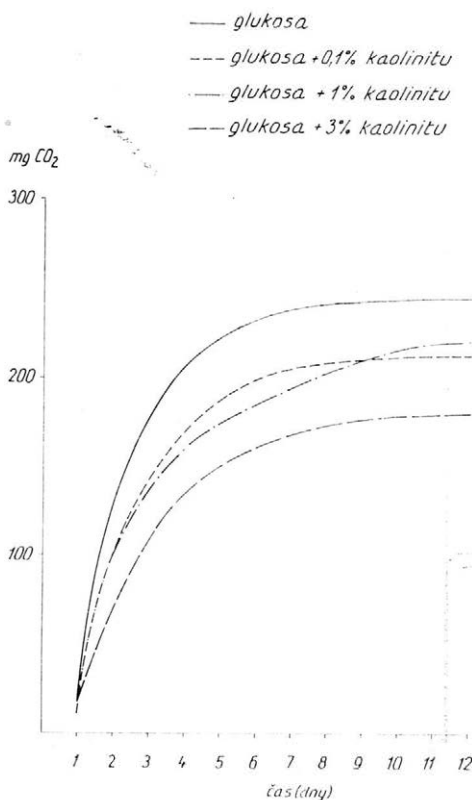
Saturací separovaného bentonitu Na- a Ca-ionty se jeho vliv na průběh a rozsah mineralizace glukózy v zásadě nemění.

Množství 0,1 % Na-bentonitu jen mírně zvýšilo celkovou mineralizaci glukózy (graf 2). 1 % koncentrace Na-bentonitu působila, stejně jako táž koncentrace nesaturovaného bentonitu, stimulačně na mineralizaci glukózy. Celková mineralizace glukózy ve variantě s 3 % Na-bentonitu byla silně negativně ovlivněna a dosáhla hodnoty o 35,3 % nižší než v kontrolní variantě.

Celkově nejsilnější mineralizace substrátu však byla dosažena po přidavku Ca-bentonitu (graf 3). Bentonit v této formě měl již i v nejnižší koncentraci (0,1 %) výrazný stimulační efekt na mineralizaci substrátu. Nejsilnější mine-



3. Kumulativní křivky CO_2 uvolněného mineralizací glukózy v přítomnosti 0,1 %, 1 % a 3 % Ca-bentonitu, půdní mikroflórou v minerálním roztoku. — Cumulative curve of CO_2 , released by the mineralization of glucose at 0.1, 1 and 3 per cent of Ca-bentonite by the soil microflora in a mineral solution



4. Kumulativní křivky CO_2 uvolněného mineralizací glukózy v přítomnosti 0,1 %, 1 % a 3 % kaolinitu, půdní mikroflórou v minerálním roztoku. — Cumulative curve of CO_2 , released by the mineralization of glucose at 0.1, 1 and 3 per cent of kaolinite by the soil microflora in a mineral solution

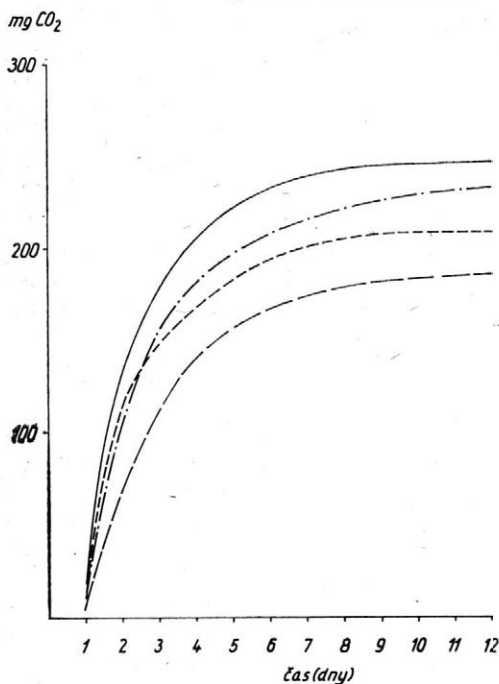
ralizace glukózy byla opět ve variantě s 1 % Ca-bentonitu. Nejvyšší koncentrace tohoto jílů působila na mineralizaci glukózy v tekutém prostředí opět silně de-
presivně.

Pokusy s přidáním kaolinitem byly uspořádány obdobně jako pokusy s bentonitem (grafy 4, 5, 6). Přidaný kaolinit ve všech případech snižoval mineralizaci glukózy ve srovnání s kontrolní variantou. Obdobně jako v pokusech s bentonitem byl i v těchto pokusech pozorován výraznější vliv koncentrace kaolinitu na mineralizaci než jeho iontového obsazení.

Největšího omezení intenzity mineralizace bylo dosaženo při přidavku 3 % kaolinitu. Nejmenší efekt měla dávka 1 %. Pořadí stupně mineralizace glukózy při stupňovaných přidavcích kaolinitu do živného roztoku je shodné jako při použití bentonitu s tím rozdílem, že při nižších koncentracích bentonitu byla mineralizace většinou větší než v kontrolní variantě.

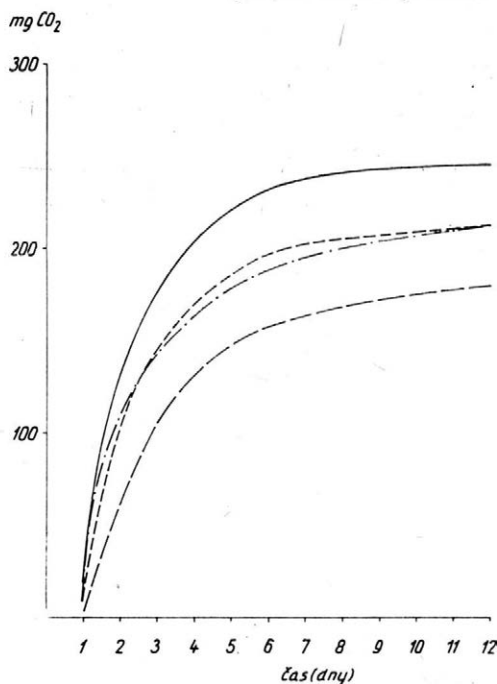
Vysvětlení rozlišného působení různé koncentrace bentonitu a kaolinitu není

— glukosa
--- glukosa + 0,1% Na-kaolinitu
- - - glukosa + 1% Na-kaolinitu
- - - glukosa + 3% Na-kaolinitu



5. Kumulativní křivky CO₂, uvolněného mineralizací glukózy v přítomnosti 0,1 %, 1 % a 3 % Na-kaolinitu, půdní mikroflórou v minerálním roztoku. — Cumulative curve of CO₂, released by the mineralization of glucose at 0,1, 1 and 3 per cent of Na-kaolinite by the soil microflora in a mineral solution

— glukosa
--- glukosa + 0,1% Ca-kaolinitu
- - - glukosa + 1% Ca-kaolinitu
- - - glukosa + 3% Ca-kaolinitu



6. Kumulativní křivky CO₂, uvolněného mineralizací glukózy v přítomnosti 0,1 %, 1 % a 3 % Ca-kaolinitu, půdní mikroflórou v minerálním roztoku. — Cumulative curve of CO₂, released by the mineralization of glucose at 0,1, 1 and 3 per cent of Ca-kaolinite by the microflora in a mineral solution

snadné. Zdá se, že použitý bentonit a kaolinit má na intenzitu mineralizace glukózy půdní mikroflórou nejméně dvojitý zcela odlišný vliv: stimulační a inhibiční. Stimulačního maxima je zřejmě dosaženo při nižší koncentraci bentonitu v použitém mediu než maxima inhibice. Proto při nízkých dávkách přidaného bentonitu převažuje stimulační efekt a při vyšších dávkách efekt inhibiční.

Vliv kaolinitu na mineralizaci glukózy jako substrátu je sice podobný vlivu bentonitu, ale je celkově méně výrazný. Zejména ona složka vlivu, která stimuluje mikrobiální aktivitu anebo růst, je slaběji vyjádřena. Tomuto předpokladu by odpovídaly i výsledky pokusů, kterými jsme prokázali značný inhibiční vliv na růst *E. coli* (NOVÁKOVÁ 1968). Skutečnost, že při přidávku 1 % kaolinitu do media dochází k silnější mineralizaci glukózy než je tomu při přidávku 0,1 % a 3 % ukazuje však na to, že stimulační efekt jílů na potenciální biochemickou aktivitu mikroflóry je i v tomto případě velmi pravděpodobný. Tento stimulační efekt není ovšem možno chápat absolutně jako výslednici vzájemného působení různých protichůdných vlivů.

Touto prací jsme si znovu ověřili rozdílný vliv různých druhů jílů, jejich různého iontového obsazení a jejich koncentrace na mineralizaci glukózy půdní mikroflórou. Dále jsme prokázali ve srovnání s naší dřívější prací (NOVÁKOVÁ 1967) tu skutečnost, že koncentrace jílů, které stimulují mineralizaci glukózy v minerálním roztoku, nejsou stejné jako ty, které stimulují tuto mineralizaci v písku. Proto při hodnocení a porovnávání různých výsledků je nutné přihlížet i k prostředí, ve kterém sledované jevy probíhaly.

Literatura

- AMBROŽ Z., 1966, Über einige Aspekte der Bentonitwirkung auf die mikrobiale Zersetzung der Eiweißstoffe im Boden. Sb. Vys. šk. zem. v Brně 3 : 401-406.
FILIP Z., 1967, Příspěvek ke studiu některých složek bioorganominerálního komplexu. Kand. disert. práce, VŠZ Praha.
LAHAV N., KEYNAN A., 1962, The influence of bentonite and attapulgite on the respiration of *Bacillus subtilis*. Canad. J. Microbiol. 8 : 565-572.
MACURA J., 1967, Vliv jílových minerálů na nitrifikaci glycinu. Seminář MÚ ČSAV.
MACURA J., PAVEL L., 1959, The influence of montmorillonite on nitrogen fixation by *Azotobacter*. Folia Microbiol. 4 : 82-90.
NOVÁKOVÁ J., 1967, Vliv různého množství bentonitu a kaolinitu na rozklad glukózy. Humus et Planta. V tisku.
NOVÁKOVÁ J., 1968, Vliv bentonitu a kaolinitu na růstovou křivku *E. coli*. Ref. na 7. výroč. sjezdu Čs. spol. mikrobiol. při ČSAV, Luhačovice.
STOTZKY G., REM L. T., 1966, Influence of clay minerals on microorganisms. I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria. Canad. J. Microbiol. 12 : 547-563.

Došlo dne 31. 10. 1968

NOVÁKOVÁ J. Vliv různého množství bentonitu a kaolinitu na mineralizaci glukózy. II. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 215-220., 1969.

1 % koncentrace bentonitu, Na-bentonitu a Ca-bentonitu stimuluje mineralizaci glukózy půdní mikroflórou v minerálním roztoku. Nižší koncentrace (0,1 %) neovlivňuje mineralizaci, vyšší koncentrace (3 %) působí depresivně. Všechny zkoušené koncentrace (0,1 %, 1 %, 3 %) kaolinitu, Na-kaolinitu a Ca-kaolinitu působí depresivně na mineralizaci glukózy.

mineralizace glukózy; jíly; stimulace mikrobiální činnosti; inhibice mikrobiální činnosti

НОВАКОВА Я.: (Сельскохозяйственный институт, Прага). Влияние различного количества бентонита и каолинита на минерализацию глюкозы. II. Rostlinná výroba (Прага) 15 (2) : 215-220, 1969.

1% концентрация бентонита, Na-бентонита и Ca-бентонита стимулирует в минеральном растворе минерализацию глюкозы почвенной микрофлорой. Более низкая концентрация (0,1 %) не влияет на минерализацию, а более высокая концентрация (3 %) действует на нее депрессивно. Все испытываемые концентрации (0,1 %, 1 %, 3 %) каолинита, Na-каолинита действуют депрессивно на минерализацию глюкозы.

минерализация глюкозы; илы; стимуляция микробной деятельности; торможение микробной деятельности

Adresa autorky:

Prom. biol. Jitka Nováková, CSc., Vysoká škola zemědělská, Praha - Suchbát

VLIV BENTONITU A PROVZDUŠOVÁNÍ NA DYNAMIKU ROZVOJE MIKROORGANISMŮ PŘI ROZKLADU VOJTĚŠKY V PÍSKOVÉ KULTUŘE

K. KUBISTA

KUBISTA K. (University of Agriculture, Prague). *The Influence of Bentonite and of Aeration on the Dynamics of the Development of Microorganisms in the Case of Decomposition of Luzerne in a Sand Culture*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 221-228, 1969.

The development of the microflora in the case of decomposition of the organic matter of lucerne, mineralization, and the development of the pH value was influenced by the aeration of the substratum to a maximum extent. For actinomycetes aeration was a limiting factor; they did not develop practically at all in the non-aerated alternative. Bentonite stimulated the development of the microflora in all investigated groups, both in the non-aerated and in the aerated alternative. Bentonite exercised the highest stimulation effect in the non-aerated alternative. In both alternatives the highest stimulation was found in the case of the spores of bacilli. A supplement of bentonite increased the pH value of the substratum, increased the mineralization of organic substances, and decreased loss of nitrogen.

decomposition of lucerne; clay minerals; stimulation of microflora

Studiu mikrobiálních pochodů při rozkladu organické hmoty bylo věnováno mnoho prací. Organické látky jako zdroj energie a živin jsou podmínkou činnosti mikroflóry. Směr a intenzita přeměnných procesů závisí nejen na vlastnostech mikroflóry, ale do značné míry i na vlastnostech půdy jako prostředí. Toto prostředí se mění činností mikroflóry, produkty jejího metabolismu, což se zpětně odráží na její skladbě.

Důležitou součástí prostředí mikrobiálního života v půdě jsou jílové minerály. Spolu s organickou půdní hmotou významně ovlivňují fyzikální chemické a biologické vlastnosti půdy a řadu v ní probíhajících biochemických procesů. Jílové minerály vytvářejí komplexy s organickými látkami, čímž mohou tyto látky do jisté míry chránit vůči rozkladu (Lynch et al. 1956, 1957, Pinck et al. 1951, 1954, Ziemiecka et al. 1963 aj.).

Řadou autorů bylo zaznamenáno stimulující nebo inhibiční působení jílových minerálů na činnost a množení bakterií (Estermann a McLaren 1959, Macura a Pavel 1959, Nováková 1966, Stotzky 1966, Filip 1967 aj.). Bentonit působil většinou stimulačně. Mechanismus vlivu jílových minerálů na půdní mikroflóru nebyl dosud jednoznačně vysvětlen. Káš (1966), Stotzky (1966), Nováková (1966) zdůrazňují vliv výměnné kapacity a typ kationtu přítomného ve výměnném komplexu. Stotzky (1966) prokázal pufrující vliv jílových minerálů v prostředí.

Na charakter změn podmínek prostředí mikrobiálního života je z metodického hlediska neivýhodnější usuzovat podle změn populační dynamiky a aktivity mikroflóry. Po přidání organické hmoty do mikrobiálního prostředí následuje obvykle prudký rozvoj mikroflóry. Stevenson (1962) dokázal porovnáním poměrů respirací s počty mikrobů, že zvýšená aktivita, vyjádřená produkcí CO₂, není způsobena jen prostým nárůstkem populace, ale též zvýšením intenzity jejího metabolismu. Tuto zvýšenou intenzitu přičítá přednostnímu rozmnožování fyziologicky aktivnější části mikrobiální populace, což se projevilo především změnou mikrobiologické rovnováhy. Běžně tyto změny můžeme zjistit použitím nepřímých metod počítání mikroorganismů na různě

ných kultivačních prostředcích. Tato metoda není zcela objektivní při stanovení množství hub (Warcup 1955). V tomto případě i u aktinomycet je možno lépe vyjádřit změny poměrného zastoupení různých morfologických skupin přímým pozorováním mikroflóry (Káš 1964, aj.). Sumární aktivitu populace je možno pak posuzovat podle biochemických projevů (produkce CO₂, aktivity některých enzymů apod., Novák 1965, Kuprevič a Ščerbakova 1966 aj.).

Naše pokusy se zabývají vlivem bentonitu na mikrobiální rozklad posklizňových zbytků rostlin a na působení produktů jejich rozkladu a mikrobiálních metabolitů na rostliny. Toto sdělení podává výsledky působení bentonitu na mikroby při rozkladu vojtěšky v písku za různého stupně aerace.

MATERIÁL A METODY

Čistý křemenný písek o velikosti zrna 1—2 mm byl smísen s 5 % rozemleté vojtěšky a 1 % separovaného bentonitu (charakteristiku bentonitu podává Nováková 1968). Kontrolní směs neobsahovala bentonit. Směs byla obohacena živinami a ovlhčena živným roztokem podle Knoppa a inokulována suspenzí 0,5 % zeminy. Vlhkost směsi byla upravena na 60 % kapacity. Směs byla uložena do válcových nádob s víkem. Ve variantách neprovzdušovaných byla směs rozložena na dně nádoby, u provzdušovaných variant na perforovaný podstavec pokrytý síťovinou a provlečenou skleněnou trubicí. Tato úprava umožňovala každodenní provzdušení směsi.

Hodnoty směsi při založení:

C vešk.	1,926 g/100 g
N vešk.	0,156 g/100 g
pH	5,7

Zemina použitá k inokulaci byla typu degradované černozemě, podle zrnitostního složení patří do skupiny „hlína jílnatá“,

C vešk.	2,1 g/100 g
N vešk.	0,166 g/100 g
pH	5,9

Mikrobiální osídlení zeminy:

Bakterie na Thorntonově agaru	1,10 · 10 ⁸ /g
Bakterie na MPA	4,88 · 10 ⁸ /g
Spory bacilů na MPA	2,39 · 10 ⁶ /g
Aktinomycety na škrobovém agaru	1,13 · 10 ⁴ /g
Houby na agaru podle Martina	1,88 · 10 ⁵ /g

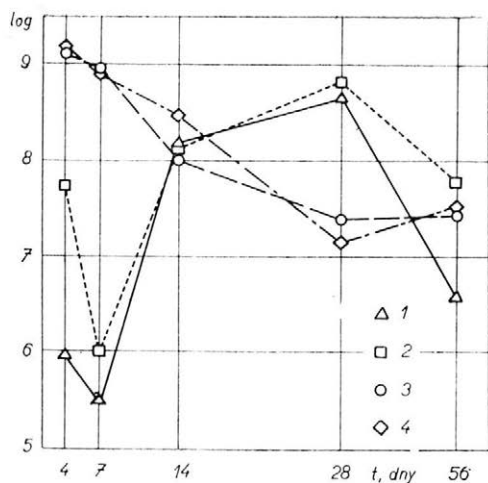
Inkubace probíhala za konstantní teploty 30 °C. Celková doba pokusu 56 dní. Rozbory byly provedeny 4., 7., 14., 28., a 56. den od založení pokusu. Mikrobiologický rozbor byl proveden nepřímou metodou na agarových deskách výše zmíněných prostředí, pH zjišťováno elektrometricky antiminovou elektrodou, veškerý uhlík stanoven oxidimetricky metodou podle Altana a Vardovského, veškerý dusík metodou podle Kjeldahla.

VÝSLEDKY A DISKUSE

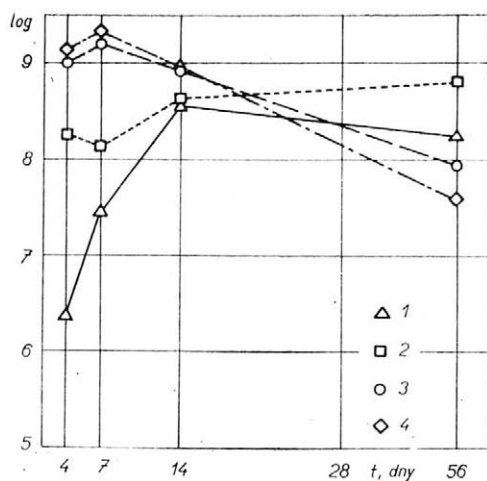
Z výsledků je patrný stimulační vliv bentonitu na dynamiku rozvoje mikroorganismů při rozkladu vojtěšky v písku. Tento příznivý vliv bentonitu je větší v neprovzdušovaných variantách.

Vliv bentonitu na množství bakterií zjišťovaných na agaru podle Thorntona se zpočátku prakticky neprojevil a jeho stimulační vliv můžeme pozorovat teprve čtrnáctý den. Významnou měrou se tu této skupiny bakterií uplatnil především vliv provzdušování. Počáteční prudký vzestup množství bakterií a následující jeho pokles souhlasí s výsledky Kubisty (1961), Stevensona (1962), Steinbrennera (1965) aj. a svědčí o rychlém vyčerpání snadno přístupných jednoduchých látek rozemleté vojtěšky. U neprovzdušovaných variant byl počáteční rozvoj bakterií slabší, načež, zřejmě po vyčerpání kyslíku a nahromadění metabolitů, jejich množství pokleslo a teprve po určité adaptaci nebo po úpravě prostředí jinou skupinou mikroorganismů rozkládající organické dusíkaté látky, došlo k jejich prudkému rozvoji. Na rozdíl od provzdušované varianty se v této variantě výrazně projevila stimulace bentonitem (obr. čís. 1). Rozvoj této skupiny bakterií v neprovzdušované variantě výrazně koreluje se změnami pH (obr. č. 6). Vlivem bentonitu se udržuje hodnota pH v neprovzdušované variantě téměř o jednotku vyšší, což souhlasí s pozorováním Hattoriho a Furusaka (1959) a svědčí o pufrující schopnosti bentonitu. Pokles pH v této variantě zřejmě souvisí s tvorbou organických kyselin. Jejich tvorba je za omezeného přístupu vzduchu běžná (Takijima 1964, Mišustina a Jerofejev 1966).

Dynamika rozvoje bakterií využívajících složitější organické dusíkaté látky (MPA) je podána na obr. č. 2. V provzdušovaných variantách bylo maximum těchto bakterií zjištěno sedmý den, tedy později než u předchozí skupiny, načež poměrně rychle klesalo. Bentonit stimuloval jejich rozvoj jen v prvních čtrnácti dnech, později došlo k určité depresi. V obou neprovzdušovaných variantách stoupalo výrazně množství mikrobů v prvních čtrnácti dnech, kdy dosahovalo také svého maxima, i když ve variantě s bentonitem ještě mírně



1. Bakterie na agaru podle Thorntona. Množství bakterií uvedeno jako logaritmus jejich počtu v 1 g. — Bacteria on agar according to Thornton. Number of bacteria given as the logarithm of their number in 1 g

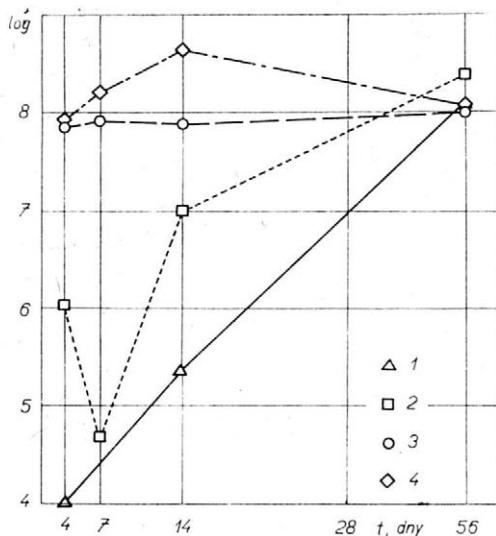


2. Bakterie na MPA. Množství bakterií uvedeno jako logaritmus jejich počtu v 1 g. — Bacteria on MPA. Number of bacteria given as the logarithm of their number in 1 g

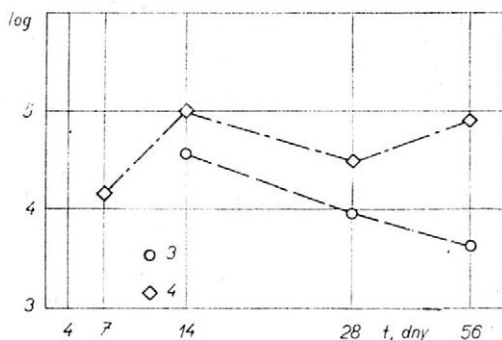
stoupalo. Proti provzdušovaným variantám pozorujeme asi týdenní zpoždění rozvoje. Bentonit po celou dobu pokusu rozvoj těchto bakterií silně stimuloval.

Porovnáme-li poměry množství bakterií vyrůstajících na MPA a Thorntonově agaru v původní půdě (4,4) a v prvních čtrnácti dnech v provzdušované směsi (1,4), zjistíme přednostní rozvoj bakterií vyrůstajících na Thorntonově agaru, tj. bakterií využívajících jednoduché organické látky, jak prokázal již *Stevenson* (1962).

Trendy výskytu spor bacilů rostoucích na MPA jsou podobné trendům předchozí skupiny (obr. 3). Tato skupina je jedinou ze všech sledovaných skupin mikrobů, kde se nejvýrazněji uplatňuje stimulační vliv bentonitu i pro-



3. Spory na MPA. Množství spor uvedeno jako logaritmus jejich počtu v 1 g. — Spores on MPA. Number of spores given as the logarithm of their number in 1 g



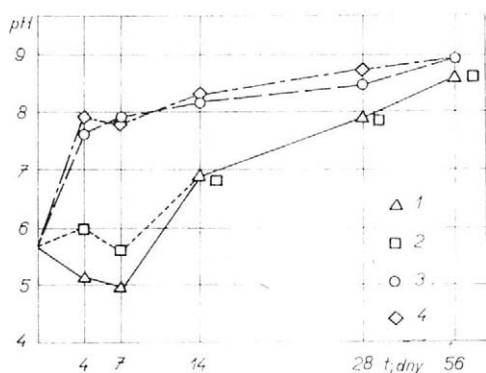
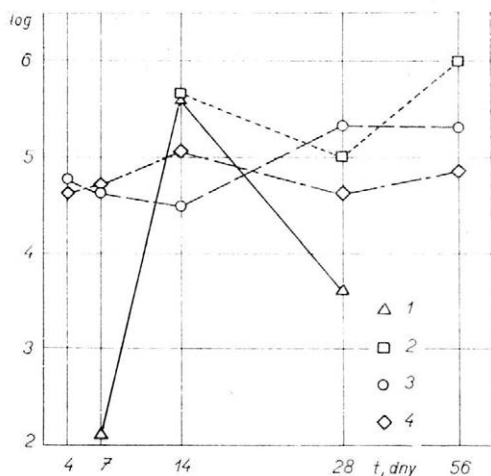
4. Aktinomycety na škrobovém agaru. Množství aktinomycet uvedeno jako logaritmus jejich počtu v 1 g. — *Actinomycetes* on starch agar. Number of *Actinomycetes* given as the logarithm of their number in 1 g

vzdušování, a to ve všech sledovaných obdobích. Tento fakt pravděpodobně není možno jednoznačně přičítat pouze stimulaci rozvoje sporulujících bakterií a jejich zvýšené sporulaci, ale mohlo se zde vlivem bentonitu snížit i jejich relativní odumírání. V tomto směru bylo by účelné mechanismus působení bentonitu blíže studovat. V literatuře jsem pro tento fakt nenalezl vysvětlení.

Výrazně aerobní mikroorganismy, aktinomycety a houby se rozvíjely především v provzdušovaných variantách, což zřejmě souvisí s hodnotami oxido-redukčního potenciálu.

Aktinomycety byly zjišťovány pouze v aerobních variantách, svého maxima dosáhly čtrnáctý den inkubace, tedy po výrazném poklesu rozvoje bakterií. Bentonit rovněž rozvoj aktinomycet výrazně stimuloval (obr. č. 4).

Rozvoj hub v provzdušovaných variantách byl výrazně stimulován bentonitem pouze ve druhém týdnu, kdy houby dosáhly svého maxima. Houby v provzdušované variantě bez bentonitu dosáhly svého maxima až ve druhé polovině období, tedy o čtrnáct dní později. Na tomto vzestupu se podílely především druhy rodu *Mucor*. Protože kolonie hub vyrůstající na agaru pocházejí



5. Houby na agaru podle Martina. Množství hub uvedeno jako logaritmus jejich počtu v 1 g. — Fungi on agar according to Martin. Number of fungi given as the logarithm of their number in 1 g

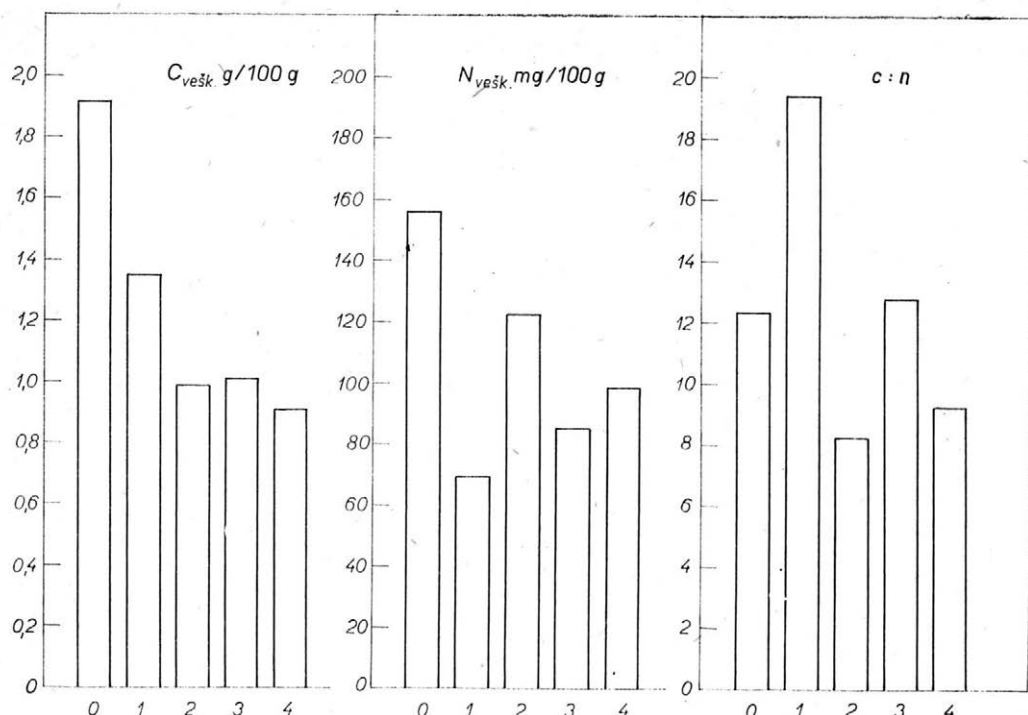
6. Vývoj pH. — pH value development

1. Varianta neprovzdušovaná bez bentonitu.
 2. Varianta neprovzdušovaná + 1 % bentonitu.
 3. Varianta provzdušovaná bez bentonitu.
 4. Varianta provzdušovaná + 1 % bentonitu.
1. Variant, non-aerated without bentonite
 2. Variant, non-aerated plus 1 per cent of bentonite
 3. Variant, aerated without bentonite
 4. Variant, aerated plus 1 per cent of bentonite

podle W a r c u p a (1955) především ze spor, jsou trendy rozvoje hub mírně zpožděným vyjádřením jejich aktivity. Aktivita hub v průběhu celého pokusu v provzdušovaných variantách měla vcelku zvyšující se tendenci a trend rozvoje hub ve variantě s bentonitem byl téměř zrcadlovým obrazem trendu ve variantě bez bentonitu. V neprovzdušovaných podmínkách se houby počaly vyvíjet až v druhém týdnu pokusu, jejich vzestup byl však poměrně rychlý a maximum převýšilo množství v provzdušovaných variantách. Následující rychlý pokles byl zmírněn pouze ve variantě s bentonitem, kde v dalším období došlo opět k vzestupu počtu hub, takže jejich množství bylo největší ze všech variant a také vyšší než v původní zemině.

Rozdílné působení bentonitu můžeme pozorovat také podle stupně mineralizace uhlíku a podle úbytků dusíku. Na obr. 7a vidíme zřetelnou stimulaci mineralizace uhlíku bentonitem jak v provzdušované, tak i v neprovzdušované variantě. Potvrzuje to také zjištění N o v á k o v é (1968). Vliv bentonitu se neprojevil jen ve variantě neprovzdušované, jak bylo možno očekávat podle značného rozdílu zjišťovaného množství mikrobů. Projevil se však i ve variantě provzdušované. Z toho je možno soudit i na stimulaci aktivity mikrobů bentonitem. Potvrzuje to rovněž zjištění N o v á k o v é (1968) aj.

Obsah dusíku na obr. 7b ukazuje naopak na snížení úbytků veškerého dusíku vlivem bentonitu. Ve variantě neprovzdušované byl vliv bentonitu výraz-



7a. Obsah uhlíku na konci pokusu.

7b. Obsah dusíku na konci pokusu. — Nitrogen content at the end of the experiment

7c. Poměr C : N. — Ratio of C : N

- 0 Směs neinkubovaná.
 1 Varianta neprovzdušovaná bez bentonitu.
 2 Varianta neprovzdušovaná + 1 % bentonitu.
 3 Varianta provzdušovaná bez bentonitu.
 4 Varianta provzdušovaná + 1 % bentonitu.

Carbon content at the end of the experiment

- 0 Non-incubated mixture
 1 Variant, non-aerated without bentonite
 2 Variant, non-aerated plus 1 per cent of bentonite
 3 Variant, aerated without bentonite
 4 Variant, aerated plus 1 per cent of bentonite

nější. Ze získaných výsledků není možno vyvodit, do jaké míry se uplatnila fyzikálně chemická sorpce produktů rozkladu bílkovin vojtěšky a do jaké míry ovlivnil bentonit ev. sorpci biologickou. Obr. 7 c udávající poměry C : N tento vliv bentonitu ještě zvýrazňuje zúžením této hodnoty.

Literatura

- ESTERMANN E. F., Mc LAREN A. D., 1959, Stimulation of bacterial proteolysis by adsorbents. J. Soil. Sci. 10: 64-78.
 FILIP Z., 1967, Příspěvek ke studiu některých složek bioorganominerálního komplexu Kandidátská disert. práce VŠZ Praha.

- HATTORI T., FURUSAKA C., 1959, Chemical activities of *E. coli* adsorbed on a resin, „Dowex — 1“. *Nature* 184 : 1566-1567.
- KÁŠ V., 1964, Zemědělská mikrobiologie, Praha.
- KÁŠ V., 1966, Současné směry v půdní mikrobiologii. *Rostl. výr.* 12 : 1311-1331.
- KUBISTA K., 1961, Mikrobní úrava červeného jetele. Kandidátská disertační práce. VŠZ Praha.
- KUPREVIČ V. F., ŠČERBAKOVA T. A., 1966, Počvonnaja enzimologija. Minsk.
- LYNCH D. L., WRIGHT L. M., COTNOIR L. J., 1956, The adsorption of carbohydrates and related compounds on clay minerals. *Soil Sci. Am. Proc.* 20 : 6-9.
- LYNCH D., COTNOIR L. J., 1956, The influence of clay minerals on the breakdown of certain organic substances. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 20 : 367-370.
- LYNCH D. L., WRIGHT L. M., HEARNE E. F., COTNOIR L. J., 1957, Some factors affecting the adsorption of cellulose compounds, pectins and hemicellulose compounds on clay minerals. *Soil Sci.* 84 : 113-126.
- MACURA J., PAVEL L., 1959, The influence of montmorillonite on nitrogen fixation by *Azotobacter*. *Folia Microbiologica* 4 : 82-90.
- MISUSTIN E. N., JEROFEJEV N. S., 1966, Priroda toxičeskich sojedinenij razlagajuščejša v počve solomy. *Mikrobiologija* 35 : 150-154.
- NOVÁK B., 1965, Využití biochemických testů v půdní mikrobiologii. Habilitační práce. VŠZ Praha.
- NOVÁKOVÁ J., 1966, Vliv jílových minerálů na růst mikroorganismů a využívání substrátu mikroorganismy. Závěrečná zpráva VÚM Praha.
- NOVÁKOVÁ J., 1968, Vliv jílových minerálů na rozklad organických substrátů a růst mikroorganismů v půdě. Kandidátská disert. práce. VŠZ Praha.
- NOVÁKOVÁ J., 1968, Einfluß der Tonminerale auf die mikrobiologische Aufnehmbarkeit der Kohlenwasserstoffe und N-haltigen Stoffe. *Zbl. Bakt. Abt. II* 122 : 233-241.
- PINCK L. A., ALLISON F. E., 1951, Resistance of a protein — montmorillonite complex to decomposition by soil microorganisms. *Science* 114 : 130-131.
- PINCK L. A., DYAL R. S., ALLISON F. E., 1954, Protein — montmorillonite complexes, their preparation and the effect of soil microorganisms on their decomposition. *Soil Sci.* 78 : 109-118.
- STEINBRENNER K., GRABERT D., 1955, Untersuchungen über den Abbauverlauf einiger organischer Stoffe im Boden. *Zbl. Bakt. Abt. II* 119 : 456-465.
- STEVENSON I. L., 1962, The Effect of decomposition of various crop plants on the metabolic activity of the soil microflora. *Canad. J. Microbiol.* 8 : 501-508.
- STOTZKY G., 1966, Influence of clay minerals on microorganisms. I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria. *Canad. J. of Microb.* 12 : 547-563.
- TAKIJIMA Y., 1964, Studies on organic acids in paddy field soils with references to their inhibitory effects on the growth of rice plants. *Soil Sci. and Plant Nutr.* 10 : 14-21.
- WARCUP J., cit. BURGESS A., 1966, The estimation of the activity microorganisms in the soil. *Rumaine Biol.* 11 : 57.

Došlo dne 31. 10. 1968

KUBISTA K. *Vliv bentonitu a provzdušování na dynamiku rozvoje mikroorganismů při rozkladu vojtěšky v pískové kultuře.* *Rostlinná výroba (Praha)* 15 (2) : 221-228, 1969.

Rozvoj mikroflóry při rozkladu organické hmoty vojtěšky, mineralizaci a vývoj pH ovlivňovalo největší měrou provzdušování substrátu. Pro aktinomycety byla aerace limitujícím faktorem, v neprovzdušované variantě se prakticky nevyvíjely. Bentonit stimuloval rozvoj mikroflóry ve všech sledovaných skupinách jak v neprovzdušované, tak i v provzdušované variantě. Nejvýrazněji stimulačně se bentonit uplatnil v neprovzdušované variantě. Nejvyšší stimulace v obou variantách byla prokázána u spor bacilů. Přídavek bentonitu zvyšoval pH substrátu, zvyšoval mineralizaci organických látek a snižoval úbytky dusíku.

jílové minerály; stimulace mikroflóry

КУБИСТА К. (Сельскохозяйственный институт, Прага). Влияние бентонита и аэрации на динамику развития микроорганизмов при разложении люцерны в песчаной культуре, *Rostlinná výroba (Praha)* 15 (2) : 221-228, 1969.

На развитие микрофлоры при разложении органического вещества люцерны, минерализацию и развитие рН сильнее всего влияла аэрация субстрата. Для актиномицетов аэрация была лимитирующим фактором, а в непроветриваемом варианте, они практически не развивались. Bentonit стимулировал развитие микрофлоры во всех наблюдаемых группах как в непроветриваемом, так и в проветриваемом вариантах. Отчетливее всего бентонит, как стимулятор, проявился в неаэрируемом варианте. Самая большая стимуляция в обоих вариантах была доказана у спор бацилл. Добавление бентонита повышало рН субстрата, повышало минерализацию органических веществ и снижало потери азота.

разложение люцерны; глинистые минералы; стимуляция микрофлоры

Adresa autora:

Ing. Karel Kubista, CSc., Vysoká škola zemědělská, Praha - Suchbát

KONCENTRACE NĚKTERÝCH SOLÍ JAKO AGENS, REGULUJÍCÍ UVOLŇOVÁNÍ PROTEÁZ PŮDNÍMI MIKROBY

Z. AMBROŽ

AMBROŽ Z. (University of Agriculture, Brno). *The Concentration of Certain Salts as an Agent Regulating the Releasing of Proteases by Soil Microbes*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2): 229-235, 1969.

In a sandy medium with casein inoculated with soil suspension the production of alkaline and neutral proteases is higher in the case of a water content of 5 per cent than in the case of a moisture of 10 and 15 per cent. To the contrary, the growth curves of bacteria correlate with the water content. An explanation of this fact is looked for in the osmotically different medium. In a sandy and in a liquid medium with a mixed microbial culture a concentration of NaCl of 3 per cent produces an increased secretion of alkaline proteases and a weak increased secretion of neutral proteases followed later by a depression. NaCl causes a maximum production especially of alkaline proteases in a culture of *Bac. megaterium* in a concentration of 3 per cent, in *Serratia marcescens* in a concentration of 0.5 per cent, and in *Aspergillus oryzae* in a concentration of 2 per cent. An addition of 3 per cent of NaCl to an incubated culture of *Bac. megaterium* stimulates the release of proteases only in the logarithmic stage. The forming of proteases is stimulated also by KCl, CaCl₂, (NH₄)₂SO₄, but not by glucose and saccharose.

soil enzymology; physical soil conditions

Ze sledování sezónní aktivity některých hydroláz v půdách a porovnáním s mikrobiální četností byly na základě dřívějších výzkumů (Ambrož 1964) odvozeny určité vztahy, ukazující zřetelnou souvislost enzymatických projevů půdy s její teplotou a vlhkostí. Detailnějším studiem vlivu teploty na tvorbu proteáz (Ambrož 1968) vyšlo najevo, že v mnoha případech, především v půdách s neutrální nebo slabě alkalickou reakcí, působí měnící se teplota selektivně na kvalitativní i kvantitativní hromadění proteáz různého typu. Podobné závislosti byly odvozeny i u některých skupin půdních mikrobů, především bacilů. S teplotou půdy koreluje do jisté míry i vlhkost, takže lze předpokládat, že oba tyto faktory by mohly působit na studované enzymatické projevy půdní mikroflóry simultánně ve stejném smyslu. Mění se vlhkostí půdního prostředí dochází ke změnám v koncentraci půdního roztoku a proto je věnována v této práci pozornost především reakci mikroflóry na tento faktor.

MATERIÁL A METODY

Vliv koncentrace solí byl sledován jednak v pískovém prostředí (70 g) s přídavkem 0,3 g kaseinu, 2 ml Thorntonovy živné půdy bez C a N, 5 ml vody a 1 ml půdní suspenze nebo kultury testovaného mikroba. Koncentrace solí (NaCl, KCl, CaCl₂, (NH₄)₂SO₄) byla tak nastavována, že činila 1–6 % vzhledem k celkovému objemu vody. Výsledky byly přepočítávány na sušinu.

Pro tekuté prostředí byla použita živná půda o složení: voda 1000 ml, MgSO₄ · 7 H₂O 0,2 g, NaCl 0,1 g, FeCl₃ stopy, kvasničný autolyzát 0,3 g, želatina 5 g, pH 7,0. Inkubováno bylo při 28 °C. Během inkubace byla každých 24 hod. sledována aktivita

neutrálních a alkalických proteáz a v některých případech stanovován přímou mikroskopickou metodou i celkový počet bakterií. V pokusech s *Asp. oryzae* byla myceliální hmota promyta vodou, vysušena při 105 °C a vážena. Kultury použitých mikrobů byly získány z Čs. sbírky mikroorganismů při UJEP v Brně a z Přírodovědecké fakulty KU v Praze.

Aktivita neutrálních a alkalických proteáz byla sledována metodou, popsanou v dřívější práci (Ambrož 1966).

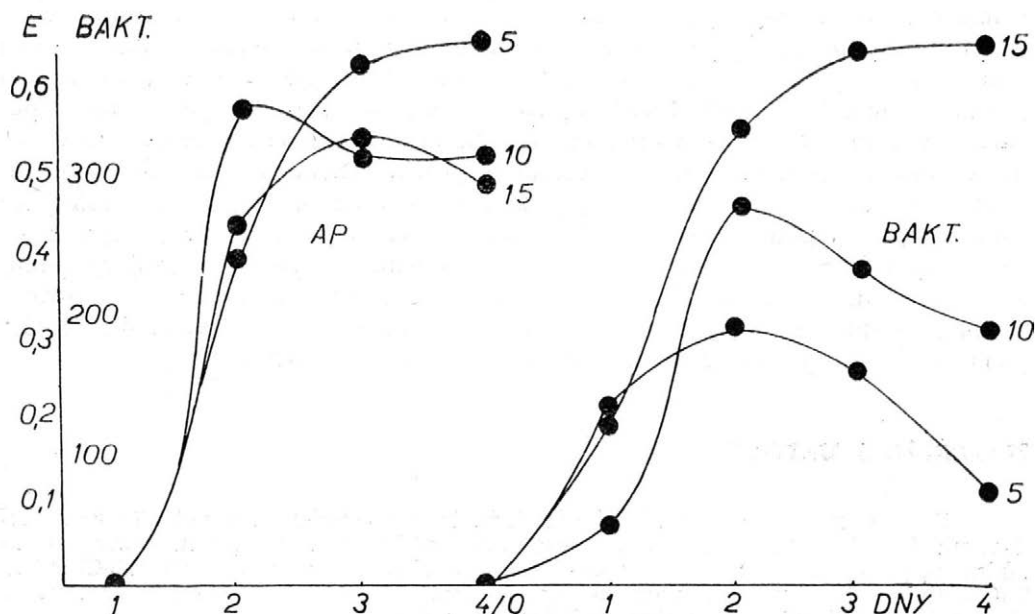
Pokusy byly ve většině případů 3X opakovány.

VÝSLEDKY

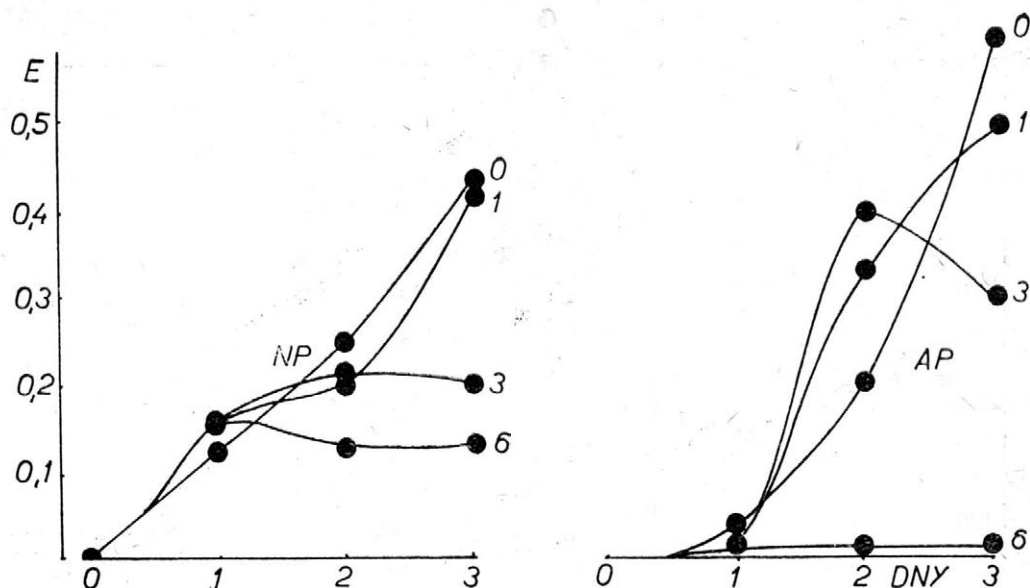
Vliv vlhkosti na proteázovou aktivitu půdní mikroflóry byl stanovován v pískovém prostředí s přidavkem kaseinu. Obsah vody byl nastaven na 5, 10, 15 % váhových vzhledem k navážce písku, obsah živin byl ve všech pokusech stejný. Po naočkování půdní suspenzí byla sledována aktivita proteáz a počty množících se buněk (obr. 1).

Zatímco růstové křivky mikrobů ukazovaly zřetelnou závislost na obsahu vody, byl enzymatický obraz zcela opačný. Nízká vlhkost výrazně stimulovala vylučování alkalických proteáz do prostředí. Absolutní hodnoty aktivity neutrálních proteáz byly sice v jednotlivých řadách málo diferencované, ale vzhledem k odlišným počtům bakterií docházelo i v tomto případě k relativně silnějšímu jejich hromadění.

Uvedené výsledky daly podnět k hlubšímu sledování mechanismu působení nízké vlhkosti na vylučování enzymů. Příčina byla hledána v různé concen-



1. Dynamika alkalických AP proteáz a počtu bakterií v pískovém prostředí s 5, 10, 15 % vody. — Dynamics of alcalic AP proteases and the number of bacteria on a sandy medium with 5, 10 and 15 per cent of water



2. Tvorba neutrálních NP a alkalických AP proteáz v pískovém prostředí s 0, 1, 3, 6 % NaCl (% vzhledem k obsahu vody v prostředí). — Formation of neutral NP and alcale AP proteases on a sandy medium with 0, 1, 3 and 6 per cent of NaCl (according to the water content in the medium)

traci živin, především solí. Pokusy byly modifikovány tak, že v pískovém prostředí byl ve všech variantách stejný obsah vody a nezbytných minerálních živin, jejichž množství činilo pouze 0,005 %. Změny v koncentraci solí byly dosaženy přidávkou NaCl v rozmezí 1–6 % vzhledem k obsahu vody. Během inkubace byla opět sledována křivka proteázové aktivity (obr. 2).

Z rozborů jednoznačně vyplynulo, že 3% koncentrace NaCl zvyšuje až o 100 % v době vrcholící enzymatické produkce vylučování alkalických proteáz. Neutrální proteázy byly v této fázi stimulovány celkem nevýrazně. Stimulace pak byla vystřídána depresí enzymové produkce. NaCl v koncentraci 6 % prakticky zcela potlačoval tvorbu alkalických proteáz, zatímco neutrální byly ještě slabě vylučovány. V růstových křivkách bakterií se stimulace neprojevovala, naopak již 1 % NaCl průběžně snižovalo jejich počty.

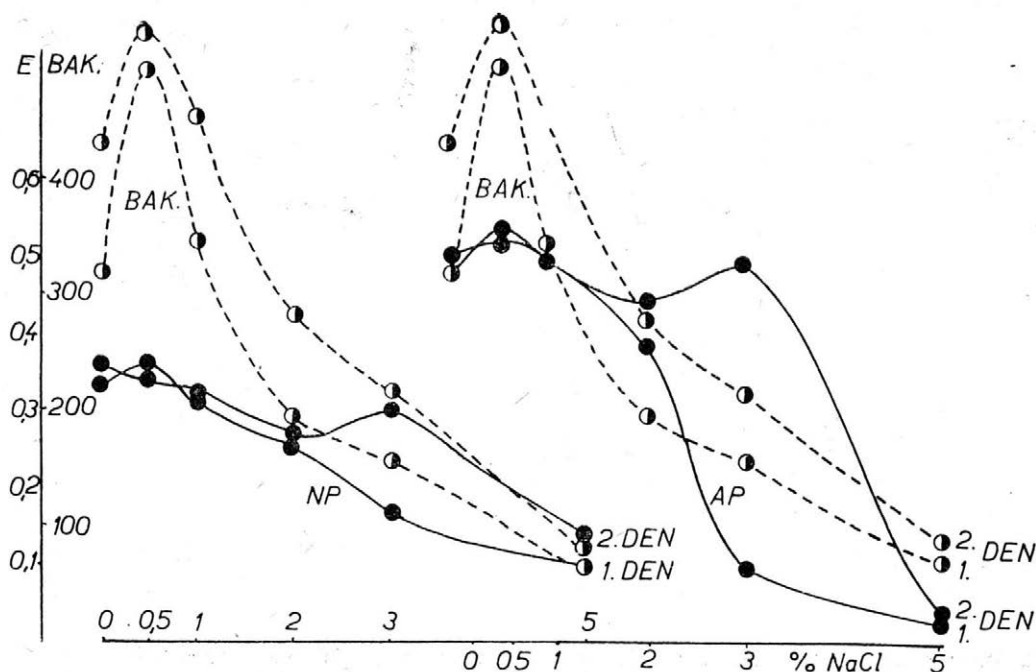
Z pokusů bylo možno odvodit, že na zvýšenou koncentraci solí reaguje půdní mikroflóra spontánně v určité růstové fázi zvýšeným vylučováním proteáz.

Podobné výsledky byly získány i s čistými kulturami některých mikrobů. Kultivace probíhala v tekutém prostředí, popsaném v metodické části. Testován byl především *Bac. megaterium*, který reagoval na 3% NaCl opět zvýšenou tvorbou proteáz (obr. 3).

Naproti tomu *Serratia marcescens* je na NaCl mnohem citlivější a pozitivní proteázová bilance se objevuje pouze při 0,5% NaCl.

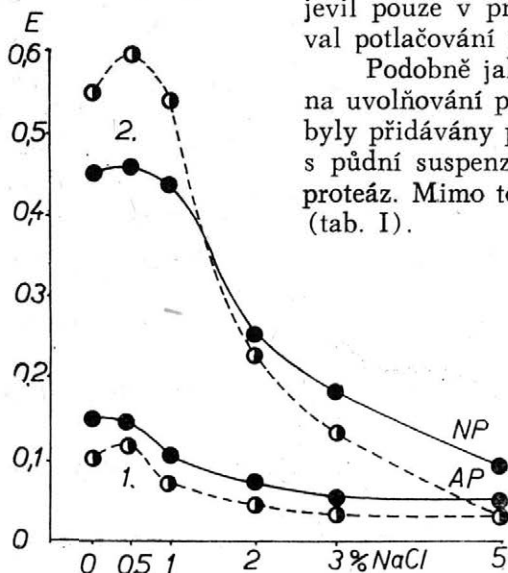
Mikromycety *Asp. oryzae* (obr. 5) a *Asp. fumigatus* mohou být vyprovokovány k silnějšímu vylučování proteáz 2% NaCl.

Efekt soli v uvažovaném smyslu je vázán pouze na určitou růstovou fázi mikrobů, jak dosvědčuje následující pokus (obr. 6).



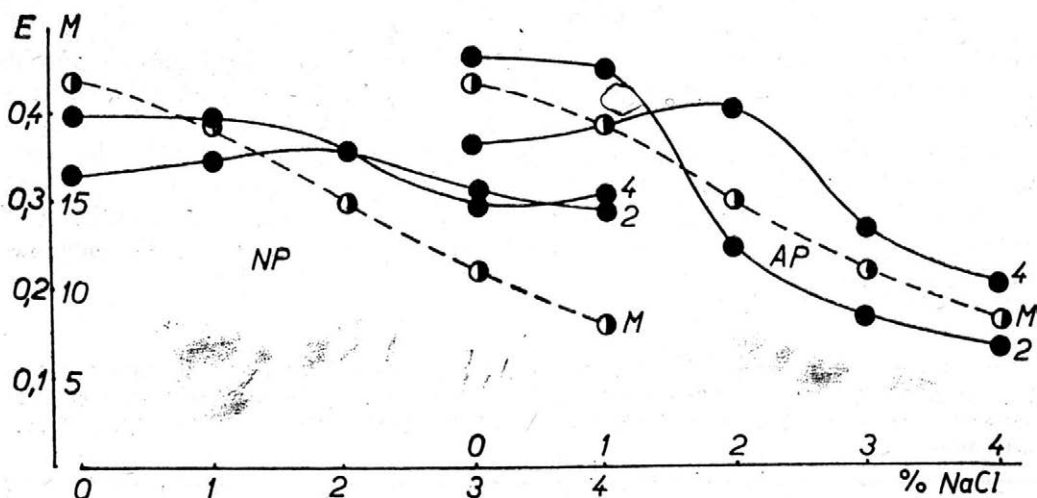
3. Růstové křivky *Bac. megaterium* a tvorba neutrálních NP a alkalických AP proteáz v tekutém prostředí s 0, 0,5, 1, 2, 3, 5 % NaCl po inkubaci 1. a 2. den. — Growth curves of *Bac. megaterium* and the formation of neutral NP and alkaline AP proteases in a liquid medium with 0, 0.5, 1, 2, 3 and 5 per cent of NaCl after incubation on the 1st and 2nd day

K písčové kultuře *Bac. megaterium*, inkubované v základním prostředí s nezbytnými živinami, byl přidáván 3% chlorid sodný po 24 hod., tedy v logaritmické fázi a po 48 hod., v nastupující stacionární fázi. Po působení NaCl 24 hod. byla pak stanovena proteázová aktivita kultury. Zmíněný efekt se objevil pouze v prvním případě, kdežto v další fázi vyvolával potlačování tvorby proteáz.

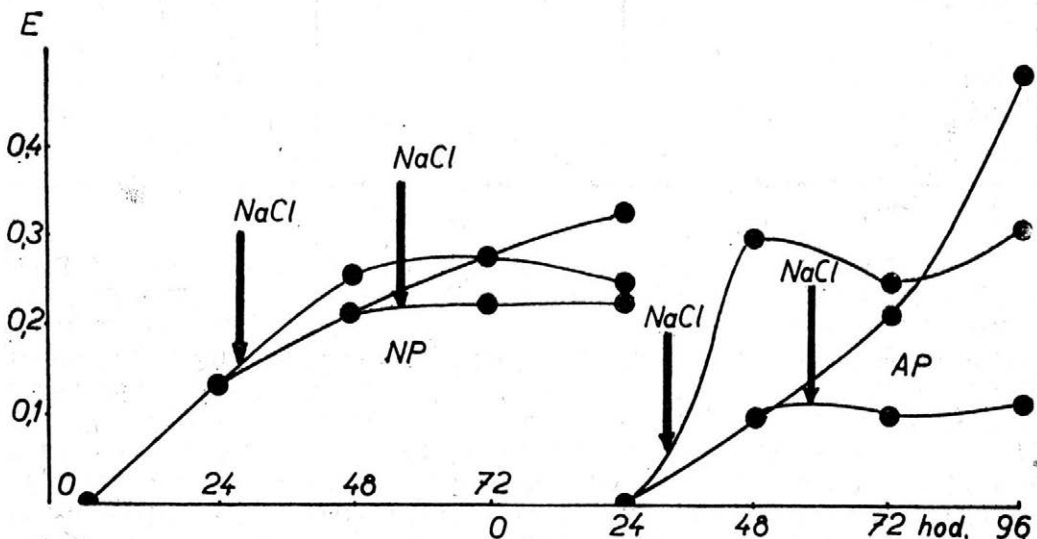


Podobně jako NaCl, působí i další chloridy a sírany na uvolňování především alkalických proteáz. Použité sole byly přidávány po 24hod. inkubaci do písčového prostředí s půdní suspenzí a sledován byl jejich účinek na tvorbu proteáz. Mimo to byl sledován i vliv sacharózy a glukózy (tab. I).

4. Nahromadění neutrálních NP a alkalických AP proteáz kulturou *Serratia marcescens* v tekutém prostředí s NaCl 1. a 2. den inkubace. — Accumulation of neutral NP and alkaline AP proteases by the culture of *Serratia marcescens* in a liquid medium with NaCl on the 1st and the 2nd day of incubation



5. Tvorba neutrálních NP a alkalických AP proteáz kulturou *Aspergillus oryzae* v tekutém prostředí s NaCl 2. a 4. den inkubace. — Formation of neutral NP and alkaline AP proteases by the culture of *Aspergillus oryzae* in a liquid medium with NaCl on the 2nd and 4th day of incubation



6. Vliv přidavku 3% NaCl k písčivé kultuře *Bac. megaterium* po 24 a 48 hod. inkubace na tvorbu proteáz. — Influence of the addition of 3 per cent of NaCl to the sandy culture of *Bac. megaterium* after 24 and 48 hr of incubation on the formation of proteases

Na základě získaných výsledků není možno jednoznačně připisovat pozorované jevy vlivu osmotického tlaku, protože přidavek cukrů, osmoticky rovněž účinných látek, se v tomto smyslu neprojevuje, nebo má účinek negativní.

DISKUSE

Dlouho známý jev, že občasné vysoušení půdy působí příznivě na mikrobiální složku (K á š 1926), může být vztažen i na nahromadění enzymů v půdě. Mě-

níci se koncentrace půdního roztoku, doprovázející vysoušení půdy, působí zřejmě stimulačně, aspoň po určité období, na uvolňování enzymů z buněk mikrobů. Nebudeme-li uvažovat další možnost nahromadění enzymů — autolýzu buněk — ke které může dojít ve zvýšené míře při delším období sucha, pak opětým vlhčením je dána možnost regenerace mikrobiální populace v půdě, ať již původní či v pozmeněném složení, takže periodické vysoušení a ovlhčování mikrobiální populace nejen nevycerpává, ale nadto ji provokuje k vyšší enzymatické činnosti.

I. Tvorba proteáz, ovlivněná některými solemi a cukry, přidanými po 24hod. inkubaci k pískové kultuře půdních mikrobů. — Formation of proteases influenced by several salts and sugars added after 24 hr of incubation to a sandy culture of soil microbes

	Neutrální proteázy	± %	Alkalické proteázy	± %
Kontrola	0,23	—	0,15	—
NaCl 3%	0,29	+26	0,35	+133
KCl 3%	0,30	+30	0,38	+153
CaCl ₂ 3%	0,25	+ 6	0,30	+100
(NH ₄) ₂ SO ₄ 3%	0,26	+13	0,40	+166
glukóza 3%	0,15	-35	0,09	- 40
sacharóza 3% ²	0,22	- 5	0,15	—

Vlastní mechanismus působení některých solí na zvýšené uvolňování enzymů je vysvětlován různě. Např. Weimberg a Orton (1965,1966) dokazují na kyselé fosfatáze kvasinek, že určité sole, především KCl, urychlují disociaci enzymů z povrchu buněk. Mimoto část enzymů je v buňkách v inaktivní formě. Jestliže buňky jsou vystaveny působení elučního činidla, inaktivační protein se uvolňuje, podléhá konverzi a dochází k „demaskování“ enzymů. Neu a Chou (1967) uvádějí výsledky, ve kterých se jim podařilo u několika zástupců enterobakterií vyvolat „osmotickým šokem“ uvolnění celé řady enzymů. Soudí, že sledované enzymy jsou volněji vázány na cytoplasmatickou membránu prostřednictvím bivalentních kationtů. Hwa Wangovi (1967) se podařilo pomocí 0,5 M NaCl dosáhnout mnohonásobně vyšší sekrece kyselé proteázy z kultury *Mucor hiemalis*. Tvrdí, že působením NaCl a dalších solí se uvolňuje vazba mezi buněčnou blanou a některými enzymy. Pravděpodobně může být s povrchem buňky spojeno pouze určité množství enzymu a kontinuální jeho odstraňování s povrchu buňky solí umožňuje organismu syntetizovat více enzymatického proteinu.

Mnou dosažené výsledky se kryjí s pozorováními uvedených autorů, s jejichž pracemi jsem se seznámil až po skončení vlastních pokusů. Důležité je zdůraznit i fyziologický stav buněk, které v pozdějších růstových fázích syntetizují enzymatický protein v omezené míře. V aplikaci na neutrální a alkalické proteázy vyplývá, že existuje určitý rozdíl v síle vazby, resp. uvolnitelnosti obou studovaných proteáz s povrchu buněčné blány. Domnívám se, že tento fakt může přispět k diferencovanému hromadění proteáz v půdách.

Literatura

- AMBROŽ Z., 1964, Studie o enzymatickém půdním komplexu se zaměřením na proteázy. Habil. práce, Brno, p. 117.
- AMBROŽ Z., 1966, Some notes on the determination of activities of certain proteases in the soil. Acta univ. agric. Brno, A, 1: 57-62.
- AMBROŽ Z., 1968, Teplota jako ekologický faktor regulující produkci exoproteáz a jejich výskyt v půdách. Rostlinná výroba, v tisku.
- KÁŠ V., 1926, Příspěvek k vysvětlení fyziologicky různého chování půdy vlhké, vyschlé a několikrát vysoušené. Sborník ČAZ, 1.
- NEU H. C., CHOU J., 1967, Release of surface enzymes in *Enterobacteriaceae* by osmotic shock. J. Bacter. 94, 6: 1934-45.
- HWA L. WANG, 1967, Release of proteinase from mycelium of *Mucor hiemalis*. J. Bacter. 93, 6: 1794-99.
- WEIMBERG R., ORTON W. L., 1965, Elution of acid phosphatase from the cell surface of *Sacharomyces mellis* by potassium chloride. J. Bacter. 90, 1: 82-94.
- WEIMBERG R., ORTON W. L., 1966, Elution of exocellular enzymes from *Saccharomyces fragilis* and *cerevisiae*. J. Bacter. 91, 1: 1-13.

Došlo dne 23. 5. 1968

AMBROŽ Z. *Koncentrace některých solí jako agens, regulující uvolňování proteáz půdními mikroby*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2): 229-235, 1969.

V pískovém prostředí s kaseinem, naočkováném půdní suspenzí, je produkce alkalických a neutrálních proteáz vyšší při 5% obsahu vody než při vlhkosti 10 % a 15 %. Růstové křivky bakterií koreluje naopak s obsahem vody. Vysvětlení je hledáno v osmoticky odlišném prostředí. Koncentrace NaCl 3 % způsobuje v pískovém i tekutém prostředí se smíšenou mikrobiální kulturou zvýšenou sekreci alkalických proteáz, méně neutrálních proteáz, vystrádanou později depresí. NaCl vyvolává maximální produkci zvláště alkalických proteáz u kultury *Bac. megaterium* v koncentraci 3 %, u *Serratia marcescens* 0,5 %, u *Aspergillus oryzae* 2 %. Přídavek 3 % NaCl k inkubované kultuře *Bac. megaterium* stimuluje uvolňování proteáz pouze v logaritmické fázi. Tvorba proteáz je stimulována i KCl, CaCl₂, (NH₄)₂SO₄, nikoliv ale glukózou a sacharózou.

enzymologie půdy; fyzikální podmínky půdy

АМБРОЖ З. (Сельскохозяйственный институт, Брно). Концентрация некоторых солей как реактивов, регулирующих освобождение протеаз почвенными микроорганизмами. Растительная продукция (Прага) 15 (2): 229-235, 1969.

В песчаной среде с казеином, инокулированной почвенной суспензией, продукция щелочных и нейтральных протеаз выше при 5 % содержании воды, чем при влажности 10 % и 15 %. Кривые роста бактерий, напротив, находятся во взаимозависимости с содержанием воды. Объяснение следует искать в осмотически различной среде. Концентрация NaCl 3 % вызывает в песчаной и жидкой среде со смешанной микробной культурой повышенную секрецию щелочных протеаз, менее нейтральных протеаз, позднее сменяющуюся депрессией. NaCl вызывает максимальную продукцию особенно щелочных протеаз у культуры *Bac. megaterium* в концентрации 3 %, у *Serratia marcescens* 0,5 %, у *Aspergillus oryzae* 2 %. Добавление 3 % NaCl к инкубированной культуре *Bac. megaterium* стимулирует освобождение протеаз лишь в логарифмической фазе. Образование протеаз стимулируется и KCl, CaCl₂ (NH₄)₂ SO₄, но никак не глюкозой и сахарозой.

энзимология почвы; физические условия почвы

Adresa autora:

Doc. ing. Zdeněk Ambrož, CSc., Vysoká škola zemědělská, Brno, Zemědělská 1

**VÝBĚR Z NOVÝCH PŘÍRŮSTKŮ
ÚSTŘEDNÍ ZEMĚDĚLSKÉ A LESNICKÉ KNIHOVNY ÚVTI
Z ŮSEKU ROSTLINNÁ VÝROBA**

Bayzer, H. — Mayr, H. H. D 54.555/52
Beeinflussung der Aminosäurezusammensetzung der Roggenproteine durch Stickstoffdüngung und Chlorcholinchlorid. Berlin, DALW 1967. S. 216—217. Sonderabdruck aus Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung. Bd. 133. Hf. 4. 1967. (Žitné zrno — aminokyseliny — hnojení dusíkaté — vliv — výzkum / Chlorcholinchlorid — aminokyseliny — žitné zrno — vztahy — výzkum — Rakousko)

Morgan, J. V. — Hennerty, M. J. D 53.947/2/14
Some effects of the growth regulators CCC and alar (B-995) on the tomato (*Lycopersicum*, Mill.) I. Effects on leaf area, plant spread, dry weight, height and leaf numbers. Dublin, Royal society 1968. S. 121—140. The scient. proceedings Series B, Vol. 2, No. 14. (Chlorcholinchlorid — rajská jablčka — vztahy — výzkum)

Harmsen, G. W. D 55.472/19
Selectie van *Rhizobium*-stammen ter verbetering van de entstof voor vlinderbloemigen. Groningen, Inst. voor bodemvruchtbaarheid 1965. S. 811—822. tb. Overdruk uit het Landbouwkundig tijdschrift 77. jg. nr. 21, 1965. (*Rhizobium* — selekce — kultivace — výzkum — Holandsko)

Bremner, J. M. — Führ, F. C 17.622/388
Tracer studies of the reaction of soil organic matter with nitrite. Jülich, Kernforschungsanlage 1966. S. 337—346. tb. Berichte 388. (Půda — organické látky — dusitany — vztahy — výzkum)

Kürten, P. W. — Trost, H. D 55.320/191
Organische Düngung getreidereicher Fruchtfolgen auf Sandboden. Dülmen, Deutsche Landwirtschafts-Gesellschaft 1968. s. 624—628. (Hnojení organické — půdy písčité — osevní postupy obilnářské)

D 27.270/38/8
Effect of three nitrogen fertilizers on gains, losses and distribution of various elements in irrigated lysimeters. Berkeley, Univ. of California 1967. S. 265—283. tb. Hilgardia Vol. 38. No 8. (Dusíkatá hnojiva — lysimetrická měření — výzkum — Kalifornie — USA)

BIOLOGICKÁ REDUKCE SÍRANŮ V ZEMĚDĚLSKÝCH PŮDÁCH

M. AMBROŽOVÁ

AMBROŽOVÁ M. (Institute of Basic Agrotechnique, Hrušovany near Brno). *Biological Reduction of Sulphates in Agricultural Soils*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 237-242, 1969.

There is an evaluation of the relative advantages of two methods applied for the testing of the biological reduction of sulphates in soils. Both methods were tested applied to soils in three pot experiments. It was found that in soils with a higher moisture content and in soils enriched with ammonium sulphate there is an increased number of desulphurization bacteria determined by means of the plaque method and an increased reduction of sulphates determined by means of the titration method. Addition of organic substances into the soil exercised no influence on the development of desulphurization bacteria or on the reduction of sulphates. The results obtained by means of both methods are only of an informative character. By means of these results it is possible to indicate approximately the relative degree of anaerobiosis in the environment, and they may serve as an index of the relative intensity of reduction processes in the soil.

desulphurization; method; soil moisture; ammonium sulphate; organic matter

Redukce síranů v zemědělských půdách má převážně biologický charakter. Je vázána především na desulfurikační bakterie. Protože se redukcí síranů aniont SO_4^{2-} , který je důležitou složkou ve výživě rostlin, v půdě přeměňuje, je tato redukce procesem nežádoucím i z toho důvodu, že při ní vzniká v půdě zvláště za podmínek nasycení vodou toxický H_2S . Přítomnost desulfurikačních bakterií ukazuje i na možnost výskytu jiných anaerobních procesů v půdě. Především se jim v mnohém ohledu podobají anaerobní přeměny dusíku.

Vzhledem k značnému kolísání nálezů a nízkému počtu desulfurikačních bakterií v orných půdách je obtížné získat správný obraz o jejich zastoupení. Proto byly vyzkoušeny dvě různé metody k analýze půdních vzorků a ohodnoceny jejich relativní přednosti v praktickém použití.

METODIKA

Pro kultivaci desulfurikačních bakterií byla použita agarizovaná živná půda Sokolové a Sorokina (1957) s mléčnanem sodným, obohacená solemi dvojmocného železa. Na této půdě rostou za anaerobních podmínek desulfurikační bakterie poměrně rychle a tvoří kolonie černě zbarvené sraženinou siřníku železnatého. Kultivace byla prováděna jednak na agarových plotnách nalitých do víček Petriho misek, do kterých byly před utužením agaru zasunuty jejich spodky a okraje zaparaffinovány nebo zalaty vodou stále doplňovanou (A), jednak ve zkumavkách s vysokou vrstvou agaru a s agarovým uzávěrem (B). Nevznikla-li po třech týdnech inkubace při 31°C černá sraženina, byl výsledek považován za negativní. K inokulaci bylo použito dvou ředění suspenze zeminy: 10^{-1} a 10^{-2} . Ve zkumavkách se zředka vytvořily kolonie. Většina půd následkem tvorby FeS zčernala nebo zešedla. Stupeň redukce síranů byl posuzován z množství pozitivních nálezů v jednotlivých ředěních a intenzity zabarvení. Na Petriho miskách byly naopak počítány pouze zřetelně vyvinuté kolonie a případný černý nebo šedý zákal živné půdy nebyl brán v úvahu.

Oběma metodami byly analyzovány vzorky černozemní hlinité zeminy z nádobových pokusů:

I — s odstupňovanou vlhkostí tak, že vzorky obohacené síranem amonným (0,3 g/1 kg hlíny) byly zvlhčeny na maximální vodní kapacitu K — každý 8. den, Z₁ — každý 4. den, Z₂ — každý 2. den;

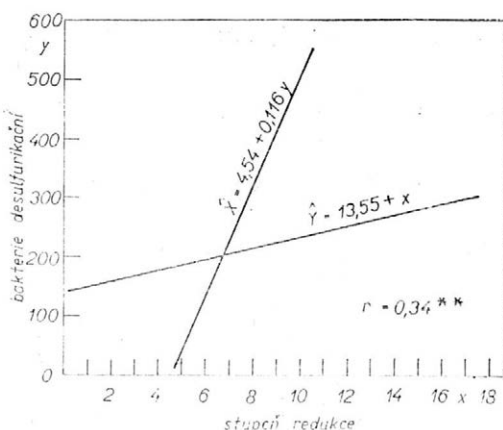
II — zemina 1 kg byla obohacena síranem amonným v dávce H₁ — 0,95 g, H₂ — 0,189 g a H₃ — 0,285 g a každý čtvrtý den byla zavlažována na max. vod. kap.;

III — do zeminy (0,3 g/1 kg) hnojené síranem amonným byly přidány různé organické látky s obsahem C 0,5 g na 100 g zeminy: K₀ — bez organické látky, C — karboxymethylcelulóza (CMC), G — glukóza, P — pektin. Každý pátý den byla zemina zavlažována na max. vod. kapacitu. Z každé varianty bylo provedeno 12 rozborů na biologickou redukci síranů.

Výsledky jsou vyhodnoceny biometrickými metodami.

VÝSLEDKY

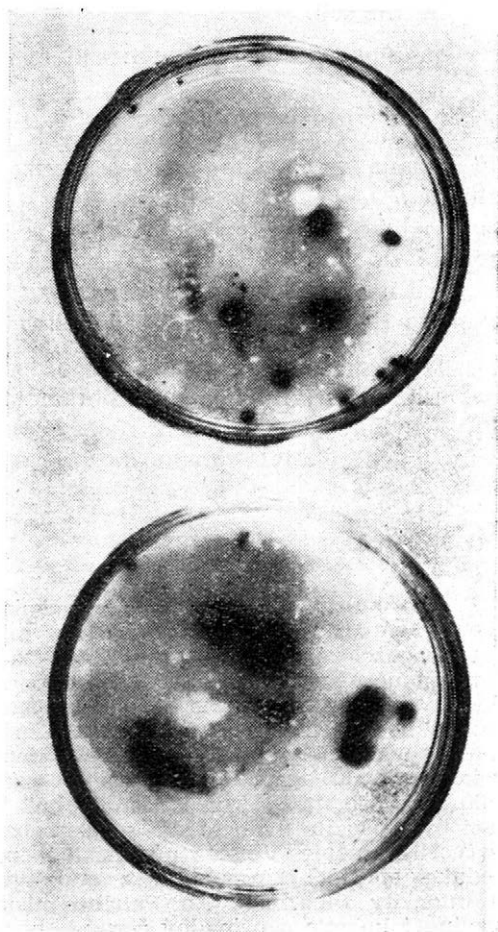
Výsledky získané metodou plotnovou a metodou titru nejsou totožné. Málo průkazný korelační koeficient ($r = 0,34$) ukazuje na nepříliš těsnou závislost hodnot, získaných oběma metodami, což je potvrzeno i regresními přímkami (obr. 1). Rozdílné výsledky obou metod mohou být ovlivněny i tím, že plot-



1. Regresní přímky vyjadřující závislost redukce síranů na množství desulfurikačních bakterií. — Regression straight lines giving the dependence of the reduction of sulphates on the number of desulphurizing bacteria

→

2. Bakterie desulfurikační a tmavý difuzní zákal živné půdy. — Desulphurizing bacteria and the dark diffusive turbidity of the nutrient medium



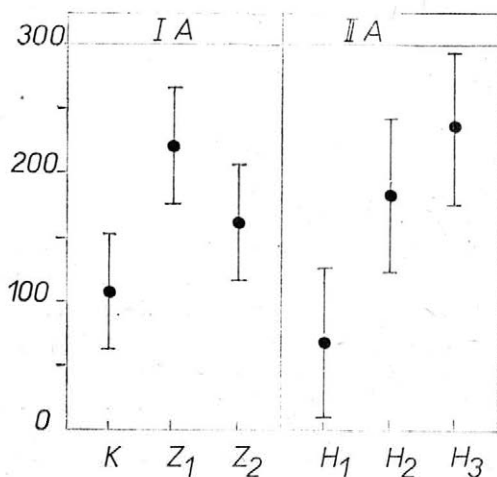
I. Zhodnocení výsledků biologické redukce síranů získaných plotnovou metodou (A) a metodou titru (B) z pokusů: I — závlaha, II — síran amonný, III — organické látky. — Evaluation of the results of biological reduction of sulphates obtained by the plate method (A) and volumetric analysis (B) from experiments: I — irrigation; II — ammonia sulphate; III — organic substances

Analýza rozptylu

Zdroj proměnlivosti	A					
	I		II		III	
	stupeň volnosti	průměrný čtverec	stupeň volnosti	průměrný čtverec	stupeň volnosti	průměrný čtverec
Zásah	2	38,73**	2	91,12**	3	194,—
Opakování	11	38,29	11	21,84	11	89,—
Nekontrolované faktory	22	6,22	22	9,78	33	111,—
** $P < 0,01$						
Zdroj proměnlivosti	B					
	I		II		III	
	stupeň volnosti	průměrný čtverec	stupeň volnosti	průměrný čtverec	stupeň volnosti	průměrný čtverec
Zásah	2	21,4*	2	28,9*	3	11,33
Opakování	11	39,4	11	32,9	11	20,76
Nekontrolované faktory	22	8,3	22	10,8	33	5,61
* $P < 0,10$						

novou metodou je stanoven pouze počet kolonií desulfurikačních bakterií, zřetelně vyrostlých na živné půdě. Tmavý zákal půd, vznikající zvláště při nižším zředění suspenze, není do hodnocení zahrnut (obráz. 2). Metodou titru je naopak určována redukce síranů vyvolaná desulfurikačními bakteriemi i podílem průvodní mikroflóry.

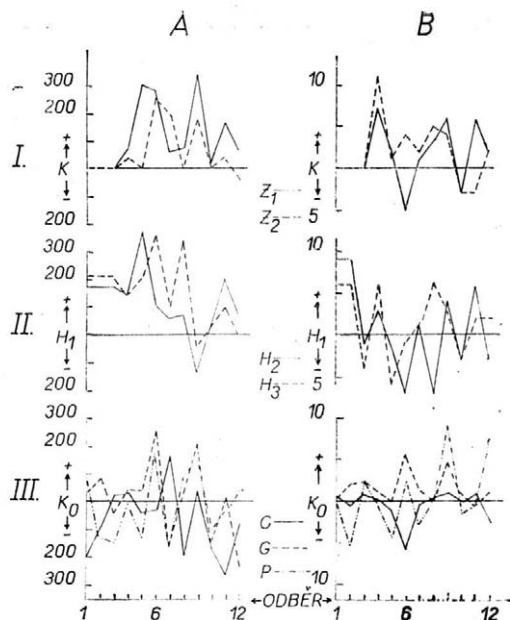
Vyšší vlhkost půdy průkazně zvyšuje množství desulfurikačních bakterií ($P < 0,01$) při stanovení plotnovou metodou, zatímco zvýšená desulfurikace, stanovená metodou titru ve zkumavkách, je statisticky neprůkazná ($P < 0,1$). Obdobné výsledky lze stanovit i v půdách silně zásobených síranem amonným (tab. I, II). Průměrné počty bakterií desulfurikačních s příslušnými konfidenčními intervaly z půd zavlažovaných a hnojených síranem amonným jsou znázorněny na diagramu č. 3.



3. Průměry a konfidenční intervaly množství desulfurikačních bakterií z pokusů I a II při použití metody A. — Mean values and confidence intervals of the number of desulphurizing bacteria from experiments I and II by the use of method A

II. Průměrné hodnoty biologické redukce síranů získané plotnovou metodou (A) a metodou titru (B) z pokusů: I — závlaha, II — síran amonný, III — organické látky, a jejich variant. — Mean values of the biological reduction of sulphates obtained by the plate method (A) and the volumetric analysis (B) from experiments: I — irrigation; II — ammonia sulphate; III — organic substances and their variants

Pokus	Varianta	Metoda	
		A	B
I	K	107	7,6
	Z ₁	220	8,7
	Z ₂	164	9,5
II	H ₁	68	7,2
	H ₂	185	9,1
	H ₃	238	9,5
III	K ₀	230	5,1
	C	160	4,7
	G	237	6,8
	P	217	5,7



4. Rozdíly v počtu A — desulfurikačních bakterií, B — ve stupni redukce u variant: I zavlažovaných (Z₁, Z₂) oproti K nezavlažované, II silně hnojených síranem amonným (H₂, H₃) oproti variantě slabě hnojené (H₁), III s organickými látkami (C, G, P) oproti variantě K₀ bez přídavku organické látky. — Differences in the number, A — desulphurizing bacteria; B — at reduction degree in variants: I irrigated (Z₁, Z₂) as compared with K non-irrigated, II irrigated with ammonia sulphate (H₂, H₃) as compared with the slightly fertilized variant (H₁), III with organic substances (C, G, P) as compared with variant K₀ without the addition of organic substances

Naproti tomu rozdíly průměrů mezi variantami s různými organickými látkami nejsou průkazné, byť byly stanoveny kteroukoliv z obou metod (tab. I, II).

Pro podrobnější znázornění jednotlivých rozborů jsou graficky (č. 4) zachyceny rozdíly u sledovaných metod mezi vzorky: I. nezavlažovanými (K) a zavlažovanými (Z₁, Z₂), II. slabě hnojenými síranem amonným (H₁) a silně hnojenými (H₂, H₃), III. bez přídavku organických látek (K₀) a s různými organickými látkami (C, G, P). U variant zavlažovaných a minerálně hnojených, kde byly nalezeny statisticky vysoké průkazné rozdíly získané plotnovou metodou (tab. I), vykazují téměř všechny půdní vzorky zvýšený počet desulfurikačních bakterií. U ostatních variant výsledné hodnoty z jednotlivých půdních vzorků více nebo méně kolísají nad i pod hodnotami kontroly.

DISKUSE

Výzkumem desulfurikačních bakterií v půdě se zabývali Rubenčik (1947), Iljaletbunov a Kanatčinova (1964), Starkey (1966),

Taha a spol. (1967) i jiní. Konstatovali, že zvláště bohatá jsou jimi rýžoviště a půdy občas nasycené vodou.

Naše výzkumy se týkají půd rolních, ve kterých byl sledován popsánými metodami jednak počet desulfurikačních bakterií, jednak celková aktivita desulfurikace. Byl zde studován vliv rozdílné vlhkosti zeminy, různého stupně obohacení síranem amonným i různými organickými látkami. Zjistili jsme, že zvýšená vlhkost půdy vytváří příznivé prostředí pro biologickou redukci síranů. V tomto ohledu se naše výsledky shodují i s výsledky jiných autorů, jako Rubenčika (1947), Fjodorova (1957), Tahy, Mahmouda a Ibrahima (1967).

Rovněž s větším množstvím síranu amonného vzrůstá i redukce síranů, jak shodně konstatují Iljaletbunov a Kanatčikova (1964) i Taha a spol. (1967).

Naproti tomu údaje o vlivu organických látek na zvýšení redukce síranů (Iljaletbunov a Kanatčinova 1964, Káš 1964, Ogata a Bower 1965, Timar 1965, Galstjan 1966) nebyly v naší práci prokázány.

Výsledky, které mohou poskytnout obě metody, mají podle našeho názoru jen orientační charakter. Analytické hodnoty u jednotlivých opakování značně kolísají a průměrné hodnoty vzhledem k malému počtu desulfurikačních bakterií (od 0–500 zárodků na 1 g vyschlé zeminy) jsou méně spolehlivé. Většími výkyvy je zatížena pracovně jednodušší metoda titru, poněvadž se u ní projevují zřejmě i vlivy doprovodné mikroflóry. Biologická redukce síranů je sice vlastností především bakterií desulfurikačních, ale i malého počtu anaerobních mikrobů, většinou hnilobných, saprofitů i částečně patogenů. Ačkoliv je množství vytvořeného H_2S u všech těchto bakteriálních kultur malé ve srovnání s množstvím produkovaným desulfurikačními bakteriemi, může se projevit při stanovení redukce metodou titru. Brys (1960) např. uvádí, že Clostridia, která se plně nerozvinula, mohou působit difuzní zákal živné agarové půdy. Ale i přes tyto nedostatky bylo možno pozorovat výrazné rozdíly mezi jednotlivými variantami pokusů. Při větším počtu opakování a po vyhodnocení metodou variance nalezené rozdíly byly průkazné a oběma metodami byly stanoveny shodné tendence. Domnívám se, že použitými metodami lze v hrubých rysech indikovat i relativní stupeň anaerobiozy v prostředí a mohou být tedy ukazatelem relativní intenzity redukčních pochodů v půdě.

Literatura

- BRY S K., 1960, Stanovenie redukčných sírnych bakterií a optimálnych podmienok redukcie síranov. Závěrečná zpráva Výzkumného ústavu vodohospodářského, Bratislava.
- FJODOROV M. V., 1957, Půdní mikrobiologie. Praha.
- GALSTJAN A. Š., 1966, Opredelenije aktivnosti sulfatreduktazy počvy. Doklady Akad. nauk SSSR, Moskva 166.
- ILJALETBUNOV A. N., KANATČINOVA M. K., 1964, Mikrobiologičeskije prevraščenija sernych sojedenenij v periodičeski zatoplajajemych počvach Kzyl-Ordinskoj oblasti. Mikrobiologija 33 : 118-125
- KÁŠ V., 1964, Zemědělská mikrobiologie. Praha.
- OGATA G., BOWER C. A., 1965, Significance of biological sulfate reduction in soil salinity. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 29 : 23-25.
- RUBENČÍK L. I., 1947, Sulfatreducirujuščije bakteriji. ANSSSR, Moskva.
- SOKOLOVA G. A., SOROKIN I., 1957, Bakterialnyje vostonovlenije sulfatov v ilach Ribinskogo vodochranilišča. Mikrobiologija 26 : 194-201.

- STARKEY R. L., 1966, Oxidation and reduction of sulfur compounds in soils. *Soil Science* 101 : 297-306.
- TAHA S. M., MAHMOUD S. A. Z., IBRAHIM A. N., 1967, Microbiological and chemical properties of paddy soil. *Plant and Soil*, 26 : 33-48.
- TIMAR E., 1965, The Effect of Organic Matter on Sulfate Reduction Occurring in Alkali Soils. *Agrochémia és talajtan* 14 : 195-198.

Došlo dne 31. 10. 1968

AMBROŽOVÁ M. *Biologická redukce síranů v zemědělských půdách*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 237-242, 1969.

Jsou hodnoceny relativní přednosti dvou metod používaných k testu na biologickou redukci síranů v půdách. Obě metody byly vyzkoušeny na půdách ve třech nádobových pokusech. Bylo zjištěno, že zvýšený počet desulfurikačních bakterií, stanovených plotnovou metodou, i zvýšená redukce síranů, stanovená metodou titru, je v půdách s vyšší vlhkostí a v půdách obohacených síranem amonným. Přídavek organických látek do půdy neměl vliv na rozvoj desulfurikačních bakterií, ani na redukci síranů. Výsledky získané oběma metodami mají pouze orientační charakter. Lze jimi v hrubých rysech indikovat relativní stupeň anaerobiózy v prostředí a mohou být ukazatelem relativní intenzity redukčních pochodů v půdě.

desulfurizace; metoda; vlhkost půdy; síran amonný; organická hmota

АМБРОЖОВА М. (Центральный научно-исследовательский институт растениеводства, Прага-Рузыне — научно-исследовательская станция основной агротехники, Грушованы у Брно). Биологическая редукция сульфатов в сельскохозяйственных почвах. *Rostlinná výroba* (Praha) 15 (2) : 237-242, 1969.

Оцениваются относительные преимущества двух методов, применяемых при тесте на биологическую редукцию сульфатов в почвах. Оба метода испытывались на почвах в трех опытах с сосудами. Было установлено, что повышенное количество десульфуризационных бактерий, установленных плиточным методом, и повышение редукции сульфатов, установленное методом титра, наблюдается в почвах с повышенной влажностью и в почвах, обогащенных сернокислым аммонием. Добавление в почву органических веществ не оказало влияния ни на развитие десульфуризационных бактерий, ни редукцию сульфатов. Результаты, полученные обоими методами, имеют лишь ориентировочный характер. Ими можно в общих чертах определить относительную степень анаэробизма в среде и они могут быть показателем относительной интенсивности редукционных процессов в почве.

десульфуризация; метод; влажность почвы; сернокислый аммоний; органическое вещество

Adresa autorky:

Inž. Miroslava Ambrožová, CSc., Ústav základní agrotechniky, Hrušovany u Brna

VLIV CHLORCHOLINCHLORIDU (CCC) NA RESPIRACI A PŘEMĚNU MOČOVINY V PŮDĚ

J. APLTAUER, J. NEUBERG

APLTAUER J., NEUBERG J. (Research Institutes of Crop Production. Institute of Plant Nutrition, Prague-Ruzyně). *The Influence of Chlorcholinechloride (CCC) on Respiration and on Urea Transformation in Soil*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 243-246, 1969.

In laboratory experiments the influence of chlorcholinechloride (CCC) on respiration and urea transformation in the grey-brown podzolic soil was investigated. The soil was enriched with the urea nitrogen and with the wheat straw. The dose of chlorcholinechloride of 4 kg per hectare used in the agricultural practice and even a tenfold dose did not substantially influence soil respiration. Also the soil nitrification was not unfavourably influenced by the higher dose and, on the contrary, it was found to be slightly stimulated. Preliminary, it is possible to rank chlorcholinechloride among the chemical substances that do not suppress microbial processes if applied in the mentioned doses.

chlorcholinechloride; respiration; nitrification

Rychlý rozvoj chemizace zemědělství a stále intenzivnější používání chemických látek může mít vedle bezesporu kladného i nepříznivý vliv na půdní vlastnosti, především na biologickou složku půdy. Je proto nezbytné soustavně sledovat vlastnosti v zemědělství používaných chemických látek a snažit se omezovat ty, které by se projevíly jako škodlivé.

Účelem bylo prověřit v modelových pokusech jednu z těchto chemických látek, chlorcholinechlorid (CCC), a zjistit jeho vliv na některé mikrobiální pochody v půdě. Důvodem bylo jeho mimořádně rychlé rozšíření v zemědělské praxi i značná pozornost, která je mu věnována na různých výzkumných pracovištích v zahraničí (Jung, Sturm 1964, Linser, Kühn 1964, Kühn, Linser 1966, Primost 1967 atd.) i u nás (Neuberg, Novotná 1967, Škopík 1965).

Můžeme předpokládat, že jednotlivé používané chemické látky se budou lišit především v době maximálního působení. Některé budou působit okamžitě, jiné až po určité době neb při stále opakovaném hromadění. V našich pokusech jsme se zaměřili především na sledování krátkodobého působení.

MATERIÁL A METODY

Vliv chlorcholinechloridu na mikrobiální pochody v půdě byl sledován v laboratorních pokusech se zeminou hnědozemního půdního typu s neutrální reakcí, s 32,00 mg P_2O_5 /100 g a 33,00 mg K_2O /100 g suché zeminy s celkovým obsahem dusíku 0,145 % a uhlíku 1,54 %. 6 kg zeminy bylo inkubováno ve skleněných vanách při 28 °C. V prvním pokusu byla sledována respirace zeminy pouze ovlhčené, zeminy se slámou v množství 5 g/1 kg, zeminy se slámou a 2 dávkami CCC odpovídající 4 a 40 kg na ha, tj. 7,98 a 79,8 mg na kg zeminy.

V dalším pokusu bylo inkubováno 4,5 kg zeminy a založeny 4 varianty jako v pokusu prvním, doplněné 2 variantami, a to s močovinou a močovinou s vyšší dávkou CCC.

V prvním pokusu byla sledována bazální respirace (Novák 1956) a respirace s přidáním dusíku, ve druhém pokusu byla sledována bazální respirace a respirace s přidáním dusíku (2., 3., 4. varianta) a s přidáním glukózy (1., 5., 6. varianta). 50 g zeminy bylo inkubováno 20 hodin, po této době byl kysličník uhličitý stanoven interferometricky a jeho množství je uvedeno v mg na 100 g suché zeminy. Nitrátový dusík sledovaný ve druhém pokusu byl stanovován kolorimetricky s kyselinou fenoldisulfonovou.

VÝSLEDKY A DISKUSE

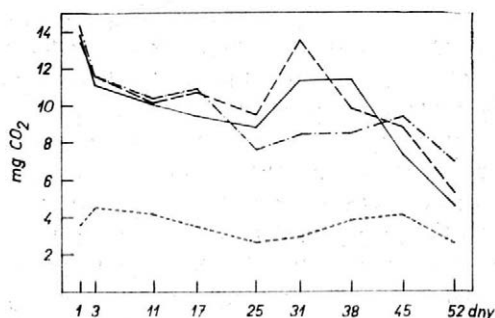
Z modelového pokusu, ve kterém byla použita sláma jako zdroj uhlíku a sledován vliv nižší a vyšší dávky chlorcholinchloridu, je zřejmé, že došlo k podstatnému zvýšení respirace půdy ve všech variantách se slámou. Nezjistili jsme však rozdíl v respiraci půdy mezi variantami s nižší a vyšší dávkou chlorcholinchloridu, i když respirace (bazální i s přidáním dusíkem) v průběhu sledovaného období mírně kolísala (tabulka I).

I. Vliv CCC na respiraci půdních vzorků. — Influence of CCC on the respiration of soil samples

Varianta pokusu	Množství CO ₂ v mg na 100 g suché zeminy				
	29. 3.	5. 4.	12. 4.	20. 4.	26. 4.
O — zemina	9,96	3,89	—	5,92	5,87
zemina se slámou	46,82	12,25	16,97	15,87	10,54
zemina se slámou a 4 kg CCC	47,18	21,72	13,33	13,79	9,61
zemina se slámou a 40 kg CCC	48,13	21,55	18,25	11,51	8,78
N — zemina	12,34	9,64	—	8,31	8,37
zemina se slámou	59,00	27,33	13,67	15,05	12,96
zemina se slámou a 4 kg CCC	48,93	30,87	20,58	17,12	10,93
zemina se slámou a 40 kg CCC	53,09	21,03	15,23	10,66	10,00

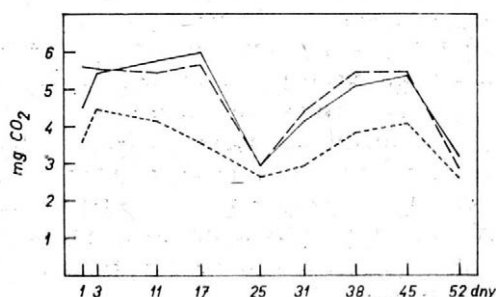
Také v dalším modelovém pokusu (graf 1) byla respirace půdy ve všech variantách se slámou podstatně vyšší než u zeminy kontrolní. Zřetelný vliv dodaného chlorcholinchloridu se projevil pouze zvýšením respirace přibližně měsíc po založení pokusu ve variantě s nižší dávkou CCC. V období od 25. do 38. dne jsme zjistili pokles tvorby kysličníku uhličitého ve variantě s vyšší dávkou CCC. Ve všech ostatních odběrech jsme podstatnější rozdíly mezi sledovanými variantami nezjistili. Vliv močoviny a vyšší dávky CCC je znázorněn v grafu 2. Z průběhu křivek je zřejmé, že respirace půdy byla ovlivněna pouze přidáním močoviny, ale vliv CCC se neprojevil. Respirace půdy s dusíkem byla velmi vyrovnaná ve variantách se slámou, se slámou s nižší i vyšší dávkou chlorcholinchloridu v průběhu celého pokusu (graf 3). Respirace půdy s glukózou byla podstatně vyšší u všech variant, avšak nejzřetelnější zvýšení jsme zjistili ve variantách s močovinou. Vliv chlorcholinchloridu se ani v tomto případě výrazně neprojevil.

Respirace půdy byla doplněna sledováním nitrifikace v půdě ve variantách s močovinou, s močovinou s vyšší dávkou CCC a variantě kontrolní. Podle



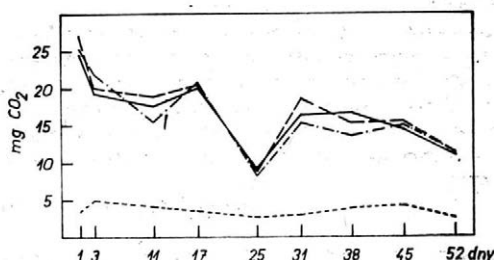
----- zemina
 — zemina se slámou.
 - - - - - zemina se slámou a 4kg CCC/ha
 — zemina se slámou a 40kg CCC/ha

1. Vliv CC a pšeničné slámy na respiraci půdy (bazální). — Influence of CCC and wheat straw on soil respiration (basal)



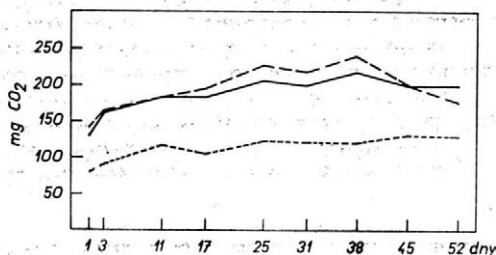
----- zemina
 — zemina s močovinou
 - - - - - zemina s močovinou a 40kg CCC/ha
 — zemina s močovinou a 40kg CCC/ha

2. Vliv CCC a močoviny na respiraci půdy (bazální). — Influence of CCC and urea on the respiration of soil (basal)



----- zemina
 — zemina se slámou
 - - - - - zemina se slámou a 4kg CCC/ha
 — zemina se slámou a 40kg CCC/ha

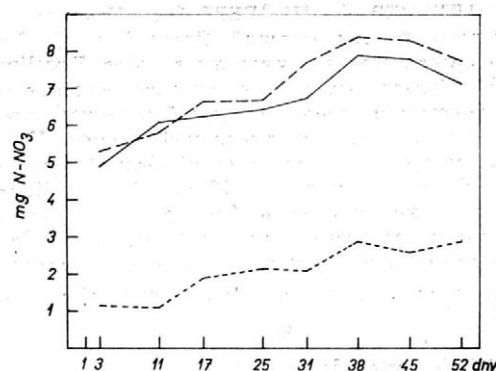
3. Vliv CCC a slámy na respiraci půdy s dusíkem. — Influence of CCC and straw on the respiration of soil with nitrogen



----- zemina
 — zemina s močovinou
 - - - - - zemina s močovinou a 40kg CCC/ha
 — zemina s močovinou a 40kg CCC/ha

4. Vliv CCC a močoviny na respiraci půdy s glukózou. — Influence of CCC and urea on the respiration of soil with glucose

předpokladu jsme zjistili velmi intenzivní průběh nitrifikace v obou variantách s močovinou. Rozdíl mezi variantou s močovinou a variantou s močovinou a CCC však byl minimální. Zjistili jsme pouze mírné zvýšení tvorby nitrátů ve variantě s vyšší dávkou CCC.



----- zemina
 — zemina s močovinou
 - - - - - zemina s močovinou a 40kg CCC/ha
 — zemina s močovinou a 40kg CCC/ha

5. Vliv močoviny a CCC na tvorbu nitrátů v půdě. — Influence of urea and CCC on the formation of nitrates in soil

Z uvedených předběžných výsledků našich pokusů můžeme usuzovat na velmi malý vliv CCC na sledované mikrobiální pochody. Porovnávat získané výsledky s výsledky jiných autorů je obtížné proto, že chlorcholinchlorid je z tohoto hlediska studován pouze v ojedinělých případech. Tak Jung a Sturm (1964) věnovali pozornost mimo jiné též jeho vlivu na půdní respiraci a zjistili ve shodě s našimi pokusy, že CCC nepůsobil negativně na tyto pochody. I když se dá předpokládat, že škodlivost jednotlivých dávek chlorcholinchloridu používaných v zemědělské praxi bude minimální, bude nutné výzkum doplnit sledováním rychlosti rozkladu CCC, sledováním vlivu opakovaných dávek atd. a teprve potom jej zařadit mezi chemické látky, které mikrobiální pochody neovlivňují.

Literatura

- JUNG J., STURM H., 1964, Der Wachstumsregulator CCC. Die Landwirtschaftliche Versuchsstation Limburgerhof 1914—1964 : 257-280.
- KÜHN H., LINSE H., SCHUSTER W., 1966, CCC-Wirkung in Feldversuchen mit hoher Stickstoffdüngung bei einigen Sommer- und Winterweizensorten. Z. Acker- und Pflanzenbau 123 : 356-373.
- LINSE H., KÜHN H., 1964, Die Wirkung von Chlorcholinchlorid (CCC) auf Halmverkürzung, Ertrag und Stickstoffaufnahme bei verschiedenen Winterweizensorten im Gefäßversuch. Z. Acker- und Pflanzenbau 120 : 1-16.
- NEUBERG J., NOVOTNÁ L., 1967, Účinnost vysokých dávek dusíku při různé hustotě výsevu jarní pšenice ošetřené přípravkem CCC. Rostlinná výroba 13 : 569-574.
- PRIMOST E., 1967, Der Einfluß von Chlorcholinchlorid (CCC) auf den Ertragsaufbau von Winter- und Sommerweizen. Z. Acker- und Pflanzenbau 126 : 164-178.
- ŠKOPÍK P., 1965, Studium nepoléhavosti obilovin a opatření pro její zvýšení. c. Možnost použití morforegulačního přípravku CCC u ozimé pšenice. Inform. zpr. Výzkumného ústavu obilnářského Kroměříž.

Došlo dne 31. 10. 1968

APLTAUER J., NEUBERG J. *Vliv chlorcholinchloridu (CCC) na respiraci a přeměnu močoviny v půdě*. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 243-246, 1969.

V laboratorních pokusech byl sledován vliv chlorcholinchloridu (CCC) na respiraci a přeměnu močoviny v půdě hnědozemního půdního typu. Půda byla obohacena dusíkem močoviny a uhlíkem pšeničné slámy. V zemědělské praxi používaná dávka chlorcholinchloridu, odpovídající 4 kg CCC na ha, ani dávka desetinásobná neovlivnily podstatně respiraci půdy. Také nitrifikace v půdě probíhající nebyla vyšší dávkou nepříznivě ovlivněna, naopak jsme zjistili její mírnou stimulaci. Lze tedy chlorcholinchlorid předběžně zařadit mezi chemické látky, které v uvedených dávkách mikrobiální pochody nepotlačují.

nitrifikace

АПЛТАУЕР Й., НЕЙБЕРГ Й.: (Научно-исследовательские институты растениеводства, Институт питания растений, Прага-Рузыне). Влияние хлорхолинхлорида (CCC) на респирацию и преобразование мочевины в почве. Rostlinná výroba (Praha) 15 (2) : 243-246, 1969.

В лабораторных опытах изучалось влияние хлорхолинхлорида (CCC) на респирацию и превращение мочевины в почве буроземного почвенного типа. Почва обогащалась азотом мочевины и углеродом пшеничной соломы. На респирацию почвы существенно не влияли ни применяемая в сельскохозяйственной практике доза хлорхолинхлорида, отвечающая 4 кг CCC на га, ни доза в 10 раз больше. Также проходящая в почве нитрификация отрицательно не проявлялась под действием более высоких доз, а наоборот, нами была установлена ее незначительная стимуляция. Следовательно, хлорхолинхлорид можно включить в химические вещества, которые в приведенных дозах не подавляют микробиальные процессы. хлорхолинхлорид; респирация; нитрификация

Adresa autorů:

Ing. Jiří Apltauer, CSc., ing. Jaroslav Neuberger, DrSc., Výzkumné ústavy rostlinné výroby, Ústav výživy rostlin, Praha-Ruzyň

TEMATICKÝ PŘEHLED

SÉROLOGIE HLÍZKOVÝCH BAKTERIÍ A JEJÍ VYUŽITÍ PŘI STUDIU VZÁJEMNÝCH VZTAHŮ MEZI ROSTLINOU A RHIZOBIEMI

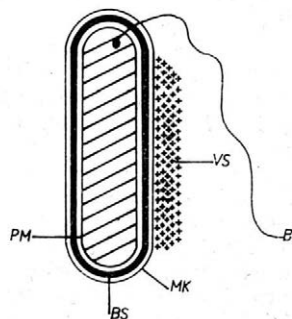
V. ŠKRDLETA

Sérologie hlízkových bakterií je rozpracována v mnohem menší míře než je tomu například u některých skupin mikroorganismů důležitých v humánní a veterinární medicíně (*Enterobacteriaceae*). To se odráží především v našich nedostatečných znalostech chemické stavby jednotlivých antigenů rhizobií a jejich antigenních komponent. I přes tyto nedostatky dosahuje sérologie a sérologické metody studia hlízkových bakterií stále většího uplatnění. Poznatky získané ze sérologické typizace jsou například využívány při studiu ekologie, kompetice a virulence rhizobií. Sérologické metody dopomáhají v řadě prací řešit i takové problémy, které by byly prakticky jinak neřešitelné (uplatnění různých kmenů při smíšené inokulaci, vliv ekologických podmínek na přežívání jednotlivých kmenů v půdě, ověření předpokladů o tvorbě každé kořenové hlízky jediným kmenem a účasti několika kmenů na nodulaci jedné rostliny atd.).

V tomto tématickém přehledu se pokusíme shrnout a zhodnotit především novější poznatky výše uvedené problematiky. (Přehled starších prací ze sérologie rhizobií — viz Fred, Baldwin a McCoy 1932).

Postupně si všimneme jednotlivých buněčných a extracelulárních složek hlízkových bakterií a jejich antigenicity (obr. 1).

Volný sliz, jehož produkce je typickým znakem hlízkových bakterií, je v podstatě makromolekulární polysacharid, jehož základní komponentou je glukóza. Obsahuje podle jednotlivých druhů rhizobií ještě další cukerné složky — galaktózu, rhamnózu, mannózu, glukuronovou kyselinu a 4-0-metyl-glukuronovou kyselinu (Hopkins, Peterson a Fred 1930, 1931, Schluchterer a Stacey 1945, Kleczkowski a Kleczkowski 1952, De Leizaola a Dedonder 1958, Humphreyová a Vincent 1959, Clapp, Davis a



B - BIČÍK (FLAGELÁRNÍ-H-ANTIGENY)
VS - VOLNÝ SLIZ (VYSOKOMOLEKULÁRNÍ POLYSACHARID)
MK - MIKROKAPSULE BUNĚČNÉ STĚNY (SOMATICKÉ-O-ANTIGENY)
BS - BUNĚČNÁ STĚNA (VI-LIKE ANTIGENY ?)
PM - PROTOPLASTOVÁ MEMBRÁNA (PROTEINOVÉ HLUBOKO ULOŽENÉ ANTIGENY)

1. Schéma. — Scheme

Waugaman 1962, Davis a Heald 1964, Dudman 1964, Graham 1965, Škrdleta 1966). Antigenicita volného amorfního slizu nebyla jednoznačně prokázána (Humphreyová a Vincent 1959, Vintiková, Šrogl a Škrdleta 1961) a Humphreyová a Vincent (1965) se domnívají, že extracelulární amorfní polysacharid *R. trifolii* není ani antigen, ani haptén. Ty případy, ve kterých extracelulární látky uvolňované do kultivačního média a označované jako rozpustné extracelulární polysacharidy (Dudman 1964b) precipitovaly s antisérou proti kompletním kulturám, lze vysvětlit pravděpodobně tak, že takto izolované polysacharidy obsahovaly jako antigenní kontaminantu somatické termostabilní difúzní povrchové antigeny, lokalizované v povrchových mikrokapsulích buněčné stěny.

Somatické antigeny, detegované pomocí agarových imunoprecipitací u *R. trifolii* Humphreyovou a Vincentem (1965), Schefflerem a Louwem (1966, 1967) a Hollandem (1966), u *R. meliloti* Dudmanem (1964b, c, 1965) a Gibbinsem (1967) a u *R. japonicum* Škrdletou (1969a, b), představují komplex makromolekulárních látek, jejichž základní složkou jsou polysacharidy a bílkoviny (Dudman 1964b, c, 1965). Je velmi pravděpodobné, že somatické antigeny rhizobií, stejně jako je tomu i u jiných G (—) bakterií (Lüderitz, Staub a Westphal 1966), jsou komplexem makromolekulárních látek, zahrnujících vedle polysacharidu a bílkoviny i lipid.

Z hlediska pohyblivosti při agarové imunodifúzi byly jak u *R. trifolii* a *R. meliloti* (Humphreyová a Vincent 1965, Dudman 1964b), tak u *R. japonicum* (Škrdleta 1969a, b) rozlišeny dvě základní skupiny somatických antigenů — rychle a pomalu difundující. Při porovnání imunoprecipitací a somatických aglutinací se ukázalo, že pro somatické aglutinační reakce má význam především skupina pomalu difundujících somatických antigenů (Humphreyová a Vincent 1965, Škrdleta 1969a, b).

V podstatě nemáme žádné informace o specifických skupinách zodpovědných za antigenicitu jednotlivých somatických antigenů. Pouze Lorkiewicz, Kwas a Szwed-Nabialek (1963) udávají, že by jednou z nositelek antigenicity somatických antigenů, izolovaných Campbellovou metodou z *R. trifolii*, mohla být glukóza.

Přítomnost V antigenů, které jsou rovněž lokalizovány v mikrokapsulích a které známe například u *Salmonella typhosa*, *Escherichia coli* a *Paracolobacterium ballerey* (Gunsalus a Stanier 1960), nebo jím podobných antigenů, je předpokládána i u *R. trifolii* Vincentem (1953).

Lyzí a desintegraci buněk nebo snížením permeability blány buněčné jsou uvolňovány další, v hloubce buňky uložené termolabilní antigeny bílkovinné povahy (Dudman 1964b, Humphreyová a Vincent 1965). V této souvislosti zjistil Gibbins (1967) zajímavý jev, že totiž po desintegraci buněk *R. meliloti* došlo k uvolnění blíže neidentifikované složky, pravděpodobně bílkovinné povahy, vytvářející se somatickými antigeny termolabilní komplex, který se sám na precipitaci nepodílel a tak omezoval somatické imunoprecipitace.

Termolabilní flagelární an-

tigeny byly u hlízkových bakterií studovány především pomocí aglutinací, a to jak s kompletními, tak s vysycenými antiséry a jejich počet, rozmanitost a úloha při sérotypizaci bude předmětem dalších kapitol.

Počet antigenů, sérologických skupin a sérotypů, zjištěných různými autory u jednotlivých druhů rhizobií, je do značné míry odvislý od počtu studovaných kmenů a použitých antisér a metod. Tak u *R. japonicum* bylo jednotlivými autory zjištěno nebo navrženo k vysvětlení aglutinací s kompletními a vysycenými antiséry 6—24 somatických a 3 flagelární antigeny a 2, 6 až 17 různých somatických séroskupin. Počet séroskupin je zřejmě ovlivněn nejen počtem studovaných kmenů a počtem antisér, ale i vhodností metod aplikovaných v té které práci (Koontz a Faber 1961, Škrdleta 1963, 1965, 1969b, Date a Decker 1965). Ani v jediném případě nebyl u tohoto druhu hlízkových bakterií zjištěn nějaký antigen společný pro všechny studované kmeny.

Pro vysvětlení sérologických reakcí u *R. trifolii* byl rovněž navržen různý počet antigenů, séroskupin a sérotypů. Tak například Drožaňska (1964) rozlišila u 9 kmenů na základě termolabilních a termostabilních antigenů 2 séroskupiny. Vincent (1942, 1954) a Vincent a Waters (1953) udávají pro hlízkové bakterie z jetele 3—5 flagelárních a 9 somatických antigenů, zatímco Loos (1962) na základě studia 46 kmenů rozlišených do 8 sérotypů uvádí 2 „H“ a 3 „O“ antigeny. Počet sérotypů udáváný dalšími autory se u tohoto druhu pohybuje podle počtu kmenů a hostitelských druhů od 6 do 11 (Loos a Louw 1964, Holland 1966, Scheffler a Louw 1967). Rovněž i v tomto případě nebyl zjištěn žádný antigen společný všem studovaným kmenům (Thornton a Kleczkowski 1950, Drožaňska 1959, 1964). Obdobný jev byl pozorován i u *R. leguminosarum* (Drožaňska 1963).

Z hlediska specifity a využitelnosti antigenů pro sérologickou determinaci kmenů jsou za specifitější považovány antigeny somatické (Bloomfield 1959, Vincent 1954, Scheffler a Louw 1966, Škrdleta 1965, 1969b), popřípadě je doporučována kombinace obou typů antigenů („H“ i „O“). Pouze Readová (1953) přisuzuje větší specifitu flagelárním antigenům *R. trifolii*.

Mezi příslušností k určité sérologické skupině nebo sérotypu a mezi dalšími vlastnostmi rhizobií (fixační aktivita, citlivost k fágům a k antibiotikům, virulen-

I. Sérologická příbuznost hlízkových bakterií podle různých autorů**. — The serological affinity of nodule bacteria according to various authors**

Autoři	<i>R. trifolii</i>	<i>R. leguminosarum</i>			<i>R. phaseoli</i>	<i>R. meliloti</i>		<i>R. lupini</i>		<i>R. japonicum</i>	<i>R. species</i>		
		hrách	vikev	bob		vojtěška	komonice	lupina	seradela		Vigna	Arachis	štrovník
Vincent (1962)	I	I						II			III	III	II
Bushnel a Sarles (1939)								IV*		IV*	IV*		
Štern (1953a, b)	V	VI	V	VI	VI	V	V						
Drožánska (1959, 1963)	VII	VII	VII			VIII	VII	IX	X				
Graham (1963)	XI	XI			XI	XII		XIII		XIII	XIII		

* = řada sérotypů neodpovídajících specifitě

** = I–XIII mezidruhové sérologické grupy podle jednotlivých autorů

ce, kultivační vlastnosti) nebyl zjištěn žádný prokazatelný vztah (Vincent 1954, Koontz a Faber 1961, Škrdleta 1965a, b).

Sérologické metody, založené především na aglutinacích, byly některými autory využity rovněž pro posouzení vzájemných příbuzenských vztahů jednotlivých druhů hlízkových bakterií, respektive křížově — inokulačních skupin (tabulka I).

Vydeme-li z tabulky I, můžeme navrhnout následující schéma sérologické příbuznosti rhizobií:

1. *R. trifolii* + *R. leguminosarum* + *R. phaseoli*

(2.) *R. meliloti*

3. *R. lupini* + *R. japonicum* + *R. species* (izoláty z *Vigna sinensis*)

Není bez zajímavosti, že se toto schéma shoduje se schématem Grahama v ý m (1964), navrženým na základě porovnání různých fyziologických a kultivačních vlastností hlízkových bakterií numerickou taxonomickou metodou.

Největšího uplatnění došly sérologické metody při identifikaci reisolátů hlízkových bakterií. Identifikace reisolátů je základním předpokladem při studiu kompetice inokulačních kmenů s kmeny přirozené půdní populace rhizobií (Thornton a Kleczkowski

1950, Vincent a Waters 1953, Loos 1962, Loos a Louw 1964, Johnson, Meansová a Weber 1965, Scheffler a Louw 1967, Izrailskij a Ryžkova 1967). Pomocí sérologické identifikace je zjišťován počet hlízek vytvořených buď kmeny inokulačními, nebo kmeny přirozené půdní populace rhizobií, jinými slovy, je zjišťována schopnost inokulačního kmene podílet se na tvorbě hlízek u rostlin pěstovaných za různých ekologických podmínek a za přítomnosti „divokých“ kmenů té které půdy. Tímto způsobem byly především studovány hlízkové bakterie jetele (*R. trifolii*) a sóji (*R. japonicum*).

Sérologická identifikace našla své uplatnění rovněž při studiu vlivu ekologických podmínek a odrůd hostitelské rostliny na zastoupení a četnost sérologických skupin a sérotypů rhizobií (Johnson a Meansová 1963, Holland 1966, Damirgi, Frederick a Anderson 1967, Ham, Frederick a Anderson 1967). Zajímavé je v tomto směru zjištění odvozené především z prací s *R. japonicum* a se sójou, že se totiž v určitém půdním typu a za určitých ekologických podmínek vyskytuje jen několik málo séro skupin a že jedna nebo dvě séro skupiny výrazně převažují nad ostatními.

Z metodického hlediska vycházejí vše-

chny práce s *R. trifolii* z předchozí reisolace kultur z hlízek a jejich zpětné sérologické typizace aglutinacemi nebo agarovými precipitacemi. Naopak u *R. japonicum* byla nejčastěji využívána metoda založená na použití homogenátů hlízek přímo jako antigenů v aglutinacích (Meansová, Johnson a Date 1964, Škrdleta 1967) nebo v agarových imu-

noprecipitacích (Škrdleta 1969a). Metoda přímého použití homogenátů hlízek jako antigenů je založena na faktu, že si hlízkové bakterie sóji při své přeměně v bakteroidy v infekčním procesu podržují většinu somatických antigenů buněk agarových kultur a jsou tak schopny bez předchozí reisolace reagovat přímo s antiséry proti inokulačním kmenům.

Literatura

- BLOOMFIELD B. J., Variation in *Rhizobium trifolii*. M. Sc. Thesis, University of Sydney. (Citováno podle Vincents 1962.)
- BUSHNELL O. A., SARLES W. B., 1939, Investigation upon the antigenic relationships among the root-nodule bacteria of soybean, cowpea and lupine crossinoculation groups. *J. Bacteriol.*, 38 : 401-410.
- CLAPP C. E., DAVIS R. J., WAUGAMAN S. H., 1962, The effect of rhizobial polysaccharides on aggregate stability. *Soil Sci. Amer. Proc.*, 26 : 466-469.
- DAMIRGI S. M., FREDERICK L. R., ANDERSON I. C., 1967, Serogroups of *Rhizobium japonicum* in soybean nodules as affected by soil types. *Agron. Jour.*, 59 : 10-12.
- DATE R. A., DECKER A., 1965, Minimal antigenic constitution of 28 strains of *Rhizobium japonicum*. *Canad. J. Microbiol.*, 11 : 1-8.
- DAVIS R. J., HEALD W. R., 1964, Formation of clay mineral-rhizobial polysaccharide gels and their measurement by torque viscosimetry. *Soil Sci. Amer. Proc.*, 28 : 203-205.
- DE LEIZAOLA M., DEDONDER R., 1958, Etude de la synthèse enzymatique d'un polysaccharide complexe produit par une souche de *Rhizobium japonicum*. IV. Congr. Intern. Bioch., Wien, sect. 10 : 122.
- DROZANSKA D., 1959, Budowa antygenowa różnych szczepów *Rhizobium*. *Acta Microbiol. Polon.*, 8 : 249-252.
- 1963, Antigenic relationships among strains of *Rhizobium*. *Acta Microbiol. Polon.*, 12 : 163-164.
- 1964, Studies on *Rhizobium trifolii* antigens. *Acta Microbiol. Polon.*, 13 : 69-79.
- DUDMAN W. F., 1964a, Growth and extracellular polysaccharide production by *Rhizobium meliloti* in defined medium. *J. Bacteriol.*, 88 : 640-645.
- 1964b, Immune diffusion analysis of the extracellular soluble antigens of two strains of *Rhizobium meliloti*. *J. Bacteriol.*, 8 : 782-794.
- 1964c, Unsuitability of gelatin for immune diffusion in plates. *Nature*, 201 : 995-997.
- 1965, Comparative immune diffusion at gelatin - agar interfaces: A presumptive test for protein and acidic polysaccharide antigens. *J. Immunology*, 95 : 704-717.
- FRED E., BALDWIN J. L., MCCOY E., 1932, Root nodule bacteria and leguminous plants. University of Wisconsin Studies in Science, Madison, 345 str.
- GIBBINS L. N., 1967, The preparation of antigens of *Rhizobium meliloti* by ultrasonic disruption: An anomaly. *Canad. J. Microbiol.*, 13 : 1375-1378.
- GRAHAM P. H., 1963, Antigenic affinities of the root-nodule bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 29 : 281-291.
- 1964, The application of computer techniques to the taxonomy of the root-nodule bacteria of legumes. *J. gen. Microbiol.*, 35 : 511-517.
- 1965, Extracellular polysaccharides of the genus *Rhizobium*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 31 : 349-454.
- GUNSALUS I. C., STANIER R. Y., 1960, The Bacteria. I. Structure. New York and London, Academic Press : 513 s.
- HAM G. E., FREDERICK L. R., ANDERSON I. C., 1967, Serogroups of *Rhizobium japonicum* in relationship to soil properties and soybean varieties. *Bact. Proceed.*, 4, A 19.
- HOLLAND A. A., 1966, Serologic characteristics of certain root-nodule bacteria of legumes. *Antonie van Leeuwenhoek*, 32 : 410-418.
- HOPKINS E. W., PETERSON W. H., FRED E. B., 1930, Composition of the gum produced by root-nodule bacteria. *J. Amer. Chem. Soc.* 52 : 3659.
- HOPKINS E. W., PETERSON W. H., FRED E. B., 1931, Glucuronic acid, a constituent of the gum of root nodule bacteria. *J. Amer. Chem. Soc.*, 53 : 306.
- HUMPHREY B. A., VINCENT J. M., 1959, Extracellular polysaccharides of *Rhizobium*. *J. gen. Microbiol.*, 21 : 477-484.
- 1965, The effect of calcium nutrition on the production of diffusible antigens by *Rhizobium trifolii*. *J. gen. Microbiol.*, 41 : 109-118.
- IZRAILSKIJ V. P., RYZKOVA A. S., 1967, Primenění se-rologického metóda issledovaniya dlya otbora najbolje konkurentnosposobnykh, štammov kluběnkovykh bakterij v laboratornykh usloviyakh. *Izv. AN SSSR, Ser. biol.*, 4 : 567-574.
- JOHNSON H. W., MEANS U. M., 1963, Serological groups of *Rhizobium japonicum* recovered from nodules of soybeans (Glycine max) in field soils. *Agron. Jour.*, 55 : 269-271.
- JOHNSON H. W., MEANS U. M., WEBER C. R., 1965, Competition for nodule sites between strains of *Rhizobium japonicum* applied as inoculum and strains in the soil. *Agron. Jour.*, 57 : 179-185.
- KLECZKOWSKI J., KLECZKOWSKI A., 1952, Effect of specific polysaccharides from the host bacteria and of ribonuclease on the multiplication of rhizobium phages. *J. gen. Microbiol.*, 7 : 340-349.
- KOONTZ F. P., FABER J. F., 1961, Somatic antigens of *Rhizobium japonicum*. *Soil Sci.*, 91 : 228-232.
- LOOS M. A., 1962, Serological characteristics of clover rhizobia from the George district. Cape Province. *S. Afr. J. Lab. Clin. Med.*, Sept. : 124-125.

- LOOS M. A., LOUW H. A., 1964, A study of the clover root-nodule bacteria in soils of the George District. I. Serological characteristics. S. Afr. J. Agr. Sci. 7:135-146.
- LORKIEWICZ Z., KWAS S., SZWED-NABIALEK G., 1963, Antigenic properties of nucleic acid preparations of *Rhizobium*. Acta Microbiol. Polon., 12:113-119.
- LUDERITZ O., STAUB A. M., WESTPHAL O., 1966, Immunichemistry of O and R antigens of Salmonella and related Enterobacteriaceae. Bact. Rev., 30:192-255.
- MEANS U. M., JOHNSON H. W., DATE R. A., 1964, Quick serological method of classifying strains of *Rhizobium japonicum* in nodules. J. Bacteriol., 87:547-553.
- READ M. P., 1953, The establishment of serologically identifiable strains of *Rhizobium trifolii* in field soils in competition with the native microflora. J. gen. Microbiol., 3:1-14.
- SCHEFFLER J. C., LOUW H. A., 1966, The gel immune diffusion technique as a method for studying the antigenic relationships among rhizobia. S. Afr. Med. J., 40:701.
- 1967, The serological characteristics of the clover rhizobia in the soils of the Stellenbosh District. S. Afr. J. Agr. Sci., 10:161-174.
- SCHLUCHTERER E., STACEY M., 1945, The capsular polysaccharide of *Rhizobium radicum*. J. Chem. Soc.: 776.
- SKRDLETA V., 1963, A contribution to the serological typization of *Rhizobium japonicum* on the basis of the study of thermostable antigens. Spisy pŕirodov. fak UJEP v Brnĕ, K 30:434-437.
- 1965 a, Somatic sero-groups of *Rhizobium japonicum*. Plant and Soil, 23:43-48.
- 1965 b, Studium nĕkterĕch biologickĕch vlastnostĕch druhu *Rhizobium japonicum* z hlediska jeho homogenity. Kandidátská disertační práce, Praha.
- 1966, Složení polysacharidovĕch slizĕ produkovanĕch kmeny *Rhizobium japonicum*. Rost. linná výroba, 12:23-27.
- 1967, Sĕrologická identita agarovĕch kultur *Rhizobium japonicum* a bakteriální složky kořenovĕch hlĕzek soji. Rostlinná výroba, 13:671-678.
- 1969 a, Determination of the soybean root - nodule origin by the Ouchterlony method. Zentralblatt Bakt. etc. II. Abt. (v tisku).
- 1969 b, Serological analysis of eleven strains of *Rhizobium japonicum*. Antonie van Leeuwenhoek (v tisku).
- STERN E. A., 1953 a, b, Serologičeskaja charakteristika klubeŕkovykh bakterij. I., II. Mikrobiologia, 22:423-430 a 656-662.
- THORNTON H. G., KLECZKOWSKI J., 1950, Use of antisera to identify nodules produced by the inoculation of legumes in the field. Nature, 166:1118-1119.
- VINCENT J. M., 1942, Serological studies of the root-nodule bacteria. II. Strains of *Rhizobium trifolii*. Proc. Lin. Soc. N. S. W., 67:82-86.
- 1953, Vi-like antigen in clover nodule bacteria Austr. J. Sci., 15:133-134.
- 1954, The root-nodule bacteria of pasture legumes. Proc. Lin. Soc. N. S. W., 79:1-32.
- 1962, Australian studies of the root-nodule bacteria A review. Proc. Lin. Soc. N. S. W., 87:7-38.
- VINCENT J. M., WATERS L. M., 1953, The influence of the host on competition amongst clover root-nodule bacteria. J. gen. Microbiol., 9:357-370.
- VINTIKOVÁ H., SROGL M., SKRDLETA V., 1961, A contribution to the serological typization of the *Rhizobia*. Folia microbiol., 6:243-249.

RNDr. Vladimír Škrdleta, CSc., Výzkumné ústavy rostlinné výroby, Ústav výživy rostlin, Praha-Ružyně

**VÝBĚR Z NOVÝCH PŘÍRŮSTKŮ
ÚSTŘEDNÍ ZEMĚDĚLSKÉ A LESNICKÉ KNIHOVNY ÚVTI
Z ÚSEKU ROSTLINNÁ VÝROBA**

Shalhevet, J. — Yaron, B. C 18.602/103
Measurement of density, moisture content and anion migration in soil columns using gamma ray technique. Rehovot, The Volcani inst. of agric. research 1966. 20 s. obr. tb. Pamphlet No. 103. (Gama záření — půda — fyzikální vlastnosti — stanovení — výzkum)

Schwertmann, U. D 54.555/124
Das Verhalten von Vermiculiten gegenüber Kalium, Aluminium und anderen Kationen — 2. Chemische Untersuchungen. Weinheim, Verlag Chemie 1966. S. 200—209. Ztschr. f. Pflanzenern., Düngung, Bodenkunde Bd. 115, Hf. 3, 1966. (Kationy — vermikulit — poutání — výzkum — NSR)

Kuprevič, V. F. — Ščerbakova, T. A. D 54.541
Počvonnaja enzimologija. Minsk, Nauka i tehnika 1966. 274 s. tb. p. (Enzymologie půdní — příručky)

Saalbach, E. D 55.320/195
Möglichkeiten und Grenzen einer optimalen bzw. maximalen Stickstoffdüngung. Wien, Österreich, Agrarverlag 1968. S. 91—111. 15 obr. 6 tb. Sonderdr. aus Die Bodenkultur, 19. Bd., H. 2, 1968. (Dusíkaté hnojení — dávky vysoké — možnosti a hranice — výzkum)

Sinjagin, I. I. E 32.262/13/75
Regulirovanije mikrobiologičeskich prevraščenij udobrenij v počve. Obzor otečestvennoj i inostrannoj literatury. Moskva, MSCH SSSR. Vses. inst. naučno-techn. inform. po sel'skomu chozj. 1966. 64 s. Obzor literatury. Vyp. 13/75. (Dusíkatá hnojiva — půda — přemečna mikrobiální — studijní zprávy — SSSR)

Vez, A. D 15.690/799
Examen de l'influence de la date du semis et de l'application du CCC sur un froment en „répiage“. Lausanne, Station fédér. d'essais agricole 1968. 2 s. tb. Publication 799. (Pšenice — chlorcholinchlorid — vliv — obilnářské oseední postupy — výzkum — Švýcarsko)

Kühn, H. — Linser, H. — Schuster, W. D 54.555/14
CCC-Wirkung in Feldversuchen mit hoher Stickstoffdüngung bei einigen Sommer- und Winterweizensorten. Berlin, P. Parey 1966. S. 356—373. tb. Sonderaus „Ztschr. f. Acker- und Pflanzenbau“ Bd. 123, H. 4 (1966). (Chlorcholinchlorid — pšenice — hnojení dusíkaté — vztahy — výzkum — odrůdy)

Podepsáno k tisku dne 10. února 1969

Stuchň F., Hamatová E.: Sedmdesátiny prof. ing. dr. Václava Káše, DrSc.	147
Novák B.: Respirace vzorků z profilů hlavních půdních typů	151
Apfelthaler R., Novák B.: Změny některých biologických a chemických vlastností půdy vlivem izolovaného působení organických a minerálních hnojiv	157
Řídký K.: Vliv posklizňových zbytků vojtěšky na vzcházení ozimé pšenice II. část	163
Macura J., Vágnerová K.: Kolorimetrická metoda stanovení aktivity proteolytických enzymů v půdě	173
Seifert J.: Nitrifikace v zemině na vzduchu vysušené a znovu ovlhčené	181
Apłtauer J., Skopalíková O.: Přeměna a pohyb dusíku v půdě	185
Hamatová E.: Vliv chronického záření gama na nodulující sóju	197
Habán L.: Vplyv reziduálneho pôsobenia prípravku Melipax na virulentnosť a fixačnú aktivitu <i>Rhizobium meliloti</i>	201
Ambrož Z.: O působení bentonitu na enzymatickou aktivitu půdní mikroflóry	209
Nováková J.: Vliv různého množství bentonitu a kaolinitu na mineralizaci glukózy II. část	215
Kubista K.: Vliv bentonitu a provzdušování na dynamiku rozvoje mikroorganismů při rozkladu vojtěšky v pískové kultuře	221
Ambrož Z.: Koncentrace některých solí jako agens, regulující uvolňování proteáz půdními mikroby	229
Ambrožová M.: Biologická redukce síranů v zemědělských půdách	237
Apłtauer J., Neuberg J.: Vliv chlorocholinchloridu (CCC) na respiraci a přeměny močoviny v půdě	243

TEMATICKÝ PŘEHLED

Škrdleta V.: Sérologie hlízkových bakterií a její využití při studiu vzájemných vztahů mezi rostlinnou a rhizobiemi	247
---	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Новак Б.: Респирация образцов из профилей главных почвенных типов (154). — Апфельталер Р., Новак Б.: Изменения некоторых биологических и химических свойств почвы под влиянием изолированного действия органических и минеральных удобрений (162). — Ржидки К.: Влияние послеуборочных остатков люцерны на всходы озимой пшеницы II (171). — Мацура Й., Вагнерова К.: Колориметрический метод определения активности протеолитических энзимов в почве (179). — Сейфрт Нитрификация высушенного на воздухе и снова увлажненного грунта (184). — Аплтауер Й., Скопаликова О.: Превращение и движение азота в почве (195). — Гаматова Е.: Влияние хронического гамма-излучения на образование клубеньков сои (200). — Габан Л.: Влияние остаточного последствия препарата Melipax на вирулентность и фиксирующую активность <i>Rhizobium meliloti</i> (208). — Амброж З.: К вопросу о влиянии bentонита на энзиматическую активность почвенной микрофлоры (214). — Новакова Я.: Влияние различного количества bentонита и каолинита на минерализацию глюкозы II (219). — Кубиста К.: Влияние bentонита и аэрации на динамику микроорганизмов при разложении люцерны в песчаной культуре (227). — Амброж З.: Концентрация некоторых солей как реактивов, регулирующих освобождение протеаз почвенными микробами (235). — Амброжова М.: Биологическая редукция сульфатов в сельскохозяйственных почвах (242). — Аплтауер Й., Нейберт Й.: Влияние хлорхолинхлорида (CCC) на респирацию и преобразование мочевины в почве (246). — Шкрдлета В.: Серология клубеньковых бактерий и ее применение при изучении взаимоотношений между растением и клубеньковыми бактериями (247).

CONTENT

Novák B.: Respiration of Samples taken from the Profiles of the Principal Soil Types (151). — Apfelthaler R., Novák B.: Changes of Certain Biological and Chemical Soil Properties Caused by Isolated Acting of Organic and Mineral Fertilizers. (157). — Řídký K.: The influence of Post-Harvest Re-

sidues of Lucerne on the Emergence of Winter-Wheat. Part II. (163). — Macura J., Vágnerová K.: The Colorimetric Method Applied for the Determination of the Activity of Proteolytic Enzymes in Soil. (173). — Seifert J.: Nitrification in an Air-Dried and Remoistened Soil (181). — Apltauer J., Skopalíková O.: The Transformation and Motion of Nitrogen in the Soil. (185). Hamatová E.: The Influence of Chronic Gamma-Irradiation on Nodulating Soya. (197). — Habán L.: The Influence of the Residual Activity of the Melipax Preparation on the Virulence and Fixation Activity of *Rhizobium meliloti*. (201). — Ambrož Z.: On the Effect of Bentonite on the Enzymatic Activity of the Soil Microflora. (209). — Nováková J.: The Influence of Different Quantities of Bentonite and Kaolinite on Glucose Mineralization. II. (215). — Kubista K.: The Influence of Bentonite and of Aeration on the Dynamics of the Development of Microorganisms in the Case of Decomposition of Lucerne in a Sand Culture. (221). — Ambrož Z.: The Concentration of Certain Salts as an Agent Regulating the Releasing of Proteases by Soil Microbes. (229). — Ambrožová M.: Biological Reduction of Sulphates in Agricultural Soils. (237). — Apltauer J., Neuberger J.: The Influence of Chlorcholinechloride (CCC) on Respiration and on Urea Transformation in Soil. (243). — Škrdleta V.: Serology of Nodule Bacteria and its Utilization in Studying the Mutual Relations between Plant and Rhizobia (247). —

TABLE DES MATIÈRES

Novák B.: Respiration des échantillons provenant des profils des types principaux de sol (res. An/151). — Apfenthaler R., Novák B.: Modifications de certaines propriétés biologiques et chimiques du sol par suite de l'influence de l'action isolée des engrais organiques et minéraux (res. An/157). — Řídký K.: Influence des résidus végétaux de luzerne après la récolte sur la levée du froment d'hiver — partie II (res. An/163). — Macura J., Vágnerová K.: Méthode colorimétrique de détermination de l'activité des enzymes protéolytiques dans le sol (res. An/173). — Seifert J.: Nitrification dans la terre séchée à l'air et rendue de nouveau humide (res. An/181). — Apltauer J., Skopalíková O.: Transformation et mouvement de l'azote dans le sol (res. An/185). — Hamatová E.: Influence du rayonnement chronique gamma sur le soya nodulant (res. An/197). — Habán L.: Influence de l'action résiduaire de la préparation Melipax sur la virulence et l'activité de fixation de *Rhizobium meliloti* (res. An/201). — Ambrož Z.: Action de la bentonite sur l'activité enzymatique de la microflore de sol (res. An/209). — Nováková J.: Influence du volume différent de bentonite et de kaolinite sur la minéralisation du glucose — partie II (res. An/215). — Kubista K.: Influence de la bentonite et de l'aération sur la dynamique de l'évolution des microorganismes lors de la décomposition de la luzerne dans la culture sablonneuse (res. An/221). — Ambrož Z.: Concentration de certains sels en tant qu'agents réglant la libération des protéases par les microbes de sol (res. An/229). — Ambrožová M.: Réaction biologique des sulfates dans les sols agricoles (res. An/237). — Apltauer J., Neuberger J.: Influence du chlorcholinechlorure (CCC) sur la respiration et la transformation de l'urée dans le sol (res. An/243). — Škrdleta V.: Sérologie des bactéries de nodosités et son utilisation à l'étude des rapports réciproques existant entre la plante et les rhizobiums (247). —

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS - ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, Lege-rova 22, Praha 2.