

VĚDECKÝ ČASOPIS



ROSTLINNÁ VÝROBA

BIOTECHNOLOGIE

11

ROČNÍK 33 (LX)
PRAHA
LISTOPAD 1987
CENA 18 Kčs
ROVYAM 33 (11)
1121-1232
CS ISSN 0370-663X

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: Prof. ing. Václav Fric, CSc. (předseda), ing. Jiří Apltaufer, CSc., ing. Jan Baier, DrSc., ing. Ivo Bareš, DrSc., dr. ing. Zbyněk Facek, CSc., ing. Rudolf Findejs, CSc., ing. Jozef Habovštiak, CSc., ing. Josef Hlaváček, CSc., prof. ing. František Hron, DrSc., doc. ing. Jozef Húska, CSc., ing. Josef Kopřiva, CSc., prof. ing. Jaroslav Krejčíř, CSc., ing. František Mráz, CSc., doc. RNDr. Jan Novák, CSc., prof. ing. Stanislav Procházka, DrSc., doc. ing. Jaroslav Prugar, DrSc., prof. ing. Václav Rybáček, CSc., ing. Josef Slepíčka, CSc., ing. Miron Suškevič, CSc., RNDr. Vladimír Škrdleta, CSc., prof. ing. Ján Švihra, DrSc., ing. Juraj Uhliar, CSc., doc. ing. František Vlček, CSc., doc. ing. Josef Vondrys, CSc., ing. Jaroslav Voškeruša, CSc., ing. František Vrkoč, DrSc., ing. Ludmila Zeniščeová, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá prof. ing. Václav Fric, CSc.

Redaktorka RNDr. Eva Štříbrná

OBSAH — Biotechnologie

Novák B.: Biotechnologie v rostlinné výrobě	1121
Löbl F., Štiková A., Váňa J.: Stav mikrobiálně-biochemické aktivity průmyslově vyráběných kompostů	1129
Nováková J.: Regulační efekt jílových minerálů na přeměny organických látek kalů	1139
Štráfelda J., Velich J., Pardus I.: Hnojení lučních porostů kaly z čistíren odpadních vod	1147
Stiborová M., Doubravová M.: Vliv iontů Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} a Pb^{2+} na alkoholdehydrogenázu ječmene jarního (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	1157
Petříková V.: Vlastnosti organických hnojiv po výrobě bioplynu	1165
Mouchová H., Apltaufer J., Lippold H., Matzel W.: Bilance dodaného dusíku v půdě a rostlině pomocí ^{15}N u pšenice ozimé při použití inhibitoru nitrifikace	1173
Kubát J., Novák B., Kalinová S.: Rozklad mikromletého Gafsa-fosforitu půdní mikroflórou	1183
Bönischová S., Pokorná J.: Metoda stanovení intenzity rozkladu celulózy jako indikátoru biotechnologických procesů	1189
Vrba V.: Vliv humusového koncentrátu na růst rostlin v počátečním období vegetace	1197
Němcová B., Našinec V., Chloupek O.: Klonování vojtěšky <i>in vitro</i>	1207

AKTUALITY

Kybal J., Kálalová S.: Mykologické aspekty výroby bioinsekticidního preparátu Boverol	1215
Siblíková D.: Směry studia interakcí rhizobií s pesticidy	1222
Dírlbeková O., Dírlbek J.: Výzkum a uplatnění mykoinsekticidů typu Boverol	1227

RECENZE

Chlumská J.: Mykopreparáty československé výroby a jejich využití v ochraně polních kultur	1231
Chlumská J.: Možnosti využití bioagens v integrované ochraně rostlin	1232

СОДЕРЖАНИЕ — Биотехнологии

Новак Б.: Биотехнологии в растениеводстве	1128
Льобл Ф., Штикова А., Ваня Я.: Микробиально-биохимическая активность промышленных компостов	1136
Новикова И.: Регулирующий эффект илистых минералов в превращении органических веществ шлама	1145

B. Novák

Biotechnologie je nástroj regulace biologických (biotických) a biochemických procesů technickými a technologickými způsoby. Biotechnologie tedy není ani vědní, ani realizační obor. Je to jednak tezaurus výsledků technologických postupů při získávání žádoucích produktů, jednak soubor metod, jak opakovaně tyto produkty získávat, a je to stále se rozvíjející systém biologických a technologických integrací určených k zproduktivnění dosavadních postupů a objevení a propracování postupů nových.

Uvedené nelze považovat za definici biotechnologie, nýbrž za charakteristiku výchozích principů, používanou v biotechnologiích v oblasti rostlinné výroby. Z toho tedy vyplývá, že biotechnologie v rostlinné výrobě jsou obsahově značně heterogenní, a lze předpokládat, že jejich náplň se bude postupně nejen zpřesňovat, ale i rozšiřovat, a to v tom smyslu, že budou přibývat další problémy rostlinné výroby, které se nyní řeší tradičními metodami, nebo se neřeší vůbec.

Současné biotechnologie v rostlinné výrobě lze rozdělit do několika problémových okruhů:

- genové manipulace a genetické inženýrství,
- klonování rostlin,
- regulace biotických procesů v půdě,
- regulace vztahů půdních organismů a rostlin,
- příprava organických hnojiv.

Genové manipulace nejsou orientovány výhradně na rostlinnou výrobu, mají obecný charakter. První práce na tomto úseku byly vykonány na mikroorganismech, zejména na rychle rostoucích, téměř všude přítomných, jednoduchých a v mnoha varietách známých bakteriích *Escherichia coli*. Dosavadní úspěchy se rovněž projevují v oblasti mikrobiálních výrob více než v ostatních oblastech. Je to způsobeno zejména těmito skutečnostmi:

- vzhledem ke genetické i somatické jednoduchosti mikroorganismů je genový transfer jednodušší než u vyšších organismů;
- doba reprodukce mikroorganismů je krátká, proto je možné získat v krátkém čase mnoho generací, a tak se přesvědčit o účinnosti (nebo neúčinnosti) provedených genových manipulací.

Téměř úplný přehled o současných možnostech genových manipulací vydala UNIDO (United Nations Industrial Development Organization) v roce 1982. Obvyklý postup *in vitro* je následující:

- izolace plazmidu,
- rozštěpení plazmidu restringující endonukleázou, vedoucí ke vzniku dvou fragmentů DNA (desoxiribonukleové kyseliny).

Chemickými metodami se izolují plazmidy (tj. zlomky DNA), které jsou nositelem genetické informace. Metody chemické izolace jsou přizpůsobeny složitosti helixu DNA.

Izolované plazmidy se rozštěpí na specifickém místě restringujícími endonukleázami (restriktázami). Do dnešní doby bylo zjištěno a izolováno více než 200 restriktáz, v ČSSR však nejsou všechny dostupné. Rozštěpením plazmidu vzniknou dva fragmenty DNA s otevřenými konci, které mohou přijmout nové plazmidové fragmenty. Toto spojení se fixuje enzymatickým systémem ligázou.

Takto nově vzniklý plazmid se inplantuje do buňky (*E. coli*), kde se namnoží klonováním (tj. vegetativní cestou).

Je třeba zdůraznit, že většina nově vytvořených genomů nemá hospodářský význam. Nicméně v jejich souboru vznikají kombinace, které jsou výhodné, zejména pro další šlechtění. Cohen (1976) a Novick (1980) referují o možnostech přenosu plazmidů *E. coli* do rostlinných a živočišných buněk. Pomocí těchto přenosů se již podařilo získat genetický základ pro rezistenci vůči chorobám, které původní organismus neměl. Jedním z prvních prakticky použitelných výsledků v oblasti genových manipulací byl přenos genomu pro biosyntézu inzulínu ve zvířecím organismu z *E. coli* (Gilbert, Villa-Komaroff, 1981).

Byly získány i přenosy genomů, které regulují tvorbu inzulínu v lidském těle (Munth, 1982). Podobně byly učiněny i další užitečné přenosy v oblasti rostlinné (Davies, 1981) i živočišné (Bittle et al., 1982) výroby, resp. v oblasti humánní medicíny (Milstein, 1980 aj.). Objevuje se např. nová možnost genetické obrany proti zhoubným nádorům (Marx, 1981, 1982) a dalším chorobám, obohacuje se lidské poznání (Minty, Newmark, 1980; Kolata, 1982 aj.) atd. Vznikají však zároveň rizika pramenící ze skutečnosti, že mohou být syntetizovány genotypy, které na naší planetě dosud neexistují a jejich expresi není možné předvídat. Většina autorů, kteří se zabývají genovými manipulacemi, tuto okolnost buď přehlíží, nebo ji nepovažují za důležitou.

Současná situace v oblasti genových manipulací u vyšších rostlin, zejména zemědělských plodin, nás odkazuje ve svém praktickém využití na další desetiletí, až třetí tisíciletí (Cocking et al., 1981). Proto se kapacity výzkumu soustřeďují na snadnější a rychlejší aplikované oblasti, zejména:

- tkáňové kultury,
- protoplastové kultury,
- získávání di-haploidních jedinců.

Z nich jsou na předním místě tkáňové kultury (explantátové kultury). Technika těchto kultur byla vypracována simultánně v několika zemích (Japonsko, USA, Francie, Alžírsko, Nový Zéland, Austrálie, Velká Británie aj.). Hlavním zámerem tehdejších výzkumných prací bylo zproduktivnění reprodukce rostlin, zejména v tropických a subtropických oblastech. V těchto krajinách se setkává normální semenná reprodukce s mnoha potížemi, které souvisí s meteorologicko-klimatickými faktory (nedozrávání semen, nedostatečná klíčivost atd.), ale i s dalšími faktory (zpracování půdy, zásobenost půdy přijatelnými rostlinnými živinami, přítomnost xenobiotických látek v půdě, nevhodná druhová a odrůdová struktura plodin atd.). Velmi významný je i aspekt reprodukčního koeficientu, který tkáňové kultury zvětšují, a potřeba plochy na semenářství nebo klonování, kterou tkáňové kultury zmenšují.

Principem metody je vegetativní množení rostlin. Tato metoda je známá a používána po mnoho desetiletí. Byla nazvána klonování (z řeckého klon — odřezek, větvička, odnož). Tento termín navrhl Weber (1903 — cit. Sasson, 1984) a nyní se používá v mnoha odvětvích biotechnologií a vyjadřuje uniformní reprodukci organismu, enzymu, biochemicky účinné látky, antibiotika atd. vegetativní cestou.

Tkáňové kultury jsou tedy výsledkem procesu klonování, ale na rozdíl od dříve používaných způsobů reprodukce technika tkáňových kultur je mnohem intenzivnější a produktivnější a od tradičních způsobů se liší v tom, že tradiční metody klonování používají k propagaci (rozmnožování) ucelených, již diferencovaných částí rostlin, které jsou odděleny od primární rostliny a jsou okamžitě schopny se samostatně metabolicky projevovat, zejména produkovat nové organické látky, zakořenit se na tradičním stanovišti, a tak pokračovat v růstu jako mateřská rostlina, zatímco současná technika tkáňových kultur vychází ze skutečnosti, že poraněná rostlina vytváří k izolaci poranění zával (kalus), který je tvořen velkou skupinou nediferencovaných meristematických buněk. Každý kalus je tvořen velkým množstvím malých skupin buněk, tzv. mikrokalusů, z nichž je možné postupně vypěstovat nové rostliny.

Tkáňové kultury, mají-li být efektivní a efektivně využity, vyžadují, aby byly splněny specifické podmínky, mezi něž patří zejména:

- pečlivý výběr organismů, a to zejména vzhledem k jejich genetickému základu (nemá smysl se zabývat geneticky inferiorními druhy a odrůdami);
- ověření dobré schopnosti tvořit kalus a mikrokalusy;
- aseptičnost v práci (mikrobiální infekce může úplně zničit výchozí materiál);
- včasný přenos mikrokalusů a počínajících diferencovaných rostlin do průměrných živných roztoků (obsahujících nejen minerální sole, ale i organické živiny

- většinou hexózy, protože kalus se živí heterotrofně, ať již na rostlině, nebo odděleně, a růstové látky, které simulují vliv růstových látek rostliny);
- včasný (tj. časově přiměřený vývoji) přenos diferencovaného jedince do půdy nebo zeminy.

Prospěšnost efektivních tkáňových kultur spočívá zejména v následujícím:

- na malé ploše je možné získat velké množství nových jedinců, a to i u druhů, které pro semennou reprodukci potřebují velký prostor; velmi instruktivní doklad podává Lioret (1982) o množení olejné palmy na Pobřeží slonoviny pomocí tkáňových kultur;
- lze získat relativně vyrovnanou populaci potomstva, i když byly pozorovány i variace (Fowler, 1981);
- bylo zjištěno, že apikální meristémy rostlin infikovaných virózy jsou zpravidla bezvirózní; Morel, Martin (1952 — cit. Steinhart, 1982) získali z řady pro virózní onemocnění vyřazených odrůd zdravé jedince pomocí tkáňových kultur; od té doby získalo ozdravené odrůdy již mnoho autorů.

V posledních letech jsou tkáňové kultury stále více doplňovány až nahrazovány buněčnými a protoplastovými kulturami. Technicky jednodušší je získat izolované protoplasty než intaktní izolované buňky (Fowler, 1981; Steinhart, 1982 aj.). Izolovaná buňka se získává chirurgicky, kdežto protoplast působením enzymů, rozrušujících buněčnou stěnu, proto se většina autorů orientuje na práce s protoplasty, i když je protoplast v další práci zranitelnější než buňka (buňka je mechanicky chráněna buněčnou stěnou, kdežto povrch protoplastu je tvořen pouze semipermeabilní cytoplazmatickou membránou).

Většina dosavadních prací se orientuje na rod *Solanum*, především na brambory a tabák. U brambor, které se i v klasických podmínkách množí vegetativně, jde především o získání bezvirózních jedinců, stabilizaci genetické informace a zlepšení koeficientu rozmnožování. U tabáku je hlavním důvodem omezit až zabránit variabilitě jedinců v populaci, a tak získat produkt uniformní kvality; stejně důležité je omezit virózní onemocnění.

Shepard a Totten (cit. Shepard et al., 1980) vypracovali spolehlivou metodu regenerace bramborových protoplastů (z aplikálních listů) na celou rostlinu. Při této metodě vytvoří protoplasty během dvou týdnů novou buněčnou stěnu, množí se a vytvářejí mikrokalusy. Po přenosu do dalších živných médií (obdobně jako v případech tkáňových kultur) se postupně diferencují a vytvoří celou rostlinu.

Shepard (1982) zjistil, že tabákové protoklony byly identické s mateřskou rostlinou, kdežto bramborové nikoli. Dalším studiem zjistil, že variabilita bramborových protoklonů souvisí s genetickou variabilitou brambor, která je přenášena vegetativním množením z generace na generaci. Evidentně souvisí rozdílnost homogenity (nebo heterogenity) protoplastových kultur druhově blízkých rostlinám tabáku a bramboru s rozdílným způsobem jejich propagace: semeny u tabáku a hlízami u brambor. Je již dávno známo, že při vegetativním množení rostlin se udržuje genotyp velmi heterogenní, kdežto při množení semeny jsou nevhodné genotypy postupně vyřazovány, a tím se dosahuje lepší homogenity populace (Novák, 1961). Novější literatura tento poznatek potvrzuje (Nečásek et al., 1984). Z toho tedy vyplývá, že protoplastové kultury brambor (a pravděpodobně i jiných druhů rostlin, které se tradičně množí klonováním) jsou nejen nástrojem množení, ale mohou poskytovat široký genetický základ pro tvorbu nových odrůd nebo linií.

Protoplastové kultury se staly východiskem bodem pro biotechnologie fúze protoplastů. Tato metoda vychází z možnosti, že protoplasty téhož druhu nebo i blízkých druhů mohou konjugovat a vytvořit tak genetický základ pro vznik jedinců dosud zcela neznámých. Již dříve byly vytvořeny mezidruhově hybridy sexuální cestou. Nejznámější je tritikale, což je hybrid pšenice (*Triticum*) a žita (*Secale*). V roce 1978 skupina pracovníků OSTROM (Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer) ve Francii získala fúzi protoplastů brambor a rajčat vegetativní hybrid pomato (z anglického potato = brambor a tomato = rajče), který produkuje oba typické alkaloidy (solanin a tomatin), což je jeden z rozlišovacích znaků druhu. Ukázalo se, že tato rostlina může mít i hospodářský význam, protože má přibližně stejně velké hlízy jako brambor a větší plody než rajče.

Dále bylo zjištěno, že je možné pomocí fúze protoplastů přenést do brambor geny rezistence proti některým chorobám. Jako komplementární protoplasty se používají zejména rajčata (Sasson, 1984).

Fúze protoplastů nabízí další biotechnologii — vytvoření di-haploidních jedinců. Samotný název di-haploidní se zdá být iracionální, protože haploidní označuje jedince s poloviční sádkou chromozómů (tedy především gamety)

a diploidní — jedince s plnou sádkou chromozómů. Diploidní (event. polyploidní) jedinci vznikají splynutím gamet, a tak vzniká zygota. Tato zygota obsahuje genetické informace obou gamet a exprese těchto informací závisí na mnoha faktorech (Nečásek et al., 1984). Di-haploidní jedinci vznikají rovněž z konjugací haploidních buněk, ale mohou to být buňky téhož typu i téhož pohlaví.

Obvykle se k této konjugaci používají pylové buňky zbažené buněčné stěny, tedy pylové protoplasty. Tyto protoplasty vytvářejí vegetativní zygoty, které jsou uniformní v genetických párech (alelách). To umožňuje expresi i recesivních znaků, která je při rozmnožování pomocí semen velmi obtížná a zdlouhavá.

Současné biotechnologie zasahují i do produktivity primární (rostlinné) produkce. Okamžitě využitelný způsob je produkce jednobuněčných autotrofních organismů (řasy, sinice) s cílem získat konzumovatelnou biomasu, zejména využitelné bílkoviny (single cell proteins). Tyto bílkoviny se většinou využívají ke krmení nebo k rozvoji chovu ryb. Některé měkké řasy, např. *Scenedesmus* nebo *Chlorella*, byly s úspěchem použity i pro lidskou výživu (Richmond, 1983). Hlavní uplatnění mají tyto technologie v teplých až tropických oblastech. Tam je možné produkovat tyto organismy celý rok. V našem zeměpisném pásmu je možné počítat pouze s produkcí v letních měsících. FAO věnovalo této problematice velkou pozornost. Celé jedno číslo časopisu Ceres (1986) se zabývá tímto problémem. Ukazuje se, že původní naděje, vkládané do produkce single cell proteins, zatím nemohou být splněny, a to ani v klimaticky příznivých oblastech, z důvodů jednak vysokých investičních nákladů, jednak nákladné separace buněk a omezené stravitelnosti takto získaných bílkovin (způsobené buněčnými stěnami organismů).

Proto se stále větší pozornost obrací k produkci single cell proteins heterotrofními mikroorganismy, zejména kvasinkami. Tyto technologie byly rozvíjeny jako nouzová řešení v první a zejména v druhé světové válce. Hlavní mikroorganismy byly *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida utilis* a *Candida arborea*. Jako substrát byla použita hydrolyzovaná dřevovina později *n*-alkany (Einsele, 1983). V osmdesátých letech se SSSR stal největším producentem heterotrofně získaných mikrobiálních bílkovin (Carter, 1981) s produkcí více než milion tun ročně. Sherwood (1974) hodnotí výhodnost jednotlivých substrátů pro výrobu těchto bílkovin a dospívá k závěru, že *n*-alkany již nejsou výhodné a doporučuje metanol a celulózu. Faust, Práve (1983) popisují technologii výroby na bázi metanu a metanolu. Oura (1983) podává přehled o využití různých sacharidů včetně celulózy. V československém programu rozvoje biotechnologií se počítá hlavně se syntetickým metanolem a etanolem, s dřevinou a škrobem. Pro ČSSR však tato výroba nemá charakter získávání základních potravin, ale doplňků esenciálních aminokyselin a některých vitamínů (zejména skupiny B) pro krmení prasat a drůbeže.

V oblasti rozvoje rostlinné výroby pomocí biotechnologií je dobře rozpracována problematika biologické fixace molekulárního dusíku. Molekulární dusík (N_2) může být fixován pouze specializovanými mikroorganismy, ale jejich počet je větší, než bylo původně předpokládáno, a stále jsou popisovány nové druhy, které tuto schopnost mají (Marečková, 1983).

Mezi pracemi v tomto čísle je velmi kvalifikovaný článek o symbiotické fixaci N_2 (Siblíková, 1987). Je však třeba zdůraznit, že symbiotická fixace N_2 je sice ekologicky i ekonomicky nejvýznamnější, ale pro teplé oblasti je i významná asociativní fixace N_2 , zejména prostřednictvím rodu *Azospirillum* (Steward, Gallon, 1980; Lynch, 1983), která může být navozena s mnohými rostlinnými druhy. Pro rýžoviště a mělké vody mají zvláštní význam řasy fixující N_2 (Dudel a Kohl, 1987). Jejich velkou výhodou je skutečnost, že jsou autotrofní a nejsou tedy závislé na dodání energetických zdrojů zvenku.

Veškerá biologická fixace N_2 je katalyzována enzymovým komplexem, který je obvykle nazýván nitrogenázou. Delwicke (1970) odhaduje celkové množství nitrogenázy na zeměkouli na ca 4 kg (určitě však méně než 10 kg). Pomocí tohoto velmi malého množství nitrogenázy se ročně podle odhadu z roku 1975 fixuje ca 175 mil. t dusíku (Stout, 1979), což je více než čtyřnásobek výroby dusíkatých hnojiv ve všech technických zařízeních světa. Průmyslový proces spotřebuje 422 až 654 $\cdot 10^8$ J na výrobu 1 t dusíku v dusíkatých hnojivech (Little, 1975). Biologická fixace vyžaduje energetický vklad 12 ATP na 1 mol N_2 (Marečková, 1983 aj.), což je třetina až pětina energetických vkladů.

Efektivní regulační mechanismy biologické fixace N_2 se dají nejlépe uplatnit u symbiózy *Leguminóza* — *Rhizobium*. Právě pro tento úzký a nezastupitelný vztah obou symbiontů je tato regulace omezena pouze na část zemědělsky využívaných půd.

Pro dusíkatou výživu většiny plodin je stále důležité systematické využívání organických i minerálních (průmyslových) hnojiv. Protože se v ČSSR používají velké dávky průmyslových dusíkatých hnojiv (ca 100 kg dusíku na ha za rok), je třeba jejich přeměny v půdě regulovat, nejlépe prostřednictvím regulace bioprocusů. Komplexní simulační model bio-transformací dusíku v půdě vypracoval Novák (1987). Model vychází z NH_4^+ jako iontu, který může být mnohostranně využit a transformován, a využívá poznatků o kinetice jednotlivých reakcí a vztahu této kinetiky k bioenergetice. Hodnotí tři hlavní typy transformací:

- přímý příjem rostlinami;
 - oxidaci — s následným příjmem rostlinami;
 - s redukcí (event. vyplavením) nespotřebovaných zásob NO_3^- (zpětná redukce na NH_4^+ je z energetických důvodů a vztahů monoenzymových reakcí možná jen výjimečně;
 - biochemickou imobilizaci a remineralizaci.
- Poslednímu z uvedených procesů je věnována největší pozornost pro:
- jeho agronomický význam (převádí rychle působící dusíkaté hnojivo na pomalu působící),
 - energetickou náročnost,
 - nutnost zapojení nejméně tří metabolických drah,
 - řešení auto-regulačního mechanismu poměru uhlíku k dusíku.

V laboratorních podmínkách již byla dosažena vysoká produktivita využití energie na biochemickou imobilizaci N_i (více než 70%), v polních podmínkách, kde jsou regulace obtížnější, lze považovat 1% využití energie pro biochemickou imobilizaci N_i za uspokojivý výsledek. Pokud by ho bylo dosaženo všude, odpovídalo by to imobilizaci ca 108 kg dusíku na ha ročně, což by byl více než optimální stav (vedlo by to k radikálnímu omezení přístupnosti dusíku pro rostliny). Při nedostatku využitelných organických látek však může klesnout stupeň imobilizace dusíku až na nulu. Pak probíhá pouze nitrifikace se všemi důsledky, které z toho plynou pro výživu rostlin, jakost produktů, ztráty denitrifikací i kontaminací vodních těles a zdrojů.

V tomto sborníku jsou uvedeny výsledky sledování, které mohou přispět ke zmenšení nebo oddálení uvedených nepříznivých pochodů agrotechnickými prostředky (Štráfelda et al., 1987), nebo zásahem enzymového systému (Mouchová et al., 1987).

Další významnou živinou, kterou je možné a žádoucí biotechnologicky regulovat je fosfor (resp. systém: $\text{H}_2\text{PO}_4^- \leftrightarrow \text{HPO}_4^{--} \leftrightarrow \text{PO}_4^{---}$). Jde zejména o uvolňování fosforu z velmi málo rozpustných fosfátů (přírodních fosforitů) i ze stabilizovaných půdních zásob. Současně narůstá problém stále pokračující akumulace velmi obtížně hydrolyzovatelných organofosfátů v půdě.

Protože permanentní hnojení fosforečnými hnojivy je nejen drahé a dopravně náročné, ale má i řadu nevýhod energetických a environmentálních (zejména introdukce těžkých kovů), orientuje se výzkum na mobilizaci vlastních fosfátových zdrojů. Podařilo se již získat celou řadu úspěchů vstupem jednoduchých organických látek do systému (keřda, močůvka, zbytky sklizně okopanin atd.) a pokusy se stabilizovanými substráty probíhají zatím nadějně (Kubát, 1984; Poří, 1986). I v tomto sborníku uveřejnili Kubát et al. (1987) práci na uvedeném téma.

Podstata těchto biotechnologií spočívá v převedení těžko využitelných P_i i P_{org} na nízkomolekulární organofosfáty, které jsou snadno hydrolyzovatelné na ortofosfát a organickou složku. Vzniklé ortofosfáty je třeba chránit před reakcemi zejména s půdními sesquioxidy a jejich hydráty. To je možné vstupem půdních humusových látek do systému s cílem vytvoření kovalentních a chelátových vazeb mezi humusovými látkami a ionty těžkých kovů.

Celá problematika regulace vzniku, funkce a dekompozice humusu byla již několikrát publikována a další podrobnosti se vymykají možností této statě. Odkazují proto zejména na sborníky sympozií Humus et Planta v ČSSR (Novák, 1985).

V tomto sborníku je zahrnuta práce (Löbl et al., 1987), která se zabývá kompostováním relativně dobře definovatelných sekundárních surovin. Je to práce, která přináší konkrétní biotechnologické poznatky i výrobní výsledky, ale současně může sloužit i jako částečný model přeměn organických látek v půdě.

V poslední době se stále množí práce o tzv. biopesticidech, v tomto sborníku uvádíme dvě takové práce (Kybal, Kálalová, 1987; Dirlbeková, Dirlbek, 1987). V literatuře však najdeme značné množství dalších údajů (Foda, Salama, 1986; Insell et al., 1985; Pignatello et al., 1985; Quinlan,

Lisanský, 1983 aj.). Výhodou všech těchto biotechnologií, pokud jsou prověřeny, je specifický účinek: prey-predator, nebo hyperparazitismus, resp. specifické intoxikace škůdce; nevýhodou je, že bio-preparáty působí několikanásobně pomaleji než chemické přípravky; jejich účinnost se pohybuje od 40 do 90 %; není zatím známo jejich celkové ekologické působení. Některé z těchto přípravků, aby byly dostatečně účinné, musí být aplikovány spolu s chemickým přípravkem.

Práce na tomto úseku se neustále vyvíjí. Každá nová publikace přináší další zdokonalení tohoto oboru, proto lze očekávat, že oblast biopesticidů se bude dále rozvíjet.

V poslední době se velmi diskutuje o získávání energie ze zemědělských produktů. Je to problematika několika odvětví zemědělské a průmyslové výroby. Rostlinná výroba má na něm též svou účast, protože poskytuje řadu významných substrátů (avšak nikoli všechny, např. kejda se vyrábí v zařízeních živočišné výroby) a protože zužitkovává zbytky po fermentaci, jak uvádí ing. Petříková, CSc., ve svém článku v tomto čísle.

U nás se v tomto kontextu většinou uvažuje bioplyn (směs CH_4 , CO_2 , H_2O , NH_3 a H_2S). To je však jen část skýtajících možností, další jsou získávání metanolu, technického etanolu, směsi metanol — etanol — propanol a snad i molekulárního vodíku (H_2). Na tuto problematiku je zde možné pouze upozornit, ale nikoli ji diskutovat.

V poslední době se objevilo několik prací na téma microbiological mining (mikrobiologická důlní těžba), kde se popisují možnosti selektivní akumulace těžkých kovů ve vybraných druzích a kmenech mikroorganismů. Uvedené pokusy probíhají zřejmě již delší dobu, ale výsledky se zatím zveřejňují jen ojediněle. V principu jde o nasazení kmenů mikroorganismů na lokalitách zatížených těžkými kovy a o metodách jejich regenerace. Ke kvalifikovanému rozboru situace však není dostatek podkladů.

Závěrem je třeba dodat, že biotechnologie v rostlinné výrobě, na rozdíl od jiných oborů biotechnologií (výroba vitamínů, produkce enzymů atd.), vyžadují jen malé dodatečné vstupy substrátů a energie. Možná je to jedním z důvodů, že biotechnologie v rostlinné výrobě, protože nekládou doplňkové nároky na suroviny, jsou dosud považovány za něco samozřejmého a zčásti inferiorního.

Literatura

- BITTLE, J. L. — HOUGHTEN, R. A. — ALEXANDER, H. — SHINNICK, T. — SUTCLIFFE, J. G. — LERNER, R. A. — ROWLANDS, D. J. — BROWN, F.: Protection against foot-and-mouth disease by immunization with a chemically synthesized peptide predicted from the viral nucleotide sequence. *Nature* (London), 298, 1982, č. 5798, s. 30-33.
- CARTER, G. B.: Is biotechnology feeding the Russian? *New Scientist*, 90, 1981, č. 1250, s. 216-218.
- CERES: A closer look at aquaculture. *FAO Rev.*, 112, 1986, 19, č. 4, July—August 1986.
- COCKING, E. C. — DAVEY, M. R. — PENTAL, D. — POWER, J. B.: Aspects of plant genetic manipulation. *Nature* (London), 293, 1981, č. 5830, s. 265-270.
- COHEN, S. N.: Transportable genetic elements and plasmid evolution. *Nature* (London), 263, 1976, č. 5580, s. 731-738.
- DAVIES, E.: Transfer in plants. *Nature* (London), 291, 1981, č. 5816, s. 531-532.
- DELWICKE, C. C.: The nitrogen cycle. *Sci. Amer.*, 1970, č. 9, s. 137-146.
- DIRLBEKOVÁ, O. — DIRLBEK, J.: Výzkum a uplatnění mykoinsekticidů typu Boverol. *Rostl. Vyr.*, 33, 1987, č. 11, s. 1227-1230.
- DUDEL, G. — KOHL, J. G.: N-Umsatz in einem eutrophen Fischsee unter besonderer Berücksichtigung der Austauschprozesse mit der Atmosphäre. In: *Symp. Mikrobielle Probleme des Stickstoff-Metabolismus in der Umwelt*, Reinhardsbrunn (DDR), 4.—10. Mai 1987.
- EINSELE, A.: Biomass from higher *n*-alkanes. In: DELLWEG, H.: *Biotechnology*, 3, 1983, s. 43-81.
- FAUST, U. — PRÁVE, P.: Biomass from methane and methanol. In: DELLWEG, H.: *Biotechnology*, 3, 1983, s. 83-108.

- FODA, M. S. — SALAMA, H. S.: New fermentation technologies for the production of bacterial insecticides. Zbl. Mikrobiol., 141, 1986, s. 151-157.
- FOWLER, M.: Plant cell biotechnology to produce desirable substances. Chem. and Ind., 7, 1981, s. 229-233.
- GILBERT, W. — VILLA-KOMAROFF: Useful proteins from recombinant DNA. Sci. Amer., 242, 1981, č. 4, s. 68-82.
- INSELL, J. P. — FITZ-JAMES, P. C.: Composition and toxicity of the inclusion of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Appl. Envir. Microbiol., 50, 1985, č. 1, s. 56-62.
- KOLATA, G.: Molecular biology of brain hormones. Science, 215, 1982, č. 4537, s. 1223-1224.
- KUBÁT, J.: Mikrobiální mobilizace fosforu z těžko dostupných forem. [Závěrečná zpráva.] Praha-Ruzyně, VÚRV 1984.
- KUBÁT, J.: Rozklad mikromletého Gafsa-fosforitu půdní mikroflórou. Rostl. Výr., 33, 1987, č. 11, s. 1183-1186.
- KYBAL, J. — KÁLAHOVÁ, S.: Mikogologické aspekty výroby bioinsekticidního preparátu Boverol. Rostl. Výr., 33, 1987, č. 11, s. 1215-1222.
- LIORÉ, U.: Des palmiers éprouvette par millions. La Recherche, 13, 1982, č. 135, s. 926-928.
- LITTLE, A. D.: Economic Impact of Shortages on the Fertilizer Industry. Federal Energy Administration Cambridge, Mass., USA, 1975.
- LYNCH, J. M.: Soil Biotechnology. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1983.
- MAREČKOVÁ, H.: Bacteria for Nitrogen Fixation. In: DELLWEG, H.: Biotechnology, 3, 1983, s. 217-232.
- MARX, J. L.: Globin gene transferred. Nature (London), 213, 1981, č. 4515, s. 1488.
- MARX, J. L.: Monoclonal antibodies in cancer. Science, 216, 1982, č. 4543, s. 283-285.
- MILSTEIN, C.: Monoclonal antibodies. Sci. Amer., 243, 1980, č. 4, s. 56-64.
- MINTY, A. — NEWMARK, P.: Gene regulation: New, old and remote controls. Nature (London), 288, 1980, č. 5788, s. 210-211.
- MOUCHOVÁ, H.: Bilance dodaného dusíku v půdě a rostlině pomocí ¹⁵N u pšenice ozimé při použití inhibitorů nitrifikace. Rostl. Výr., 33, 1987, č. 11, s. 1173-1182.
- MUNTH, W. L. — BURNETT, J. P. — LILLY, E.: Biosynthesis of human insulin. Biofutur (Paris), 3, 1982, s. 26.
- NEČÁSEK, J. — CETL, I. — AVRATOŠČUKOVÁ, N. — BENC, S. — KNÍŽE, B. — ONDŘEJ, M. — POKORNÝ, V. — ROMANOVSKÝ, A. — VONDREJS, V.: Obecná genetika. Praha, SPN 1984.
- NOVÁK, B. (ed.): Studies about Humus. Vol. I, II. Trans. of the VIIIth Int. Symp. Humus et Planta, Praha, 1985.
- NOVÁK, B.: Wechselbeziehungen zwischen stofflichem und energetischem Umsatz des Bodenstickstoffs durch biologische Prozesse. In: Symp. Mikrobielle Probleme des Stickstoff-Metabolismus in der Umwelt, Reinhardsbrunn (DDR), 4.—10. Mai 1987.
- NOVÁK, F. A.: Vyšší rostliny. Praha, ČSAV 1961.
- NOVICK, R. P.: Plasmids. Sci. Amer., 243, 1980, č. 6, s. 76-90.
- OURA, E.: Biomass from Carbohydrates. In: DELLWEG, H.: Biotechnology, 3, 1983, s. 3-41.
- PIGNATELLO, J. J. — JOHNSON, L. K. — MARTINSON, M. M. — CARLSON, R. E. — CRAWFORD, R. L.: Response of the microflora in outdoor experimental streams to pentachlorophenol: compartmental contributions. Appl. Envir. Microbiol., 50, 1985, č. 1, s. 127-132.
- POI, S. C.: A study of performance of some phosphate-solubilizing microorganisms in presence of some energy sources. Zbl. Mikrobiol., 141, 1986, s. 97-102.
- QUINLAN, R. J. — LISANSKY, S. G.: Microbial Insecticides. In: DELLWEG, H.: Biotechnology, 3, 1983, s. 233-254.
- RICHMOND, A.: Prototrophic microalgae. In: DELLWEG, H.: Biotechnology, 3, 1983, s. 109-143.
- SASSON, A.: Biotechnologies: Challenges and Promises. UNESCO Publ., Sextant 2, Paris 1984.
- SHEPARD, J. F.: The regeneration of potato plants from leaf-cell protoplasts. Sci. Amer., 246, 1982, č. 5, s. 112-121.
- SHEPARD, J. F. — BIDNEY, D. — SHAHIN, E.: Potato protoplasts in crop improvement. Science, 208, 1980, č. 4439, s. 17-24.
- SHERWOOD, M.: Single-cell protein comes of age. New Scientist, 64, 1974, č. 925, s. 634-639.

SIBLÍKOVÁ, D.: Směry studia interakcí rhizobií s pesticidy. Rostl. Výr., 33, 1987, č. 11, s. 1222-1227.
STEINHART, P.: The future promise of biotechnology. Econ. Impact, 3, 1982, s. 41-47.
STEWART, W. D. P. — GALLON, J. R. (eds): Nitrogen Fixation. London, Academic Press 1980.
STOUT, B. A.: Energy for World Agriculture. FAO. Roma 1979.
ŠTRÁFELDA, J. — VELICH, J. — PARDUS, I.: Hnojení lučních porostů kaly z čistíren odpadních vod. Rostl. Výr., 33, 1987, č. 11, s. 1147-1155.

Došlo dne 13. 5. 1987

Биотехнологии в растениеводстве

Ввиду того что монотематический номер 11/1987 научного журнала Растениеводство не может обобщить в комплексе первоначальных научных работ все аспекты, проблемы и достижения по многим дисциплинам области Биотехнология в растениеводстве, настоящая статья включена как вводная и приводящая те области, которые в первоначальных работах не представлены в достаточной мере или же вовсе отсутствуют. Главные разделы: геновая манипуляция, клонирование растений, регулирование биотических процессов в почве, развитие биоинсектицидов и приготовление органических веществ. Намеренная неодинаковость объема отдельных разделов дана фактом, что общественное значение некоторых научно-технических областей биотехнологии еще не квантифицировано окончательно. Из-за ограниченного объема статьи автор приводит важные цитации по упомянутой проблематике в целях получения новой углубленной информации.

Biotechnologies in Crop Production

Since this monothematic issue (11/1987) of the scientific journal Rostlinná výroba could not cover all aspects, problems and achievements in a multi-branching field of Biotechnologies in Crop Production in the form of original papers, this introductory article was included dealing particularly with the topics not satisfactorily treated or missing in the original papers. The main topics are as follows: gene manipulation, cloning of plants, control of the biotic processes in soil, bioinsecticide development, and production of organic manures. The intended quantitative disproportionality of individual chapters has been caused by the hitherto not accurate understanding of the significance of some scientific-technological achievements for the society development. To keep the limits of the extent of the article, the author delivers some important references of the treated topics to enable getting more detailed information.

Biotechnologien in der pflanzlichen Produktion

Da das monothematische Heft 11/1987 der wissenschaftlichen Zeitschrift Rostlinná výroba mit seinen Originalarbeiten sämtliche Aspekte, Probleme und Errungenschaften auf dem polydisziplinären Feld Biotechnologien in pflanzlicher Produktion nicht decken könnte, wurde dieser Einleitungsartikel eingegliedert, der sich insbesondere mit den nicht genügend oder gar nicht vertretenen Bereichen befasst. Die Hauptthemen sind folgende: Genmanipulationen, Klonen der Pflanzen, Beherrschung der biotischen Prozesse im Boden, Entwicklung der Bioinsektizide und Herstellung organischer Dünger. Die quantitative Ungleichmässigkeit einzelner Kapitel ist beabsichtigt und hat ihren Grund in der noch nicht quantitativ erkannten Bedeutung einiger Biotechnologiebereiche für die Entwicklung. Da der Umfang des Artikels beschränkt ist, sind wichtige Literaturangaben beigelegt um nähere Informationen bekommen zu können.

Adresa autora:

Doc. dr. ing. Bohumír Novák, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

STAV MIKROBIÁLNĚ-BIOCHEMICKÉ AKTIVITY PRŮMYSLOVĚ VYRÁBĚNÝCH KOMPOSTŮ

F. Löbl, A. Štiková, J. Váňa

LÖBL, F. — ŠTIKOVÁ, A. — VÁŇA, J. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně): *Stav mikrobiálně-biochemické aktivity průmyslově vyráběných kompostů*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1129-1137.

Práce hodnotí mikrobiálně-biochemickou aktivitu pěti typů průmyslově vyráběných kompostů. Kompost A klasického typu Vitahum, vyráběný v 60. letech, dosahoval jakostních znaků ČSN 46 5735, vyznačoval se však minimální biologickou aktivitou a s ní související nízkou přeměnou organických látek. Bylo prokázáno, že k rozsáhlejší mikrobiálně-biochemické aktivitě chybí v surovinové základně snadno rozložitelné organické látky. Obsah snadno rozložitelných organických látek je v kompostech B, C, D, E upraven použitím prosevu městských skládek, drčených tuhých domovních odpadů a chlévské mrvy. Dosazené výsledky potvrzují, zejména u kompostu D a C, že s rozsáhlou přeměnou organických látek dochází k odpovídajícím změnám respirace a mikroflóry, i k vývoji teplot a hmotnostním ztrátám vyzrálých kompostů. Ze srovnání hodnocených kompostů vyplývá, že správnou volbou surovinové skladby je možné ovládnout substrátový a energetický metabolismus při výrobě průmyslových kompostů. Současně tyto výsledky ukazují na možnosti využití biotechnologických regulací v procesu výroby těchto průmyslových kompostů.

komposty; využití odpadů; mikrobiální a biochemická aktivita; hmotnostní ztráty organických látek

Zpracování látek s obsahem hnojivých složek na organické hnojivo má všechny rozhodující znaky organizované výrobní činnosti. Vyžaduje zabezpečení sběru, svozu, úpravy odpadů, jejich zpracování technologickými postupy spojenými s rozsáhlou mikrobiálně-biochemickou přeměnou obsažených organických látek a živin i expedicí vyrobeného kompostu k odběrateli. Proto také zpracování odpadů i prodej průmyslově vyráběných kompostů je vázán na dodržení jakostních ukazatelů ČSN 46 5735. Výroba průmyslových kompostů v ČSSR u většiny výrobců je založena na souběžném zpracování několika odpadů (surovin) městsko-průmyslové aglomerace, ale i některých hnojivých zbytků zemědělské velkovýroby jedním technologickým postupem. Tento technologický postup výroby průmyslových kompostů se odlišuje od zahraničních postupů, které jsou převážně založeny na monotecnologickém zpracování tuhých domovních odpadů (tuhých komunálních odpadů) a kanalizačních kalů. Tento československý specifický přístup společného zpracování několika hnojivých odpadů vyžaduje nejen objektivní hodnocení dosavadních zkušeností, ale i odpovídající výzkumné řešení. Je to nutné nejen v souvislosti s postupným přechodem stávajících technologických postupů výroby průmyslových kompostů na biologické principy perspektiv-

ního zpracování hnojivých odpadů bezodpadovou technologií, ale i s požadavky na dodržení stále se zpřísňujících parametrů ochrany životního a přírodního prostředí.

Tato práce hodnotí počátky vývoje výroby průmyslových kompostů a naznačuje cesty uplatnění biotechnologických regulací při zkvalitňování procesu výroby organických hnojiv vyšší agrotechnickou, ale i ekologickou účinností.

Společným zpracováním kanalizačních kalů a některých dalších hnojivých odpadů byla v našich podmínkách ve 40. letech vyráběna Feka Ernest-Kroulíkova (Duchovní, 1942; Káš, 1947). Výroba Vitahumu, zahájená po roce 1948 (Duchovní, 1950, 1956; Kroulík, Leitgeb, 1958, Duchovní, 1961), byla založena na využití několika tuhých a tekutých hnojivých odpadů. V této době dochází ve světovém měřítku při zpracování tuhých domovních odpadů k přechodu od jednoduchých komorových systémů (Becari) na výrobu v kompostových zákládkách (Rohde, 1956). Od této doby se postupně uplatňují technicky náročné technologické postupy spojené s mechanickou úpravou odpadů, zpracováním biostabilizačními způsoby (Braun, Allenspach, 1958; Glathe, 1959; Straub, Glathe, 1961 aj.). Z výsledků, které uveřejnili Káš (1956), Novák (1957, 1958, 1963), Novák, Löbl (1958) aj., bylo zřejmé, že při výrobě Vitahumu bude třeba především zlepšit kvalitu substrátu použitím odpadů obsahujících lehce rozložitelné organické látky. Výsledky hodnocení Vitahumu (Löbl, Váňa, 1968; Löbl, Štiková, 1969; Löbl et al., 1970a; Löbl et al., 1970b) potvrzují nutnost intenzifikace technologického postupu výroby průmyslových kompostů a současně naznačují uplatnění biotechnologických procesů v nově koncipovaných bezodpadových technologiích.

MATERIÁL A METODY

Výroba průmyslového kompostu Vitahum byla v 60. letech převážně založena na zpracování rašeliny, kapucínu, lignitu, prosevu městských skládek, některých průmyslových odpadů, kanalizačních kalů, vápenatých odpadů, tedy surovin s těžko rozložitelnými organickými látkami. Proces zrání Vitahumu byl deklarován jako fermentační pochod ovlivňující přeměnu obsažených organických látek. Dosahované teploty 30 až 40 °C v průběhu zrání kompostů tento předpoklad však nepotvrdily.

S přihlédnutím k potřebě úpravy substrátového i energetického metabolismu zrajících kompostů bylo přistoupeno ke sledování možnosti zvýšit obsah lehce rozložitelných organických látek v surovinové skladbě vyráběných průmyslových kompostů. Vzhledem k požadavku rychlé úpravy surovinové skladby současně vyráběných průmyslových kompostů bylo doporučeno použít 15 až 20 % chlévské mrvy. Jako další perspektivní zdroj surovin k biologizaci průběhu zrání průmyslových kompostů přicházely v úvahu tuhé domovní odpady po mechanické úpravě (TDO) a některé další odpady farmaceutického a potravinářského průmyslu. Na podkladě těchto záměrů při zkvalitňování průběhu zrání průmyslových kompostů byly postupně hodnoceny různé surovinové skladby. Z rozsáhlého souboru hodnocených surovinových skladeb uvádíme výsledky těchto kompostů (v procentech hmotnosti v kompostové základce), jak uvádí tab. I.

Kompost A se vyznačoval původní surovinovou skladbou Vitahumu s vysokým obsahem těžko rozložitelných organických látek a představuje typ kompostů vyráběných v 60. letech. K zajištění zvýšené biologické aktivity v průběhu zrání kompostů byla v surovinové skladbě kompostů B, C, D uplatněna drť TDO, kompostu E chlévská mrvy.

U založených kompostů byly v průběhu zrání sledovány teploty a odebírány vzorky pro hodnocení mikrobiologické a biochemické aktivity ve spodní části kompostové základky označené číslem 3 (semiaerobní až anaerobní) podmínky a vrchní

I. Surovinová skladba sledovaných kompostů — Raw material composition of the composts under study

Surovina	Kompost				
	A	B	C	D	E
Rašelina	25,0	25,0	15,4	14,8	—
Kapucín	30,0	20,0	23,1	22,1	23,1
Prosev skládky TDO	18,0	10,0	—	—	6,7
Drť TDO běžného svozu	—	—	30,7	—	—
Drť TDO selektivního svozu	—	—	—	29,5	—
Chlévská mrva	—	10,0	—	—	18,2
Řepné splaveniny	—	—	—	—	1,7
Rybniční bahno	—	—	—	—	2,0
	—	10,0	—	—	—
Popílek	—	—	—	—	25,4
Vápenaté odpady	6,0	7,0	7,7	7,4	3,8
Čpavková odpadní voda	—	—	1,0	—	—
Kanalizační kaly	16,0	13,0	23,1	26,2	—
Kejda prasat	—	—	—	—	18,1
Torulová šlempa	3,0	3,0	—	—	—
Různé	2,0	1,0	—	—	1,0

části kompostové zakládky označené číslem 9 (aerobní podmínky). Komposty byly zakládány a hodnoceny podle ČSN 46 5735 platné do 31. 12. 1984. Komposty A, B, C, D byly vyráběny v kvalitě Vitahum B (36 % organických látek v sušině při 50,0 % vody ve vyzrálém kompostu) a kompost E v kvalitě Vitahum C (30,0 % organických látek v sušině při 50,0 % vody ve vyzrálém kompostu).

U vzorků odebraných z místa 3 a 9 bylo hodnoceno zastoupení vybraných kultivačních skupin mikroorganismů (Kozová, Nováková, 1956) bazální a potenciální respirace (Novák, Apfelthaler, 1964). U vyzrálého kompostu byly stanoveny jakostní znaky ČSN 46 5735.

VÝSLEDKY

Surovinová skladba hodnocených kompostů výrazně ovlivnila kvalitu substrátu vzhledem k obsahu organických látek a změn vlhkosti čerstvého a hlavně vyzrálého kompostu. Tyto rozdíly potvrzuje srovnání uvedené v tab. II.

U kompostů E, C, D, odpovídajících kvalitě Vitahum B, se změnou surovinové skladby zvýšil obsah organických látek v čerstvém kompostu o 3,1 až 15,9 % ve srovnání s klasickým kompostem A. Obsah 33,1 % organických látek v sušině čerstvého kompostu E byl dostačující pro dosažení kvality Vitahum C. Po skončeném zrání komposty A a E dosáhly kvality Vitahum B a kompost E kvality Vitahum C. Z uvedeného srovnání vyplývá, že zvýšení obsahu organických látek, zejména mikrobiologicky lehce rozložitelných, v kompostech C a D se promítlo do vyšších hmotnostních ztrát v průběhu jejich zrání.

II. Obsah organických látek a vlhkost v čerstvém a vyzrálém kompostu — The content of organic substances and moisture content in fresh and ripe compost

Kompost	Organické látky		Vlhkost	
	čerstvý kompost Qz (% sušiny)	vyzrálý kompost Qk (% sušiny)	čerstvý kompost Wz (%)	vyzrálý kompost Wk (%)
A	39,0	36,0	55,1	50,2
B	43,9	37,7	52,8	43,0
C	40,2	31,4	56,4	45,3
D	45,2	33,6	57,8	44,2
E	33,1	30,8	53,2	49,3

Změnou kvality substrátu sledovaných kompostů byly vytvořeny podmínky pro intenzivní přeměnu organických látek. Potvrzují to dosažené teploty v průběhu zrání sledovaných kompostů (tab. III), i procentické vyjádření hmotnostních ztrát a změny vlhkosti vyzrálých kompostů.

Hmotnostní ztráty jsou největší u kompostů D a C, které obsahovaly tuhé domovní odpady, a kompostu B s přidavkem chlévské mrvy za účelem zvýšení obsahu mikrobiologicky lehce rozložitelných látek v surovinové skladbě. Podíl mikrobiologicky lehce rozložitelných organických látek na hmotnostních ztrátách a přeměně organických látek souhlasí s bazální i relativní respirací NG : B (tab. IV). Výrazné zvýšení bazální respirace (B) se projevilo zejména u kompostu D jak na začátku, tak i v průběhu zrání. Na konci zrání vykazuje tento kompost biochemickou aktivitu odpovídající kompostům B, D a E na začátku zrání. Obdobným, ale nižším přírůstkem bazální respirace se projevuje i průběh zrání kompostu C. V souvislosti s přeměnou organických látek je zřejmý rozdíl mezi místem odběru 3 a 9 (spodní, resp. vrchní část kompostové záladky). U kompostů s nižším obsahem mikrobiologicky lehce rozloži-

III. Teploty v průběhu zrání a procentické vyjádření hmotnostních ztrát a snížení vlhkosti — Temperatures during ripening and percentual expression of the weight losses and decrease of moisture

Ukazatel	Jednotka	Komposty				
		A	B	C	D	E
Průměrná denní teplota kompostu za dobu zrání	°C	17,4 ± 4,9	23,0 ± 4,9	31,8 ± 6,2	47,3 ± 2,3	20,5 ± 1,2
Maximální teplota kompostu	°C	25,5	26,9	42,5	58,6	29,5
Průměrná denní teplota vzduchu za dobu zrání	°C	13,9	14,3	17,3	15,2	15,2
Hmotnostní ztráty organických látek za dobu zrání	%	7,7	14,1	21,9	25,7	7,0
Snížení vlhkosti za dobu zrání	%	8,9	18,6	19,7	23,5	7,4

IV. Bazální a relativní respirace na začátku a konci zrání (B v mg CO₂ na 100 g sušiny za hodinu a NG v číslech nepojmenovaných) — Basal and relative respiration at the start and at the end of ripening [B in mg CO₂ per 100 g dry matter per hour, and NG (nameless numbers)]

Kompost	Místo odběru	Bazální respirace (B)			Relativní respirace (NG : B)	
		začátek	průměr	konec	začátek	konec
A	3	0,69	0,85	0,57	13,41	12,65
	9	3,23	2,17	1,05	12,92	24,83
B	3	1,82	2,39	1,08	12,63	14,45
	9	4,13	4,14	2,78	11,92	14,95
C	3	33,20	13,62	4,44	1,35	7,84
	9	24,04	10,61	2,02	4,15	16,72
D	3	53,57	18,43	3,55	0,98	1,63
	9	42,63	14,90	5,03	9,52	5,07
E	3	3,25	4,85	2,95	8,52	9,95
	9	7,92	9,12	3,28	9,15	10,65

telných organických látek (E, B, A) je bazální respirace větší v aerobnější části (9), a u kompostů s jejich vyšším obsahem naopak v místě s nižším stupněm aerace.

Relativní respirace NG : B jako faktor stability organických látek dokládá, že v původní surovinové skladbě kompostu A bylo použito surovin s vysokým stupněm jejich přeměny. Proto také relativní respirace NG : B u vyzrálého kompostu, zejména v aerobní části (9), stoupá na nejvyšší úroveň. Se stoupajícím podílem mikrobiologicky lehce rozložitelných organických látek v surovinové skladbě je relativní respirace NG : B na začátku i konci zrání kompostu B > E > C > D. Potvrzuje to, že rozsah přeměny organických látek na látky stabilního charakteru je u kompostů C a D pozvolnější. Ze srovnání NG : B u míst odběru 3 a 9 je zřejmé, že se zvýšeným obsahem mikrobiologicky lehce rozložitelných organických látek v surovinové skladbě je vzhledem k jejich přeměně na organické látky s vyšší stabilitou výhodnější aerobní prostředí.

Při srovnání vývoje mikroflóry zastoupením vybraných kultivačních skupin bakterií na začátku, v průběhu i na konci zrání (tab. V) je zřejmé, že se podílí na rozsahu přeměny obsažených organických látek. Vysoké zastoupení bakteriální mikroflóry na začátku zrání již po týdnu vykazuje značný rozdíl mezi místem odběru 3 a 9. Mikroflóra dané surovinové skladby pouze přežívá v méně aerobních podmínkách, v aerobních podmínkách místa 9 pro nedostatek substrátových a energetických zdrojů se výrazně snižuje. Se zvyšováním obsahu mikrobiologicky lehce rozložitelných organických látek v surovinové skladbě jsou počty mikroorganismů sledovaných kultivačních skupin vyšší, a to zejména ve spodní části kompostové zaklady. Do určité míry tyto změny korespondují s již uváděnými změnami respirace.

V. Změny vybraných kultivačních skupin bakterií na začátku, konci a vypočítaným průměrem za dobu zrání (v mil. na 1 g sušiny) — Changes in the selected cultivation groups of bacteria at the start and at the end of ripening and on an average as calculated for the whole ripening time (in mil. per g of dry matter)

Kom-post	Místo odběru	Baktérie									Spórotvorné na MPA		
		MPA			škrobový agar			Thorntonův agar					
		začátek	průměr	konec	začátek	průměr	konec	začátek	průměr	konec	začátek	průměr	konec
A	3	4686,1	1116,5	73,3	2077,7	576,5	14,6	1343,1	312,3	14,7	1,68	2,01	1,05
	9	220,3	235,1	62,3	118,6	119,9	35,1	209,7	137,4	62,3	4,24	1,06	0,39
B	3	4313,6	1695,7	221,4	818,0	296,1	44,7	2056,2	1722,7	59,8	9,16	7,17	1,06
	9	687,6	874,9	108,4	488,6	815,3	79,2	959,1	1431,7	189,7	19,91	9,94	12,51
C	3	122,7	57,9	23,9	431,2	92,7	15,9	464,3	106,8	724,9	18,24	9,17	0,13
	9	346,0	204,5	56,6	1169,8	319,9	48,8	351,0	429,2	50,4	16,48	10,81	0,12
D	3	1147,0	246,8	140,6	319,7	96,5	129,0	398,7	122,2	145,5	9,40	6,66	0,10
	9	150,9	100,8	240,9	123,8	106,3	150,1	238,0	141,8	158,8	3,87	6,28	0,11
E	3	173,6	75,8	22,9	81,8	26,2	0,7	146,9	45,3	3,5	1,34	2,00	0,70
	9	2189,6	455,8	123,6	810,3	203,5	72,9	1379,3	305,5	44,6	4,48	19,13	42,37

DISKUSE

Dosažené výsledky potvrzují, že průmyslová výroba kompostů z řady hnojivých odpadů má své opodstatnění nejen z důvodu zabezpečování deficitních organických hnojiv, ale i s ohledem na ochranu životního a přírodního prostředí. Před 30 lety zahájená výroba Vitahumu (Duchon, 1950, 1956, 1961) vytváří podmínky pro dodržení jakostních znaků ČSN 46 5735, méně již odpovídá požadavkům na rozsah přeměny organických látek na humusové (Novák, 1958). Porovnáním vybraných typů průmyslových kompostů je doloženo, že úpravou surovinové skladby dochází k rozsáhlejší mikrobiální a biochemické aktivitě, a tím i přeměně organických látek (Löbl et al., 1970a). Rozdíly mezi jednotlivými surovinovými skladbami a místy odběru ze spodní a vrchní části kompostové zakládky dokládají různorodost substrátového a energetického metabolismu. Znamená to, že při dalším zkvalitnění výroby průmyslových kompostů bude nutné uplatnit rozhodující prvky biotechnologických operací, zejména stupeň homogenizace, aerace a úprav teplotního režimu.

Literatura

- BRAUN, R. — ALLENSPACH, H.: Versuche über d. gemeinsame Verrottung von Müll u. Klärschlamm. Rev. suisse Hydrol., 20, 1958, č. 1.
- DUCHOŇ, F.: Hodnota Feky-Ernest-Kroulíkovy ve světle dlouholeté kontroly. Zem. Arch., 33, 1942, č. 7.
- DUCHOŇ, F.: Příspěvky čs. vývojového řešení otázky, jak zapojit odpadové látky z národní dílny do zemědělské výroby. Věst. Českoslov. Akad. zeměd., 1950.
- DUCHOŇ, F.: Průmyslové komposty, jejich historie a budoucnost. Za vys. Úrodu (Praha). IV, 1956, č. 3.
- DUCHOŇ, F.: Od zemědělského výzkumu k výrobě 1,5 mil. tun průmyslových kompostů. Rostl. Výr., 7, 1961, č. 2, s. 219-250.
- GLATHE, H.: Biologische Vorgänge bei d. Kompostierung von Müll. Intern. Kongress Wageningen-Nederland, 1959.
- KÁŠ, V.: Mikrobiologické metody v hodnocení kompostů. In: Sbor. Českoslov. Akad. zeměd., XX, 1947, s. 300-311.
- KÁŠ, V.: Jak zvyšovat obsah humusu v našich půdách. Praha, SZN 1956.
- KOZOVÁ, J. — NOVÁKOVÁ, J.: Metody ke zjištění mikrobiálních pochodů v chlévské mrvě uložené za studena a v kompostech. Sbor. českoslov. Akad. zeměd. Věd, Rostl. Výr., XXVIII, 1956, s. 202-205.
- KROULÍK, A. — LEITGEB, S.: Horké kompostování. Praha, ČSAZV 1958.
- LÖBL, F.: Současný stav technologie výroby průmyslových kompostů. Celostát. věd. Konf. Praha, 1968.
- LÖBL, F. — VÁŇA, J.: Hodnocení průběhu zrání Vitahumu. [Dílčí závěrečná zpráva.] Praha-Ruzyně, VÚRV 1968.
- LÖBL, F. — ŠTIKOVÁ, A.: Hodnocení mikrobiologických změn v kompostových zakládkách průmyslově vyráběného organického hnojiva. [Závěrečná zpráva.] Praha-Ruzyně, VÚRV 1969.
- LÖBL, F. — ŠTIKOVÁ, A. — KULDOVÁ, M.: Mikroflóra a změny dusíku při zrání Vitahumu. Rostl. Výr., 16, 1970a, č. 1, s. 91-100.
- LÖBL, F. — ZOBAC, J. — ŠTIKOVÁ, A.: Einflüsse unterschiedlich ausgereifter industriell hergestellter Komposte. Infor.-bl. IAM, 3, 1970b, s. 86-92.
- NOVÁK, B.: Biochemické hodnocení zrání statkových hnojiv z hlediska obohacení půdy humusem. In: Věd. Práce Výzk. Úst. rostl. Výr. Praha, 1958.
- NOVÁK, B.: Hodnocení různých způsobů ukládání chlévské mrvy na podkladě

mikrobiologických a biochemických průzkumů. [Kandidátská disertace.] Praha-Ruzyně 1957. VÚRV.

NOVÁK, B.: Příspěvek k teorii tvorby humusu. [Doktorská práce.] Praha-Ruzyně 1963. VÚRV.

NOVÁK, B. — APFELTHALER, R.: Příspěvek k metodice stanovení respirace jako indikátoru mikrobiologických pochodů v půdě. Rostl. Výr., 10, 1964, č. 2, s. 145-150.

NOVÁK, B. — LÖBL, F.: Vliv kyslíku na zrání statkových hnojiv. Rostl. Výr., 4, 1958, č. 8, s. 955-962.

ROHDE, G.: Die festen Abfallstoffe der Stadt. Dtsch. Bauakad., 7, 1956, s. 7-64.

STRAUB, H. — GLATHE, H.: Bestimmung von Kompostmodellen von Müll mit und ohne Klärschlamm. Frankfurt a. M., DLG-Verlag 1961.

ČSN 46 5735. Průmyslové komposty. Praha, 31. 12. 1984.

Došlo dne 13. 5. 1987

ЛЮБЛ, Ф. — ШТИКОВА, А. — ВАНЯ, Я. (Научно-исследовательский институт растениеводства, Прага - Ружыне): Микробально-биохимическая активность промышленных компостов. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1129-1137.

Эта активность рассматривается у 5 видов компостов. Компост А — классический тип Витагум, который производился в 60-е годы и отвечал показателям качества по ГОСТ СССР 46 5735. Его биоактивность, однако, минимальна и, следовательно, он слабо стимулирует превращение орг. веществ. Причина усматривается в отсутствии в его сырьевом составе легкоразложимых орг. веществ. Именно они содержатся в компостах В, С, Д, Е благодаря просеву городских отвалок, твердым домхозным мусорным веществам и навозу. Результаты подтверждают, главное, у компостов Д и С, что обширное превращение орг. веществ ведет к соответствующим изменениям респирации и микрофлоры, но также к развитию температур и весовым убыткам спелых компостов. Сопоставление компостов показывает, что благодаря правильному составу можно добиться нужного субстратного и энергеметаболизма уже при производстве промышленных компостов. В то же время эти результаты свидетельствуют и о возможности использования биотехнологических механизмов регуляции в процессе их производства.

компосты; утилизация отходов; микробная и биохимическая активность; потеря органических веществ в компостах

LÖBL, F. — ŠTIKOVÁ, A. — VAŇA, J. (Research Institute of Crop Production, Praha-Ruzyně): *The Status of the Microbial and Biochemical Activity of Commercially Produced Composts*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1129-1137.

We evaluated the microbial and biochemical activity in five types of commercially produced composts. Compost A of the traditional Vitahum type, produced in the nineteen-sixties, reached the quality parameters prescribed by Czechoslovak Standard ČSN 46 5735 but its biological activity was low and, consequently, the conversion of its organic matter was poor. As demonstrated, readily decomposable organic substances were lacking in the raw material structure of the humus, thus hindering wider microbial and biochemical activities. In composts B, C, D, E the content of readily decomposable organic substances is adjusted by the addition of sieved material from the municipal waste dumps, crushed solid household wastes, and stable dung. The results confirm (particularly in composts D and C) that extensive conversion of organic substances brings about corresponding changes in respiration and microflora, in the development of temperatures, and weight losses were suffered in the ripe composts. It follows from the comparison of the composts under study that if the raw material composition is correctly chosen, the substrate and energy metabolism can be managed during the production of commercial composts. These results also draw attention to the possibilities of biotechnological regulation in the process of the production of such commercial composts.

composts; utilization of wastes; microbial and biochemical activity; weight losses of organic substances

LÖBL, F. — ŠTIKOVÁ, A. — VÁŇA, J. (Forschungsinstitut für Pflanzenproduktion, Praha-Ruzyně): *Mikrobielle biochemische Aktivität von industriell hergestellten Komposten*. Rostl. Vyr., 33, 1987 (11) : 1129-1137.

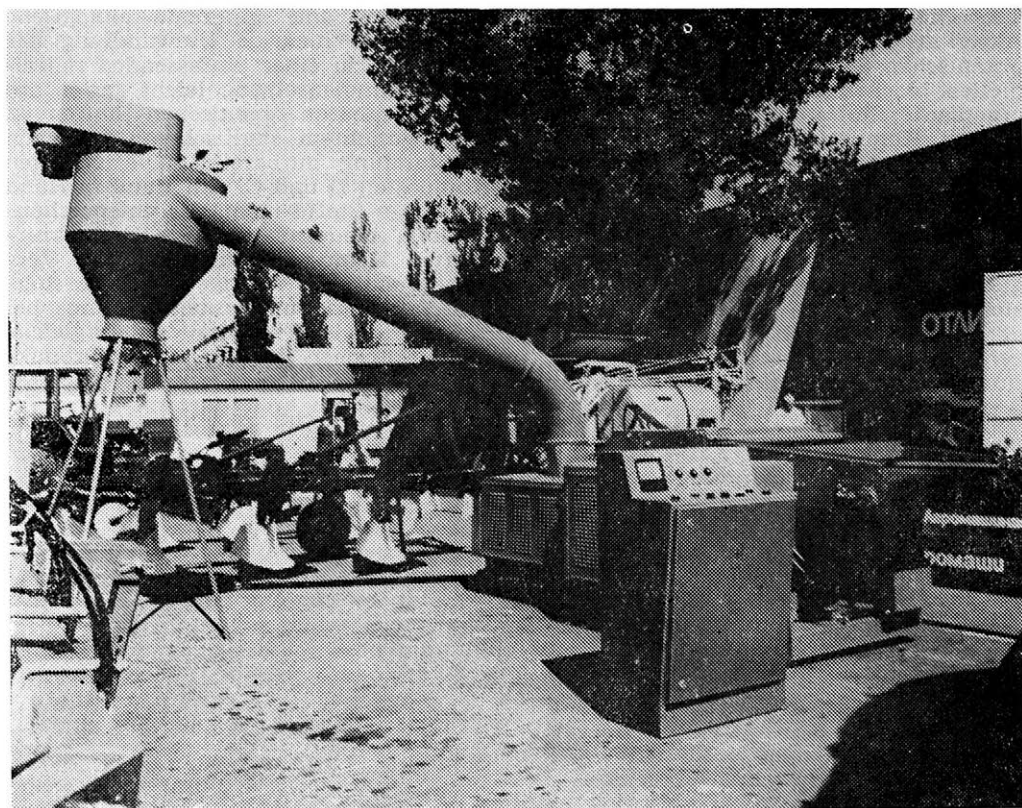
Die vorliegende Arbeit bewertet die mikrobielle biochemische Aktivität von fünf industriell hergestellten Typen von Komposten. Der Kompost A vom klassischen Typ Vitahum, hergestellt in den 60er Jahren, erreichte die Qualitätsparameter der Tschechoslowakischen Staatsnorm 46 5735, wies aber eine minimale biologische Aktivität und auch eine mit ihr zusammenhängende niedrige Umwandlung der organischen Stoffe auf. Es wurde nachgewiesen, daß zu einer umfassenden mikrobiellen biochemischen Aktivität in der Rohstoffzusammensetzung leicht zerlegbare organische Stoffe fehlen. Der Gehalt an leicht zerlegbaren organischen Stoffen ist in den Komposten B, C, D, E mit Hilfe von gesiebttem städtischem Müll, von zerkleinerten festen Hausabfällen und von Stalldung aufbereitet. Die erzielten Ergebnisse bestätigen, insbesondere bei den Komposten D und C, daß Hand in Hand mit einer umfassenden Umwandlung der organischen Stoffe nicht nur entsprechende Veränderungen der Respiration und Mikroflora, sondern auch der Temperaturwerte und der Gewichtsverluste der ausgereiften Komposte eintreten. Dem Vergleich der bewerteten Komposte ist zu entnehmen, daß eine richtige Wahl der Rohstoffbasis dann die Beherrschung des energetischen und Substratmetabolismus bei der Herstellung von Industriekomposten ermöglicht. Die Resultate deuten gleichzeitig auf die mögliche Ausnutzung der biotechnologischen Regelungen im Produktionsprozess dieser Industriekomposte hin.

Komposte; Abfallverwertung; mikrobielle und biochemische Aktivität; Gewichtsverluste an organischen Stoffen

Adresa autorů:

Ing. František Löbl, CSc., ing. Alena Štiková, CSc., ing. Jaroslav Váňa, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

DRTIČ KRMIVA FGF – 120 MB



Pro drcení hrubého krmiva, sena, slámy, kukuřičných palic bez zrna i se zrnem v živočišné výrobě je určen drtič krmiva typu FGF – 120 MB.

Technické údaje: hodinový výkon 3,5 až 10 t

Agromachinaimpex

Vývozce: TS AGROMAŠINAIPEX
Bulharsko, Sofie
tř. St. Lepojeva č. 1
telefon: 230 391
telex: 22 563



REGULAČNÍ EFEKT JÍLOVÝCH MINERÁLŮ NA PŘEMĚNY ORGANICKÝCH LÁTEK KALŮ

J. Nováková

NOVÁKOVÁ, J. (Vysoká škola zemědělská, Praha-Suchdol): *Regulační efekt jílových minerálů na přeměny organických látek kalů*. Rostl. Vyr., 33, 1987 (11) : 1139-1146.

V modelovém pokusu s písčitou zemínou byl v konstantních podmínkách po dobu 133 dnů sledován vliv kalů z čistírny odpadních vod, ošetřených vápnem, a přidavku bentonitu na mikrobiální a biochemické přeměny. Kaly ošetřené vápnem přicházejí do půdy značně stabilizované v oblasti organických látek a se změněnou potenciální mineralizační aktivitou mikroflóry. Přidavek bentonitu zvětšuje mineralizační rychlost i potenciální mineralizační aktivitu mikroflóry v prvních fázích po vnesení kalu do zeminy. V průběhu inkubace umožňuje rozsáhlou stabilizaci organických látek v půdě. Přidavek bentonitu kompenzuje nepříznivé účinky vápna, které přidáné do kalů i do zeminy výrazně snižuje výskyt koliformních bakterií.

bentonit; kaly z čistíren odpadních vod; metabolické procesy půdní mikroflóry; stabilizace organických látek

Využívání vyhníklých kalů z čistírenských odpadních vod v zemědělství má již mnohaletou tradici. Přesto zůstává mnoho otázek nezodpovězených. Ať je to problém odvodnění kalů, nebo kvalita kalů, v poslední době též množství nežádoucích látek v kalech a samozřejmě výskyt patogenních mikroorganismů. Vyhnívání kalů za anaerobních podmínek nezaručuje likvidaci patogenů, proto využívání takto zpracovaných kalů je určitým rizikem. Proto se zavádí tak zvaná hygienizace kalů termicky, chemicky nebo radiačně. K nejběžnější chemické hygienizaci patří používání vápna. Při použití vápna dochází k uvolňování čpavku, který ve vysokých koncentracích je toxický pro většinu mikroorganismů. Při tom se kal silně zahřeje, takže dochází i k termické hygienizaci. Využívání vyhníklých, hygienicky zabezpečených kalů pro hnojení zemědělské půdy je dnes hlavním směrem odbytu kalů (Pardus, 1984, 1986).

Funkce organických látek v půdě jsou významnou měrou modifikovány přítomností jílových minerálů. Vazbou organických látek s jílovými minerály jsou zásadně ovlivněny jejich biochemické přeměny a samozřejmě i biologické pochody v půdě (Kunc, Stotzky, 1974; Nováková, 1977, 1979).

V našich dřívějších pracích (Nováková et al., 1974a, b) jsme prokázali regulační vliv jílu na využitelnost organických látek pro půdní organismy, na stabilitu půdní organické hmoty. Při kompostování městských odpadů, kůry aj. (Nováková et al., 1974a, b; Nováková,

1977, 1984) se tyto regulační funkce projevily ještě výrazněji. Tato práce na naše dřívější studie navazuje. Z řady možných jílů jsme vybrali bentonit jako jeden z neúčinnějších.

MATERIÁL A METODY

V modelovém pokusu jsme sledovali vliv vyhnílého odvodněného kalu upraveného vápnem s přidavkem bentonitu na mikrobiologické a biochemické pochody v písčitohlinité zemině.

Varianty pokusu byly tyto:

1. zemina,
2. zemina + 8 % bentonitu,
3. zemina + 5 % vzdušného vápna (78 % aktivního CaO),
4. zemina + 5 % vápna + 8 % bentonitu,
5. zemina + 10 % kalu upraveného vápnem,
6. zemina + 10 % kalu upraveného vápnem + 8 % bentonitu,
7. zemina + 10 % neupraveného kalu.

Zemina, kal, bentonit byly smíchány, vlhkost upravena na 12 %, u bentonitových variant bylo na každý gram bentonitu přidáno 1,2 ml vody. Od každé varianty bylo připraveno devět paralelních vzorků, které byly inkubovány při teplotě 28 °C po dobu 133 dnů při konstantní vlhkosti. V průběhu inkubace byla v časových intervalech 0, 6, 13, 20, 48, 62, 83, 105 a 133 dnů vždy jedna paralela každé varianty zrušena a použita pro mikrobiologické a biochemické testy.

Charakteristika analýz a použitých testů je uvedena v naší dřívější publikaci (Nováková, 1984).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Kaly použité v pokusech se zeminou obsahovaly v suché hmotě 42 % organických látek. Tyto organické látky obsahovaly 40,5 % uhlíku. Poměr uhlíku k dusíku v hodnotě 6,8 indikuje značný podíl organických dusíkatých látek. Obsah 0,04 % $\text{NH}_4^+\text{-N}$ v sušině (tj. 0,2 % v N_t) je pro posouzení struktury vazby uhlíku a dusíku zanedbatelný.

Ve variantách, kam byl přidáván kal, bylo do zeminy vneseno 1,05 % organických látek, tj. 0,42 % uhlíku a 0,0625 % dusíku.

Změny pH během inkubace jsou uvedeny v tab. I. V nultém čase, tj. při založení pokusu, je pH silně zvýšeno ve variantách bez kalů

I. Změny pH během inkubace — Changes in pH values during incubation

Varianta	Dny inkubace								
	0	6	13	20	48	62	83	105	133
1	7,42	7,42	7,03	7,10	7,26	7,62	7,22	8,01	6,72
2	7,71	7,55	7,41	7,42	7,53	7,04	7,36	8,05	7,32
3	10,81	7,97	7,95	7,76	7,85	7,88	7,80	7,75	7,57
4	10,51	8,45	7,89	7,64	8,13	8,44	8,17	8,42	7,84
5	8,93	7,89	7,14	7,06	7,35	6,82	8,42	7,20	7,45
6	9,20	8,33	7,53	7,34	7,72	7,01	7,57	7,60	7,50
7	7,57	6,82	6,37	6,10	6,19	6,86	6,40	6,48	6,12

Varianta	Dny inkubace								
	0	6	13	20	48	62	83	105	133
1	1,53	2,75	0,094	0,05	—	—	—	—	—
2	0,99	0,98	0,22	0,34	—	—	—	—	—
3	0,27	0,24	0,06	0,07	—	—	—	—	—
4	0,46	0,73	0,29	0,11	—	—	—	—	—
5	1,13	41,43	186,94	11,92	3,83	8,41	—	—	—
6	1,34	58,20	42,58	0,13	1,48	0,81	0,093	0,01	0,01
7	12,11	489,20	101,10	1,99	51,40	17,18	—	0,01	0,01

s přidavkem vápna (3 a 4). Již po šesti dnech inkubace se tyto hodnoty pH přiblížily hodnotám pH u variant bez vápna (1, 2), byly však zvýšeny během celé inkubace. Zvýšení ještě prohloubil přídavek bentonitu. Nejnižší a v průběhu inkubace stále klesající pH bylo ve variantě 7 se samotnými kaly. Hodnoty pH indikují rozsáhlé interakce komponent, které vstupují do systému (zemina, kal, vápno, jíl) a které se promítají do řady biotransformací v průběhu času.

Vliv zvýšení hodnoty pH (více ve variantách bez přidaného kalu než s kalem) se projevil v primárním hygienizačním efektu indikovaným výskytem koliformních bakterií (tab. II). Ve variantách s kalem a přidavkem vápna bez ohledu na to, zda byl přidán bentonit, počáteční množství koliformních bakterií nepřekročilo hodnoty nalezené v kontrolní zemině. Přídavek vápna i bentonitu do zeminy bez přidaných kalů způsobil výrazný pokles počtu mikrobů této skupiny. Přídavek samotného vápna měl největší efekt, počet stanovitelných mikrobů této skupiny klesl na 17,6 % počtu týž mikrobů v kontrolní zemině. Přidané kaly do určité míry reprimovaly původní počty. V průběhu inkubace počet mikrobů této skupiny stoupl a potom postupně klesal. Je to nepochybně důsledek koexistence a kometabolismu s celkovou půdní mikrobiocenózou (tab. III), která v prvních fázích inkubace početně stoupla. Výjimkou jsou varianty 2 a 3, u kterých počet koliformních bakterií začal klesat již od začátku inkubace a je v souladu s počtem všech kultivace schopných mikrobů (tab. III).

Ve variantě s přidavkem samotných kalů (7) je počet koliformních bakterií na počátku inkubace ve srovnání s kontrolní zeminou téměř desetinásobný. Zvětšení celkového počtu mikrobů v této variantě (tab. III) je téměř 6,6násobné v průběhu prvního týdne inkubace, ale v téže době vzrostl počet koliformních mikrobů více než 40krát. I když v dalších fázích inkubace počet koliformních bakterií ve variantě 7 klesá rychleji než počet veškeré bakteriální populace, neodporují tyto výsledky základnímu záměru, který provokoval přídavek vápna do kalů. Bentonit snižuje výskyt koliformních bakterií téměř na úroveň kontrolní zeminy. Varianta s kalem a vápnem bez bentonitu má 10násobné množství těchto bakterií oproti variantě s bentonitem ještě po 62 dnech inkubace.

III. Celkový počet bakterií a aktinomycet na Thorntonově agaru $\times 10^6$ na 1 g sušiny — The total number of bacteria and actinomycetes on Thornton's agar $\times 10^6$ per 1 g of dry matter

Varianta	Dny inkubace								
	0	6	13	20	48	62	83	105	133
1	1,31	4,18	4,48	1,34	0,73	0,59	0,61	0,99	1,07
2	0,69	2,01	4,93	2,09	0,88	0,98	0,43	1,21	1,00
3	1,13	3,45	5,53	1,76	0,64	1,17	0,51	0,77	1,57
4	1,16	3,10	2,79	2,93	1,25	0,78	0,52	1,08	1,18
5	1,29	25,96	31,73	16,09	15,79	9,19	8,10	2,61	9,59
6	1,16	42,68	127,75	55,02	16,30	20,42	17,07	16,88	14,36
7	2,38	4,21	19,02	13,23	15,15	14,64	6,68	14,14	12,16

Jedním z nejobecnějších projevů aktivity půdní biocenózy je respirace půdy. Jejím indikátorem je bazální respirace B (tab. IV).

Z porovnání respirace variant s bentonitem k variantám bez bentonitu (1 : 2; 3 : 4; 5 : 6) je zřejmé, že bentonit přidaný do zeminy zprvu urychluje mineralizaci organických látek. V dalším metabolismu bentonit stabilizuje biochemické přeměny látek a počíná se projevovat jeho protektivní vliv. To odpovídá již dříve získaným poznatkům (Nováková, 1979).

V průběhu jednoho týdne se respirační aktivity jednotlivých variant sice zcela nevyrovnají, ale vzájemně se sobě blíží. Varianty s bentonitem jsou zvláště výrazné tím, že zmenšují odchylky mineralizační aktivity mikrobiocenózy v obou směrech (ve směru zvětšení i zmenšení). Tento vliv bentonitu se projevuje až do konce pokusu a zřejmě souvisí s efektem stimulace rychlosti biochemických reakcí v půdě vlivem jílových minerálů a současné inhibice dostupnosti substrátů týmiž jílů.

IV. Bazální respirace (B) v průběhu inkubace (mg CO₂ na 100 g sušiny za hodinu) — Basal respiration (B) in the course of incubation (mg CO₂ per 100 g of dry matter per hour)

Varianta	Dny inkubace								
	0	6	13	20	48	62	83	105	133
1	0,498	0,316	0,284	0,399	0,255	0,247	0,247	0,173	0,125
2	0,543	0,200	0,219	0,286	0,207	0,221	0,191	0,122	0,110
3	0,140	0,276	0,246	0,247	0,198	0,262	0,196	0,088	0,090
4	0,550	0,209	0,235	0,268	0,203	0,494	0,206	0,076	0,093
5	0,487	2,324	1,054	0,694	0,427	0,457	0,406	0,222	0,153
6	1,074	1,770	0,992	0,668	0,358	0,936	0,359	0,188	0,203
7	1,948	1,906	1,392	0,925	0,467	0,473	0,348	0,220	0,258

Varianta	Dny inkubace								
	0	6	13	20	48	62	83	105	133
1	24,91	30,02	48,91	49,45	53,19	112,75	71,18	52,43	98,88
2	21,41	47,35	72,70	63,75	68,48	83,51	92,55	149,71	114,81
3	2,16	18,95	35,56	66,05	92,14	57,06	86,40	78,35	112,50
4	0,58	21,88	59,11	80,10	82,08	34,82	84,98	197,18	113,95
5	15,10	6,77	22,90	30,55	45,56	49,96	64,92	92,59	115,63
6	18,64	9,17	27,97	31,51	54,74	24,16	77,57	61,40	92,17
7	12,47	7,83	12,55	16,48	31,05	34,65	16,78	22,50	29,67

Zvýšenou stabilizaci organických látek v půdě můžeme považovat za příznivý jev. Je to pochod, který umožňuje nejen zachování humusových látek v půdě, ale současně stabilizuje řadu rostlinných živin. Tyto stabilizované látky mají rovněž důležitou funkci ve zmenšení mobility těžkých kovů v půdě, což je v souvislosti s použitím kalů, které takové kovy obsahují, zvláště důležité.

Jednotlivé složky systému (zemina, vápno, bentonit, kaly) vnášejí do stabilizace látek odlišné vklady (tab. V).

Samotná zemina má stabilizované látky a tato stabilizace se v průběhu inkubace zvětšuje. Je to způsobeno především poklesem množství dobře využitelných látek (tab. V); potenciální aktivita mikroflóry se mění jen málo (tab. VI).

Indikovaná stabilita organických látek v kontrolní zemině vzrostla za celé období pokusu téměř čtyřikrát. Za totéž období klesla bazální respirace na 25,1 % původní hodnoty.

Přídavek bentonitu již v nultém čase vytvořil v zemině měřitelné

VI. Potenciální respirace s přídavkem glukózy a dusíku (NG) v průběhu inkubace (mg CO₂ na 100 g sušiny za hodinu) — Potential respiration with an addition of glucose and nitrogen (NG) in the course of incubation (mg CO₂ per 100 g of dry matter per hour)

Varianta	Dny inkubace								
	0	6	13	20	48	62	83	105	122
1	12,405	9,427	13,891	19,730	13,563	21,760	17,581	9,071	12,360
2	11,625	9,469	15,921	18,234	14,176	18,457	17,674	18,265	12,629
3	0,303	5,229	8,784	16,314	18,244	14,951	16,934	6,895	10,125
4	0,317	9,277	13,891	21,466	16,662	17,201	17,506	14,986	10,597
5	7,353	15,735	24,137	21,202	19,543	22,833	26,358	20,554	17,692
6	20,015	16,234	27,743	21,052	19,596	22,613	27,847	11,543	18,711
7	24,286	14,915	17,476	15,246	14,530	16,388	5,838	4,950	7,654

změny. Skutečná intenzita rozkladu původní organické hmoty vzrostla proti kontrole na 109 %, potenciální aktivita mikroflóry klesla na 94 %, indikovaná stabilita organických látek klesla na 86 %.

V průběhu inkubace zeminy s bentonitem poklesla bazální respirační aktivita více než v kontrolní zemině, takže dosáhla 20,2 % výchozí hodnoty a 88 % hodnoty v kontrolní zemině ve stejném čase. Je zde zřetelný zprvu stimulační efekt bentonitu na přeměny organických látek v půdě, který postupně přechází v efekt protektivní. Indikovaná stabilita půdní organické hmoty se v průběhu inkubace zvýšila 5,4krát a na 116 % kontrolní varianty.

Nejpronikavější změny způsobil přídavek samotného vápna a vápna spolu s bentonitem. Bazální respirace v nultém čase prudce poklesla na 28 % hodnoty kontrolní varianty. Jde zřejmě o inhibiční účinek vysokého pH na aktivitu mikroorganismů, protože ve vlastním počtu životaschopných mikrobů se tento vliv neprojevil. V dalším průběhu inkubace se mineralizační aktivita mikroorganismů restauruje.

Potenciální respirace NG byla přidavkem vápna snížena ještě výrazněji než respirace bazální. V průběhu inkubace se postupně vyrovnávala s potenciální respirací v kontrolní variantě.

Přídavek jílu do systému výrazně kompenzoval nepříznivý účinek vápna na bazální respiraci jen v nultém čase.

Kaly přinášejí do zeminy mnoho organických látek bohatých na dusík a dále mnoho dalších biogenních a abiogenních elementů, které všechny mohou zasáhnout do celkového metabolismu půdy.

Ve variantě 7, kam byly aplikovány samotné kaly, se zvětšila bazální respirace v nutném čase zhruba čtyřnásobně. V průběhu inkubace množství dobře využitelných látek klesá, proto se bazální respirace snižovala a na konci pokusu její hodnota byla poloviční hodnoty bazální respirace u kontrolní varianty. Potenciální respirace, která indikuje mineralizační aktivitu mikroflóry, stoupla v nultém čase na asi dvojnásobek proti kontrole, tedy výrazně méně než bazální respirace. Důvodem může být buď zlepšení poměru mezi využitelnými organickými látkami a minerálními živinami, nebo tzv. priming efekt, tj. urychlení intenzity rozkladu primárního substrátu.

Indikovaná stabilita organických látek stoupla v průběhu inkubace na více než dvojnásobek základní hodnoty, ale zůstala hluboko pod hodnotou kontrolní varianty.

Přídavek kalů ošetřených vápnem zvýšil nepříliš výrazně mineralizační aktivitu v porovnání s kontrolou. Ani potenciální respirace nebyla na počátku pokusu výrazně změněna. Stupeň stabilizace byl však u varianty 5 největší, na konci pokusu dosáhl hodnoty 117 % kontrolní varianty. Přídavek vápna do kalů tedy jen dočasně inhibuje biochemickou aktivitu mikroflóry, v následné fázi ji stimuluje a umožňuje syntetické procesy, které vedou ke stabilizaci.

Přídavek bentonitu ke kalům s vápnem zvýšil mineralizační aktivitu oproti kontrole již v nultém čase a toto zvýšení trvalo i v dalším týdnu inkubace. V průběhu inkubace základní mineralizační aktivita klesala. Tento pokles nebyl způsoben omezením aktivity mikroflóry, jak je zřejmé z hodnot potenciální respirační aktivity (tab. VI) ale byl důsledkem stabilizace substrátu (tab. V).

Závěrem možno shrnout, že kaly ošetřené vápnem přicházejí do půdy již značně stabilizované v oblasti organických látek a se zmenšenou potenciální mineralizační schopností. Přídavek vápna ke kalům zmenšuje výskyt koliformních mikrobů. Bentonit výrazně zvětšuje mineralizační rychlost i potenciální mineralizační aktivitu mikroflóry, v prvních fázích ihned po vnesení kalů do zeminy, postupně však umožňuje rozsáhlou stabilizaci organických látek v půdě.

Přídavek samotných kalů do půdy má všechny sledované parametry méně vhodné.

Literatura

- KUNC, F. — STOTZKY, G.: Soil Sci., 111, 1974, s. 34-41.
NOVÁKOVÁ, J. — NOVÁK, B. — ŠTIFTER, M.: Zbl. Bakt. Abt. 2, 129, 1974a, s. 339-350.
NOVÁKOVÁ, J. — NOVÁK, B. — TRČKA, P.: Zbl. Bakt. Abt. 2, 129, 1974b, s. 327-338.
NOVÁKOVÁ, J.: Soil biology and conservation of the biosphere. Hung. Akad. Sci., 1977, s. 271-275.
NOVÁKOVÁ, J.: Jílové minerály jako faktor ovlivňující stabilizaci substrátu. Rostl. Výr., 25, 1979, č. 11, s. 1133-1137.
NOVÁKOVÁ, J.: Vliv přídavku kompostu a bentonitu na biochemické přeměny látek v půdě. [Dílčí závěrečná zpráva úkolu VI-4-16/4.] Praha, VŠZ 1984.
PARDUS, I.: Úprava kalu pro hnojení. Praha, Hydroprojekt HS 6011/84, 1984.
PARDUS, I.: Hygienizace kalů vápnem. [Technicko-ekonomická informace.] Praha, Hydroprojekt HS 8103/86, 1986.

Došlo dne 13. 5. 1987

НОВАКОВА, И. (Сельскохозяйственный институт, Прага-Сухдол): Регулировочный эффект илистых минералов в превращении органических веществ шлама. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1139-1146.

В ходе модельного опыта с песчаным грунтом в константных условиях в течение 133 дней определяли влияние шлама из водоочистной станции после очистки известью и добавки бентонита на микробиальные и биохимические превращения. Обработанный известью шлам попадает в почву значительно стабилизированным в отношении орг. веществ и с измененной потенциальной минерализованной активностью микрофлоры. Добавка бентонита ускоряет минерализацию и потенциальную минерализационную активность микрофлоры в первые фазы заправки шлама в грунт, а в ходе инкубирования он обширно упрочает орг. вещества в почве, компенсируя ухудшающее влияние извести: добавленная и в шлам, и в грунт, она заметно сокращает численность колиформных бактерий.

бентонит; шлам из водоочистных станций; метаболические процессы в почвенной микрофлоре; стабилизация органических веществ

NOVÁKOVÁ, J. (University of Agriculture, Praha-Suchdol): The Regulatory Effect of Clay Minerals on the Conversions of Organic Substances Contained in the Sludges. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1139-1146.

A model trial was conducted with sandy soil under constant conditions for 133 days to study the effect of the city sewage sludges, treated with lime and with an addition of bentonite, upon microbial and biochemical conversions. The lime-treated sludges entering the soil are very stabilized in their organics and the potential mineralization activity of their microflora is changed. The addition of bentonite increases the rate of mineralization and the potential mineralization activity of the microflora in the initial stages after the application of the sludges to the soil. In the course of incubation it enables extensive stabilization of organics in the soil. The

addition of bentonite compensates for the adverse effects of lime, which if added to the soil, markedly reduces the occurrence of coliform bacteria.

bentonite; city sewage sludges; metabolic processes of soil microflora; stabilization of organic substances

NOVÁKOVÁ, J. (Landwirtschaftliche Hochschule, Praha-Suchdol): *Regulations-einfluß der Tonmineralien auf Umwandlungen organischer Stoffe der Schlämme*. Rostl. Vým., 33, 1987 (11) : 1139-1146.

In einem Modellversuch mit sandigem Lehm untersuchten wir unter konstanten Bedingungen 133 Tage lang den Einfluß der Klärschlämme, die mit Kalk und Bentonit behandelt worden waren, auf mikrobielle und biochemische Umwandlungen. Die mit Kalk behandelten Schlämme gelangen in einen in bezug auf organische Stoffe bedeutend stabilisierten Boden, der sich durch eine geänderte potentielle Mineralisierungsaktivität der Mikroflora auszeichnet. Der Zusatz von Bentonit steigert die Mineralisierungsgeschwindigkeit sowie die potentielle Mineralisierungsaktivität der Mikroflora in den ersten Phasen nach der Einarbeitung der Schlämme in die Erdmasse. Während der Inkubation ermöglicht er eine umfassende Stabilisierung der organischen Stoffe im Boden. Der Zusatz von Bentonit kompensiert alle ungünstigen Wirkungen von Kalk, dessen Zusatz in die Schlämme und die Erdmasse das Vorkommen der Coli-Bakterien bedeutend herabsetzt.

Bentonit; Klärschlämme; metabolische Prozesse der Bodenmikroflora; Stabilisierung organischer Stoffe

Adresa autorky:

RNDr. Jitka Nováková, Vysoká škola zemědělská, 165 21 Praha 6 - Suchdol

ŠTRÁFELDA, J. — VELICH, J. — PARDUS, I. (Vysoká škola zemědělská, Praha-Suchbát; Hydroprojekt, Praha): *Hnojení lučních porostů kaly z čistění odpadních vod*. Rostl. Vyr., 33, 1987 (11) : 1147-1155.

V pokusech na dvou mezofytních lučních stanovištích s hlinitou a hlinitopísčitou půdou v bramborářské oblasti a v nádobovém pokusu s *Dactylis glomerata* byl sledován hnojivý efekt smíšených kalů z čistírny městských odpadních vod při dávce dusíku 100 a 200 kg/ha. Produkční účinnost dusíku kalů při čtyřletém hnojení činila v průměru 77 % účinnosti dusíku průmyslových hnojiv. Při ročním střídání průmyslových hnojiv a kalů se zvyšuje produkční účinnost obou forem hnojiv. Provokativní každoroční hnojení kaly po čtyři roky nezvyšilo koncentraci těžkých kovů v píce a podle výsledků respirometrických testů nemělo negativní vliv na půdu. Jsou diskutovány možnosti uplatnění kalů v systému hnojení lučních porostů a navrhuje se jejich aplikace ve čtyř- až pětiletých intervalech.

luční porosty; hnojení; kaly z čistění odpadních vod; výnosy; kvalita píce; koncentrace těžkých kovů

Využívání kalů z čistění odpadních vod (ČOV) pro zemědělské účely je v současné době převažujícím trendem ve všech vyspělých zemích s vysokou zemědělskou výrobou, neboť recyklace organických látek, makro- i mikroživin je stále více nezbytná pro ekologickou rovnováhu přírodního prostředí. Roční produkce sušiny vyhníhlých kalů z ČOV odpadních vod veřejných kanalizací v ČSR činí v současné době kolem 120 000 t. Předpokládá se, že toto množství do roku 2000 vzroste asi o 25 % (Koukolík, 1984). Z tohoto množství je pro účely hnojení použitelných asi 80 %. Z celkového objemu je 74 % kalů odvodněných, které jsou použitelné k přímému hnojení. Tyto kaly obsahují 15 až 40 % sušiny, mají pastovitou až drobtovitou konzistenci, často tvoří hroudy, které se po přemrznutí rozpadají. V sušině obsahují v průměru 2,7 % dusíku, 0,24 % fosforu, 0,5 % draslíku, 3 % vápníku a 0,4 % hořčíku. Dále obsahují řadu mikroelementů, z nichž některé, zejména těžké kovy, mohou v nadměrném množství působit fytotoxicky nebo přecházet přes fytomasu do potravinového řetězce.

Dobré předpoklady pro efektivní využití hnojivých hodnot kalů jsou u travních porostů. Tyto předpoklady vyplývají z vlastností drnové vrstvy, jako je velmi husté prokořnění, vysoký obsah půdní organické hmoty, velká kapacita organominerálního sorpčního komplexu, a z charakteru travního porostu, jako je pestřejší druhová skladba a plné využití vegetačního období. Uvedené vlastnosti jsou důležité pro zamezení kontaminace podzemní vody nežádoucími látkami, k čemuž snadněji

dochází na orné půdě. Píce z travních porostů se podává skotu a tato transformace může podstatně omezovat negativní vlastnost kalů v důsledku možné přítomnosti choroboplodných zárodků, která je závažnější při hnojení plodin na orné půdě.

Travní porosty jsou v posledních 20 až 30 letech hnojeny převážně koncentrovanými průmyslovými hnojivy. To je příčinou odčerpávání některých mikroelementů, jejichž nedostatek může snižovat účinnost hnojení. Z tohoto důvodu mohou zde být kaly vhodným zdrojem mikroelementů a prostřednictvím statkových hnojiv ve vhodnější formě i zdrojem pro ornou půdu.

Cílem pokusů bylo porovnat produkční účinnost kalů a průmyslových hnojiv, objasnit jejich vliv na obsah minerálií a zejména těžkých kovů v píci a na některé půdní vlastnosti při hnojení travních porostů.

MATERIÁL A METODY

V období 1978 až 1984 proběhl nádobový pokus a dva luční pokusy. Luční pokusy probíhaly na dvou typech velkovýrobně obhospodařovaných luk mezofytního charakteru v bramborářské výrobní oblasti ve shodných meteorologických podmínkách (roční srážky 536 mm, teplota 7,5 °C, vzájemná vzdálenost 2 km), avšak s rozdílným půdním druhem (tab. I). Pokusy byly založeny metodou znáhodněných bloků ve třech opakováních, velikost parcel byla 15 m². Průmyslová hnojiva a kaly byly srovnávány při úrovni dusíku 100 a 200 kg/ha. Fosfor a draslík byl dodán nebo vyrovnan na stejnou úroveň. Dusík ve formě ledku amonného s vápencem byl aplikován děleně k jednotlivým sečím, kaly a PK-hnojiva jednorázově vždy na podzim. Porosty byly využívány trojsečně. Výnosy čerstvé fyto-masy, sušiny a odběry vzorků pro chemické analýzy byly zjišťovány obvyklými postupy.

K nádobovému pokusu byla použita zemina z půdní vrstvy 0 až 0,3 m, smíšená s křemitým pískem v poměru 2 : 1 v množství 6,5 kg na nádobu. Po slehnutí půdy byly nádoby osety srhou říznáčkou (*Dactylis glomerata*) a vyjednoceny na 22 rostlin. Po první seči (kontrolní) byly nádoby pohnojeny. Seče byly prováděny při výšce porostu 160 až 180 mm v intervalech 21 až 58 dnů. Celkem jsou hodnoceny čtyři sklizně. Pokus byl sestaven do dvou sérií, bez vápnění a s vápněním v přepočtené dávce vápníku 0,7 t/ha ve formě uhličitánu vápenatého. Chemické analýzy píce byly

I. Stručná charakteristika pokusných lučních stanovišť — Brief characteristics of the experimental meadow sites

Pokus	1	2
Průměrný úhrn srážek (mm): za rok	536	536
březen až říjen	363	363
Průměrná roční teplota (°C)	7,5	7,5
Hloubka hladiny podzemní vody pod povrchem (kolísání); (m)	0,62 (0,1 — 1)	0,65 (0,3 — 1)
Půdní typ	oglejená půda	oglejená půda
Půdní druh (0 — 0,3 m)	hlinitá půda	hlinitopísčitá půda
pH (KCl)	6,1	5,1
% C _{ox}	2,74	1,62
Maximální sorpční kapacita T (mval na 100 g půdy)	38,5	18,6
Nasycení sorpčního komplexu bázemi S (mval na 100 g půdy)	33,7	11,8

II. Průměrný obsah rostlinných živin a těžkých kovů v sušině smíšených kalů (ČOV Louny) použitých ke hnojení — The average contents of plant nutrients and heavy metals in the dry matter of mixed sludges (sewage treatment plant Louny) used for manuring

Prvek	N	P	K	Ca	Mg	Na	Zn	Fe
%	3,37	1,16	0,42	1,05	0,27	0,19	0,14	1,15
Prvek	Cu	Cd	Cr	Mn	Pb	Co	Mo	Ni
mg.kg ⁻¹	92	3,5	37	110	81	5,9	0,7	25

stejně jako u lučních pokusů. Po skončení nádobového pokusu byla v zemině stanovena intenzita respirace (Novák, 1965), amonizace a nitrifikace.

Obsah rostlinných živin a těžkých kovů v sušině smíšených kalů z ČOV v Lounech, které byly použity v pokusech, je uveden v tab. II.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Účinnost kalů u lučních porostů byla ve srovnání s ekvivalentními dávkami živin v průmyslových hnojivech ve všech letech nižší a opakovaným hnojením tyto difference dále vzrůstaly, zejména na lehčí půdě s nižším obsahem organické hmoty a s menší sorpční kapacitou (tab. III a IV). Variabilita výnosů byla při hnojení kaly větší než u průmyslových hnojiv. Produkční účinnost dusíku kalů činila na hlinité půdě 83 %, na hlinitopísčité půdě 72 % a v celkovém průměru 77 % účinnosti dusíku v průmyslových hnojivech. Uvedené hodnoty minerálních ekvivalentů dusíku vyplývají z toho, že kolem 88 % dusíku kalů je v organických vazbách, ze kterých se využije v roce hnojení 60 až 75 %, ve druhém roce 20 až 25 %. Část zbývajících dusíku představuje ztráty NH₃ volatilizací, které jsou spojeny s povrchovou aplikací a část se využije v dalších letech. Minerální ekvivalent dusíku kalů je podstatně vyšší než u tekutého hnoje, kde se podle doby aplikace pohybuje v rozmezí

III. Výnosy sušiny lučních porostů při hnojení průmyslovými hnojivy a kaly z ČOV (průměr 1978 až 1984) — The dry matter yields of meadow stands fertilized with commercial fertilizers and sewage sludges (average for 1978 to 1984)

Hnojení	Forma hnojiv	Pokus 1 (hlinitá půda)		Pokus 2 (hlinitopísčitá půda)	
		t. ha ⁻¹	relat.	t. ha ⁻¹	relat.
N ₁₀₀ PK	průmyslová hnojiva	4,47	100	4,12	100
	kaly	4,14	93	3,25	79
N ₂₀₀ PK	průmyslová hnojiva	6,29	141 (100)	5,46	133 (100)
	kaly	5,79	129 (92)	4,74	115 (87)
S. d. 0,05 0,01		0,62	14	0,53	13
		0,91	20	0,86	21

IV. Relativní výnosy sušiny srhy říznačky při různém systému hnojení průmyslovými hnojivy a kaly (nádobový pokus 2) — The relative dry matter yield of cocksfoot in different systems of the application of commercial fertilizers and sewage sludges (pot trial 2)

Systém hnojení	Relativní výnosy
Pouze průmyslová hnojiva	100
Pouze kaly	70
Střídavě průmyslová hnojiva a kaly	102
Současně: 50 % N v průmyslových hnojivech 50 % N v kalech	128
S. d. 0,05	27

V. Relativní výnosy píce lučních porostů při hnojení kaly z ČOV (průmyslová hnojiva = 100) — The relative yields of grassland fodder in fertilization with sewage sludges (commercial fertilizers = 100)

Hnojení	Pokus 1		Pokus 2	
	N ₁₀₀ PK	N ₂₀₀ PK	N ₁₀₀ PK	N ₂₀₀ PK
Hnojení kaly po víceletém hnojení průmyslovými hnojivy				
1. rok	94	92	90	87
2. rok	96	81	62	80
3. rok	91	76	53	54
4. rok	84	77	51	67
5. rok	76	80	57	83
Hnojení průmyslovými hnojivy po pětiletém hnojení kaly				
6. rok	128	115	108	136
Hnojení kaly po jednoletém přestávce				
7. rok + vápnění	103	109	120	111

40 až 70 % (Š k a r d a, 1974). Obsahem organického dusíku a rychlosti jeho působení odpovídají kaly dobrému kompostu.

Střídavé hnojení průmyslovými hnojivy a kaly mělo vyšší účinnost než stále hnojení samotnými kaly, nebo průmyslovými hnojivy. Nejvyšší účinnost byla dosažena při současném hnojení oběma formami hnojiv, jak to prokazují výsledky nádobového pokusu (tab. IV). Lehce využitelný dusík průmyslového hnojiva průkazně zvyšoval využití dusíku kalů. Pozitivně se rovněž mohl projevit přívod některých mikroelementů. Tomu nasvědčují i výsledky lučních pokusů (tab. V). Největší účinnost měly kaly v prvním roce aplikace po víceletém hnojení průmyslovými hnojivy, ve kterém byly výnosy jen o 6 až 13 % nižší. Vzhledem k pozvolnějšímu působení dusíku kalů souvisí zřejmě tato dobrá účinnost s dodáním mikroelementů. Rovněž účinnost průmyslo-

VI. Relativní zvýšení výnosů sušiny srhy říznačky vápněním (CaCO_3) při hnojení průmyslovými hnojivy a kaly (nádobový pokus 2) — A relative increase in the dry matter yields of cocksfoot as a result of liming (CaCO_3) combined with the application of commercial fertilizers and sludges (pot trial 2)

Hnojení	Relativní zvýšení výnosů při vápnění (nevápněno = 100)
Průmyslová hnojiva	115
Kaly	130

VII. Koncentrace hlavních rostlinných živin (v % sušiny) v luční píce při hnojení průmyslovými hnojivy a kaly z ČOV (celkový průměr) — The concentration of the main plant nutrients (% of dry matter) in meadow forage in the variant of the application of commercial fertilizers in combination with city sewage sludges (total average)

	Hnojení	Forma hnojiv	N	P	K	Ca	Mg
Pokus 1 (hlinitá půda)	nehnojeno	—	2,51	0,36	2,38	0,78	0,19
	N ₁₀₀ PK	průmyslová hnojiva kaly	2,73	0,39	2,86	0,66	0,18
			2,59	0,41	2,54	0,71	0,18
	N ₂₀₀ PK	průmyslová hnojiva kaly	2,90	0,39	2,67	0,63	0,19
			2,65	0,40	2,52	0,62	0,16
Pokus 2 (hlinitopísčita půda)	nehnojeno	—	2,45	0,30	2,07	0,78	0,20
	N ₁₀₀ PK	průmyslová hnojiva kaly	2,59	0,40	2,67	0,79	0,16
			2,46	0,39	2,52	0,75	0,15
	N ₂₀₀ PK	průmyslová hnojiva kaly	3,02	0,39	2,37	0,67	0,24
			2,45	0,39	2,29	0,62	0,14

vých hnojiv po pětiletém hnojení kaly byla o 8 až 36 % vyšší než při jejich soustavné aplikaci.

Účinnost kalů je rovněž zvyšována vápněním. Při hnojení kaly a vápnění byly výnosy o 3 až 20 % vyšší než při vápnění v kombinaci s průmyslovými hnojivy. Vliv vápnění na účinnost kalů dokumentují rovněž výsledky nádobového pokusu (tab. VI). Z údajů je zřejmé, že zvýšení výnosu vápněním o 15 % při hnojení průmyslovými hnojivy souvisí především se zvětšenou mineralizací půdní organické hmoty. Při hnojení kaly k tomu přistupuje další nárůst výnosu o 15 % vlivem zvýšené mineralizace organické hmoty kalů.

Koncentrace hlavních rostlinných živin v píci nebyla formami hnojiv významněji ovlivněna (tab. VII). Pouze obsah dusíku při hnojení kaly zůstal v podstatě na úrovni nehnojeného porostu. To souvisí s pomalejším biologickým zpřístupňováním dusíku z organických sloučenin kalů, což zvláště vystupuje do popředí při úrovni hnojení N₂₀₀PK. Cel-

VIII. Koncentrace těžkých kovů v sušině píce (v mg/kg) lučních porostů při hnojení průmyslovými hnojivy a kaly z ČOV — The concentration of heavy metals (mg per kg) in the dry matter of meadow forage in the variant of the application of commercial fertilizers and city sewage sludges

	Hnojení	Forma hnojiv	Pokus 1 (hlinitá půda)			Pokus 2 (hlinitopísčitá půda)		
			Cr	Cd	Pb	Cr	Cd	Pb
Průměr v období 1979 až 1981	nehnojeno	—	0,2	0,1	0,7	0,3	0,1	0,9
		průmyslová hnojiva	0,2	0,1	0,6	0,2	0,1	0,7
		kaly	0,3	0,1	1,0	0,2	0,1	1,3
	N ₂₀₀ PK	průmyslová hnojiva	0,2	0,1	0,8	0,2	0,1	2,6
		kaly	0,3	0,1	0,6	0,3	0,1	3,4
1984	nehnojeno	—	0,3	0,6	0,6	0,3	0,4	0,4
		průmyslová hnojiva	0,3	0,5	0,5	0,3	0,4	0,6
		kaly	0,9	0,5	2,5	0,6	0,6	2,8
	N ₂₀₀ PK	průmyslová hnojiva	0,3	0,5	0,6	0,3	0,3	0,5
		kaly	0,5	0,6	2,3	0,5	0,5	4,1

kově je dusíkatá výživa travního porostu při hnojení kaly biologicky příznivější než při hnojení nárazovými dávkami lehce přijatelného dusíku v průmyslových hnojivech.

Ze sledovaných osmi prvků ze skupiny mikroelementů nebo těžkých kovů byly v píci zjištěny významnější rozdíly pouze u chrómu, kadmia a olova (tab. VIII). Při hnojení kaly se celkem pravidelně zvyšoval obsah chrómu a olova. Koncentrace chrómu se sice při hnojení kaly zvýšila dva- až třikrát, avšak zdaleka nedosáhla ani průměrné hodnoty uváděné v literatuře pro normální píci 3 mg/kg sušiny.

Závažná je koncentrace olova. Opakované hnojení kaly ji jednoznačně zvyšuje zejména u druhého pokusu s lehčí půdou. Na obou stanovištích nepřichází v úvahu kontaminace olova výfukových plynů. Proto je obsah olova celkově nízký a ani provokační hnojení kaly po dobu pěti let, které v praxi vůbec nepřichází v úvahu, jej zdaleka nepřiblížilo k povolené hranici 20 mg/kg sušiny.

Koncentrace nebezpečného kadmia v píci byla při hnojení kaly a průmyslovými hnojivy v podstatě stejná. Obecné zvýšení koncentrace kadmia, ke kterému došlo po sedmi letech pokusů, nelze přisuzovat vlivu hnojení, neboť se projevilo i v píci z nehnojených porostů. Příčiny nelze specifikovat. Uvedené zvýšení může být důsledkem akumulace kadmia z atmosférických spadů a rovněž většího uvolnění při zvýšené mineralizaci organické hmoty po vápnění (Štráfelda, 1984). Tomu nasvědčuje zvýšené vyplavování nitrátů, které bylo v tomto roce zjištěno v lyzimetrech u všech variant hnojení obou pokusů. Konečně nelze zcela

IX. Respirace vrstvy luční půdy 0 až 0,15 m při hnojení kaly z ČOV a průmyslovými hnojivy (v mg CO₂ za hodinu na 100 g sušiny půdy) — The respiration of the meadow soil layer from 0 to 0.15 m in the variant of the application of city sewage sludges together with commercial fertilizers (in mg CO₂ per hour/100 g of soil dry matter)

Hnojení	Forma hnojiv	Pokus 1 (hlinitá půda)		Pokus 2 (hlinitopísčité půda)	
		bazální	potenciální	bazální	potenciální
N ₁₀₀ PK	průmyslová hnojiva	1,64	6,24	0,79	3,11
	kaly	1,86	7,18	0,89	3,31
	s. d. 0,05	0,10	0,34	0,06	0,18
	0,01	0,16	0,52	0,10	0,28
N ₂₀₀ PK	průmyslová hnojiva	1,71	6,13	0,82	3,07
	kaly	1,82	5,74	1,00	3,54
	s. d. 0,05	0,09	0,33	0,10	0,32
	0,01	0,13	0,50	0,16	0,49

vyložit možnost analytické chyby. V každém případě je však rozhodující, že při provokativním hnojení kaly byla koncentrace kadmia v podstatě shodná s koncentrací při hnojení průmyslovými hnojivy nebo s koncentrací u píce z nehnojeného porostu. Pouze na lehčí půdě (pokus 2) se jeví mírná tendence vyššího obsahu kadmia při hnojení kaly.

Hnojení kaly podstatněji nezvýšilo obsah většiny sledovaných prvků v půdě, který se pohyboval v rozmezí uváděném v literatuře. Výjimkou bylo pravidelné zvýšení obsahu chromu, který se na hlinité půdě (pokus 1) zvýšil z 95 mg na 120 až 135 mg/kg půdy a u písčitohlinité půdy (pokus 2) z 35 mg na 50 až 90 mg/kg půdy.

Zvýšený přívod těžkých kovů nesnížil respirační aktivitu půdní mikroflóry. Naopak hnojení kaly zřejmě v důsledku přívodu mikroelementů, případně i lehce využitelné organické hmoty, průkazně až výsoce průkazně zvýšilo bazální a potenciální respiraci půdy (tab. IX).

Víceleté výsledky pokusů celkově prokazují, že i při záměrném provokativním hnojení lučních porostů danými kaly z ČOV Louny se nezvyšuje koncentrace nežádoucích těžkých kovů v píci nad povolené hranice a rovněž nedochází k negativnímu ovlivnění půdy. Účinnost dusíku kalů je v porovnání s účinností dusíku průmyslových hnojiv v průměru o 10 % na hlinité půdě a o 17 % na písčitohlinité půdě nižší. Při ročním střídání průmyslových hnojiv a kalů se zvyšuje produkční účinnost obou forem hnojiv. Střídavé hnojení je současně velmi příznivé s ohledem na požadavky ochrany životního prostředí. Vzhledem k objemu produkce kalů v ČOV, vhodných k hnojení, se jako optimální jeví aplikace kalů na travní porosty ve čtyř- až pětiletých intervalech, obdobně jako bylo dříve úspěšně uplatňované hnojení komposty. Tento systém bude na základě výsledků provedených pokusů zcela bezpečný.

Literatura

- CIBULKA, J. a kol.: Pohyb olova, kadmia a rtuti v zemědělské výrobě a biosféře. MZVŽ ČSR, Praha, SZN 1986, s. 160.
- ČUMAKOV, A. a kol.: Hnojení mikroelementy. Met. Zavád. Výsl. Výzk. Praxe, 27, 1977.
- KOUKOLÍK, O.: Současný stav a vývoj kalového hospodářství ČOV. In: Sbor. ČSVTS Kaly a Odpady. Pardubice, DT 1984.
- NERUDOVA, M.: Pokyny pro hnojení kalem z ČOV veřejných kanalizací na zemědělské pozemky. Praha, Hydroprojekt 1981.
- NOVÁK, B.: Využití biochemických testů v půdní mikrobiologii. [Habilitační práce.] Praha, 1965. VŠZ.
- PARDUS, I.: Využívání kalů v zemědělství. [Souhrnná vývojová zpráva.] Hydroprojekt 1981.
- ŠKARDA, M.: Hnojení kejdou skotu. Met. Zavád. Výsl. Výzk. Praxe, 23-24, 1974.
- ŠTRÁFELDA, J. — VELICH, J. — PARDUS, I.: Hnojení travních porostů kaly z čistíren odpadních vod. MLVH ČSR, 40, 1984, s. 42.
- UNDERWOOD, E. J. a kol.: Mineral nutrition of livestock. FAO Aberdeen, 1966, s. 237.

Došlo dne 13. 5. 1987

ШТРАФЕЛДА, Я. — ВЕЛИХ, Й. — ПАРДУС, И. (Сельскохозяйственный институт, Прага - Сухдол; Гидропроект, Прага): Удобрение луговых шламом из станции для очистки сточных вод. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1147-1155.

В ходе опытов на двух мезофитных луговых участках с илистой почвой и супесью в картофельной области, а также в опыте в сосудах с *Dactylis glomerata* определяли эффект удобрения смешанным шламом из станции очистки городских сточных вод с дозированной азота 100 и 200 кг/га. За 4-летний период их продуктивный эффект составил в среднем 77 % эффективности азота из мин. удобрений. При годовом чередовании мин. удобрений и шламов продуктивный эффект обеих форм удобрения возрастает. Ежегодное удобрение шламом в течение 4 лет не увеличивало концентрации тяжелых металлов в фураже и, согласно результатам респирометрических тестов, не ухудшает свойств почвы. Обсуждается использование шлама в системе удобрения луговых в 4—5-летние интервалы.

луговой; удобрение; шлам из водоочистных станций; урожай; качество фуража; концентрации тяжелых металлов

ŠTRÁFELDA, J. — VELICH, J. — PARDUS, I. (University of Agriculture, Praha-Suchdol; Hydroprojekt, Praha): Fertilization of Meadow Stands with City Sewage Sludges. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1147-1155.

Field trials at two mesophytic meadow sites characterized by loamy and loam-sand soils in the potato-growing region and one pot trial with *Dactylis glomerata* were performed to study the fertilization effect of the mixed city sewage sludges at the nitrogen application rates of 100 and 200 kg per ha. Within the four-year fertilization programme, the production efficiency of the sludge nitrogen was 77 % of the production efficiency of commercial fertilizer nitrogen, on an average. With yearly alternation of commercial fertilizers and sludges, the production efficiency increases in both fertilizer forms. The every-year provocation manuring with sludge for four years did not increase the concentration of heavy metals in the forage and, as indicated by the results of respirometric trials, had no adverse influence on the soil. The possibilities of using the sludges in the system of meadow manuring are discussed and sludge application is proposed to be used in four- to five-year intervals.

meadow stands; fertilization; city sewage sludges; forage quality; concentration of heavy metals

ŠTRÁFELDA, J. — VELICH, J. — PARDUS, I. (Landwirtschaftliche Hochschule, Praha-Suchdol; Hydroprojekt, Praha): Düngung von Wiesenbeständen mit Klärschlämmen. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1147-1155.

In Versuchen auf zwei mesophyten Wiesenstandorten mit Lehm und lehmigem Sand in einem Kartoffelanbaugebiet und im Gefäßversuch mit *Dactylis glomerata* wurde

der Düngungseffekt der Mischklärschlämme bei einer N-Gabe von 100 und 200 kg/ha verfolgt. Die Produktionswirksamkeit des Schlammstickstoffs bei einer vierjährigen Düngung betrug im Durchschnitt 77 % der Wirksamkeit des Handelsdüngerstickstoffes. Bei jährlichem Wechsel der Handelsdünger und Schlämme nimmt die Produktionswirksamkeit beider Düngerformen zu. Die provokative jährliche Düngung mit Klärschlämmen vier Jahre lang steigerte keinesfalls die Schwermetallkonzentration im Futter und entsprechend den Ergebnissen der respirometrischen Tests hatte sie auch keinen negativen Einfluß auf den Boden. Es werden Möglichkeiten zur Ausnutzung der Schlämme im Düngungssystem von Wiesenbeständen diskutiert und ihre Ausnutzung in vier- bis fünfjährigen Intervallen vorgeschlagen.

Wiesenbestand; Düngung; Klärschlämme; Erträge; Futterqualität; Schwermetallkonzentration

Adresy autorů:

Doc. ing. Jan Štráfelda, CSc., doc. ing. Jiří Velich, CSc., Vysoká škola zemědělská, 165 21 Praha 6 - Suchbát

Ivo Pardus, CSc., Hydroprojekt, Táborská 31, 140 00 Praha 4 - Nusle

- Vybrané nejnovější tituly z oboru rostlinná výroba ve fondu ÚZLK
- SEDLAG, U.: Insekten Mitteleuropas.**
Leipzig 1986. D 79.150
- SIGVALD, R.: Epidemiology of potato virus Y^o a non-persistently transmitted, aphid-borne virus.** Diss.
Uppsala 1987. D 68.470/13
- Sovremennye problemy biomechaniki.** Vyp. 4. Mechanika zamenitelej biologičeskich tkanej.
Riga 1987. D 78.060/4
- SKIRKEVIČIUS, A. V.: Feromonная komunikacija nasekomych.**
Vilnius 1986. D 79.117
- SOZINOV, A. A.: Genetika i urožaj.**
Moskva 1986. E 45.735
- Spravočnik po osvojeniju i ispol'zovaniju meliorirovannyh zemel'.**
Kijev 1986. D 79.212
- SPROSS-BLICKLE, B.: Untersuchungen über den Blattabwurf bei Baumwollpflanzen in Beriebung zum Befall durch Alternaria Macrospora Zimm.** Diss.
Giessen 1986. E 39.500/1013
- Studies in herpetology.** Proceedings of the European herpetological meeting, Prague 1985.
Praha 1986. D 79.156
- A summary of results on 31.000 compounds evaluated for herbicidal activity.**
Washington 1987. C 2.485/1721
- TISCHNER, H.: Einflussfaktoren auf Aufnahme, Verteilung und biologische Effektivität von Triadimentol gegen Echten Mehltau nach Baytan-Beizung von Gerste.** Diss.
München 1987. E 36.988/306
- VLASENKO, N. E.: Udobrenije kartofelja.**
Moskva 1987. D 79.146
- Vtoroj simpozium po fiziologii vinogradnoj lozy.** Burgas 19.—24. 9. 1983.
Sofija 1986. D 79.032
- WATSON, J. D.: Rekombinatnyje DNK. (Z angl. Recombinant DNA.)**
Moskva 1986. D 79.136
- Zbornik Biotehniške fakultete Univerze Edvarda Kardelja v Ljubljani.**
Zv. 47.
Ljubljana 1987. D 33.054/47
- Zbornik sa jugoslovenskog simpozijuma o selekciji i oplemenjivanju voćaka.**
Čačak 1986. D 79.201

VLIV IONTŮ Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} a Pb^{2+} NA ALKOHOLDEHYDROGENÁZU JEČMENE JARNÍHO [*HORDEUM VULGARE* L.]

M. Stiborová. M. Doubravová

STIBOROVÁ, M. — DOUBRAVOVÁ, M. (Přírodovědecká fakulta UK, Praha):
Vliv iontů Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} a Pb^{2+} na alkoholdehydrogenázu ječmene jarního
(*Hordeum vulgare* L.). Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1157-1164.

Ionty Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} a Pb^{2+} inhibují alkoholdehydrogenázu (ADH) ječmene (EC 1.1.1.1.) *in vivo* a *in vitro*. V pokusech *in vivo* jsou nejsilnějšími inhibitory ADH ionty Cd^{2+} a Cu^{2+} . Míra inhibice izolované ADH ionty těžkých kovů v pokusech *in vitro* klesá v pořadí Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} a Zn^{2+} . Ionty Pb^{2+} a Cd^{2+} atakují imidazolový zbytek histidinu a ionty Zn^{2+} interagují se sulfhydrylovými skupinami cysteinu v molekule enzymu. Etanol ve formě ternárního komplexu ADH-NAD-etanol je výrazným protekčním činidlem proti iontům Pb^{2+} a Cd^{2+} . Jodacetát snižuje inaktivaci ADH způsobenou ionty Cd^{2+} a Pb^{2+} , zesiluje inhibiční vliv iontů Zn^{2+} ; na inhibici ionty Cu^{2+} jodacetát nepůsobí.

ječmen jarní; klíčení; těžké kovy; alkoholdehydrogenáza; inhibice; aktivní centrum

Alkoholdehydrogenáza (EC 1.1.1.1.) vyšších rostlin je enzymem, který hraje významnou úlohu v energetickém metabolismu klíčení semen. Inhibicí ADH se sníží schopnost semen klíčit, v krajním případě může nastat úplná ztráta klíčivosti (Crawford, 1978; Leblová, 1978).

Vlastnosti rostlinné ADH byly studovány v našich dřívějších pracích (Leblová, Stiborová, 1976; 1978; Stiborová, Leblová, 1978a; 1979a,b). Jde o enzym se širokou substrátovou specifitou vůči alkoholům i aldehydům (Stiborová a Leblová, 1978a). V našich předchozích pracích bylo studováno uspořádání aktivního centra enzymu a způsob vazby substrátů i koenzymu (Leblová, Stiborová, 1978; Stiborová, Leblová, 1978a; 1979b). Vzhledem k významu enzymu pro klíčení semen sledujeme v předkládané práci jeho ovlivnění některými ionty těžkých kovů, jejichž koncentrace v poslední době rostou v ekosystémech přírodního a životního prostředí. V práci diskutujeme mechanismus účinku těchto látek na ADH ječmene jarního na molekulární úrovni.

MATERIÁL A METODY

Rostlinný materiál a použité chemikálie

K izolaci enzymu bylo použito semen ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L., odrůda 'Spartan'). NAD⁺ a 2-merkaptóetanol byly od firmy Koch-Light Laboratories, Ltd, Colnbrook, Anglie; Sephadex G-25 a G-100 od firmy Pharmacia Fine

Chemicals, Uppsala, Švédsko; DEAE-celulóza (DE-32) od firmy Whatman-Maidstone, Anglie a ostatní chemikálie od firmy Lachema Brno, Československo; všechny použité chemikálie byly čistoty p. a.

Izolace ADH a stanovení aktivity

Enzym byl izolován a aktivita byla stanovována způsobem, který je popsán v naší předchozí práci (Stiborová et al., 1979). Enzymová aktivita byla měřena na spektrofotometru SPECORD M-40 (Carl Zeiss, Jena, NDR).

Vliv iontů těžkých kovů na ADH *in vivo*

10 g semen ječmene jarního (*Hordeum vulgare* L., odrůda 'Spartan') klíčilo v Petriho miskách v roztocích iontů těžkých kovů, rozpuštěných v destilované vodě (koncentrace iontů 1 až 1000 μ M). Po třech dnech klíčení byla semena opláchnuta destilovanou vodou, homogenizována a ADH extrahována 100mM Na-fosfátovým pufrům o pH 8,5 (20 ml). Extrakt byl přefiltrován přes dvojitou gázu a centrifugován 20 minut při 15 000 $\times$ g (4 °C). V supernatantu byla měřena aktivita ADH. 0,1ml aliquot supernatantu byl pipetován do reakčního média, které obsahovalo 100mM Na-fosfátový pufr o pH 8,5; 100mM etanol; 0,5mM NAD a ihned byla měřena aktivita — změna absorbance při 340 nm, jak uvádějí Stiborová et al. (1979). Kontrolní semena klíčila v destilované vodě a byla zpracována podle výše uvedené metodiky.

Inaktivační studie ADH s ionty těžkých kovů *in vitro*

Inaktivace byly prováděny v 3ml zkumavkách o celkovém objemu inkubačního média 1 ml. Do zkumavky bylo pipetováno 0,7 ml 25mM Tris-acetátového pufru o pH 6,0 až 9,0; 0,1 ml roztoku kovového iontu o vhodné koncentraci ve stejném pufru a 0,2 ml enzymového preparátu v tomtéž pufru (koncentrace enzymu 1 až 5 μ M). Po vhodné inkubační době byl aliquot směsi (0,1 ml) pipetován do reakčního média, které obsahovalo 100mM Na-fosfátový pufr o pH 8,5; 100mM etanol, 0,5mM NAD a ihned byla měřena aktivita enzymu. Inkubace trvala 0 až 30 minut při teplotě 20 °C. Rychlostní konstanty inaktivace byly počítány z rovnice pro kinetiku prvního řádu. Při sledování vlivu NAD a etanolu na rychlost aktivace bylo do inkubační směsi přidáno vhodné množství dané látky, aby výsledné koncentrace byly takové, jak je uvedeno u příslušné tabulky. K inaktivaci bylo užito sloučenin kovových iontů ve formě síranů a dusičnanu [ZnSO_4 , 3 $\text{CdSO}_4 \cdot 8 \text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$]. Čísla uvedená v tabulkách jsou průměry pěti měření s průměrnou chybou 1,4 až 2,5 %. Odchyly od kontroly větší než 4% jsou statisticky signifikantní změny vyvolané ionty těžkých kovů.

VÝSLEDKY

Inhibice ADH ionty těžkých kovů *in vivo*

ADH ječmene jarního je inhibována ionty těžkých kovů (Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} a Pb^{2+}). V pokusech *in vivo* nejsilněji inhibují ADH ionty Cd^{2+} a Cu^{2+} . Oba ionty v koncentracích 10^{-3}M způsobily pokles aktivity na 6,6 % aktivity kontrolního vzorku. Rostoucí koncentrace iontů Zn^{2+} v kultivačním roztoku měla za následek pozvolný pokles aktivity ADH až na 48,9 % aktivity kontroly. Nejnižší inhibiční účinek byl pozorován u iontů Pb^{2+} , které ještě v koncentraci 10^{-3}M způsobily pokles aktivity enzymu pouze na 65 % kontroly (tab. I).

Inhibice vyvolaná ionty Cd^{2+} *in vivo* byla dále studována za podmínek, kdy do kultivačního roztoku s těmito ionty byly přidány ionty Cu^{2+} a Zn^{2+} (tabl. II). V obou případech se snížil negativní účinek iontů Cd^{2+} na ADH, avšak přidáním iontů Cu^{2+} ve vyšších koncentracích (10^{-3}M) se inhibice prohloubila (tab. II).

I. Vliv iontů těžkých kovů na aktivitu ADH *in vivo* [čísla v tabulce vyjadřují procenta aktivity enzymu z kontrolních vzorků ($0,01 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ bílkoviny)] — The effect of heavy metal ions on ADH activity *in vivo* [the figures in the table express the percent activity of the enzyme from the control samples ($0,01 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ of protein)]

Koncentrace iontů kovů v kultivačním mediu (μM)	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}	Pb^{2+}
0	100,0	100,0	100,0	100,0
1	54,3	80,0	86,6	93,3
10	43,3	60,0	66,6	85,0
100	40,0	53,3	61,6	76,6
1000	6,6	48,3	6,6	65,0

II. Vliv stoupající koncentrace iontů Cu^{2+} a Zn^{2+} ve $100 \mu\text{M}$ roztocích iontů Cd^{2+} na aktivitu ADH semen ječmene klíčících tři dny v těchto roztocích [čísla v tabulce vyjadřují procenta aktivity ADH semen kultivovaných pouze ve $100 \mu\text{M}$ roztoku Cd^{2+} ($0,006 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ bílkovin)] — The effect of increasing concentrations of Cu^{2+} and Zn^{2+} ions in $100 \mu\text{M}$ samples of Cd^{2+} ions on the ADH activity of barley seeds germinating three days in these solutions [the figures in the table express the percent activity of the ADH of seeds cultivated only in the $100 \mu\text{M}$ solution of Cd^{2+} ($0,006 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ of protein)]

Koncentrace iontů kovů ve $100 \mu\text{M}$ roztoku Cd^{2+} iontů (μM)	Cu^{2+}	Zn^{2+}
1	110,0	107,0
10	107,0	111,0
100	104,0	107,0
1000	12,0	107,0

III. Inhibice izolované ADH ječmene ionty těžkých kovů *in vitro* [čísla v tabulce vyjadřují procenta aktivity kontroly (bez iontů kovů); ($0,72 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ bílkoviny); doba inkubace 30 min] — The inhibition of the isolated barley ADH by heavy metal ions *in vitro* [the figures in the table express the percent activity of the control (without metal ions); ($0,72 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ of protein); incubation time 30 min]

Koncentrace iontů kovů (μM)	Cu^{2+}	Zn^{2+}	Cd^{2+}	Pb^{2+}
10^{-7}	98,0	99,0	70,0	72,0
10^{-6}	85,0	115,0	18,0	16,0
10^{-5}	21,0	75,0	0	0
10^{-4}	0	43,0	0	0

Inhibice izolované ADH ionty těžkých kovů

Sledované ionty těžkých kovů inhibují rovněž izolovaný enzym. Aktivitu ADH po 30minutové inkubaci s ionty kovů v koncentracích 10^{-7} až 10^{-4}M inhibují nejsilněji ionty Cd^{2+} a Pb^{2+} (tab. III). Tyto ionty pů-

IV. Inkubace izolované ADH ječmene ionty těžkých kovů *in vitro* v závislosti na době inkubace [čísla v tabulce vyjadřují procenta aktivity kontroly (bez iontů kovů); (0,72 $\mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ bílkoviny)] — Inhibition of the isolated barley ADH by heavy metal ions *in vitro* in dependence on incubation time [the figures in the table express the percent activity of the control (without metal ions); (0,72 $\mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ of protein)]

Doba inkubace (min)	Cu^{2+} (10^{-5}M)	Zn^{2+} (10^{-4}M)	Cd^{2+} (10^{-6}M)	Pb^{2+} (10^{-6}M)
0	100	100	100	100
5	80	78	47	63
10	60	68	46	15
20	47	66	18	16

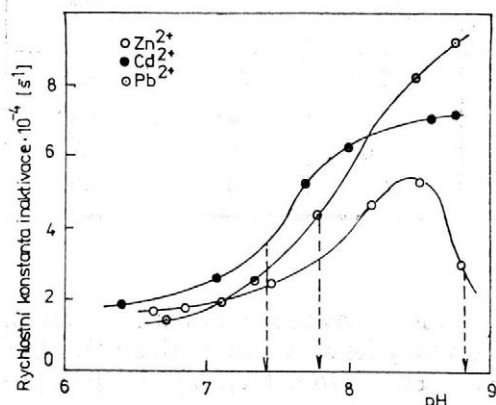
sobí silně inhibičně již v koncentracích 10^{-6}M , ionty Cu^{2+} při koncentraci 10^{-5}M a Zn^{2+} až v koncentraci 10^{-4}M .

Při kritických koncentracích jednotlivých kovů byl sledován časový průběh inaktivace enzymu (tab. IV). Inaktivace ADH ionty kovů závisí na době inkubace.

Inaktivace ADH ječmene jarního ionty těžkých kovů je závislá rovněž na pH (obr. 1). Aminokyselinové zbytky o hodnotě pK 7,4 pro ionty Cd^{2+} a 7,8 pro ionty Pb^{2+} jsou zřejmě zodpovědné za reakci s těmito kovovými ionty. U iontů Zn^{2+} je to ještě aminokyselinový zbytek o hodnotě pK 8,8, se kterým tyto ionty interagují (obr. 1). V případě iontů Cu^{2+} není závislost inaktivace ADH na pH uvedena. Se vzrůstajícím pH se snižuje rozpustnost iontů Cu^{2+} v roztoku (v důsledku tvorby hydroxidů), a tím se snižuje i jejich skutečná koncentrace v médiu. Rychlost inaktivace ADH ionty Cu^{2+} z toho důvodu klesá se vzrůstajícím pH (snížení koncentrace iontů Cu^{2+}). V závislosti inaktivace ADH na pH se tedy spíše projevuje tento fakt než změněná interakce bílkoviny enzymu s ionty Cu^{2+} .

Vliv NAD^+ a etanolu na inhibici ADH ionty těžkých kovů

Zajímavé je působení koenzymu (NAD^+) a substrátu (etanolu) na inaktivaci ADH ionty těžkých kovů. Zatímco samotný etanol inaktivaci enzymu ionty kovů nezabraňuje (výsledky nejsou uvedeny), v přítomnosti koenzymu (NAD^+) etanol inaktivaci ADH ovlivňuje výrazně. Eta-



1. Závislost rychlostní konstanty inaktivace ADH ječmene ionty Zn^{2+} , Cd^{2+} a Pb^{2+} na pH — The dependence of the speed constant of the inactivation of barley ADH by Zn^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} ions on the pH value

osa x — pH; osa y — rychlostní konstanta inaktivace (s^{-1})

Experimentální podmínky: 25mM Tris-acetátový pufr, $1\mu\text{M}$ Cd^{2+} , $1\mu\text{M}$ Pb^{2+} , $100\mu\text{M}$ Zn^{2+} .

V. Vliv etanolu a NAD^+ na inaktivaci ADH ječmene ionty těžkých kovů [čísla v tabulce vyjadřují procenta aktivity kontroly ($0,72 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ bílkoviny); $\text{NAD}^+ - 1\text{mM}$, etanol $- 0,1\text{M}$] — The effect of ethanol and NAD^+ on the inactivation of barley ADH by heavy metal ions [the figures in the table express the percent activity of the control ($0,72 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ of protein); $\text{NAD}^+ - 1\text{mM}$, ethanol $- 0,1\text{M}$]

Doba inkubace (min)	Cu^{2+} 10^{-5}M	Zn^{2+} 10^{-4}M	Cd^{2+} 10^{-6}M	Pb^{2+} 10^{-6}M
	+ $1\text{mM NAD}^+ + 0,1\text{M ethanol}$			
0	100	100	100	100
5	81	99	78	100
10	69	85	63	94
20	59	66	59	85

VI. Vliv jodacetátu (JA) na inaktivaci izolované ADH ionty těžkých kovů [čísla v tabulce vyjadřují procenta aktivity kontroly ($0,72 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ bílkoviny); jodacetát $- 3\text{mM}$, ionty těžkých kovů v koncentracích jako v tab. V] — The effect of iodine acetate (IA) on the inactivation of isolated ADH by the ions of heavy metals [the figures in the table express the percent activity of the control ($0,72 \mu\text{mol NAD}^+ \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ of protein); iodine acetate $- 3\text{mM}$, heavy metal ions at the concentrations like in Tab. V]

Doba inkubace (min)	$\text{Cu}^{2+} + \text{JA}$		$\text{Zn}^{2+} + \text{JA}$		$\text{Cd}^{2+} + \text{JA}$		$\text{Pb}^{2+} + \text{JA}$	
0	100	100	100	100	100	100	100	100
5	80	79	78	33	47	70	63	72
10	60	59	68	0	46	54	15	35
20	47	45	66	0	18	38	16	21

nol v komplexu s NAD ochraňuje před inaktivací způsobenou ionty Cd^{2+} a Pb^{2+} a prakticky bez vlivu byl vůči iontům Cu^{2+} a Zn^{2+} (tab. V).

Vliv jodacetátu na inaktivaci ADH ionty těžkých kovů

Jodacetát, který je znám jako selektivní karboxymetylační činidlo thiolových skupin (Reynolds et al., 1970; Jörnvall, 1970) ovlivňuje inaktivaci ADH způsobenou ionty těžkých kovů. Jodacetát zesiluje inaktivační vliv iontů Zn^{2+} . Naopak inaktivace ADH způsobená ionty Cd^{2+} , resp. Pb^{2+} je jodacetátem částečně snižována. Bez vlivu je jodacetát na inaktivaci ionty Cu^{2+} (tab. VI).

DISKUSE

V posledních letech se hojně studují toxické účinky těžkých kovů na organismy, avšak poměrně málo je známo o mechanismu působení těchto látek na molekulární úrovni. Zatímco toxicita těžkých kovů u živočichů je poměrně dobře prozkoumána, poznatky o toxicitě těchto látek na rostliny jsou nedostatečné. Zvláště fyziologie a biochemie toxicity není doposud známa (Foy et al., 1978). Proto v práci sledujeme pů-

sobení iontů těžkých kovů na ADH jako jeden z klíčových enzymů prvních fází vývoje rostlin (klíčení) a studujeme toto působení na molekulární úrovni.

ADH je inhibována ionty těžkých kovů v pokusech *in vivo* i v pokusech *in vitro*. Při měření *in vivo* klesala míra inhibice v pořadí iontů Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} a Pb^{2+} .

Inhibice vyvolaná v pokusech *in vivo* ionty Cd^{2+} byla studována za současného přidání iontů Cu^{2+} a Zn^{2+} . V obou případech došlo ke snížení negativního vlivu iontů Cd^{2+} na ADH, pouze při přidání iontů Cu^{2+} v koncentracích 10^{-3}M do roztoku iontů Cd^{2+} se inhibice ADH prohloubila. Výsledky ukazují možnou kompetici těchto kovů při vstupu do semene a prokazují, že kombinace kovů může mít účinky jak protekční, tak i synergické.

V pokusech *in vitro* nejsilněji inhibovaly ADH ionty Cd^{2+} a Pb^{2+} , nejméně ionty Zn^{2+} . Na nízký inaktivační účinek iontů Zn^{2+} je možné nahlížet z hlediska skutečnosti, že ADH je metaloenzym, v jehož aktivním centru jsou přítomny právě ionty Zn^{2+} (Brändén et al., 1975). Jde tedy o kov enzymu vlastní a jeho nízké koncentrace nemají na ADH negativní vliv.

Mechanismus inhibice ionty kovů na enzym je vysvětlován vazbou iontů kovů na některé aminokyselinové zbytky v bílkovině enzymu. Tyto vazby buď rezultují ve změnu struktury bílkovin, která má za následek změnu enzymové aktivity, či kovy interagují přímo s některými aminokyselinovými zbytky, přítomnými v aktivním centru enzymu. Z aminokyselin jsou to především cystein a histidin, se kterými ionty těžkých kovů interagují (Webb, 1966; Brändén et al., 1975). U histidinu je místem zásahu imidazolový kruh, tvořící jednovazný ligand kovů, a u cysteinu jsou to thiolové skupiny. Působením kovů na cystein může docházet ke tvorbě disulfidických můstků mezi volnými SH-skupinami enzymu, nebo ke tvorbě merkaptidů, či k vytvoření velmi složitých neznámých komplexů (Webb, 1966).

Z výsledků naší práce vyplývá, že ionty Cd^{2+} a Pb^{2+} interagují pravděpodobně s imidazolovým zbytkem histidinu a ionty Zn^{2+} navíc s SH-skupinami cysteinu. Tomu odpovídají i hodnoty pK skupin, interagujících se studovanými ionty kovů. Interakce iontů Cu^{2+} s ADH ječmene jarního není přesně stanovena, avšak je pravděpodobné, že tyto ionty interagují s SH-skupinami cysteinu, neboť jejich afinita k thiolovým skupinám cysteinu je značná (Webb, 1966).

Jak histidin, tak cystein jsou přítomny v aktivním centru rostlinné ADH (Stiborová, Leblová, 1980; Čeřovská et al., 1982). Obě aminokyseliny jsou nezbytné pro aktivitu enzymu a tvoří pravděpodobně ligandy centrálního atomu zinku (Brändén et al., 1975; Stiborová, Leblová, 1980). Z inhibičních studií s ionty těžkých kovů, prezentovaných v této práci, lze usuzovat, že zbytek histidinu v aktivním centru enzymu se zřejmě uplatňuje při vazbě koenzymu (NAD) na bílkovinu enzymu a při tvorbě ternárního komplexu ADH-NAD-ethanol. Tento fakt vyplývá z výrazného ochranného působení NAD a etanolu proti inaktivaci způsobené ionty Cd^{2+} a Pb^{2+} . V případě iontů Cu^{2+} a Zn^{2+} se protekční účín neprojevil tak výrazně, SH-skupiny, se kterými tyto ionty interagují, se zřejmě nepodílejí na interakci koenzymu a substrátu s enzymem.

Reakci ADH s ionty těžkých kovů ovlivňuje jodacetát, specifické činidlo, které karboxymetyluje SH-skupiny bílkovin (Reynolds et al., 1970; Jörnvall, 1970). V našich dřívějších pracích bylo zjištěno, že jodacetát selektivně interaguje s SH-skupinami cysteinu, přítomnými v aktivním centru enzymu (Stiborová, Leblová, 1980). Karboxymetylací SH-skupin ADH ječmene jarního tímto činidlem se zřejmě mění konformace bílkoviny enzymu tak, že dochází ke změně vazebných charakteristik aktivního centra. V naší práci jsme zjistili, že touto změnou se histidin v aktivním centru enzymu stává méně přístupný působení iontů Cd^{2+} , resp. Pb^{2+} . O tom svědčí ochranné působení jodacetátu proti inaktivaci ionty Cd^{2+} (tab. VI). V ochranném vlivu však nelze vyloučit i možnou interakci kovu s jodacetátem. Na inaktivaci ADH ionty Zn^{2+} působí jodacetát opačně — prohlubuje inaktivaci. Možno tedy vyslovit předpoklad, že ionty Zn^{2+} pravděpodobně interagují s jinými SH-skupinami, které nejsou lokalizovány v aktivním centru enzymu, a nikoliv s těmi SH-skupinami, které jsou karboxymetylovány jodacetátem. Tento fakt také vyplývá ze zjištění, že reakce iontů Zn^{2+} s ADH není ovlivněna koenzymem a etanolem. Inaktivace ADH ionty Zn^{2+} je tedy zřejmě způsobena reakcí s SH-skupinami, které hrají roli v udržení terciární struktury bílkovinné molekuly enzymu. Současné působení jodacetátu a iontů Zn^{2+} rezultuje tedy v rychlejší pokles aktivity ADH zřejmě proto, že jak strukturní, tak i katalytické SH-skupiny jsou oběma činidly atakovány. Získané výsledky je však třeba doplnit ještě dalšími experimenty pro potvrzení výše uvedených závěrů.

Literatura

- BRÁNDÉN, C. I. — JÖRNVALL, H. — FURUGREN, B.: Alcohol dehydrogenase. In: *Enzymes* (Boyer, P. D. Ed.) 3rd Ed., 11, 1975, s. 103.
- CRAWFORD, R. M. M.: Metabolic adaptations to anoxia. In: *Plant life in anaerobic environments* (Hook, D. D., Crawford, R. M. M. Eds.), Michigan, Ann. Arbor Science, 1978, s. 119.
- ČEŘOVSKÁ, N. — BARTHOVÁ, J. — LEBLOVÁ, S.: Role of histidine in molecule of pea alcohol dehydrogenase. *Coll. Czechoslov. chem. Commun.*, 47, 1982, s. 1408.
- FOY, C. L. — CHANEY, R. L. — WHITE, M. C.: The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, 29, 1978, s. 4511.
- JÖRNVALL, H.: Horse liver alcohol dehydrogenase. The primary structure of an N-terminal part of the protein chain of the ethanol-active isoenzyme. *Eur. J. Biochem.*, 14, 1970, s. 521.
- LEBLOVÁ, S.: Pyruvate conversion in higher plants during natural anaerobiosis. In: *Plant life in anaerobic environments* (Hook, D. D., Crawford, H. M. Eds.), Michigan, Ann. Arbor Science, 1978, s. 155.
- LEBLOVÁ, S. — STIBOROVÁ, M.: Purification and properties of rape alcohol dehydrogenase. *Physiol. Plant.*, 38, 1976, s. 176.
- LEBLOVÁ, S. — STIBOROVÁ, M.: Interaction of NAD with rape alcohol dehydrogenase. *Phytochemistry*, 17, 1978, s. 631.
- REYNOLDS, C. H. — MORRIS, D. L. — MC KINLEY-MC KEE, J. S.: Complexes of liver alcohol dehydrogenase. Further studies on the rate of inactivation. *Eur. J. Biochem.*, 14, 1970, s. 14.
- STIBOROVÁ, M. — LEBLOVÁ, S.: Rape alcohol dehydrogenase: a study of the active center. *Biochem. u. Physiol. Pfl.*, 172, 1978a, s. 45.
- STIBOROVÁ, M. — LEBLOVÁ, S.: Studies on binding site of alcohol dehydrogenase from rape seedlings. *Coll. Czechoslov. chem. Commun.*, 43, 1978b, s. 2217.
- STIBOROVÁ, M. — LEBLOVÁ, S.: Kinetics of redox reactions catalyzed by rape alcohol dehydrogenase. *Phytochemistry*, 18, 1979a, s. 23.
- STIBOROVÁ, M. — LEBLOVÁ, S.: Study on the binding of the substrate to rape alcohol dehydrogenase. *Biochem. u. Physiol. Pfl.*, 174, 1979b, s. 446.

STIBOROVÁ, M. — LEBLOVÁ, S.: Iodoacetate inactivation of rape alcohol dehydrogenase. Coll. Czechoslov. chem. Commun., 45, 1980, s. 418.

STIBOROVÁ, M. — LAPKA, R. — LEBLOVÁ, S.: The bonding of 8-anilino-1-naphthalene sulphonate to rape (*Brassica napus*) alcohol dehydrogenase. FEBS Letters, 104, 1979, s. 309.

WEBB, J. J.: Sulfhydryl reagents. In: Enzyme and metabolic inhibitors (Webb, J. J. Ed.), New York, Academic Press, 2, 1966, s. 635-653.

Došlo dne 5. 11. 1986

СТИБОРОВА, М. — ДОУБРАВОВА, М. (Естественно-научный факультет КУ Прага): Влияние ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+} на этанолдегидрогеназу ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.). Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1157-1164.

Приведенные ионы ингибируют этанолдегидрогеназу (АДН) ячменя (ЕС 1.1.1.1.) *in vivo* и *in vitro*. В первом случае наиболее сильно ингибируют АДН ионы Cd^{2+} и Cu^{2+} . Мера ингибиции изолированной АДН ионами тяжелых металлов в опытах *in vitro* понижается в очередности Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} и Zn^{2+} . Первых два атакуют амиазоловый остаток гистидина, а ионы Zn^{2+} взаимодействуют с сульфгидриловыми группами цистеина в молекуле фермента. Этанол в форме тернарного комплекса АДН-НАД-этанол является сильным защитным фактором против Pb^{2+} и Cd^{2+} . Йодацетат понижает инактивацию АДН под воздействием Cd^{2+} и Pb^{2+} и усиливает ингибирующее влияние Zn^{2+} , не воздействуя при этом на ингибицию ионами Cu^{2+} иодацетата.

ячмень; прорастание; тяжелые металлы; алкодегидрогеназа; ингибция; активный центр

STIBOROVÁ, M. — DOUBRAVOVÁ, M. (Faculty of Science of Charles University, Praha): The Effect of the Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} Ions on the Alcohol Dehydrogenase of Spring Barley (*Hordeum vulgare* L.). Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1157-1164.

The Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} ions inhibit alcohol dehydrogenase (ADH) in barley (EC 1.1.1.1.) *in vivo* and *in vitro*. In the *in vivo* trials the Cd^{2+} and Cu^{2+} ions are the strongest inhibitors. The rate of inhibition of the isolated ADH by heavy metal ions in trials performed *in vitro* descends in the following order: Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} . The Pb^{2+} and Cd^{2+} ions attack the imidazole residue of histidine and the Zn^{2+} ions interact with the sulphhydryl groups of cysteine in the molecule of the enzyme. Ethanol in the form of the ternary ADH-NAD-ethanol complex is a strong agent, protecting against Pb^{2+} and Cd^{2+} ions. Iodine acetate reduces the inactivation of ADH caused by Cd^{2+} and Pb^{2+} ions, stimulates the inhibitory effects of Zn^{2+} ions, but does not act on inhibition caused by Cu^{2+} ions.

barley; germination; heavy metals; alcohol dehydrogenase; inhibition; active centre

STIBOROVÁ, M. — DOUBRAVOVÁ, M. (Naturwissenschaftliche Fakultät der Karlsuniversität, Praha): Einfluß der Ionen Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} auf die Alkoholdehydrogenase der Sommergerste (*Hordeum vulgare* L.). Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1157-1164.

Die Ionen Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} inhibieren die Alkoholdehydrogenase (ADH) der Gerste (EC 1.1.1.1.) *in vivo* und *in vitro*. In Versuchen *in vivo* sind die stärksten Inhibitoren der Alkoholdehydrogenase die Ionen Cd^{2+} und Cu^{2+} . Die Inhibition der Alkoholdehydrogenase durch Schwermetallionen nimmt in Versuchen *in vitro* in folgender Reihenfolge ab: Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} und Zn^{2+} . Die Ionen Pb^{2+} und Cd^{2+} greifen den Amiasolrest von Histidin an und die Ionen Zn^{2+} integrieren mit den Sulphohydrolygruppen von Zystein im Enzymmolekül. Der Äthylalkohol in Form von ternärem ADH-NAD-Äthylalkohol-Komplex ist ein wichtiges Schutzreagens gegen die Ionen Pb^{2+} und Cd^{2+} . Das Jodazetat setzt die durch die Ionen Cd^{2+} und Pb^{2+} hervorgerufene Inaktivierung der Alkoholhydrogenase herab, verstärkt den inhibierenden Einfluß der Ionen Zn^{2+} und wirkt sich nicht auf die Inhibition durch die Ionen Cu^{2+} .

Gerste; Keimung; Schwermetalle; Alkoholdehydrogenase; Inhibition; aktives Zentrum

Adresa autorek:

RNDr. Marie Stiborová, CSc., Marta Doubravová, katedra biochemie přírodovědecké fakulty UK, Albertov 2030, 128 40 Praha 2

V. Petříková

PETŘÍKOVÁ, V. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně): *Vlastnosti organických hnojiv po výrobě bioplynu*. Rostl. Vyr., 33, 1987 (11) : 1165-1172.

Ve třech dílčích modelových pokusech sledovaných v Mitscherlichových nádobách v období jednoho až tří roků byly zjišťovány agronomické účinky organických hnojiv ošetřovaných anaerobní fermentací při výrobě bioplynu. Fermentovaný slamnatý hnůj zvýšil výnosy kukuřice a zlepšil některé agrochemické vlastnosti pokusných zemin oproti hnoji běžně ošetřenému při skladování na hnojišti. Vliv fermentované prasečí kejdy není zatím zcela jednoznačný; výnosy první kukuřice pěstované bezprostředně po vyhnojení byly poněkud nižší po kejdě fermentované v porovnání s neošetřenou surovou kejdou, mírný vzestup výnosů byl zjištěn až při pěstování následné druhé kukuřice. Tyto výsledky je třeba ověřovat podrobněji v polních podmínkách.

výroba bioplynu; anaerobní fermentace; chlévská mrva; prasečí kejda; agronomické účinky; výnosy kukuřice

Rozhodování o výstavbě bioplynových stanic v neposlední řadě závisí na kvalitě organických hnojiv, ze kterých se bioplyn (BP) vyrábí, resp. na jejich agronomických účincích. Již řadu let se vede polemika o tom, zda se organická hnojiva technologií výroby plynu neznehodnotí, neboť je potřebné co nejefektivnější využití organické hmoty pro udržení a zlepšení půdní úrodnosti. Proto je nezbytné, aby při každém způsobu ošetření a zpracování exkrementů hospodářských zvířat vznikala kvalitní organická hnojiva.

Předmětem tohoto příspěvku je vyhodnocení výsledků modelových vegetačních pokusů s testováním hnoje a kejdy po výrobě bioplynu. Tyto výsledky přispívají k objasnění otázky, jaké změny nastávají v organických hnojivech v průběhu výroby bioplynu, resp. jaká je jejich agronomická účinnost.

Z literatury o výrobě bioplynu je úsek hnojivých účinků hmot po fermentaci (po výrobě bioplynu) dosud nejméně propracován. Konkrétních experimentálních výsledků není mnoho; většinou se však autoři shodují v tom, že fermentovaný hnůj (po výrobě bioplynu) zvyšuje výnosy zemědělských plodin, anebo je nesnižuje oproti hnoji běžně ošetřenému. Např. Mahmoud et al. (1948) popisují příznivý účinek hnoje po výrobě bioplynu v písčité půdě při pěstování obilí, zejména ječmene. Výsledky s hnojením fermentovanou kejdou popisují Kofod, Klausen (1983) a Larsen (1985). Zmínění autoři zjistili, že fermentovaná kejda výnosy nesnižuje, v některých případech je mírně zvyšuje. k podobným závěrům dospěly práce v Belgii (Demuyne et al., 1984), u kterých byl zjištěn zvýšený výnos kukuřice a trávy. Za příčinu zvýšení výnosu je většinou považováno odbourávání složitých organických

látek a jejich přeměna na jednodušší, čímž se i živiny (zejména dusík) stávají rostlinám přijatelnější, jak shodně uvádí řada autorů (Larsen, 1985; Demuynck et al., 1984; Kanagaratnam et al., 1983). Příznivé hnojivé účinky jsou popisovány i ve starších pracích z méně rozvinutých zemí, kde byla technologie výroby bioplynu zpracována dříve než ve vyspělých státech (např. Chanthira, Rewadi, 1980; Yadava, Hesse, 1981 aj.). Ošetření hnoje při výrobě bioplynu je považováno za vhodný způsob uchování jeho hnojivých hodnot a udržení žádoucí recyklace organických látek v ekosystému (např. Verstreete et al., 1980; Massond, 1982, aj.).

MATERIÁL A METODY

Agronomickou účinnost organických hnojiv po výrobě bioplynu jsme sledovali ve třech dílčích vegetačních pokusech v Mitscherlichových nádobách. Testovací plošinou byla vždy kukuřice pěstovaná na zeleno; každoročně jsme v průběhu první vegetace seli kukuřici dvakrát:

- na jaře, bezprostředně po založení pokusu;
- po sklizni první kukuřice (ca po dvou měsících vegetace) jsme po zkypření povrchu ihned zaseli druhou kukuřici a pěstovali jsme ji rovněž ca dva měsíce.

Po sklizni druhé kukuřice jsme odebrali průměrný vzorek zeminy z každé nádoby pro stanovení makroživin, humusu a pH a všechnu zbývající zeminu jsme nechali přezimovat v příkrytých nádobách v nevytápěném skleníku. Na jaře jsme obsah nádob zhomogenizovali a připravili pro sledování v dalším vegetačním roce. Tento postup jsme zachovali ve všech třech dílčích pokusech, které se lišily mimo jiné také délkou sledování.

Pokus 1

Pokus byl založen již v roce 1984 a sledován tři roky. Prvé dva roky jsme opakovaně hnojili, ve třetím posledním roce jsme nehnojili a sledovali jsme pouze následný vliv dvakrát po sobě dodaných hnojiv. Použili jsme zeminu z ornice hnědé půdy s těmito agrochemickými vlastnostmi: pH v hodnotě 5,4; obsah fosforu 27, draslíku 210 a hořčíku 57 mg/kg, N_{celk} 0,1 a humusu 2,47 %. V tomto pokuse jsme zjišťovali agronomické účinky slamatého hnoje z kravina JZD, Unčovice v okrese Olomouc, kde se bioplyn vyrábí z chlévské mrvy v zařízení, které navrhli Žilka, Doubravský (1981). Po ukončené fermentaci jsme odebrali průměrné vzorky hnoje pro nádobový pokus. Současně jsme odebrali vzorky z hnojiště, kde byl hnůj uložen v bloku stejné dlouhou dobu, po jakou probíhala anaerobní fermentace v bioplynovém zařízení. Stejným způsobem jsme získali vzorky hnoje i pro druhý pokusný rok (tab. I).

Hnůj jsme dávkovali podle obsahu celkového dusíku (N_{celk}) tak, že byla dodána vždy stejná dávka dusíku 3,6 g na 1 nádobu (navážka zeminy 5 kg) v obou pokusných letech v obou formách hnoje (z hnojiště, po výrobě bioplynu). Vedle těchto dvou variant hnojení jsme sledovali ještě kontrolní nehnojenou variantu, všechny ve třech opakováních.

I. Vlastnosti použitého hnoje v pokuse 1 — Properties of the dung used in trial 1

Rok	Organické hnojivo	N_{celk}	P	K	Ca	Mg	Sušina	Organické látky
1984	— z hnojiště	0,440	0,108	0,628	0,660	0,127	17,60	18,20
	— po výrobě BP	0,463	0,116	0,533	0,550	0,122	18,45	23,60
1985	— z hnojiště	0,405	0,093	0,390	0,360	0,098	29,04	15,03
	— po výrobě BP	0,469	0,095	0,500	0,590	0,100	34,46	20,30

II. Vlastnosti všech čtyř forem použité kejdy v pokuse 2 — Properties of all four forms of slurry used in trial 2

Kejda	N _{celk}	P	K	Ca	Mg	Sušina	Organické látky
— surová	0,326	0,050	0,094	0,057	0,019	1,72	0,65
— po BP neseparovaná	0,310	0,075	0,103	0,096	0,029	2,74	0,62
— po separaci fugát	0,338	0,068	0,096	0,081	0,025	2,60	1,99
— tuhý substrát	0,705	0,140	0,130	0,810	0,303	25,45	25,09

Ve třetím pokusném roce jsme nehnojili, sledovali jsme pouze následný vliv opakovaně aplikovaných hnojů.

Pokus 2

V tomto nádobovém pokuse založeném v roce 1985 jsme ověřovali výsledky získané v pokuse 1 s hnojením slamnatým hnojem a jeho účinky jsme dále porovnávali s kejdou prasat jednak surovou — neošetřenou a jednak po anaerobní fermentaci (po výrobě bioplynu). Zeminu jsme odebrali rovněž z ornice hnědé půdy (jako v pokuse 1), která měla následující agrochemické vlastnosti: pH v hodnotě 5,2, obsah fosforu 71, draslíku 422, hořčíku 47 mg/kg, N_{celk} 0,2 a humusu 4,10 %.

Vzorky kejdy jsme odebrali z Čistírny odpadních vod z Třeboně, kde se bioplyn vyrábí z kejdy prasat (ca z 95 %) a z městských kanalizačních kalů (ca z 5 %). Po fermentaci se kejda (+ kaly) separuje, vzniká tekutá složka — fugát a tuhý substrát, takže lze získat celkem tři formy fermentované kejdy: neseparovanou, po separaci tekutou a tuhou složku. Všechny tři uvedené formy kejdy po anaerobní fermentaci jsme použili pro pokus 2 a jejich účinky jsme porovnávali s kejdou neošetřenou (tab. II). Hnůj použitý v pokuse 2 byl totožný s hnojem použitým v pokuse 1 (tab. I).

Dávku organických hnojiv jsme stanovili rovněž podle obsahu N_{celk} tak, aby byla aplikována jednotná dávka dusíku 3,6 g na nádobu. Vedle nehnojené kontroly jsme zde sledovali šest hnojených variant. Úplné schéma pokusu vyplývá z tab. VI, kde jsou vyhodnoceny výnosy kukuřice.

Ve druhém roce pokusu 2 jsme opakovaně nehnojili, sledovali jsme zde pouze následný účinek organických hnojiv z prvního pokusného roku. Rozdíl oproti pokusu 1 byl v tom, že zde byl následný účinek zjišťován pouze po jednorázovém hnojení, kdežto v pokuse 1 byl následný vliv sledován po dvakrát opakovaném hnojení.

Pokus 3

V tomto pokuse jsme dále podrobněji ověřovali agronomické účinky prasečí kejdy po výrobě bioplynu. Použili jsme zeminu z ornice černozemě s touto charakteristikou: pH v hodnotě 7,1; obsah fosforu 241, draslíku 375, hořčíku 233 mg/kg, N_{celk} 0,19 a humusu 4,86 %. Byly testovány čtyři formy prasečí kejdy (+ kaly) z Třeboně jako v pokuse 2 (tab. III). Dávky byly stanoveny rovněž podle obsahu N_{celk} a použity ve dvou hladinách: 1,44 g a 3,60 g na nádobu. Včetně nehnojené kontroly jsme zde sledovali devět pokusných variant.

III. Vlastnosti použité kejdy v pokuse 3 — Properties of the slurry used in trial 3

Kejda	Sušina	N _{celk}	P	K	Ca	Mg
— neošetřená	8,12	0,685	0,162	0,228	0,182	0,052
— po BP neseparovaná	2,78	0,335	0,065	0,103	0,055	0,023
— po separaci fugát	1,18	0,300	0,040	0,099	0,055	0,006
— tuhý substrát	29,55	0,910	1,000	0,127	0,930	0,300

IV. Výnosy zelené hmoty kukuřice po aplikaci slamnatého hnoje v g z jedné nádoby (průměr tří opakování) — The yields of maize green matter after the application of dung with straw in g per pot (average for three replications)

Pokus	Varianta hnojení	1984	1985	1986 (následný vliv)	Průměr
1	kontrola	220,0	133,3	76,0	143,1
	hnůj z hnojiště	358,3	326,6	150,7	278,3
	hnůj po výrobě BP	511,6	479,9	174,3	388,6
2	kontrola	—	273,3	129,0	201,2
	hnůj z hnojiště	—	388,3	212,0	300,2
	hnůj po výrobě BP	—	539,9	246,0	392,5

VÝSLEDKY A DISKUSE

Agronomické účinky slamnatého hnoje zjišťované v pokuse 1 a 2 jsou vyjádřeny především výnosy sklizené kukuřice. Souhrn výsledků z obou pokusů je uveden v tab. IV. Tyto výsledky svědčí jednoznačně ve prospěch hnoje ošetřovaného anaerobní fermentací při výrobě bioplynu. Přestože byla použita vždy stejně vysoká dávka N_{celk} v obou formách hnoje (z hnojiště, po výrobě bioplynu), byly výnosy kukuřice vždy vyšší po zapravení fermentovaného hnoje. Výsledky získané v pokuse 1 byly pak potvrzeny i v pokuse 2. Stejná tendence byla zaznamenávána i při sledování následných účinků hnoje. Příznivý vliv fermentovaného hnoje se odrazil i při nepřímém působení ve zvýšení výnosů, a to jak po dvakrát opakovaném hnojení v pokuse 1, tak po jednom hnojení bez opakování v pokuse 2.

Podle těchto výsledků lze usuzovat, že živiny ve fermentovaném hnoji jsou pohotovější a pro rostliny lépe přijatelné než živiny z hnoje uloženého na hnojišti. Příznivé působení fermentovaného hnoje i v následném roce bez přímého hnojení svědčí o tom, že fermentovaný hnůj může působit i na zvýšení půdní úrodnosti. Potvrzují to i výsledky agrochemických vlastností zemín zjišťovaných při sklizni druhé kukuřice, jak je zřejmé z tab. V. Vlivem fermentovaného hnoje (po výrobě bioplynu) byla zjištěna větší zásoba pohotových živin, zejména fosforu a hořčíku. Velmi důležité je i zjištění zvýšeného obsahu humusu ve variantách s fermentovaným hnojem oproti variantě s hnojem uloženým na hnojišti. Tyto závislosti se projeví v pokuse 1 i 2. Největší rozdíly v obohacení základní zeminy (analyzované před zahájením pokusů) o fosfor, hořčík a humus byly zjištěny po hnojení fermentovaným hnojem v pokuse 1 ve druhém roce, tedy po opakovaném hnojení. Tyto výsledky rovněž potvrzují již uvedený závěr, že fermentovaný hnůj přispívá též ke zvýšení půdní úrodnosti.

Vliv fermentované kejdy v porovnání s kejdou surovou neošetřenou je vyjádřen výnosovými výsledky v tab. VI z pokusu 2 a v tab. VII z pokusu 3. Agronomická účinnost fermentované prasečí kejdy (+ městské kaly) není podle dosavadních výsledků shodná s fermentovaným slamnatým hnojem. V porovnání s kejdou surovou neošetřenou byly získány výnosy zpravidla nižší po aplikaci všech forem fermentované kejdy (po

V. Agrochemické vlastnosti zemin v pokuse 1 a 2 po hnojení slámatým hnojem — The agrochemical characteristics of the soils used in trials 1 and 2 after the application of dung containing straw

Pokus	Rok	Varianty hnojení	pH	P	K	Mg	N _{celk}	humus
				mg.kg ⁻¹			%	
1	1984	kontrola	5,2	44	117	84	0,14	3,80
		hnůj z hnojiště	6,4	96	326	119	0,22	4,03
		hnůj po výrobě BP	6,3	80	284	180	0,21	4,03
	1985	kontrola	5,5	35	75	119	0,17	3,67
		hnůj z hnojiště	6,4	134	255	255	0,20	3,69
		hnůj po výrobě BP	6,7	210	163	304	0,25	4,45
2	1985	kontrola	5,0	56	100	74	0,19	4,62
		hnůj z hnojiště	6,3	106	352	166	0,22	5,35
		hnůj po výrobě BP	6,6	132	337	204	0,26	5,39

VI. Výnosy zelené hmoty kukuřice v pokuse 2 po hnojení kejdou v g z jedné nádoby — The yields of maize green matter in trial 2 after the application of slurry (g per pot)

Varianta hnojení	1985			1986		
	I. kukuřice	II. kukuřice	celkem	I. kukuřice	II. kukuřice	celkem
Kontrola	223,3	50,0	273,3	116,7	13,3	130,0
Kejda surová	543,6	186,7	730,0	143,3	13,3	156,6
Kejda po BP neseptovaná	490,0	193,3	683,3	166,7	13,6	180,3
— tekutý podíl	546,6	110,0	633,3	173,3	13,0	186,3
— tuhý podíl	430,0	203,3	656,6	196,7	19,3	216,0
Průměr tří forem kejdy po výrobě BP	488,7	168,9	659,4	178,9	15,3	194,2

výrobě bioplynu), zejména první kukuřice pěstované bezprostředně po vyhnojení. Výnosy následné druhé kukuřice jsou však ve většině případů vyšší po aplikaci fermentované kejdy než kejdy surové. Tato závislost není však zcela jednoznačná, neboť v pokuse 3 po aplikaci vyšší dávky dusíku (3,6 g) byly výnosy i druhé kukuřice po aplikaci fermentované kejdy nižší než kejdy surové. Tendence pozdějšího zvyšování výnosů (po určitém časovém odstupu od hnojení) vlivem fermentované kejdy se zřetelněji projevila v pokuse 2 ve druhém roce, kdy byl sledován již pouze následný vliv hnojení z prvního roku. Zde byly výnosy ve všech variantách s fermentovanou kejdou vyšší (jednotlivě i v průměru) než výnosy po použití kejdy surové. Tyto výsledky nasvědčují tomu, že fermentační procesy při výrobě bioplynu neproběhly v kejdě pravděpodobně

VII. Výnosy zelené hmoty kukuřice v pokuse 3 v g z jedné nádoby — The yields of maize green matter in trial 3 (g per pot)

Varianta hnojení	Kukuřice					
	I.	II.	celkem			
Nehnojená kontrola	190,0	18,0	208,0			
Kejda	dávka N na 1 nádobu					
	1,44			3,06		
	I. kukuřice	II. kukuřice	celkem	I. kukuřice	II. kukuřice	celkem
Kejda surová	326,7	26,3	353,0	380,0	65,0	445,0
Kejda po BP neseparovaná	290,0	38,7	328,7	330,0	63,3	393,3
— tekutý podíl	330,0	45,7	375,7	335,0	55,7	390,7
— tuhý podíl	313,3	23,3	336,6	353,3	21,3	374,6
Průměr tří forem kejdy po výrobě BP	311,1	35,9	347,0	339,4	46,8	386,2

dokonale a že pokračují ve značné míře ještě po zapravení této kejdy do půdy. Je obecně známo, že surová neošetřená kejda obsahuje živiny v pohotové formě, ze které je mohou rostliny bezprostředně využívat; výnosy první kukuřice v pokuse 2 i 3 to rovněž dokazují. Pokud je tato kejda podrobena fermentaci, jsou pravděpodobně tyto pohotové živiny spotřebovány k žádoucím rozvoji mikroflóry a jsou zřejmě do značné míry dočasně biologicky sorbovány; uvolňují se pak postupně až po zapravení takto ošetřené kejdy do půdy, což se odrazí v poněkud zvýšených výnosech následných plodin. Pro celkovou produkci biomasy je však rozhodující výnos první plodiny, takže i přes případné zvýšení výnosů následně pěstované kukuřice nelze považovat fermentovanou kejdu vzhledem k tvorbě výnosů za výhodnou formu.

Tekuté formy fermentované kejdy (neseparovaná a fugát) se neprojeví ani zvýšeným obsahem živin v půdě oproti kejdě neošetřené, jak vyplývá z tab. VIII, kde jsou uvedeny agrochemické vlastnosti zemin po sklizni druhé kukuřice v pokuse 2. Velmi výrazně byl však zvýšen obsah fosforu a hořčíku při použití tuhého substrátu fermentované kejdy po separaci. Tato frakce kejdy je nejvhodnější formou organických hnojiv, která vzniká při anaerobní fermentaci v procesu výroby bioplynu. Pro celkovou bilanci organických hnojiv nemá však rozhodující význam, neboť tvoří pouze ca 3 % celkové produkce hnojiv, zbytek je ve formě tekuté.

Uvedené hodnocení dosavadních výsledků s aplikací kejdy ošetřené anaerobní fermentací při výrobě bioplynu není zatím jednoznačné. Lze však konstatovat, že na rozdíl od slamnatého hnoje se tento způsob ošetření prasečí kejdy nejeví z hlediska agronomických účinků jako

VIII. Agrochemické vlastnosti zemin v pokuse po aplikaci kejdy — The agrochemical characteristics of the soils used in the trial after the application of slurry

Varianta hnojení	pH	P	K	Mg	N _{celk}	humus
		mg. kg ⁻¹			%	
Kejda surová neseparovaná	4,8	77	88	57	0,21	4,70
— po fermentaci před separací	4,9	77	92	60	0,23	4,70
— tekutý podíl po separaci	4,8	68	88	52	0,23	4,76
— tuhý podíl	5,8	390	66	339	0,25	4,64

výhodný. Tyto výsledky jsou však zatím předběžné a je třeba je ještě dále ověřovat, zejména v polních podmínkách.

ZÁVĚR

Vyhodnocení dosavadních výsledků z modelových pokusů se sledováním agronomických účinků fermentovaných hnojiv lze shrnout do těchto závěrů:

- Anaerobní fermentace slamnatého hnoje za vzniku bioplynu nesníží kvalitu takto ošetřeného hnoje; byly naopak zjištěny vyšší výnosy kukuřice i zaznamenána zlepšení některých agrochemických vlastností zemin oproti hnoji běžně ošetřovanému na hnojišti.
- Agronomické účinky fermentované kejdy nejsou zatím jednoznačné. Výnosy první kukuřice zaseté bezprostředně po vyhnojení byly ve většině případů poněkud sníženy oproti variantám s kejdou neošetřenou, zvyšují se částečně teprve u následné druhé kukuřice.

Zjištěné výsledky je třeba ověřovat v polních podmínkách.

Literatura

- DEMUYNCK, M. — NYNS, E. L. — NAVEAU, H.: Use of digested effluents in agriculture. Commission of the European Community. [Zpráva.] Utilization in agriculture of anaerobically digested effluents. March 1984.
- CHANTHIRA, P. — REWADI, D.: Studies of the manurial value of digested slurry from biogas plant on sandy loam soil. Bangkok (Thailand), 1980, s. 12-125.
- KANAGARATNAM, J. — LAI, A. L. — LIM, K. H.: Application methods of digested palm oil mill effluent in relation to land characteristics and oil palm crop (in Malaysia). Proc. nat. Wkshop Oil Palm Prod. Utilis. Session A. Kuala Lumpur. IPMKSM, 1983, s. 16-22.
- KOFOED, D. A. — KLAUSEN, P. S.: Fertilizer effects of fermented slurry from biogas production and non-fermented slurry. Sartryk af Tidsskrift for Planteavl, 87, 1983, s. 119-128.
- LARSEN, K. E.: Fertilizer value of anaerobic treated cattle and pig slurry to barley and beet. [Zpráva.] Askov Experimental Station, Vejen, Denmark, 1985.
- MASSOND, F. I.: Promotion of organic recycling and biogas production programmes in the Near East Region. FAO Roma. Land Wat. Rev. Div., 1982, s. 9.
- MAHMOUD, M. H. — ALAA-EL-DIN, M. N. — ARROUG, S. M.: Utilization of biogas manure and its residual effects in virgin sandy soil cultivated with corn and barley (Egypt). In: 2nd Gen. Conf. Agric. Res. Centre Giza, 1984. Summ. Sci. Res. Pap.
- VERSTRAETE, W. — LEFEVERE, J. — NEWERMANS, G.: Organic matter from liquid manure stabilized compost, biogas. Landbouwk. Tijdschr. (Belgium), 33, 1980, č. 5, s. 1023-1034.
- YADAVA, L. S. — HESSE, P. R.: Improving soil fertility through organic recycling.

The development and use of biogas technology in rural areas of Asia. [Průběžná zpráva.] Project field document, 10, 1981, s. 150.

ŽILKA, M. — DOUBRAVSKÝ, F.: Způsob metanového zkvašování organických odpadů. Přihláška vynálezu č. 9754/81, 1981.

Došlo dne 13. 5. 1987

ПЕТРЖИКОВА, В. (Научно-исследовательский институт растениеводства, Прага-Рузынь): Свойства органических удобрений после производства биогаза. Rostl. Výr., 33, 1987 (11): 1165-1172.

В ходе 3 частных модельных опытов, проведенных в сосудах Митчерлиха, в течение 1—3 лет определяли агрономическое воздействие орг. удобрений, обработанных анаэробной ферментацией при производстве биогаза. Ферментированный соломосодержащий навоз улучшал и урожай, и некоторые агрохимические свойства грунтов в сравн. с навозом, обработанным обычным способом при хранении. Влияние же ферментированной свиной кейды пока не однозначно: урожай первой кукурузы, выращенной непосредственно после удобрения, несколько меньше, чем после необработанной сырой кейды; слабый рост урожая отмечен лишь у последующей кукурузы. Результаты надо еще подробно проверить в полевых условиях.

продукция биогаза; анаэробная ферментация; навоз; свиная кейда; агрономическое влияние; урожай кукурузы

PETŘÍKOVÁ, V. (Research Institute of Crop Production, Praha-Ruzyně): *The Properties of Organic Fertilizers after the Production of Biogas*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11): 1165-1172.

Three partial model trials were performed in Mitscherlich's pots for one to three years to study the agronomic effects of organic manures treated by anaerobic fermentation in the production of biogas. Fermented dung with straw litter increased the yields of maize and improved some of the agrochemical characteristics of the experimental soils, as compared with the normally treated dung stored in a dung hill. The effect of fermented pig slurry is not clear yet: the yields of the first maize grown immediately after manuring were somewhat lower after the application of fermented slurry, as compared with untreated raw slurry and a slight increase in the yields was only recorded in the next, second maize stand. These results must be further verified in detail under field conditions.

biogas production; anaerobic fermentation; dung; pig slurry; agronomic effects; maize yields

PETŘÍKOVÁ, V. (Forschungsinstitut für Pflanzenproduktion, Praha-Ruzyně): *Eigenschaften der organischen Dünger nach der Biogasproduktion*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11): 1165-1172.

In drei Modellversuchen in Mitscherlich-Gefäßen wurden 1—3 Jahre lang agronomische Wirkungen der durch anaerobe Fermentation bei der Biogasherstellung behandelten organischen Dünger untersucht. Der fermentierte Strohdung steigerte die Maiserträge und verbesserte gleichzeitig die agrochemischen Eigenschaften der Versuchsböden im Vergleich zum üblich behandelten Dung auf dem Dungplatz. Der Einfluß der fermentierten Schweinegülle ist nicht ganz eindeutig; die Erträge des unmittelbar nach der Düngung angebauten Maises waren relativ niedriger im Vergleich zur unbehandelten Rohgülle, ein mäßiger Ertragsanstieg konnte erst beim Anbau des zweiten, nachfolgenden Maisbestandes beobachtet werden. Die Resultate müssen noch eingehender unter Feldbedingungen überprüft werden.

Biogasproduktion; anaerobe Fermentation; Stalldung; Schweinegülle; agronomische Wirkungen; Maiserträge

Adresa autorky:

Ing. Vlasta Petříková, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

BILANCE DODANÉHO DUSÍKU V PŮDĚ A ROSTLINNĚ POMOCÍ ^{15}N U PŠENICE OZIMÉ PŘI POUŽITÍ INHIBITORU NITRIFIKACE

H. Mouchová, J. Apltauer, H. Lippold, W. Matzel

MOUCHOVÁ, H. — APLTAUER, J. — LIPPOLD, H. — MATZEL, W. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně; Ústav pro výzkum hnojení, Leipzig-Potsdam): *Bilance dodaného dusíku v půdě a rostlině pomocí ^{15}N u pšenice ozimé při použití inhibitoru nitrifikace*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1173-1182.

Pokusy byly založeny na hnědozemí na parcelkách o ploše 0,25 m². V zrna a slámy pšenice ozimé odrůdy 'Mironovská' (1980 až 1981) bylo obsaženo 29 až 34 % dusíku z dávky 100 kg N/ha, v zrna a slámy pšenice ozimé odrůdy 'Juna' (1981 až 1982) bylo stanoveno 33 až 40 % z dávky dusíku. V ornici po sklizni pšenice zůstalo 22 až 35 % z dávky dusíku v prvním a 40 % v druhém pokuse. Vliv inhibitoru nitrifikace aplikovaného spolu s podzimním hnojením se projevil ve vyšším obsahu dusíku z hnojiva v ornici po sklizni pšenice. Následné plodiny prvním rokem obsahovaly až 6 %, další následné plodiny kolem 1 % z dávky dusíku k hlavní plodině pšenici ozimé.

dusíkaté hnojení; pšenice ozimá; inhibitor nitrifikace; ^{15}N ; následné plodiny; využití dodaného dusíku

V souvislosti se snahou o efektivnější využívání dodaného dusíku rostlinou a omezování jeho negativního vlivu na životní prostředí je nezbytné získat co nejvíce poznatků o chování dusíku v půdě, jeho přeměně a pohybu v půdním profilu a příjmu rostlinami. Jednou z nejvhodnějších metod pro tato sledování je použití dusíkatých sloučenin značených ^{15}N , pomocí kterých můžeme stanovit nejen příjem dodaného dusíku rostlinami, ale též jeho chování v půdě, ovlivněné různými způsoby aplikace a řadou dalších faktorů, např. povětrnostními podmínkami nebo aplikací inhibitorů nitrifikace.

MATERIÁL A METODY

Pokusy probíhaly na hnědozemí v Ruzyni, na parcelkách o velikosti 0,25 m², vymezených rámem. Hlavní plodinou byla pšenice ozimá. Po sklizni byly vzorky zeminy získávány tak, že postupně po 10 cm vrstvách byla odebírána zemina z celé plochy parcelky, vážena a po odběru vzorku znovu vracena na parcelku. Vzorky z vrstvy 30 až 60 cm byly odebrány sondovací tyčí. Po pšenici ozimé byly vysévány další plodiny. Pšenice ozimá byla hnojena celkovou dávkou dusíku 100 kg/ha, a to jednorázově na podzim nebo na jaře nebo v dělené dávce (50 + 50 kg/ha) na podzim a na jaře. Inhibitor nitrifikace N Serve 24 E byl aplikován současně s podzimním hnojením. U dělených dávek jsme značenou sloučeninu použili jen v jednom termínu, v opačném termínu jsme použili sloučeninu s přirozeným obohacením ^{15}N . Podrobné údaje o pokusech jsou uvedeny v tab. I, II, IV a V.

VÝSLEDKY

Výnos zrna a slámy pšenice ozimé odrůdy 'Mironovská' (1980 až 1981) byl ve srovnání s kontrolou pozitivně ovlivněn hnojením dusíkem: na ploše 0,25 m² byl u dusíkatých variant výnos zrna 122 až 150 g, hmotnost slámy 149 až 192 g, u kontrolní varianty byl výnos zrna 89 g a slámy 126 g. Podíl dusíku z hnojiva s ¹⁵N obohacením na celkovém dusíku zrna nebo slámy byl 30 až 34 % v případě jednorázových dávek, u podzimní dělené dávky tvořil 9 až 13 % a z jarní aplikace dosáhl 24 až 27 % (tab. I). Ve vrchní 10cm vrstvě půdy po sklizni pšenice zůstalo z dodaných 2,5 g dusíku na plochu 0,25 m² ve variantě 100 kg N na podzim téměř poloviční množství dusíku z hnojiva (368 mg N) než ve variantě s inhibitorem nitrifikace nebo variantě 100 kg N na jaře (705 mg N). Ve vrstvách 20 až 30 cm a 30 až 60 cm bylo naopak z podzimního hnojení množství dusíku z hnojiva podstatně vyšší (105 mg N) než v dalších dvou případech (58 až 30 mg N). Obsah dusíku z hnojiva s ¹⁵N v půdě u variant s dělenými dávkami, tedy vzhledem k ¹⁵N polovičními, představuje 41 až 48 % množství dusíku, zjištěného u jednorázových dávek (tab. II). Rozdíly v množství reziduálního dusíku z hnojiva s ¹⁵N v ornici po sklizni pšenice se výrazně projevily u následných plodin (tab. III), zejména v hodnotách podílu dusíku z hnojiva. Podíl dusíku z hnojiva, dodaného s ¹⁵N k pšenici ozimé na celkovém dusíku hořčice byl u jednorázově aplikovaných dávek 4,5 až 6,5 %, u dělených dávek 2 až 2,9 %; nižší hodnoty byly zjištěny u variant s podzimní aplikací dusíku bez inhibitoru. Podobná tendence byla zaznamenána u dalších následných plodin, u žita 1,8 až 2,6 % v případě variant s jedno-

I. Výnos plodin, množství dusíku v rostlině a podíl dusíku ze značeného hnojiva na celkovém obsahu dusíku v rostlinách (první pokus) — The yields of the crops, the amount of nitrogen in the plant and the proportion of the nitrogen of labelled fertilizer in the total nitrogen content in plants (the first trial)

Varianty hnojení kg N/ha		Zrno*			Sláma*			Kořeny*		
podzim	jaro	g	g N	podíl N	g	g N	podíl N	g	g N	podíl N
100	—	122,2	1,91	0,34	163	0,33	0,30	28,8	0,085	0,22
100i	—	141,0	1,93	0,30	192	0,34	0,32	36,3	0,106	0,28
—	100	150,2	2,18	0,32	186	0,34	0,34	36,1	0,107	0,30
50i	(50)	122,9	1,68	0,10	149	0,22	0,10	23,7	0,066	0,10
(50i)	50	141,0	1,94	0,25	171	0,29	0,26	34,0	0,129	0,16
50	(50)	128,8	1,94	0,13	171	0,29	0,09	39,7	0,103	0,07
(50)	50	129,6	1,92	0,27	171	0,31	0,24	21,8	0,070	0,25
Kontrola		88,7	1,28		126	0,23		19,9	0,050	

* údaje vztaženy na plochu 0,25 m²

i inhibitor nitrifikace

(50) hnojivo s přirozeným obohacením ¹⁵N

termíny aplikace: 100 kg N — 22. 10. 1980; 23. 3. 1981

50 kg N — 22. 10. 1980; 23. 4. 1981

II. Množství dusíku ze značeného hnojiva (v mg na 0,25 m²) v jednotlivých vrstvách ornice a v podorníci (první pokus) — The amount of the nitrogen of labelled fertilizer (in mg per 0.25 m²) in various layers of topsoil and in the subsoil (the first trial)

Varianty kg N/ha		Půdní vrstva (cm)	Po sklizni		
			ozimé pšenice	hořčice	dalších následných plodin
podzim	jaro		30. 7. 1981	28. 9. 1981 0–10 cm	8. 9. 1982 0–15 cm
100	—	0–10	368	353	449
		10–20	72		
		20–30	108		
		30–60	103		
100i	—	0–10	693	532	790
		10–20	110		
		20–30	58		
		30–60	45		
—	100	0–10	717	711	814
		10–20	122		
		20–30	34		
		30–60	30		
50i	(50)	0–10	302	300	229
(50i)	50	0–10	328	242	360
50	(50)	0–10	177	162	262
(50)	50	0–10	263	244	421

rázovými a 0,7 až 0,9 % u variant s dělenými dávkami (případně další hořčice 2,7 až 4 %, resp. 1,2 až 1,5 %).

V dalším pokuse, kde byla hlavní plodinou pšenice ozimá odrůda 'Juna' (1981 až 1982), byl výnos zrna u dusíkatých variant v rozmezí 155 až 189 g z plochy 0,25 m², u kontrolní varianty 173 g, hmotnost slámy byla 159 až 196 g u dusíkatých variant a 181 g u kontroly. Nejvyšší hodnoty byly dosaženy u varianty s celou dávkou dusíku na jaře. Podíl dusíku z hnojiva v zrnu nebo slámě dosáhl u této varianty 23 %, u varianty 50 kg ¹⁵N na podzim činil 14 až 16 % a u varianty 50 kg ¹⁵N na jaře 11 až 13 % (tab. IV). Po sklizni pšenice bylo zjištěno, že převážná část reziduálního dusíku z hnojiva se nacházela ve vrchní vrstvě 0 až 10 cm, a to jak po jednorázové aplikaci (925 mg N), tak i u obou dávek dělených (238 mg N z podzimní aplikace, 298 mg N ve variantě s inhibítozem a 714 mg N z jarního hnojení dávkou 50 kg/ha). V dalších dvou vrstvách bylo stanoveno maximálně 74 mg dusíku z hnojiva na plochu 0,25 m² a 10cm vrstvu. Odběry zeminy po následných plodinách ukázaly, že ve vrchní 10cm vrstvě zůstávalo poměrně vysoké množství dusíku z hnojiva, až 70 % z obsahu reziduálního dusíku z hnojiva v ornici. Pře-

III. Procentuální podíl dusíku ze značeného hnojiva na celkovém obsahu dusíku v následných plodinách (první pokus) — The percentual proportion of the nitrogen of labelled fertilizer in the total content of nitrogen in the subsequent crops (the first trial)

Varianty hnojení k ozimé pšenici v roce 1980 kg N/ha		1980		1981 až 1982			
		hořčice I		žito	kukuřice		hořčice II
podzim	jaro	nadzemní hmota	kořeny		nadzemní hmota	kořeny	
100	—	4,5	4,9	1,8	1,0	1,3	2,7
100i	—	4,1	4,9	1,9	1,4	1,7	3,4
—	100	6,5	6,5	2,6	1,8	1,8	4,0
50i	(50)	2,9	2,7	0,9	0,6	0,6	1,5
(50i)	50	2,6	2,1	0,7	0,6	0,6	1,2
50	(50)	2,0	2,2	0,8	0,5	0,5	1,2
(50)	50	2,5	2,7	0,7	0,7	0,6	1,3
plodina		setí	termín hnojení a dávka N (bez ¹⁵ N)				sklizeň
Hořčice I 'Přerovská bílá'		11. 8. 81	17. 3. 82 — 140 kg N/ha, 4 % roztok močoviny				29. 9. 81
Žito 'Kustro'		29. 9. 81					13. 5. 82
Kukuřice CE 250		13. 5. 82	13. 5. 82 — P, K, 120 kg N/ha , 4% roztok močoviny				2. 8. 82
Hořčice II		6. 8. 82					8. 9. 82

IV. Výnos plodin, množství dusíku v rostlině a podíl dusíku ze značeného hnojiva na celkovém obsahu dusíku v rostlinách (druhý pokus) — The yields of the crops, the amount of nitrogen in the plant and the proportion of the nitrogen of labelled fertilizer in the total nitrogen content in the plants (the second trial)

Varianty hnojení kg N/ha		Zrno*			Sláma*			Kořeny*		
podzim	jaro	g	g N	podíl N	g	g N	podíl N	g	g N	podíl N
—	100	188,9	3,12	0,23	196,0	0,45	0,23	29,0	0,093	0,19
50i	(50)	179,3	3,05	0,14	182,5	0,45	0,16	27,9	0,087	0,21
(50i)	50	169,3	2,61	0,11	175,5	0,46	0,12	30,8	0,093	0,09
50	(50)	168,3	3,25	0,15	171,5	0,50	0,16	28,4	0,092	0,16
(50)	50	155,3	2,88	0,12	159,0	0,49	0,13	23,2	0,069	0,11
Kontrola		173,3	3,30		181,0	0,45		30,6	0,076	

* údaje vztaženy na plochu 0,25 m²
termíny aplikace N: 2. 10. 1981; 29. 3. 1982

V. Procentuální podíl dusíku ze značeného hnojiva na celkovém obsahu dusíku v následných plodinách (druhý pokus) — Percentual proportion of the nitrogen of labelled fertilizer in the total nitrogen content in the subsequent crops (the second trial)

Varianty hnojení v roce 1981 k ozimé pšenici kg N/ha		1982 až 1983					1983 až 1984	
		hořčice I	ozimá pšenice I			hořčice II	ozimá pšenice II	
podzim	jaro		zrno	sláma	košeny		zrno	sláma
—	100	18	2,3	2,0	2,3	2,4	1,4	1,2
50i	(50)	6	1,2	1,1	1,1	1,2	1,1	0,7
(50i)	50	11	1,6	1,2	1,5	1,5	1,3	0,9
50	(50)	4	1,2	0,8	0,9	0,9	0,8	0,6
(50)	50	12	1,6	1,2	1,7	2,0	1,1	1,0
plodina		setí	termín hnojení a dávka N (bez ^{15}N)				sklizeň	
Hořčice I		5. 8. 82					14. 9. 82	
'Přerovská bílá'								
Ozimá pšenice I		28. 9. 82	P, K, 30 kg N/ha v močovinně při setí a 21. 3. 83 60 kg N/ha ve 4% roztoku močoviny				27. 7. 83	
'Juna'								
Hořčice II		27. 7. 83					16. 9. 83	
Ozimá pšenice II		13. 10. 83	P, K, 30 kg N/ha v močovinně při setí a 28. 5. 84 40 kg N/ha ve 4% roztoku močoviny				23. 8. 84	

trvávaly i rozdíly mezi variantami, což se projevilo u následných plodin (tab. V a VI). Podíl dusíku z hnojiva s ^{15}N v zrnu a slámě prvé následné pšenice dosáhl 2 až 3 % u varianty 100 kg N na jaře a 0,8 až 1,7 % u variant s dělenými dávkami, u druhé následné pšenice činil 0,6 až 1,4 %. Po její sklizni v roce 1984 na konci pokusu bylo v půdě ve vrstvě 0 až 15 cm stanoveno 19 % z dávky 50 kg aplikované na podzim roku 1981 a 40 % z jarního hnojení stejnou dávkou v roce 1982.

DISKUSE

Zjistili jsme, že pšenice ozimá 'Mironovská' (1980 až 1981) odčerpala 29 až 34 kg dusíku z dodaných 100 kg N bez ohledu na způsob aplikace; v ornici po sklizni zůstalo 22 kg u varianty 100 kg N na podzim a 35 kg u dalších dvou jednorázových dávek (100 kg N + inhibitor na podzim a 100 kg N na jaře) a 23 až 27 kg z obou dávek dělených. Následné plodiny odebraly 3 až 6 kg dusíku z hnojiva k pšenici, tj. 11 až 17 % z množství reziduálního dusíku z hnojiva v ornici po pšenici (tab. VII). V zrnu a slámě pšenice ozimé odrůdy 'Juna' (1981 až 1982) bylo obsaženo 33 až 40 kg dusíku z dodaných 100 kg N a v půdě po pšenici zůstalo 40 až 46 kg dusíku. Následné plodiny prvním rokem odebraly celkem 6 kg a druhým rokem 0,9 až 1,6 kg dusíku z hnojiva, dodaného

VI. Množství dusíku ze značeného hnojiva (v mg na 0,25 m²) v jednotlivých vrstvách ornice a v podorničí (druhý pokus) — The amount of the nitrogen of labelled fertilizer (in mg per 0.25 m²) in various layers of topsoil and in the subsoil (the second trial)

Varianty kg N/ha		Půdní vrstva (cm)	Ozimá pšenice	Hořčice ozimá pšenice hořčice	ozimá pšenice
podzim	jaro		3. 8. 82	16. 9. 83 0–20 cm	23. 8. 84 0–15 cm
—	100	0–10	925	1007	737
		10–20	49		
		20–30	34		
50i	(50)	0–10	298	464	334
		10–20	74		
		20–30	33		
(50i)	50	0–10	723	671	487
		10–20	17		
		20–30	—		
50	(50)	0–10	238	295	237
		10–20	33		
		20–30	17		
(50)	50	0–10	712	796	510
		10–20	25		
		20–30	—		

s ¹⁵N k první plodině (tab. VIII). V těchto dvou pokusech jsme nezjistili výrazné rozdíly mezi dusíkatými variantami ve výnosu zrna ani v odčerpání dusíku z hnojiva. Christensen, Meinst (1982) konstatovali, že ve výnosu pšenice ozimé, hnojené 100 kg N jednorázově nebo ve dvou dávkách, a v celkovém obsahu dusíku v rostlině nebyly statisticky významné rozdíly. Boswell et al. (1976) a Dmitrenko et al. (1977) zjistili při děleném hnojení vyšší výnos pšenice než při hnojení jednorázovém. Dmitrenko et al. (1977) a Olson, Murphy (1979) uvedli, že rostliny pšenice ozimé z jarní aplikace odčerpaly relativně více dusíku z hnojiva a méně z půdní zásoby, než tomu bylo u podzimního hnojení.

Přestože se v našich pokusech v daném roce příliš nelišilo celkové množství dusíku, přijaté z hnojiva rostlinou, bylo jeho čerpání z podzimní a jarní aplikace u obou pokusů rozdílné. U prvního pokusu pocházela menší část celkově odčerpaného dusíku z podzimní aplikace 50 kg N (10 až 11 kg) a větší část (22 až 23 kg) z hnojení na jaře, u druhého pokusu přijala rostlina 21 až 24 kg dusíku z podzimní a 14 až 16 kg z jarní aplikace. Předpokládáme, že velký vliv na nižší příjem dusíku z hnojiva rostlinou u prvního pokusu mělo pozdní setí pšenice ozimé

VII. Distribuce dusíku ze značeného hnojiva ve sklizených rostlinách a v půdě (první pokus, v kg dusíku na ha) — The distribution of the nitrogen of labelled fertilizer in the harvested plants and in the soil (the first trial, in kg nitrogen per ha)

Aplikace N		1980 až 1981			1981 až 1982	
		ozimá pšenice (+ kořeny)		půda po pšenici	následné plodiny*	půda po skončení pokusu
podzim	jaro	ΣN	¹⁵ N	0–30 cm ¹⁵ N	¹⁵ N	0–15 cm
100 – ¹⁵ N	—	93,5 ± 10,5	30,7 ± 1,5	22,0 ± 9,0	3,5 ± 0,5	18,0 ± 0,1
100i – ¹⁵ N	—	96,5 ± 5,5	29,1 ± 3,1	34,5 ± 1,0	3,7 ± 0,1	31,6 ± 0,6
—	100 – ¹⁵ N	105,0 ± 0,5	34,2 ± 0,6	34,9 ± 0,8	6,0 ± 0,4	32,6 ± 1,4
50i – ¹⁵ N	50	82,0 ± 3,0	10,2 ± 2,0	12,2 ± 2,2	1,7 ± 0,3	11,9 ± 2,7
50i	50 – ¹⁵ N	92,0 ± 3,0	22,6 ± 0,6	13,9 ± 2,3	1,7 ± 0,1	12,9 ± 1,6
Σ			32,8 ± 2,6	26,7 ± 5,5	3,4 ± 0,4	24,8 ± 4,3
50 – ¹⁵ N	50	94,0	11,2	10,6	1,3	10,5
50	50 – ¹⁵ N	92,0	21,7	12,9	1,6	16,8
Σ			32,9	23,5	2,9	27,3

* hořčice, žito, kukuřice, hořčice

a nízké teploty v listopadu 1980 (průměr 2,1 °C), naopak suché a chladné počasí na jaře 1982 snížilo čerpání dodaného dusíku rostlinou v druhém pokuse. Zjistili jsme, že podíl dusíku z hnojiva k celkovému dusíku zrna a slámy pšenice ozimé dosahuje pro danou variantu a ročník téměř stejnou hodnotu a že z celkově odebraného dusíku z hnojiva v zrna a slámě se v zrna nacházelo průměrně 86 %. To je v souladu se zjištěním, které uvádějí Eniková, Rajkova (1979), kteří pro tento vztah uvedli hodnoty 87 až 90 %.

V našich pokusech jsme zjistili, že ve variantách s podzimní aplikací dusíku současně s inhibitorem nitrifikace N Serve 24 A byl příjem dusíku z hnojiva rostlinou nižší ve srovnání s variantou se samotným dusíkatým hnojením ve stejné dávce. Předpokládáme, že určitý vliv měl i dlouhodobý vláhvový deficit v průběhu pokusů, kdy působením inhibitoru nitrifikace se dodaný dusík vyskytoval po určitou dobu ve formě NH_4^+ a ve vrchní vrstvě půdy a nemohl být kořeny z hlubších vrstev přijímán (Hoeft, 1984). Aplikace inhibitoru nitrifikace spolu s podzimním dusíkatým hnojením, podobně jako v našich předcházejících pokusech měla za následek zvýšení obsahu dusíku z hnojiva v ornici po sklizni pšenice (Matzel et al., 1979, Mouchová, Apltauer, 1983). Inhibitory nitrifikace tím, že dočasně brzdí přeměnu amonné formy na nitrátovou, příznivě ovlivňují biologickou imobilizaci dusíku (Borisova, 1968). Riga et al. (1980) zjistili pomocí ¹⁵N, že v následných plodinách byly obsaženy 3 až 4 % z původně aplikované dávky ke pšenici, v našich pokusech jsme zjistili, že v prvním následném roce

VIII. Distribuce dusíku ze značeného hnojiva ve sklizených rostlinách a v půdě
fertilizer in the harvested plants and in the soil (the second trial, in kg nitrogen

Aplikace N		1981 až 1982		
		ozimá pšenice (zrno + sláma)		půda po ozimé pšenici
podzim	jaro	ΣN	^{15}N	0–30 cm ^{15}N
—	100– ^{15}N	146,4 ± 1,0	32,5 ± 2,5	40,3 ± 0,6
50i– ^{15}N	50	143,5 ± 8,5	20,5 ± 1,8	16,2 ± 0,0
50i	50– ^{15}N	126,2 ± 1,4	14,1 ± 0,3	29,4 ± 0,3
Σ			34,6 ± 2,1	45,6 ± 0,3
50– ^{15}N	50	153,6 ± 9,2	24,2 ± 0,1	11,5 ± 0,1
50	50– ^{15}N	133,3 ± 4,5	16,1 ± 0,1	29,6 ± 0,2
Σ			40,3 ± 0,2	41,1 ± 0,3

odebraly rostliny 3 až 6 % a v druhém přibližně 1 % z původně dodaného ^{15}N k pšenici.

Pracnější způsob odběru půdních vzorků (vážení a homogenizace zeminy z celé odebrané vrstvy ornice) se pozitivně projevil v relativně lepší shodě výsledků na rozdíl od výsledků, týkajících se plodin. Při dvou opakováních varianty a malých parcelkách byly výnosové výsledky podstatně více ovlivněny poškozením porostu těsně před sklizní.

Literatura

- BORISOVA, N. I.: Vlijanie inhibitorov nitrifikacii na prevraščenie azota v počvě i postuplenije ego v rastenija. Chim. sel. Choz., VI, 1968, č. 11, s. 16–20.
- BOSWELL, F. C. — NELSON, L. R. — BITZER, M. J.: Nitrification inhibitor with fall-applied vs. split nitrogen applications for winter wheat. Agron. J., 68, 1976, č. 5, s. 737–740.
- DMITRENKO, I. A. — TOMAŠEVSKAJA, E. G. — GOLOVAŠČUK, Ž. T. — INŠIN, N. A. — SEMENOVA, N. K. — DAŇKO, Z. Ju.: Ispolzovanie oziměj pšenicej i sa-charnoj svjokloj azota udobrenij pri raznyh uslovijach ich primenenija. Agrochimija, 1977, č. 10, s. 9–19.
- ENIKOV, K. — RAJKOVA, L.: Effektivnost azotnogo udobrenija pšenicy i vključenije azota udobrenija v belkovye frakcii zerna. In: V. mezin. Konf. Transformacija azota v počvě i effektivnost azotnych udobrenij, Sofia, 1979, s. 221–232.
- HOEFT, R. G.: Current status of nitrification inhibitor use in U. S. agriculture. In: Nitrogen in Crop Production, ASA-CSSA-SSSA Madison, Winconsin, 1984, s. 561–577.
- CHRISTENSEN, N. W. — MEINST, V. W.: Evaluating N fertilizer sources and timing for winter wheat. Agron. J., 74, 1982, č. 5, s. 840–844.
- MATZEL, W. — MOUCHOVÁ, H. — APLTAUER, J. — LIPPOLD, H.: Die Wirkung des Nitrifikationshemmers N-Serve bei der Herbstdüngung von Winterweizen mit ^{15}N -ammoniumsulfat. Arch. Acker- Pfl.-Bau Bodenkde, 23, 1979, č. 7, s. 421–427.
- MOUCHOVÁ, H. — APLTAUER, J.: Effects of the nitrification inhibitor N-Serve on the utilization of fall-applied urea by wheat. Fertil. Res., 4, 1983, s. 165–180.
- OLSON, R. V. — MURPHY, L. S. — MOSER, H. C. — SWALLOW, C. W.: Fate of

(druhý pokus, v kg dusíku na ha) — The distribution of the nitrogen of labelled per ha)

1982 až 1983		1983 až 1984	
následné plodiny*	půda po hořčici	ozimá pšenice	půda po ozimé pšenici
	0—20 cm	¹⁵ N	0—15 cm
6,0 ± 0,4	41,6 ± 2,6	0,9 ± 0,1	29,5 ± 0,1
2,4 ± 0,2	19,2 ± 1,0	0,7 ± 0,1	13,4 ± 0,1
3,6 ± 0,2	27,8 ± 1,8	0,9 ± 0,0	19,5 ± 0,1
6,0 ± 0,4	47,0 ± 2,8	1,6 ± 0,1	32,9 ± 0,2
1,9 ± 0,2	12,2 ± 0,0	0,5 ± 0,0	9,5 ± 0,0
3,9 ± 0,2	33,0 ± 2,8	0,7 ± 0,1	20,4 ± 0,2
5,8 ± 0,4	45,2 ± 2,8	1,2 ± 0,1	29,9 ± 0,2

* hořčice 1982, ozimá pšenice 1982—1983, hořčice 1983

tagged fertilizer nitrogen applied to winter wheat. Soil Sci. Soc. Amer. J., 43, 1979, č. 5, s. 973-975.

RIGA, A. — FISCHER, V. — VAN PRAAG, H. J.: Fate of fertilizer nitrogen applied to winter wheat as $\text{Na}^{15}\text{NO}_3$ and $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ studied in microplots through a four-course rotation: 1. Influence of fertilizer splitting on soil and fertilizer nitrogen. Soil Sci., 130, 1980, č. 2, s. 88-89.

Došlo dne 13. 5. 1987

МОУХОВА, Г. — АПЛТАУЭР, Й. — ЛИППОЛЬД, Г. — МАТЦЕЛ, В. (Научно-исследовательский институт растениеводства, Прага-Рузыне; Институт исследования удобрений, Лейпциг-Потсдам): Баланс азота в почве и растении с помощью ¹⁵N у озимой пшеницы посредством ингибитора нитрификации. Rostl. Výr., 33, 1987 (11): 1173-1182.

Опыты проходили на буроземных делянках в 0,25 м². В зерне и соломе оз. пшеницы 'Мироновская' (1980—81 гг.) содержалось 29—34 % азота во внесенной дозе 100 кг/га, а у 'Юны' (1980—82 гг.) — 33—40 % всей внесенной нормы азота. В пахотном слое после уборки осталось 22—35 % от общей внесенной нормы азота на первом и 40 % на втором опытах. Влияние ингибитора нитрификации, внесенного вместе с осенним удобрением, проявилось в росте азота из удобрения в пахотном слое после уборки. В последующих культурах в первый год содержалось до 6 %, а в дальнейших около 1 % азота из внесенной нормы под главную культуру — оз. пшеницу.

азотное удобрение; озимая пшеница; ингибитор нитрификации; ¹⁵N; последующие культуры; усвоение внесенного азота

MOUCHOVÁ, H. — APLTAUER, J. — LIPPOLD, H. — MATZEL, W. (Research Institute of Crop Production, Praha-Ruzyně; Institute for Manuring Research, Leipzig-Potsdam): The Balance of Supplied Nitrogen in the Soil and Plant Determined by means of ¹⁵N in Winter Wheat with the Use of a Nitrification Inhibitor. Rostl. Výr., 33, 1987 (11): 1173-1182.

The trials were performed in small plots of grey-brown podzolic soil 0.25 m² in size. The grain and straw of the 'Mironovskaya' winter wheat variety (1980 to 1981) contained 29 to 34 % nitrogen from the applied rate of 100 kg per ha. The grain and straw of the winter wheat variety 'Juna' (1980 to 1982) contained 33 to 40 % of the

total amount of nitrogen. After the harvest of wheat, the topsoil retained 22 to 35 % of the total nitrogen dose in the first trial and 40 % in the second. The effect of the nitrification inhibitor, applied together with the autumn fertilization, manifested itself in a higher content of fertilizer nitrogen after the harvest of wheat. The subsequent crops contained up to 6 % in the first year and the other subsequent crops about 1 % of the nitrogen amount applied to winter wheat as the main crop.

nitrogen fertilization; winter wheat; nitrification inhibitor; ^{15}N ; subsequent crops; utilization of supplied nitrogen

MOUCHOVÁ, H. — APLTAUER, J. — LIPPOLD, H. — MATZEL, W. (Forschungsinstitut für Pflanzenproduktion, Praha-Ruzyně; Institut für Düngungsforschung, Leipzig-Potsdam): *Bilanz des zugeführten Stickstoffs im Boden und in der Pflanze mittels ^{15}N bei Winterweizen unter Einsatz eines Nitrifizierungsinhibitors*. Rostl. Vyr., 33, 1987 (11) : 1173-1182.

Die Versuche wurden auf Braunerde auf Parzellen von 0,25 m² durchgeführt. Von Korn und Stroh der Winterweizensorte 'Mironovskaja' (1980 bis 1981) wurden 29 bis 34 % N von der zugeführten Gabe von 100 kg/ha N aufgenommen. In Korn und Stroh der Winterweizensorte 'Juna' (1980 bis 1982) wurden 33 bis 40 % von der N-Gabe festgestellt. In der Ackerkrume nach der Weizenernte sind 22—35 % von der N-Gabe im ersten Versuch und 40 % im zweiten Versuch verblieben. Der Einfluß des Nitrifizierungshemmers, der zusammen mit Herbsdüngung angewendet worden war, machte sich in einem höheren Gehalt der Ackerkrume an Düngestickstoff nach der Weizenernte bemerkbar. Die nachfolgenden Kulturen enthielten im ersten Jahr bis 6 % von der N-Gabe für Winterweizen, die weiteren dann ungefähr 1 %.

N-Düngung; Winterweizen; Nitrifizierungshemmer; ^{15}N ; nachfolgende Kulturen; Verwertung des zugeführten Stickstoffes

Adresy autorů:

Ing. Hana Mouchová, CSc., ing. Jiří Apltauer, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

Dr. Hans Lippold, CSc., Prof. Wolfgang Matzel, DrSc., Institut für Düngungsforschung, Leipzig-Potsdam, Gustav-Kühn-Str. 8, Leipzig 7022

ROZKLAD MIKROMLETÉHO GAFSA-FOSFORITU PŮDNÍ MIKROFLÓROU

J. Kubát, B. Novák, S. Kalinová

KUBÁT, J. — NOVÁK, B. — KALINOVÁ, S. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně): *Rozklad mikromletého Gafsa-fosforitu půdní mikroflórou*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1183-1188.

V laboratorních pokusech byla ověřována možnost mikrobiálního rozkladu mikromletého Gafsa-fosforitu. Bylo zjištěno, že v tekuté kultuře obohacené organickým substrátem a inokulované půdní infúzí byla rychlost rozkladu fosforitu vysoká; během 22 týdnů inkubace při 28 °C se rozložilo až 38 % dodaného fosforitu. V neprovzdušňovaných variantách byla intenzita rozkladu větší než ve variantách provzdušňovaných. Rozklad fosforitu souvisel především s poklesem pH kultury, úloha dalších možných mechanismů byla podstatně menší.

mikromletý fosforit; mikrobiální uvolňování fosforu

Obsah fosforu v našich půdách kolísá v rozmezí 0,03 až 0,13 %, což představuje 1000 až 4000 kg na ha v orniční vrstvě (Havelka, 1979). Většina fosforu je však v půdě vázána a jen malá část se nachází v rostlinám přístupných formách.

Pokud jde o minerální fosfor v půdě, obvykle se dělí podle dostupnosti rostlin do tří skupin (Domergues, Mangenot, 1970):

- přímo asimilovatelné formy tj. ionty PO_4^{3-} v půdním roztoku;
- formy asimilovatelné pro desorpci, tj. ionty PO_4^{3-} adsorbované na povrchu půdních koloidů prostřednictvím kationtů Ca^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , které se uvolňují do půdního roztoku v závislosti na čerpání fosforu rostlinami;
- neasimilovatelné formy jako krystalický terciární fosforečnan vápenatý, hydroxylapatit, karbonátapatit, variscit, strengit a další.

Förster (1983) uvádí, že obvyklý obsah fosfátových iontů ve středoevropských půdách je asi 0,5 až 1 kg fosforu na ha v půdním roztoku, 400 až 800 kg fosforu na ha ve formě asimilovatelné po desorpci a 1600 až 2000 kg fosforu na ha v neasimilovatelné formě. Rostliny mohou čerpat fosfor téměř výlučně z půdního roztoku, kam se fosforečnanové ionty dostávají jednak solubilizací minerálních nerozpustných forem fosforu, jednak mineralizací organických forem. Na obou těchto procesech se podílí půdní mikroflóra, a to několika mechanismy:

- Půdní mikroorganismy produkují látky, které snižují pH půdního roztoku (heterotrofní mikroorganismy produkují CO_2 , nitrifikační bakterie dusičnanové ionty, bakterie rodu *Thiobacillus* síranové ionty atd.), a tím rozkládají fosfáty vápníku.

- Půdní mikroflóra produkuje celou řadu organických kyselin, které tvoří cheláty s kationty působícími fixací fosforu (Al^{3+} , Fe^{3+}), čímž se uvolňují fosfátové ionty. Nejúčinnější v tomto působení je kyselina citrónová a následují kyselina jantarová, jablečná, oxalocetová a mléčná (Dommergues, Mangenot, 1970). Cheláty s těmito kationty tvoří také nespecifické humusové látky (převážně produkty mikrobiální aktivity), a podílejí se tím na solubilizaci fosforu (Macura, 1966 — cit. Dommergues, Mangenot, 1970; Novák, 1973).
- Půdní mikroorganismy mají schopnost čerpat fosfor z mnohem nižších koncentrací v roztoku než rostliny, poruší tím stávající rovnováhu mezi rozpuštěnými a adsorbovanými ionty fosforu, čímž uvolní další adsorbované ionty a po odumření buněk a hydrolýze mohou zvýšit čerpání fosforu rostlinami (Novák, 1973).
- Rozklad a hydrolýza esterů kyseliny fosforečné včetně produkce půdních fosfatáz a uvolňování fosforu z organických sloučenin jsou převážně působeny půdní mikroflórou.

Otázka však je, jakou intenzitou probíhají tyto procesy v půdě a jaký je tedy jejich praktický význam. Kolář (1983) zjistil, že v kyselých hnědých půdách Šumavy se fosfor v půdě stává značně pohyblivý v důsledku jeho vazby na nízkomolekulární fulvokyseliny a tento efekt vzrůstal s nadmořskou výškou. Jak uvádějí Kuntze, Schefer, (1979), mohou organické rašelinné půdy vykazovat 10 až 20krát vyšší ztráty fosforu než půdy minerální. Voplakal (1984) zjistil v laboratorních pokusech, že hodnoty obsahu přístupného fosforu byly v nižších vrstvách promývaných půd vyšší než ve vrstvách povrchových, a to zejména u půd organicky hnojených a preinkubovaných s glukózou.

V naší předcházející práci jsme dokázali (Kubát et al., 1985), že po přidání mikromletého Gafsa-fosforitu do biologicky aktivního prostředí hovězí kejdy došlo k částečnému rozkladu tohoto hnojiva, přičemž se zvýšil obsah fosforu ve frakcích organického lehce hydrolyzovatelného (monoestery) i stabilního fosforu. Abychom vyloučili možnost interference přeměn fosforu kejdy, event. stimulace těchto přeměn přidáváním mikromletého fosforitu, založili jsme ještě více zjednodušené laboratorní pokusy, v nichž jsme sledovali rozklad mletého fosforitu v živném roztoku inokulovaném půdní mikroflórou a obohaceném škrobem nebo glukózou.

MATERIÁL A METODY

Připravili jsme minerální roztok živin bez fosforu tohoto složení: 0,3 g K_2SO_4 ; 0,3 g KCl ; 0,2 g MgSO_4 ; 0,1 g CaCl_2 ; 0,1 g NaCl ; 0,4 g NH_4NO_3 a stopy FeCl_3 v 1 l destilované vody. 200 ml tohoto roztoku bylo odměřeno do 300ml Erlenmayerových baněk. Do jednotlivých variant pak byl přidán jemně mletý Gafsa-fosforit, půdní infúze, škrob nebo glukóza:

- K — minerální roztok + půdní infúze,
- AK — minerální roztok + 2 g fosforitu,
- AO — minerální roztok + 2 g fosforitu + půdní infúze,
- A1G — minerální roztok + 2 g fosforitu + půdní infúze + 2 g glukózy,
- A5G — minerální roztok + 2 g fosforitu + půdní infúze + 10 g glukózy,
- A1S — minerální roztok + 2 g fosforitu + půdní infúze + 2 g škrobu,
- A5S — minerální roztok + 2 g fosforitu + půdní infúze + 10 g škrobu.

Každá varianta měla tři opakování. Erlenmayerovy láhve pak byly přeneseny do termostatu nastaveného na teplotu 28 °C a připojeny na provzdušňovací zařízení, které na dno každé láhve vřánělo vzduch ovlhčený na 100% relativní vlhkost a zbařený CO₂. Průtok vzduchu byl upraven na 10 l/h. Takto inkubované varianty byly považovány za aerobní.

Druhý pokus byl založen stejně s tím rozdílem, že láhve byly uzavřeny vato-vou zátkou a neprovzdušňovány. Tento způsob inkubace byl označen za neprovzdušňovaný a varianty jsou označeny N, NK, NO atd.

Půdní infúze byly připraveny tak, že 15 g zeminy z orniční vrstvy parcely dlouhodobého pokusu v Ruzyni, hnojené maximálními dávkami kompostu, bylo 2 h třepáno ve 300 ml vody. Suspenze pak byla třikrát filtrována přes obvazovou vatu a k inokulaci láhvi byl použit 1 ml této suspenze.

Škrob byl přidán jednorázově na začátku pokusu, glukóza byla přidávána postupně. Na počátku 1 g a každých dalších 14 dní opět 1 g (variantám s 10 g glukózy byla tedy přidávána po dobu 4,5 měsíce).

Každých 14 dní bylo odebráno 5 ml vzorku, naředěno do 100 ml a bylo v něm stanoveno množství rozpustného fosforu metodou, kterou popsali Macháček a Kotek (1978).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky obou pokusů jsou sumarizovány v tab. I. Použitý Gafsa-fosforit obsahoval 25 % P₂O₅, takže do jedné láhve bylo přidáno 0,5 g P₂O₅, resp. 0,1395 g fosforu. V přepočtu na 5 ml toto množství činí 3,49 mg fosforu. Koncentrace rozpustného fosforu na začátku inkubace ve variantách obohacených půdní infúzí i fosforitem byla 26,75 µg/5 ml, ve variantě K, obsahující pouze půdní infúzi, 10 µg/5ml. Množství fosforu rozpustného ve vodě pocházející z fosforitu činilo tedy 16,7 µg/ 5ml, tj. 0,48 % dodaného fosforu.

Všechny varianty bez organického substrátu (AK, AO, NK a NO), které se lišily jednak způsobem inkubace (aerobní, neprovzdušňované), jednak přidavkem půdní suspenze, se v průběhu inkubace výrazně odlišovaly ve změnách koncentrace rozpustného fosforu. Tyto změny měly v jednotlivých variantách odlišné sekvence. Při aerobní inkubaci byl během celého sledovaného období překvapivě větší obsah rozpustného fosforu ve variantě bez půdního inokula. Rozdíly mezi jednotlivými variantami sice nebyly velké, maximální zjištěná hodnota 137,5 µg fosforu na 5 ml odpovídá 3,68 % dodaného fosforitu, avšak ve variantě, kde je možno předpokládat vyšší mikrobiální aktivitu (tj. v inokulované variantě), byl zjišťován nižší obsah rozpustného fosforu, což ukazuje na to, že větší část uvolněného fosforu byla imobilizována. Ve stejných variantách inkubovaných bez provzdušňování byla situace obdobná na počátku inkubace, avšak zhruba od poloviny sledovaného období byla vyšší koncentrace rozpustného fosforu ve variantě inokulované půdní suspenzí. Na konci pokusu bylo v této variantě zjištěno 141,3 µg fosforu na 5 ml, tj. více než dvojnásobek oproti neinokulované variantě. Příčinou tohoto vzrůstu byly pravděpodobně změny metabolismu přítomné mikroflóry, event. autolýzy buněk, jejichž důsledkem byl i pokles pH.

Obsah rozpustného fosforu ve variantách obohacených glukózou a aerobně inkubovaných byl velmi malý, prakticky na úrovni nebo pod úrovní výchozí koncentrace (s výjimkou poslední analýzy varianty obohacené 1 % glukózy). V tomto období (20 týdnů po přidání druhé části glukózy) došlo pravděpodobně k rozsáhlému rozkladu vytvořené bio-

I. Obsah rozpustného fosforu v tekuté kultuře půdních mikroorganismů — The content of soluble phosphorus in a liquid culture of soil microorganisms

Varianta		$\mu\text{g P}$ na 5 ml roztoku — doba inkubace (týdny)										pH
		2	4	6	8	10	12	14	16	18	22	
Aerobní	K	2,5	3,0	4,0	3,5	7,0	7,0	8,0	2,0	8,5	5,0	4,6
	AK	16,3	72,5	34,0	85,0	56,25	31,0	25,0	137,5	37,0	64,0	7,7
	A0	5,0	22,5	12,0	36,0	45,0	24,5	32,5	37,5	10,0	37,5	7,6
	A1G	4,7	18,0	9,5	24,0	26,0	12,5	7,0	30,0	20,0	118,8	7,6
	A5G	8,0	20,0	9,5	12,5	11,0	5,5	4,5	7,5	7,0	7,0	7,5
	A1S	300,0	160,0	41,0	33,0	24,0	19,0	7,0	18,0	7,0	20,0	7,7
	A5S	718,8	600,0	540,0	775,0	980,0	560,0	1125,0	640,0	870,0	1000,0	4,4
Anaerobní	NK	9,3	45,0	36,0	15,0	62,5	36,5	16,0	92,5	29,0	65,5	7,4
	N0	4,0	14,0	13,5	11,5	72,5	30,0	38,5	80,0	42,0	141,3	6,9
	N1G	23,3	120,0	26,5	64,0	47,0	32,5	22,5	92,5	32,5	50,0	7,8
	N5G	23,3	115,0	39,5	90,0	217,5	375,0	406,3	385,0	387,5	560,0	4,3
	N1S	182,5	190,0	170,0	45,0	113,8	21,0	20,5	145,0	40,5	227,5	7,4
	N5S	368,8	515,0	525,0	775,0	900,0	1070,0	1325,0	1110,0	1130,0	1040,0	3,7

Obsah rozpustného fosforu ve vzorku obohaceném fosforitem, glukózou a půdní infúzí na počátku inkubace byl 26,75 $\mu\text{g P}$ na 5 ml

masy, přičemž se uvolnil fosfor z organických vazeb. Hodnota pH v tomto období oproti variantě obohacené 5 % glukózy mírně vzrostla (snad v důsledku uvolněního amoniaku), takže je nepravděpodobné, že by uvolněný fosfor pocházel z dodaného fosforitu.

V neprovzdušňovaných variantách obohacených glukózou vzrostl obsah rozpustného fosforu po čtyřech týdnech inkubace zhruba na 120 $\mu\text{g}/5$ ml. Tento vzrůst pokračoval dále po přidání dalších částí glukózy ve variantě obohacené 5 % glukózy a souvisel zřejmě s poklesem pH; ve variantě obohacené 1 % glukózy se zastavil a koncentrace rozpustného fosfátu dále kolísala, pravděpodobně v souladu s cykly rozkladu a nové syntézy mikrobiální biomasy.

Obdobné výsledky jsme získali i u variant obohacených škrobem. Vzrůst koncentrace rozpustného fosforu (a pokles pH) byl v počátečním období rychlejší proto, že celá dávka škrobu byla aplikována na začátku pokusu. V neprovzdušňovaných variantách bylo opět množství rozpustného fosforu uvolněné z mletého fosforitu větší než v aerobních variantách. Ve srovnání s variantami obohacenými postupně dodávanou glukózou bylo množství uvolněného rozpustného fosforu větší než ve variantách obohacených jednorázově škrobem. Maximální množství rozpustného fosforu bylo zjištěno ve variantě obohacené bez provzdušňování po 14 týdnech (1325 $\mu\text{g}/5$ ml, tj. téměř 38 % dodaného fosforitu). Hlavní příčinou tohoto velmi rozsáhlého rozkladu mletého fosforitu byla nepochybně produkce organických kyselin, které dodaný fosforit částečně hydrolyzovaly. Gafsa-fosfát je tzv. měkký fosfát, jeho krystalická mřížka je otevřenější než mřížka hydroxylapatitů, a proto je relativně dobře přístupná výměnným reakcím. Kromě toho Gafsa-fosfát obsahuje velký podíl karbonátu, má-li se uvolnit rozpustný ortofosfát, musí být tyto karbonáty předem odstraněny, a to je možné minerálními nebo organickými kyselinami.

Výsledky také potvrdily možnost mikrobiálního rozkladu nerozpustných anorganických forem fosforu. Tento proces může probíhat velmi rychle (po 14 dnech aerobní inkubace varianty obohacené 5 % škrobu bylo v kultivačním médiu rozpuštěno 718,8 μg fosforu na 5 ml, tj. 20,6 % dodaného fosforitu) a může dosáhnout značného rozsahu, téměř 38 % dodaného fosforitu.

Literatura

- DOMMERGEUS, Y. — MANGENOT, F.: *Ecologie microbienne du sol*. Paris, Masson et Cie 1970.
- FÖRSTER, I.: *Mikrobielle Phosphormobilisierung im Boden*. Martin Luther Universität Halle/Saale, 1983.
- HAVELKA, B.: *Hnojiva fosforečná*. In: HAVELKA, B. a kol.: *Výživa rastlín a hnojenie*. Bratislava, Příroda, Praha, SZN 1979.
- KOLÁŘ, L.: *Pohyb a formy N a P v půdně klimatických podmínkách oblasti Šumavy z aspektu ochrany povrchových a spodních vod a lepšího využití živin rostlinami*. [Závěrečná zpráva.] Praha, VŠZ, České Budějovice, PEF 1983.
- KUBÁT, J. — NOVÁK, B. — PIRKL, J. — MACHÁČEK, V.: *Rock phosphate solubilization in cattle slurry*. Zbl. Mikrobiol., 140, 1985, s. 449-454.
- KUNTZE, H. — SCHEFFER, B.: *Die Phosphatmobilität im Hochmoorboden in Abhängigkeit von der Düngung*. Z. Pfl.-Ernähr. Bodenkde., 142, 1979, s. 155-168.
- MACHÁČEK, V. — KOTEK, J.: *Zkušnosti s potenciometrickou metodou stanovení fosforu*. Agrochemie, 16, 1978, s. 93-94.

NOVÁK, B.: Vliv humusových látek na změny agrochemických vlastností půdy. *Agrochémia*, XIII, 1973, č. 11, s. 335-336.
VOPLAKAL, K.: Účinek aplikace lehce rozložitelných organických látek na chování půdního fosforu. In: *Věd. Práce VÚZZP*, 2, 1984, s. 42-47.

Došlo dne 13. 5. 1987

КУБАТ, Я. — НОВАК, Б. — КАЛИНОВА, С. (Научно-исследовательский институт растениеводства, Прага - Рузыне): Разложение микромолотого Гафса-Фосфорита почвенными микроорганизмами. *Rostl. Výr.*, 33, 1987 (11) : 1183-1188.

В лабораторных условиях испытывали возможность микробного разложения микромолотого Гафса-Фосфорита. Как установлено, в жидкой, обогащенной орг. субстратом и инокулированной почвенной инфузией культуре скорость разложения высокая: за 22 недели инкубации при 28 °C разложилось до 38 % добавленного фосфорита. В вариантах без вдувания воздуха интенсивность разложения больше. Разложение фосфорита связано прежде всего с понижением pH культуры, тогда как роль других возможных механизмов гораздо меньше.

микромолотый фосфорит; микробное высвобождение фосфора

KUBÁT, J. — NOVÁK, B. — KALINOVÁ, S. (Research Institute of Crop Production, Praha-Ruzyně): *Solubilization of Gafsa Rock Phosphate by Soil Microflora*. *Rostl. Výr.*, 33, 1987 (11) : 1183-1188.

A possibility of microbial solubilization of the Gafsa rock phosphate was tested in laboratory experiments. The rock phosphate added to liquid culture enriched with organic substrate and inoculated with soil suspension was rather quickly solubilized. During 22 weeks of incubation at 28 °C, up to 38 % of the rock phosphate was released into solution. The rate of solubilization in anaerobic variants was higher than in the aerobic ones. The decomposition of the rock phosphate was dependent on a decrease in the pH value in the culture; the role of other mechanisms was substantially lower.

rock phosphate; microbial solubilization of phosphorus

KUBÁT, J. — NOVÁK, B. — KALINOVÁ, S. (Forschungsinstitut für Pflanzenproduktion, Praha-Ruzyně): *Zerlegung des mikrogemahlenen Gafsa-Phosphorits durch Bodenmikroflora*. *Rostl. Výr.*, 33, 1987 (11) : 1183-1188.

In Laborversuchen wurde die Möglichkeit einer mikrobiellen Zerlegung des mikrogemahlenen Gafsa-Phosphorits überprüft. Es konnte festgestellt werden, daß in einer mit organischem Substrat bereicherten und durch Bodeninfusion inokulierten flüssigen Kultur die Geschwindigkeit der Zerlegung des Phosphorits sehr hoch ist; während 22 Inkubationswochen bei 28 °C wurden bis 38 % des zugeführten Phosphats zerlegt. In unbelüfteten Varianten war die Zerlegungsintensität höher als in belüfteten Varianten. Die Zerlegung des Phosphorits hing vor allem mit einem Abfall des pH-Wertes der Kultur zusammen, die Rolle der anderen weiteren möglichen Mechanismen war wesentlich geringer.

mikrogemahlener Phosphorit; mikrobielle Freisetzung des Phosphors

Adresa autorů:

Ing. Jaromír Kubát, CSc., doc. dr. ing. Bohumír Novák, DrSc., ing. Suzana Kalinová, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

METODA STANOVENÍ INTENZITY ROZKLADU CELULÓZY JAKO INDIKÁTORU BIOTECHNOLOGICKÝCH PROCESŮ

S. Bönischová, J. Pokorná

BÖNISCHOVÁ, S. — POKORNÁ, J. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně): *Metoda stanovení intenzity rozkladu celulózy jako indikátoru biotechnologických procesů*. Rostl. Vyr., 33, 1987 (11) : 1189-1196.

Stanovení intenzity rozkladu celulózy je důležitým testem pro sledování biologické aktivity půdy, používaným na našem pracovišti, a lze ho dobře využít při vyhodnocení biotechnologických zásahů do půdy. Jeho nevýhodou však je velká pracnost, a tím malé využití pro sériová stanovení. Tento nedostatek z velké části odstraňuje námi vypracovaná metoda stanovení intenzity rozkladu celulózy s použitím silonových sáčků. Její výhodou je, že umožňuje místo jednoho vzorku zpracovat najednou 15 až 20 vzorků a odstraňuje několik dalších operací (dekantaci, filtraci, promývání celulózy vařící vodou ze stříčky).

celulóza; celulózytický test; silonové sáčky; kejda; půda; biotechnologické procesy

Základním předpokladem vysokých výnosů pěstovaných plodin jsou úrodné půdy s dostatkem živin, organických látek a rozmanitou půdní mikroflórou.

Součástí všech organických látek přicházejících do půdy je celulóza (představuje až 40 % suché hmoty). Čistá celulóza je poměrně odolná vůči chemickým a biochemickým vlivům; přesto se v přírodě nehromadí, ale činností celulólytických mikroorganismů se rozkládá až na glukózu, která je dále metabolizována. Z půdních mikroorganismů se na rozkladu celulózy podílejí hlavně myxobaktérie a mikromycety, méně již aktinomycety a baktérie.

Intenzita rozkladu celulózy závisí na celé řadě faktorů:

— na složení substrátů obsahujících celulózu, např. celulóza ve tkáních se rozkládá rychleji, zatímco celulóza s ligninem se rozkládá pomaleji; dále záleží na přítomnosti dusíku, který rozklad urychluje, proto rostliny obsahující dusík v listech (listový opad) se rozkládají rychleji než rostliny, které dusík ukládají v semenech (obiloviny) a ve slámě ho zůstane málo; proto je potřebné pro urychlení rozkladu slámy při jejím zaorání přidat dusík (např. kejdiváním), jak uvádějí Went, Jong (1966); Novák, Nováková (1968); Malkomes (1982); Nováková (1982) aj.;

— na podmínkách prostředí, zejména ekologických; jako hlavní se považuje teplota půdy; při nízkých teplotách blízkých bodu mrazu je rozklad nepatrný a při vyšších teplotách je rychlejší; optimum (Napleková, 1965; Pokorná-Kozová, Bönischová-Franklová, 1981) je mezi 20 až 30 °C; dalším důležitým faktorem je vlhkost — čím vyšší je vlhkost, tím větší je aktivita mikroflóry; tato závislost však platí do vlhkosti 70 až 80 % plné vodní kapacity a při jejím překročení se rozklad celulózy zpomaluje (Szegei, 1974), což je způsobeno ne-

dostatkem kyslíku a ne nadbytkem vlhkosti (Seifert, 1974; Školek, 1981);

— na půdní reakci, která rozhoduje o tom, zda se při rozkladu prosadí mikromycety při nižším pH nebo myxobaktérie, které vyžadují vyšší pH (Stutzenberger et al., 1970; Rückert, 1979 aj.).

Vzhledem k velké produkci celulózy v přírodě je její rozklad nejdůležitějším procesem pro udržení rovnováhy mezi mineralizací a syntetickými pochody v půdě. Faktory podmiňující intenzitu rozkladu celulózy jsou potřebné pro rozvoj biologie půdy, což umožňuje využít intenzitu rozkladu celulózy jako testu ke stanovení schopnosti půdy rozkládat uhlíkaté látky s ohledem na dostatečnou zásobu pohotového dusíku v půdě.

Proto byly na našem pracovišti vypracovány metody, které využijeme jako testy ke stanovení biologické hodnoty půdy vlivem biotechnologických zásahů do půdy (Pokorná-Kozová et al., 1981). Jde o komplex těchto metod: respirometrický test, amonizační test, nitrifikační test a celulózolytický test, který je pro stanovení biologické aktivity jedním z nejdůležitějších. Jeho základem je stanovení bazální hodnoty intenzity rozkladu celulózy a hodnoty potenciální s obohacením dusíkem, čímž se stanoví i potřeba fyziologicky využitelného dusíku. Nevýhodou tohoto testu je však velká pracnost, a tím i malá expeditivnost, což nás vedlo k vypracování zlepšeného pracovního postupu ZN 28/86 VÚRV, při kterém je možné za daleko kratší dobu zpracovat větší množství vzorků jak při úspoře energie, tak i materiálu.

MATERIÁL A METODY

Použité roztoky: 0,2 N NaOH, 0,2 N HCl, agarové půdy, roztok AgNO_3 , roztok $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Materiál: polyetylenové misky s víčkem, Petriho misky, kádinky, nálevky, pipety, Erlenmeyerovy baňky, kotoučky filtračního papíru Whatman č. 2 označené A, filtrační papír — výřezy označené B, silonové kotoučky.

Metody:

1. Původně používané stanovení intenzity rozkladu celulózy (Pokorná-Kozová, 1963, 1965, 1968) se dělí na dvě části:

— V první části se vkládá zvážený vysterilovaný celulózový kotouček A na agarové plotny nebo do zeminy a po inokulaci se nechá inkubovat.

— Ve druhé části se po určené době inkubace stanoví množství nerozložené celulózy, které se odečte od dodané celulózy a rozdíl představuje celulózu rozloženou.

Pracovní postup uvádějí Pokorná-Kozová et al. (1981).

2. Stanovení sušiny se provádí u sledovaného vzorku vysušením při 105 °C do konstantní hmotnosti.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Celulóza se rozkládá řadou mikroorganismů, zejména myxobaktériemi, které se ve zvýšeném množství vyskytují v půdách hnojených statkovými hnojivy (Pokorná-Kozová, 1970, 1974, 1979). Jsou proto charakteristické pro organicky dobře vyhnojené půdy.

Celulolytickým testem sledujeme jejich výskyt a intenzitu rozkladu na celulózovém agaru pro mikromycety. Po stanovení intenzity rozkladu celulózy hodnotíme poměr myxobaktérií k mikromycetám. Je-li tato hodnota vyšší než jedna, podílí se na rozkladu celulózy více myxobaktérie a opačně.

Z hlediska úrodnosti půdy je však důležitý rozklad celulózy v přiro-

zených půdních podmínkách, kde se uplatňuje nejen chemické složení substrátu, ale také vlastnosti půdy, její fyzikální a chemické složení, provzdušnění, vlhkost a teplota, pH apod.

Působí zde celý komplex faktorů. Celulózolytickým testem lze poměrně spolehlivě sledovat, kromě schopnosti rozkládat celulózu, i fyziologickou přístupnost dusíku. Proto se provádí stanovení intenzity rozkladu celulózy v zemině bez přídatku dusíku (hodnota C_B) a s přídatkem dusíku (hodnota C_N). Po stanovení intenzity rozkladu celulózy se vypočítá kvocient $C_N : C_B$, který je tím vyšší, čím méně je v půdě fyziologicky využitelného dusíku (P o k o r n á - K o z o v á et al., 1981).

Z celého stanovení je pracovní nejnáročnější stanovení zbytku nerozložené celulózy.

Podarilo se nám vypracovat zlepšení celulózolytického testu, kterým se snižuje pracnost a zvyšuje se bezpečnost práce.

Základem vypracování změněné metody je použití silonových sáčků, do kterých se vpraví zbytek nerozložené celulózy, ať již ze zeminy, nebo z agaru (společně s agarem), a sáček se uzavře. Tyto sáčky mohou být podrobeny chemickým procedurám v sériích obsahujících nejméně 15 až 20 vzorků najednou, neboť průhledná a propustná silonová tkanina, prodávaná pod názvem monofil, snese vaření jak v NaOH tak i v HCl bez poškození.

Sáčky jsme zhotovili svářením proužků této tkaniny o šířce 8 cm a délce 20 cm svářečkou použitelnou pro polyetylén, které jsme přeložili tak, že vznikla asi 2 cm široká klopna (obr. 1).

K popisu sáčků lze použít černou tužku Centrofix-Permanent (s lihovou náplní), který vařením v NaOH a HCl nemizí.

Dále bylo třeba vyřešit uzavírání sáčků. Z různých způsobů, kdy jsme bez úspěchu zkoušeli použít tzv. kancelářské sešíváčky (silonová tkanina se však drátky nepropíchlá), dále kancelářských spisových spon hliníkových i z PVC, se nejlépe osvědčilo dvojí přehnutí klapny a jednoduché zastehování nití z umělého hedvábí nebo silonu (obr. 2). I když se toto uzavření zdá být primitivní, vyhovuje, protože nepropouští vlákna celulózy.

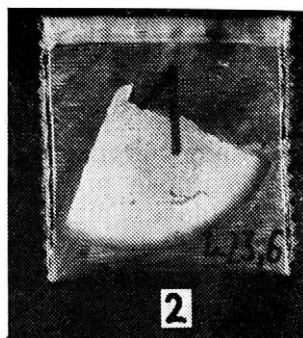
Nový pracovní postup je následující: Uzavřené silonové sáčky s celulózou se po 15 až 20 kusech vaří 20 minut v roztoku NaOH ($c = 0,2$ mol/l), potom se třikrát propláchnou v horké destilované vodě a vaří opět 20 minut v roztoku HCl ($c = 0,2$ mol/l). Nakonec se promyjí ve vařící destilované vodě až do negativní reakce na chlór. Suší se zavěšené při 35 °C. Vysušené sáčky s celulózou (obr. 3) se zváží a odečtením hmotnosti sáčku získáme hmotnost nerozložené celulózy; jejím odečtením od hodnoty dodané celulózy stanovíme hmotnost rozložené celulózy.

Nový pracovní postup proti původnímu podstatně urychluje stanovení tím, že místo jednoho zpracovává najednou 15 až 20 vzorků s větší přesností než u původního stanovení, ale i tím, že odstraňuje další náročné pracovní operace jako šestinásobnou dekantaci, kvantitativní vpravení zbylé celulózy u jednotlivých vzorků do nálevky s filtračním papírem, filtraci a hlavně promývání celulózy na filtrech vařící destilovanou vodou pomocí skleněné stříčky (jako nebezpečný postup z důvodu možnosti opaření).

Kromě toho, že nový způsob urychluje stanovení, šetří energii a ma-



1. Silonový sáček s klapnou otevřený — A silon bag with a flap, open



2. Silonový sáček s vloženou celulózou na agaru a uzavřený zastehováním — A silon bag with cellulose on agar, closed by stitching



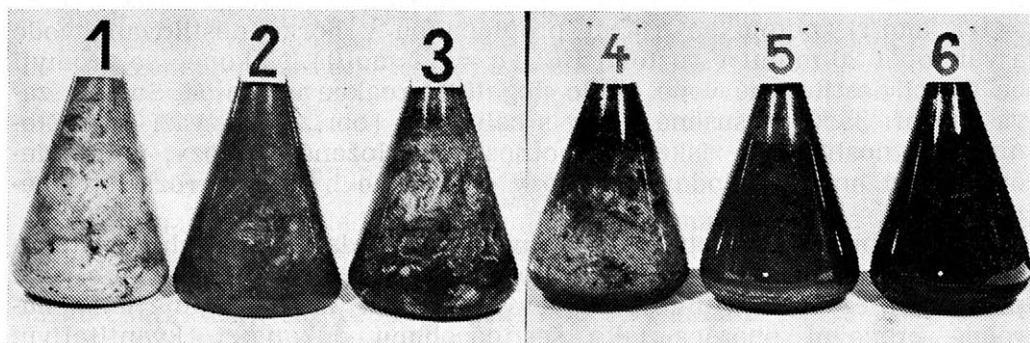
3. Silonový sáček s nerozloženou celulózou po vysušení — A silon bag with undecomposed cellulose after drying

teriál (ZN 28/86 VÚRV), umožňuje použití celulózolytického testu jako indikátoru biotechnologických procesů v různých pevných a tekutých materiálech, jako jsou kejdy, komposty, hnůj, zemina apod. Tuto metodu jsme prověřili v modelovém pokusu s rozkladem celulózové stříže za přítomnosti kejdy skotu a prasat se zeminou a bez zeminy. Výsledek pokusu ukazuje, že pro rozklad celulózy nestačí jen živiny a mikroorganismy nacházející se v kejdech, ale jsou nezbytně nutné mikroorganismy půdní. Stav pokusných variant po skončení pokusu ukazuje obr. 4.

Pokusné varianty byly tyto:

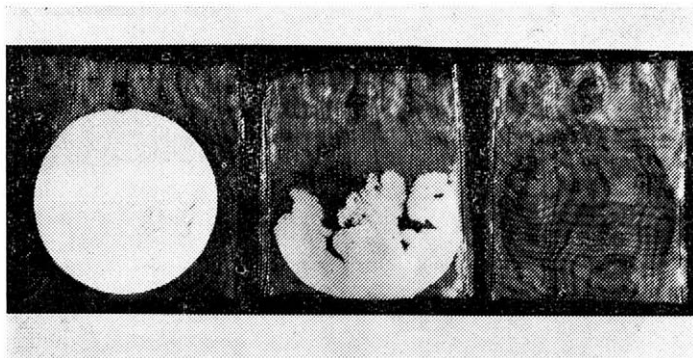
- | | |
|---|--|
| 1 — kontrolní (stříž + N + H ₂ O); | 4 — stříž + N + H ₂ O + zemina; |
| 2 — stříž + kejda skotu; | 5 — stříž + kejda skotu + zemina; |
| 3 — stříž + kejda prasat; | 6 — stříž + kejda prasat + zemina. |

U variant 1, 2, 3 (bez zeminy) nenastal žádný rozklad nebo jen minimální, zatímco u variant 4 a zejména 5 a 6 (kejda s přidavkem zeminy) je celulóza nejen beze zbytku rozložena, ale i zhumifikovaná. Navíc

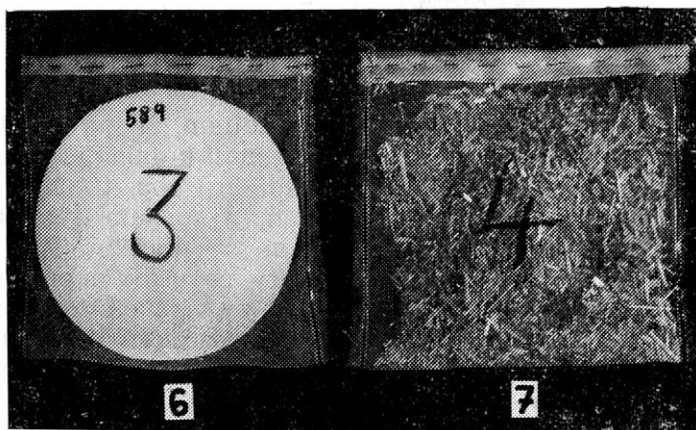


4. Varianty modelového pokusu s přidavkem kejdy skotu a prasat na rozklad celulózové stříže bez zeminy (var. 1 až 3) a s přidavkem zeminy (var. 4 až 6) — Variants of the model trial with an addition of cattle slurry and pig slurry to test the decomposition of cellulose staple without soil (var. 1 to 3) and with an addition of soil (var. 4 to 6)

5. Použití silonových sáčků k testování rozkladu celulózy u var. 3 až 5 — The use of silon bags for the testing of cellulose decomposition in var. 3 to 5



6. Sáčky s celulózą a mletou slámou pro použití k testování v přirozených půdních podmínkách — Bags with cellulose and ground straw to be used for tests under natural soil conditions



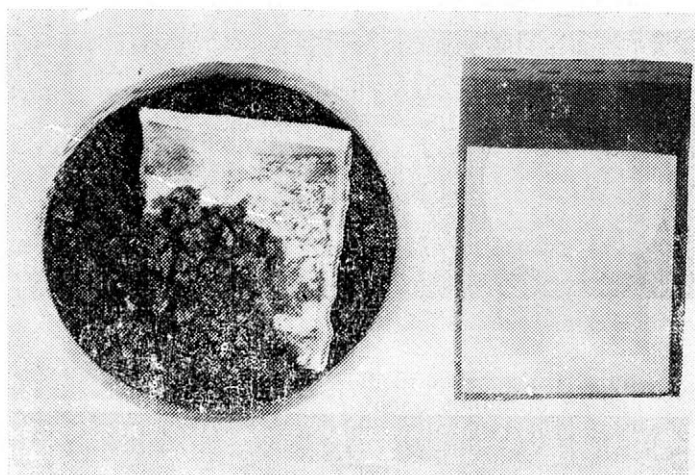
mikroflóra zeminy zde přežívá velmi dlouho a je i po mnoha letech schopna rozložit další dodané množství celulózy. To jsme prokázali testem, kde jsme použili námi vyrobené silonové sáčky s celulózą, uzavřené silonovou nití a zavěšené do nádob (obr. 5). Je zde zřetelně demonstrována schopnost rozkladu celulózy v těchto materiálech, kde např. v sáčku varianty 5 byla vložena beze zbytku rozložená celulóza.

Při rozpracování této metody se ukázaly další možnosti jejího využití v modelových, nádobových i polních pokusech, kde lze k testování použít jak celulózu, tak i jiných materiálů, např. mleté pšeničné slámy (obr. 6).

Prozkoušeli jsme rovněž použití sáčků s filtračním papírem přímo k inkubaci v zemině při provádění celulózolytického testu v laboratorních podmínkách (obr. 7) za účelem urychlení tohoto stanovení. Po inkubaci se předem zvážené sáčky s celulózą vyjmou ze zeminy, pečlivě očistí a vkládají přímo do horkého roztoku NaOH a dále se postupuje podle popsané metodiky.

Těchto sáčků lze i dobře využít při stanovení intenzity rozkladu celulózy v přirozených půdních podmínkách, kde je však vhodnější použít pevnější silonovou tkaninu s obchodním názvem Uhelon.

Metodu vkládání silonových sítěk s celulózą nebo s přirozenými rostlinnými materiály používala řada autorů (Úlehlová, 1965; 1979; Tesařová, 1971; Tesařová, Úlehlová, 1968; Líška, 1982;

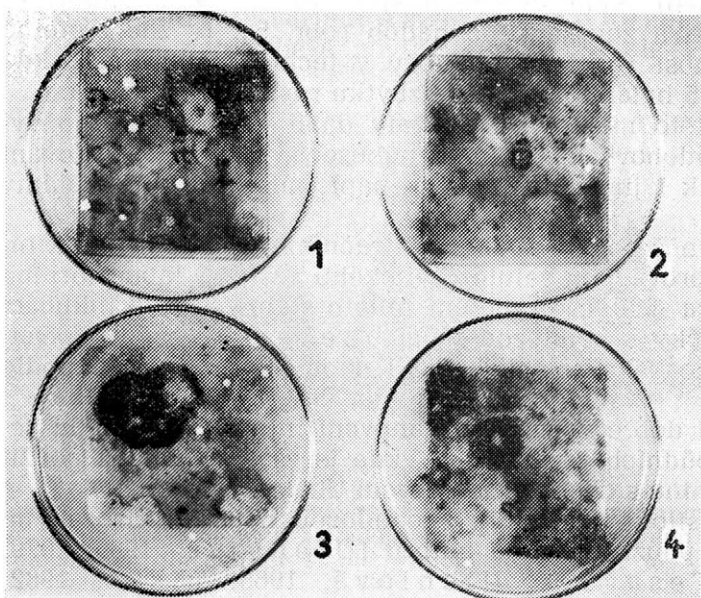


7. Sáček s celulózou a jeho použití v zemině ke stanovení intenzity rozkladu celulózy v laboratorních podmínkách — A bag with cellulose and its use in the soil for the determination of the rate of cellulose decomposition under laboratory conditions

Ondrášek, 1983) s tím rozdílem, že po inkubaci v půdě zbytky nerozložené celulózy ze sítěk vyjímali k dalšímu stanovení.

Velmi dobře se nám osvědčilo i použití sáčků s celulózou k inkubaci přímo na agarových deskách, a to jak u celulózových bakterií, tak i u mikromycet. Obávali jsme se nepříznivého vlivu silonové tkaniny na růst mikroorganismů, který se však neprojevil, jak ukazuje obr. 8 (varianty 1, 2 — rozklad celulózy v sáčcích, varianty 3, 4 — bez sáčků). Porost je téměř shodný, rovněž tak intenzita rozkladu celulózy jak u celulózových bakterií, tak i u mikromycet (varianta 1 — 38,65; 2 — 36,98; 3 — 38,87 a 4 — 36,53 %).

Podstatným kladem této metody je její jednoduchost, rychlost a snadná dostupnost s ohledem na vybavení laboratoří, čímž je vhodná pro sériové rozborů a pomáhá tak většímu využívání biologických testů pro agronomické účely.



8. Použití celulózy a sáčků s celulózou ke stanovení rozkladu celulózy na agarových plotnách — The use of cellulose and bags with cellulose for the determination of cellulose decomposition on agar plates

Foto M. Novák, E. Havelková

Literatura

- LÍŠKA, B.: Intenzita rozkladu celulózy pri rôznych spôsoboch obrábania pôdy. Rostl. Výr., 28, 1982, č. 12, s. 1255-1264.
- MALKOMES, H. P.: Einfluss eines Zuckerrüben-Herbizides auf die Mikroflora verschiedener Böden im Laborversuch. III. Zellulose- und Strohabbau sowie Stickstoff-Umsetzungen. Zbl. Mikrobiol., 137, 1982, s. 525-535.
- NAPLEKOVA, N. N.: Razloženiye cellulozy bakterijami pri raznyh temperaturach i različnyh istočnikach azota. Izv. Sib. Otd. AN SSSR, Ser. biol.-med. Nauk, 2, 1965, s. 49-52.
- NOVÁK, B. — NOVÁKOVÁ, J.: Der Einfluss verschiedener Glyzide auf die Humusbildung. Tagungsberichte (Dtsch. Akad. Landwirtsch.), 98, 1968, s. 135-142.
- NOVÁKOVÁ, J.: Einfluss von Tonmineralen auf die zellulolytische Aktivität des Bodens. In: Symp. Mikrobiologische Aspekte antropogener Bodenbeeinflussung, Reinhardtsbrunn, 1982.
- ONDŘÁŠEK, L.: Rozklad celulózy v lúčnej pôde pri diferencovanom spôsobe obhospodarovania trávneho porastu. Rostl. Výr., 29, 1983, č. 9, s. 963-972.
- POKORNÁ-KOZOVÁ, J.: Mikrobiologische Zellulosezersetzung unter natürlichen Bodenverhältnissen. Zbl. Bakt. Abt. 2, 116, 1963, s. 459-468.
- POKORNÁ-KOZOVÁ, J.: K metodice stanovení rozkladu celulózy. Rostl. Výr., 11, 1965, č. 10, s. 1089-1100.
- POKORNÁ-KOZOVÁ, J.: Beim Studium der Aktivität der zellulolytischen Mikroflora verwendete Methoden. Tagungsberichte (Dtsch. Akad. Landwirtsch.), 98, 1968, s. 35-43.
- POKORNÁ-KOZOVÁ, J.: Zersetzung der Zellulose bei verschiedener organischer Düngung. Zbl. Bakt. Abt. 2, 125, 1970, s. 471-477.
- POKORNÁ-KOZOVÁ, J.: Biological soil activity evaluated by means of the cellulolytic test. Rostl. Výr., 20, 1974, č. 8, s. 875-882.
- POKORNÁ-KOZOVÁ, J.: Mikrobiální přeměny organických látek při různém organickém hnojení. Rostl. Výr., 25, 1979, č. 11, s. 1113-1121.
- POKORNÁ-KOZOVÁ, J. — BÖNISCHOVÁ-FRANKLOVÁ, S.: Vlivy vlhkosti na rozložení cellulozy. In: Věd. Práce Výzk. Úst. rostl. Výr. Praha, 21, 1981, s. 151-160.
- POKORNÁ-KOZOVÁ, J. — NOVÁK, B. et al.: Zpřesněná metodika biologického hodnocení půdy. [Závěrečná zpráva.] Praha-Ruzyně, VÚRV 1981.
- RÜCKERT, G.: Myxobakterien-Artenspektren von Böden in Abhängigkeit von bodenbildenden Faktoren unter besonderer Berücksichtigung der Bodenreaktion. Z. Pfl.-Ernähr. Bodenkde, 142, 1979, s. 330-343.
- SEIFERT, J.: The effect of moisture on the degree of nitrification, CO₂ production and decomposition of cellulose in soil. Rostl. Výr., 20, 1974, č. 5, s. 519-526.
- STUTZENBERGER, F. J. — KAUFMAN, A. J. — LOSSIN, R. D.: Cellulolytic activity in municipal solid waste composting. Can. J. Microbiol., 16, 1970, s. 553-560.
- SZEGI, J.: Abbau der Zellulose unter verschiedenem ökologischen Bedingungen. In: Trans. Int. Coll. Biodegradation et Humification, Nancy, 1974.
- ŠKOLEK, J.: Rozklad celulózy v pôde kvetnatých bučín chočských vrchov. [Biologické práce.] SAV, 2, (XXVII) 1981.
- TESAŘOVÁ, M.: Intenzita rozkladu celulózy v půdách některých lučních společenstev. [Kandidátská disertace.] Brno 1971.
- TESAŘOVÁ, M. — ŮLEHLOVÁ, B.: Abbau der Zellulose unter einigen Wiesen-gesellschaften. Tagungsberichte (Dtsch. Akad. Landwirtsch.), 98, 1968, s. 277-287.
- ŮLEHLOVÁ, B.: The soil microflora in plant communities of the undated meadows of the Morava and the Dyje River Valley. In: Plant-Microbe Relationships, Praha, Academia 1965.
- ŮLEHLOVÁ, B.: Release and uptake of mineral nutrients during the decomposition of plant litter in upland grasslands. In: Studies about Humus, Trans. Int. Symp. Humus et Planta VII, eds NOVÁK, B. et al.: Brno, 1979, s. 466-471.
- UNGER, H.: Der Zellulosetest, eine Methode zur Ermittlung der zellulolytischen Aktivität des Bodens in Feldversuchen. Z. Pfl.-Ernähr. Düng. Bodenkde, 91, 1960, s. 44-52.
- UNGER, H.: Ermöglicht der Zellulosetest neben der Erfassung quantitativer Unterschiede gleichzeitig qualitative Aussagen? Zbl. Bakt. Abt. 2, 116, 1963, s. 457-458.
- UNGER, H.: Arbeitsmethoden in der naturwissenschaftlichen und technischen Mikrobiologie. I. Der Gasenbeuteltest. Eine Methode zur quantitativen Erfassung der

biologischen Mineralisation organischer Substanzen im Boden. Zbl. Bakt. Abt. 2, 120, 1966, s. 61-79.
UNGER, H.: Über den Aussagewert der mit dem Gasebeuteltest erzielten Zelluloseabbauergebnisse. Tagungsberichte (Dtsch. Akad. Landwirtsch.), 98, 1968, s. 19-33.
WENT, J. — JONG, F.: Decomposition of cellulose in soils. Z. Antonie van Leeuwenhoek, 32, 1966, s. 39-56.

Došlo dne 13. 5. 1987

БЕНИШОВА, С. — ПОКОРНА, Я. (Научно-исследовательский институт растениеводства, Прага-Ружыне): Метод определения интенсивности разложения клетчатки как индикатора биотехнологических процессов. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1189-1196.

Определение интенсивности разложения клетчатки — важный тест при прослеживании за биоактивностью почвы, которым мы пользуемся в нашем институте и который хорошо служит для оценки биотехнологических вмешательств в грунт. Но его недостаток — в его трудоемкости и, следовательно, в непригодности для серийных работ. Именно наш метод устраняет в значительной мере этот недостаток. Он включает использование силоновых мешочков, что позволяет разработать вместо одного образца 15—20 сразу, причем отпадают некоторые другие операции: декантирование, фильтрация, промывка клетчатки кипятком из шприца.

клетчатка; целлюлозолитический тест; силоновые мешочки; кейда; почва; биотехнологические процессы

BÖNISCHOVÁ, S. — POKORNÁ, J. (Research Institute of Crop Production, Praha-Ruzyně): A Method of Determining Cellulose Decomposition as an Indicator of Biotechnological Processes. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1189-1196.

Determining the rate of cellulose decomposition is an important test for the study of the biological activity of the soil; this test is employed in the Research Institute of Crop Production in Prague. It can be used with advantage for an evaluation of the biotechnological treatment of the soil. Unfortunately, it is very laborious and therefore it cannot be normally used for routine determinations. However, this drawback is largely removed by a new elaborated method of determining the rate of cellulose decomposition by means of silon bags. Its main advantages are that fifteen to twenty samples can be processed at the same time, instead of one, and that several other operations are eliminated (decantation, filtering, cellulose washing with boiling water from the rinsing bottle).

cellulose; cellulolytic test; silon bags; slurry; soil; biotechnological processes

BÖNISCHOVÁ, S. — POKORNÁ, J. (Forschungsinstitut für Pflanzenproduktion, Praha-Ruzyně): Methode zur Bestimmung der Intensität des Zelluloseabbaus als Indikator biotechnologischer Prozesse. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1189-1196.

Die Bestimmung der Intensität der Zelluloseabbauprozesse ist ein wichtiger Test für die Untersuchung der biologischen Bodenaktivität der auf unserer Arbeitsstätte ausgenutzt wird und der bei der Bewertung der durchgeführten biotechnologischen Eingriffe in den Boden erfolgreich genutzt werden kann. Sein Nachteil besteht in einem zu großen Arbeitsaufwand und damit in einer begrenzten Ausnutzung für die Serienbestimmung. Die von uns ausgearbeitete Methode zur Bestimmung der Intensität des Zelluloseabbaus unter Anwendung von Silonbeuteln schafft diesen Nachteil größtenteils ab. Ihr Vorteil besteht darin, daß sie ermöglicht, anstatt einer Probe 15 bis 20 Proben auf einmal zu bearbeiten und daß sie einige weitere Operationen überflüssig macht (Dekantation, Filtration, Durchwaschen der Zellulose mit Heisswasser aus Spritzflasche).

Zellulose; zelluloselytischer Test; Silonbeutel; Gülle; Boden; biotechnologische Prozesse

Adresa autorek:

Ing. Soňa Bönischová, RNDr. Jaroslava Pokorná, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6 - Ruzyně

VLIV HUMUSOVÉHO KONCENTRÁTU NA RŮST ROSTLIN V POČÁTEČNÍM OBDOBÍ VEGETACE

V. Vrba

VRBA, V. (Státní statek Most): *Vliv humusového koncentrátu na růst rostlin v počátečním období vegetace*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1197-1206.

Humusový koncentrát, definovaný jako alkalický extrakt oxihumolitu, byl testován v laboratorních pokusech na klíčících rostlinkách kukuřice a v nádobovém pokuse na pšenici ozimé v prvních třech týdnech vegetace. Výsledky pokusů prokázaly vliv preparátu na růst kořenů do délky i na zvýšení hmotnosti jejich sušiny. Poměr sušin nadzemních částí ke kořenům se v prvních 14 dnech kultivace proti kontrole snižoval, později došlo k jeho zvýšení. Stimulační působení humusového koncentrátu na tvorbu sušiny nadzemních částí rostlin se projevuje až po uplynutí určité doby. V pokuse s pšenicí ozimou se zřetelně projevilo po 21 dnech vegetace. Humusový koncentrát zlepšil účinnost stopových prvků a částečně zvyšoval odolnost mladých rostlin proti minerálnímu stresu. Velikost efektů preparátu závisela na ostatních podmínkách kultivace. Z toho usuzujeme, že účinnost humusového koncentrátu je podmíněna jeho interakcemi s ostatními vegetačními faktory, především s minerální výživou rostlin.

humusový koncentrát; růst kořenů; minerální výživa rostlin; stopové prvky; minerální stres

Průběh raných růstových fází má značný význam pro další růst rostliny po celé vegetační období i pro tvorbu hospodářského výnosu.

Dostál (1959) považuje za prakticky významný úkol rostlinné fyziologie podle potřeby měnit poměr mezi kořenem a lodyhou, protože na tomto poměru velkou měrou závisí produktivnost rostlin. Podle téhož autora působí zevní vlivy na kořeny bezprostředněji než organické látky z nadzemních částí rostlin, takže můžeme kořenový systém považovat za nejplastičtější část rostliny.

Bláha, Toman (1980) uvádějí, že čím je odrůda výkonnější, tím více zásobních látek je v počáteční fázi vývoje transportováno do kořínků. Autoři prokázali u pšenice ozimé pozitivní korelaci mezi poměrem hmotnosti sušin kořínků a klíčků pátý den vegetace a hospodářským výnosem odrůdy.

Funkcí kořene ve výživě rostlin se zabývala řada autorů. Například Mengel (1974) zjistil, že přístupnost živin se pro rostliny zvyšuje v závislosti na tom, jak velký objem půdy je prostoupen kořeny. Maertens, Bosc (1976) považují za hlavní faktory vývoj kořenů a jejich absorpční schopnost.

V těchto souvislostech posuzujeme možnosti ovlivnění růstu kořenové hmoty rostlin vodorozpustnými humusovými látkami. Kladný vliv Na-humátu na růst kořenů do délky popsala již dříve Šmídová (1960).

V pokusech, které uveřejnila Christěva (1957), reagovala na humáty prodloužením kořenů pšenice ozimá, ječmen jarní i kukuřice. Le-maire (1971), uvádí, že v pokusech s jíllem vzrůstala hmotnost kořenů s dávkou humusového extraktu. Naopak Činčerová (1971) zjistila, že aplikací humátů byl celkově více ovlivněn vzrůst výhonů než vzrůst kořenů.

V počátečních růstových fázích lze také efektivněji působit na regulaci růstu rostlin než v období pozdějším. Baier, Baierová (1987) např. uvádějí, že čím starší jsou rostliny, tím více je jejich výnos již předurčen a je obtížněji korigovatelný.

V naší práci jsme se zaměřili na hodnocení vlivu humusového koncentráту na vývoj kořenové soustavy rostlin a na analýzu růstu v počátečním období vegetace.

MATERIÁL A METODY

Humusový koncentrát použitý v našich pokusech je alkalický extrakt oxihumolitu. Je to viskózní kapalina s 20% obsahem sušiny, hodnotou pH 11 až 12 a specifickou hmotností 1,1 g/cm³. Účinnou složku tvoří vodorozpustné humusové látky s převahou alkalických humátů (poměr $hk : fk = 16 : 1$).

Problematika regulačního působení humusového koncentráту v počátečním období vegetace byla řešena v modelových pokusech na Petriho miskách a v nádobovém pokuse v zemině.

Laboratorní testy na Petriho miskách jsme zakládali s použitím kukuřice CE 250 jako testovacího organismu. Semena kukuřice byla kultivována po deseti na jednotlivých miskách v osminásobném opakování každé varianty. Kontrolní rostliny byly kultivovány v destilované vodě. Minerální látky jsme aplikovali většinou ve formě chloridů, bór ve formě kyseliny borité. Živný roztok podle Knopa jsme připravili standardním způsobem (Rubin, 1966). Humusový koncentrát jsme dodali v koncentracích 0,1 až 0,01 g sušiny na l. Pokusy byly umístěny v laboratoři při stálé teplotě 20 až 22 °C a hodnoceny byly po sedmi dnech kultivace proměřením kořínků, případně stanovením sušiny rostlin.

Nádobový pokus s pšenicí ozimou odrůdy 'Slavia' byl založen v nádobách s náplní 10 kg zeminy v sedminásobném opakování. Pokus byl umístěn ve skleníku a probíhal při teplotách kolem 18 °C.

Použitá zemina byla černozemního typu s následujícími agrochemickými charakteristikami: pH/KCl 7,0, obsah fosforu 325, draslíku 773 a hořčíku 252 mg/kg půdy. Obsahy stopových prvků manganu, zinku a mědi byly hodnoceny jako velmi vysoké.

Půda byla před vysetím pšenice pohnožena dusíkatým roztokem DAM — 390 v dávce dusíku 0,1 g/kg zeminy. Humusový koncentrát jsme použili v množství 0,01 g sušiny na 1 kg půdy.

Chemické analýzy rostlin provedla ZOL, Litoměřice standardními metodami, používanými v zemědělských oblastních laboratořích. Stopové prvky byly stanoveny atomovou absorpcí.

Statistická významnost rozdílů mezi dvěma variantami byla ve všech případech hodnocena *t*-testem. Významnost je značena obvyklým způsobem: + — významné pro $P = 0,05$ a ++ — významné pro $P = 0,01$.

VÝSLEDKY

V první části naší práce hodnotíme výsledky laboratorních testů na Petriho miskách, v nichž jsme účinnost humusového koncentráту testovali na kukuřici.

Tab. I uvádí výsledky pokusu, v němž jsme preparát aplikovali ve třech řadově odlišných dávkách do prostředí rovněž tří řadově odliš-

I. Účinnost různých koncentrací humusového koncentrátu (HK) v g/l na růst zárodečných kořínků kukuřice v různých koncentrovaných roztocích CaCl_2 (hodnocení po sedmi dnech vegetace; průměr v cm na jednu rostlinu) — The effectiveness of various concentrations of humus concentrate (HK) in g per l on the growth of the primordial roots of maize in CaCl_2 solution of different concentrations (evaluated after seven days of vegetation; average values in cm per plant)

Kombinace	Hlavní kořen (cm)	Celková délka kořenů (cm)
CaCl_2 (10^{-2} mol)	$5,5 \pm 3,0,3$	$11,5 \pm 3,0,8$
+ HK 1,0	$8,0 \pm 3,0,5^{++}$	$17,5 \pm 3,1,7^{++}$
+ HK 0,1	$8,0 \pm 3,0,4^{++}$	$16,0 \pm 3,1,2^{++}$
+ HK 0,01	$8,0 \pm 3,0,4^{++}$	$19,5 \pm 3,1,7^{++}$
CaCl_2 (10^{-3} mol)	$8,0 \pm 3,0,4$	$19,5 \pm 3,1,3$
+ HK 1,0	$12,0 \pm 3,0,6^{++}$	$31,5 \pm 3,2,3^{++}$
+ HK 0,1	$12,0 \pm 3,0,6^{++}$	$30,0 \pm 3,2,4^{++}$
+ HK 0,01	$12,0 \pm 3,0,4^{++}$	$29,5 \pm 3,1,9^{++}$
CaCl_2 (10^{-4} mol)	$10,5 \pm 3,0,4$	$17,0 \pm 3,0,8$
+ HK 1,0	$11,0 \pm 3,0,4$	$19,0 \pm 3,0,9$
+ HK 0,1	$12,0 \pm 3,0,4^{++}$	$18,5 \pm 3,0,9$
+ HK 0,01	$11,5 \pm 3,0,4$	$20,5 \pm 3,0,9^{++}$

II. Účinnost humusového koncentrátu (g/l) na růst zárodečných kořínků kukuřice v destilované vodě a v interakci s jednomocnými kationty (hodnocení po sedmi dnech kultivace; průměr v cm na jednu rostlinu) — The effectiveness of humus concentrate (g per l) on the growth of the primordial roots of maize in distilled water and in interaction with monovalent cations (evaluated after seven days of cultivation; average values in cm per plant)

Kombinace	Hlavní kořen	Celková délka kořenů
Destilovaná H_2O	$4,0 \pm 3,0,2$	$8,0 \pm 3,0,6$
+ HK 0,01	$5,0 \pm 3,0,3$	$8,0 \pm 3,0,9$
KCl (10^{-3} mol)	$4,5 \pm 3,0,3$	$9,5 \pm 3,0,7$
+ HK 0,01	$7,0 \pm 3,0,4^{++}$	$14,0 \pm 3,1,1^{++}$
KCl (10^{-4} mol)	$4,5 \pm 3,0,3$	$9,0 \pm 3,0,9$
+ HK 0,01	$8,5 \pm 3,0,6^{++}$	$17,0 \pm 3,1,8^{++}$
NH_4Cl (10^{-3} mol)	$1,5 \pm 3,0,1^{++}$	$2,5 \pm 3,0,3^{++}$
+ HK 0,01	$4,0 \pm 3,0,3^{++}$	$8,0 \pm 3,0,6^{++}$
HN_4Cl (10^{-4} mol)	$4,5 \pm 3,0,3$	$8,5 \pm 3,0,6$
+ HK 0,01	$9,0 \pm 3,0,6^{++}$	$20,0 \pm 3,1,8^{++}$

Statistická významnost roztoků solí vztažena na destilovanou vodu, statistická významnost u HK vztažena k příslušné koncentraci použité soli.

III. Účinnost humusového koncentráту (g/l) na růst zárodečných kořínků kukuřice v interakci s některými stopovými prvky (hodnocení po sedmi dnech kultivace; průměr v cm na jednu rostlinu) — The effectiveness of humus concentrate (g per l) on the growth of the primordial roots of maize in interaction with some trace elements (evaluated after seven days of cultivation; average values in cm per plant)

Kombinace	Hlavní kořen	Celková délka kořenů
B (10^{-3} mol)	$5,0 \pm 3,0,3$	9,0
+ HK 0,01	$10,0 \pm 3,0,6^{++}$	20,5
B (10^{-4} mol)	$6,0 \pm 3,0,4$	12,0
+ HK 0,01	$12,0 \pm 3,0,7^{++}$	31,5
Fe ³⁺ (10^{-3} mol)	$6,0 \pm 3,0,3$	13,0
+ HK 0,01	$8,0 \pm 3,0,5^{++}$	16,5
Fe ³⁺ (10^{-4} mol)	$5,5 \pm 3,0,4$	11,5
+ HK 0,01	$11,5 \pm 3,0,8^{++}$	30,5
Zn (10^{-3} mol)	0,0	0,0
+ HK 0,01	1,0	3,0
Zn (10^{-4} mol)	$7,5 \pm 3,0,5$	15,5
+ HK 0,01	$12,5 \pm 3,0,9^{++}$	31,0
Cu (10^{-3} mol)	0,0	0,0
+ HK 0,01	1,0	2,0
Cu (10^{-4} mol)	$4,0 \pm 3,0,4$	9,5
+ HK 0,01	$11,0 \pm 3,0,5^{++}$	26,0
Kontrola (destilovaná H ₂ O)	$6,0 \pm 3,0,3$	11,5

ných koncentrací CaCl₂. V koncentracích CaCl₂ 10^{-2} a 10^{-3} mol/l vykázaly všechny zkoušené dávky humusového koncentrátu prakticky shodný a vesměs statisticky významný efekt na prodlužovací růst kořínků. V nižších koncentracích CaCl₂ (10^{-4} mol/l) se efekt humusových látek snížil a statistická významnost rozdílů klesala.

V dalších pokusech jsme již používali jen nejnižší dávku humusového koncentrátu, která odpovídala koncentraci 0,01 g sušiny na l.

V tab. II je uvedeno působení preparátu na růst kořínků v destilované vodě a v různých koncentracích KCl a NH₄Cl. Z výsledků vyplývá, že v interakci s KCl působil humusový koncentrát vždy pozitivně, přičemž samotný KCl nevykazoval proti kontrole v destilované vodě průkazné rozdíly. Vyšší koncentrace amonného dusíku vyvolala v porovnání s poměry v destilované vodě významné snížení růstu kořínků, které aplikace preparátu odstranila a prodloužila kořínky na úroveň kontroly. V nižší koncentraci se pak projevilo významné stimulační působení humusového koncentrátu.

V dalším pokuse (tab. III) jsme sledovali interakci preparátu se stopovými prvky bórem, trojmocným železem, zinkem a mědí. Bór a železo v minerální formě nevykázaly proti kontrole v destilované vodě prak-

IV. Analýza tvorby sušiny klíčících rostlin kukuřice v roztoku CaCl_2 a v Knopově živném roztoku (průměrné hodnoty v mg na jednu rostlinu) — Analysis of the production of the dry matter of maize seedling plants in a CaCl_2 solution and in Knop's nutrient solution (average values in mg per plant)

Médium	Dny	Nadzemní část		Kořeny		Poměr sušiny nadzemní části ku kořenům	
		kontrola	HK	kontrola	HK	kontrola	HK
CaCl_2 (10^{-2} mol)	5	9,3	8,9	8,0	8,2	1,16	1,08
	6	20,6	19,2	13,0	13,8	1,58	1,39
	7	27,6	29,7	18,1	19,6	1,52	1,51
Knopův živný roztok	5	13,8	13,9	5,8	6,1	2,38	2,28
	6	24,0	25,9	9,1	10,0	2,64	2,59
	7	35,5	38,1 ⁺	12,0	13,4 ⁺	2,96	2,84

V. Analýza tvorby sušiny pšenice ozimé v nádobovém pokuse (průměrné hodnoty v mg na jednu rostlinu) — Analysis of the production of the dry matter of winter wheat in a pot trial (average values in mg per plant)

Dny vegetace	Kombinace	Nadzemní část	Kořeny	Poměr sušiny nadzemní části ku kořenům
10	kontrola	8,7	3,3	2,64
	HK	7,8	3,9	2,00
14	kontrola	17,5	5,9	2,97
	HK	17,9	7,0	2,56
21	kontrola	34,5	6,7	5,15
	HK	41,3 ⁺	7,2	5,74

tický žádné efekty na růst kořenů, v interakci s humusovým koncentrátem se však projevila výrazná stimulace prodlužovacího růstu kořenů. Vyšší koncentrace zinku a mědi vyvolaly totální inhibici růstu kořenů. Humusové látky inhibiční působení sice zcela neodstranily, projevilo se však jisté zlepšení růstu. V nižších koncentracích uvedených stopových prvků vykázal humusový koncentrát opět výrazné stimulační působení.

Analýza tvorby sušiny v rostlinkách kukuřice v pátém až sedmém dni vegetace (tab. IV) ukázala, že aplikace humusového koncentráty vykazuje tendenci relativně vyššího hromadění sušiny v kořincích než v nadzemních částech rostlin. Poměr sušiny nadzemních částí ke kořenům se snižoval.

Pokus probíhal ve dvou prostředích: jednak v roztoku CaCl_2 ($c = 0,01$ mol/l) o celkové koncentraci bezvodých solí 0,110 % a potom v kompletním Knopově živném roztoku o koncentraci bezvodých solí

VI. Akumulace makroelementů v sušině pšenice ozimé v nádobovém pokuse (průměrné hodnoty v mg na jednu rostlinu) — Macroelement accumulation in the dry matter of winter wheat in a pot trial (average values in mg per plant)

Dny vegetace	Kombinace		N	P	K	Ca	Mg
10	kontrola	nadzemní část	0,50	0,11	0,59	0,05	0,02
		kořeny	0,07	0,03	0,15	0,01	0,01
		celkem	0,57	0,14	0,74	0,06	0,03
	HK	nadzemní část	0,48	0,10	0,56	0,05	0,01
		kořeny	0,08	0,03	0,22	0,02	0,01
		celkem	0,56	0,13	0,78	0,07	0,02
14	kontrola	nadzemní část	0,93	0,20	1,09	0,10	0,03
		kořeny	0,18	0,04	0,30	0,02	0,02
		celkem	1,11	0,24	1,39	0,12	0,05
	HK	nadzemní část	1,01	0,22	1,16	0,09	0,03
		kořeny	0,20	0,05	0,38	0,03	0,03
		celkem	1,21	0,27	1,54	0,12	0,06
21	kontrola	nadzemní část	1,64	0,35	2,26	0,19	0,06
		kořeny	0,13	0,03	0,21	0,03	0,01
		celkem	1,77	0,38	2,47	0,22	0,07
	HK	nadzemní část	2,07	0,41	2,76	0,25	0,08
		kořeny	0,17	0,03	0,24	0,04	0,01
		celkem	2,24	0,44	3,00	0,29	0,09

0,175 %. Humusový koncentrát ovlivňoval sledované hodnoty relativně o něco lépe v koncentrovanějším živném roztoku.

V dalším pokuse jsme v nádobách s náplní zeminy sledovali růst pšenice ozimé první tři týdny po vysetí. Po devítidenní kultivaci (tab. V) byl vliv humusového koncentráту na celkovou tvorbu sušiny nepatrný a mírně negativní. Projevily se však rozdíly v působení na kořeny a nadzemní hmotu ve prospěch kořenů. Akumulace sušiny v kořenech se zvyšovala a podíl sušiny nadzemní části ke kořenům klesal. Tab. VI ukazuje, že nebyly podstatné rozdíly ani v akumulaci makroelementů v sušině rostlin. Větší rozdíly ve prospěch aplikace preparátu byly však zjištěny v akumulaci stopových prvků (tab. VII).

Po 14 dnech se výnosy sušiny nadzemních částí kontrolní a pokusné varianty vyrovnaly, v sušině kořenů si rostliny ošetřené humusovým koncentrátem udržely předstih (tab. V). Poměr sušiny nadzemních částí ke kořenům se proti kontrole stále snižuje. U varianty s preparátem se začíná projevovat tendence vyššího hromadění makroelementů v rostlinách.

Z tab. V dále vyplývá, že mezi 14. a 21. dnem vegetace dochází u varianty s humusovým koncentrátem ke zrychlení tvorby sušiny nad-

VII. Akumulace stopových prvků v sušině pšenice ozimé v nádobovém pokuse (průměrné hodnoty v mg na jednu rostlinu) — Trace element accumulation in the dry matter of winter wheat in a pot trial (average values in mg per plant)

Dny vegetace	Kombinace		Mn	Zn	Cu
10	kontrola	nadzemní část	0,035	0,090	0,019
		kořeny	0,012	0,045	0,009
		celkem	0,047	0,135	0,028
	HK	nadzemní část	0,041	0,100	0,028
		kořeny	0,014	0,046	0,012
		celkem	0,055	0,146	0,040
14	kontrola	nadzemní část	0,029	0,176	0,028
		kořeny	0,023	0,164	0,017
		celkem	0,052	0,340	0,045
	HK	nadzemní část	0,039	0,179	0,028
		kořeny	0,019	0,161	0,016
		celkem	0,058	0,340	0,044
21	kontrola	nadzemní část	0,055	0,282	0,048
		kořeny	0,017	0,130	0,020
		celkem	0,072	0,412	0,068
	HK	nadzemní část	0,070	0,430	0,049
		kořeny	0,018	0,199	0,021
		celkem	0,088	0,629	0,070

zemní hmoty při zpomalení akumulace sušiny v kořenech. Podíl sušiny nadzemních částí ke kořenům se proti kontrole již zvyšuje. V případě varianty s preparátem se také projevila tendence vyššího hromadění většiny sledovaných makro- i mikroelementů v rostlinách (tab. VI a VII). Nápadně se zvýšila zejména akumulace dusíku, fosforu, draslíku, vápníku, manganu a zinku.

DISKUSE

Humusový koncentrát ovlivňoval růst kořínků v závislosti na prostředí, v němž jsme rostliny pěstovali. Toto zjištění souhlasí se závěry, ke kterým dospěl Tichý (1980), že efekt vodorozpustných humusových látek na růst rostlinných orgánů je variabilní a závisí na podmínkách pokusu. Lze vyslovit i předpoklad, že regulační působení humusového koncentráту na růst rostlin je dáno interakcí preparátu s ostatními vegetačními faktory stanoviště.

Obecně jsou však efekty humusových látek na růst kořínků pozitivní. V pokusech s různými koncentracemi amonného dusíku, zinku

a mědi v kultivačním médiu se projevilo určité zvýšení odolnosti klíčnicích rostlinek k minerálnímu stresu v přítomnosti humusového koncentrátu. Sledované stopové prvky bór, železo, zinek a měď vykazaly podstatně vyšší efekty na prodlužovací růst kořínků v interakci s preparátem než při jejich aplikaci v minerální formě.

Hodnocení růstu kukuřice v prvním týdnu vegetace (tab. IV) ukázalo, že hmotnostní rozdíly v sušině se časem zvyšují ve prospěch humusového koncentrátu. Statisticky významné rozdíly jsme získali po sedmi dnech kultivace. Rostliny pěstované v prostředí s preparátem snižovaly proti kontrole hmotnostní poměr sušiny nadzemních částí ke kořenům, což můžeme hodnotit jako významné vzhledem k produktivnosti rostlin (Bláha, Toman, 1980). Relativně větší rozdíly v tvorbě sušiny ve prospěch humusového koncentrátu jsme zjistili také v koncentrovanějších minerálních roztocích. Toto zjištění podporuje předpoklad, že humusové látky působí lépe v přítomnosti minerálních živin (Tichý, 1980).

V třítýdenním nádobovém pokusu s pšenicí ozimou zvyšoval humusový koncentrát v prvních 14 dnech ukládání sušiny v kořenech, nikoliv v nadzemních částech rostlin. Potom však nastal prudký pokles přírůstků sušiny kořenů, provázený ovšem rychlým narůstáním nadzemní hmoty rostlin. Přesto si výnosy sušiny kořenů udržují určitý předstih před kontrolou. Poměr sušiny nadzemních částí ke kořenům se v prvních dvou týdnech v porovnání s kontrolou snižoval, ve třetím týdnu vegetace se zvýšil.

Také Tichý (1980) došel v pokusech s kukuřicí k závěru, že v prvním období růstu je při aplikaci humátu sodného sušina přednostně akumulována v kořenech, později se poměr sušiny nadzemních částí ke kořenům mění ve prospěch nadzemních částí.

Výsledky pokusu s pšenicí ozimou dále prokázaly časný efekt humusového koncentrátu na akumulaci stopových prvků v rostlinách. Již desátý den pěstování, kdy rozdíly v tvorbě sušiny a v akumulaci makroelementů mezi variantami byly nepatrné, zvýšil humusový koncentrát nápadně nahromadění sledovaných stopových prvků (manganu, zinku a mědi) v sušině rostlin relativně o 8 až 40 %. To může mít význam pro aktivaci metabolických procesů v rostlinách. Ve třetím týdnu vegetace se také projevil zřetelný stimulační efekt preparátu na růst nadzemních částí rostlin.

Můžeme shrnout, že v počátečním období růstu humusový koncentrát do značné míry zlepšuje reakci rostlin na vnější vlivy, zvyšuje účinnost stopových prvků přítomných v prostředí a částečně chrání mladé rostlinky před minerálním stresem. Zároveň prodlužuje délku kořenů, zvyšuje i akumulaci sušiny v nich. Tato skutečnost je důležitá vzhledem ke zvýšení příjmové kapacity rostlin pro minerální živiny. Pod vlivem humusového koncentrátu se formují výkonnější a celkově zdatnější typy rostlin.

Z praktického hlediska lze na základě popsaných výsledků vysvětlit pozitivní vliv preparátu na hospodářský výnos, který jsme popsali již dříve (Vrba et al., 1977). Zároveň je možno těmito výsledky zdůvodnit nutnost včasné aplikace humusového koncentrátu v provozních podmínkách.

Literatura

- BAIER, J. — BAIEROVÁ, V.: Dynamika příjmu minerálních látek u ozimé pšenice. *Agrochémia*, 27, 1987, č. 3, s. 65-67.
- BLÁHA, L. — TOMAN, K.: Možnosti využití zárodečných kořínků ve šlechtění pšenice na výnos zrna. In: Sbor. ÚVTIZ - Genet. a Šlecht., 16, 1980, č. 3, s. 187-192.
- ČINČEROVÁ, A.: The effect of humic acid on growth and metabolism of wheat seedlings. In: Studies about humus. Int. Symp. Humus et Planta, Praha, 1971.
- DOSTÁL, R.: O celistvosti rostliny. Praha, SZN 1959.
- CHRISTEVA, L.: Stimulirujuščije vlijanie gumunovoj kisloty na rost vysšich rastenij i priroda etogo javlenija. In: Gumin. Udobr. Charkov, 1957.
- LEMAIRE, F.: Effect of fractions extracted from the organic matter on the physiology of plants grown with nutrient solutions. In: Studies about humus. Int. Symp. Humus et Planta, Praha, 1971.
- MAERTENS, C. — BOSCH, M.: Quelques aspects du rôle des racines dans la nutrition minérale des plantes de grandes cultures. In: 4-ème Coll. Int. sur le contrôle d'aliment. des plantes cultivées, Gent, 1976.
- MENGEL, K.: Nutrient availability and yield formation. *Netherl. J. agric. Sci.*, 4, 1974.
- RUBIN, B.: Fyziologie rostlin. Praha, Academia 1966.
- ŠMÍDOVÁ, M.: O wplywie humatu na oddychanie pszenicy. *Acta agrobot.*, IX, 1960, č. 1.
- TICHÝ, V.: Mineral nutrition of plants as related to the soil organic matter. *Scr. Fac. Sci. natur. Univ. Purk. Brun.*, 1980, č. 6.
- VRBA, V. — KONRÁDOVÁ, M. — NĚMCOVÁ, L.: Vliv humusového koncentráту na výnosy rostlin v polních podmínkách. *Rostl. Výr.*, 23, 1977, č. 2, s. 123-132.

Došlo dne 13. 5. 1987

ВРБА, В. (Госхоз Мост): Влияние гумусного концентрата на рост растений в начальный период вегетации. *Rostl. Výr.*, 33, 1987 (11) : 1197-1206.

Гумусный концентрат (щелочной экстракт оксигумолита) тестировали в лабораторных опытах на всходах кукурузы и в опытах в сосудах на оз. пшенице в первые 3 недели вегетации. Опыты показали влияние препарата на рост корней в длину и на увеличение веса их сух. вещ. Соотношение между сух. вещ. наземных частей и корнями в первые 14 дней культивации понижалось в сравн. с контролем, а позднее расширялось. Стимулирующее воздействие гумусного концентрата на образование сух. вещ. наземной массы проявляется лишь после некоторого срока, напр. у пшеницы через 21 день вегетации. Концентрат улучшает действие микроэлементов и частично повышает устойчивость молодых растений к минеральному стрессу. Его эффект зависит и от остальных условий культивации: от взаимодействия с остальными вегет. факторами, прежде всего с минер. питанием растений.

гумусный концентрат; рост корней; минеральное питание растений; микроэлементы; минеральный стресс

VRBA, V. (State Farm Most): The Effect of Humus Concentrate on the Growth of Plants in the Initial Period of Vegetation. *Rostl. Výr.*, 33, 1987 (11) : 1197-1206.

Humus concentrate, defined as alkaline extract of oxihumolith, was tested in laboratory trials on the seedling plants of maize and in a pot trial with winter wheat in the first three weeks of vegetation. As indicated by the results of the trials, the preparation influenced the length growth of the roots and their dry weight increment. The aboveground : underground dry matter ratio in the first two weeks of cultivation decreased in comparison with the control; an increase was recorded in a later stage. The stimulative action of humus concentrate on the formation of the dry matter of the aboveground parts of the plants manifests itself only after a certain period of time: in the trial with winter wheat 21 days of vegetation had elapsed before the stimulation occurred. Humus concentrate improved the effectiveness of trace elements and partly increased the resistance of the young plants

to mineral stress. The effect of the preparation depended on the other conditions of cultivation. It is inferred that the effectiveness of humus concentrate is conditioned by its interactions with the other factors of vegetation, particularly with the mineral nutrition of the plants.

humus concentrate; root growth; mineral nutrition of plants; trace elements; mineral stress

VRBA, V. (VEG Most): *Einfluß des Humuskonzentrates auf das Pflanzenwachstum in der Anfangsvegetationsperiode*. Rostl. Vyr., 33, 1987 (11) : 1197-1206.

Das als alkalischer Extrakt von Oxihumolith definierte Humuskonzentrat wurde in Laborversuchen an Maiskeimpflanzen und in Gefäßversuchen an Winterweizen in den ersten drei Vegetationswochen getestet. Die Versuchsergebnisse wiesen einen Einfluß des Präparates auf das Längenwachstum der Wurzeln und auf die Gewichtssteigerung ihrer Trockensubstanz nach. Das Verhältnis der Trockensubstanzen der oberirdischen Teile und der Wurzeln nahm in den ersten 14 Kultivierungstagen im Vergleich zur Kontrolle ab, danach kam es zu seiner Steigerung. Die stimulierende Wirkung des Humuskonzentrates auf die Bildung der Trockensubstanz der oberirdischen Pflanzenteile macht sich erst nach einiger Zeit bemerkbar. Im Versuch mit Winterweizen machte sie sich erst nach 21 Vegetationstagen bemerkbar. Das Humuskonzentrat verbesserte die Wirksamkeit der Spurenelemente und erhöhte teilweise die Resistenz der Jungpflanzen gegen den sog. Mineralstress. Der Effekt des Präparates war von den anderen Kultivierungsbedingungen abhängig. Wir nehmen also an, daß die Wirksamkeit des Humuskonzentrates durch seine Wechselwirkung von anderen vegetationsbedingenden Faktoren, vor allem der mineralischen Pflanzenernährung bedingt wird.

Humuskonzentrat; Wurzelwachstum; minerale Pflanzenernährung; Spurenelemente; Mineralstress

Adresa autora:

Ing. Vladimír Vrba, Státní statek, n. p., výzkumné a vývojové pracoviště, Žatecká 2436, 434 90 Most

NĚMCOVÁ, B. — NAŠINEC, V. — CHLOUPEK, O. (Ústav experimentální botaniky ČSAV, České Budějovice; Šlechtitelská stanice, Želešice): *Klonování vojtěšky in vitro*. Rostl. Vyr., 33, 1987 (11) : 1207-1213.

Za použití jednoduché a účinné metody klonování vojtěšky byly ozdraveny a namnoženy nadějně šlechtitelské materiály. Pracovní postup zahrnuje následující kroky: povrchovou sterilizaci defoliovaných segmentů stonku, kultivaci stonkových explantátů s úžlabními pupeny v přítomnosti antibiotika, zakořeňování *in vitro* diferencovaných laterálních os, adaptaci a přenos intaktních rostlin do půdy. Stonkové řezy klonového potomstva mohou sloužit jako nový zdroj explantátů pro další cyklus klonování. Účinnost alternativní metody, založené na tvorbě vícečetných prýtů, byla silně ovlivňována genotypem.

Medicago L.; úžlabní pupeny; zakořeňování; univerzálnost; vliv genotypu

Jednou z nejmodernějších a také nejúspěšnějších cest šlechtění cizoprašných píceň je v současné době vytváření syntetických odrůd (Rod, Vondráček, 1982). Základ šlechtitelské práce spočívá ve výběru komponent, které jsou do výchozího souboru zařazovány tak, aby po vzájemné rekombinaci a několikanásobné generativní reprodukci poskytovaly syntetickou populaci s vysokou ustálenou výkonností. Soubory optimálních pravidel a kritérií výběru byly nedávno publikovány v domácí literatuře (Vondráček, Chloupek, 1984; Pelikán et al., 1986). Při realizaci příslušných šlechtitelských programů bývá častým problémem dlouhodobé udržování matečných klonů ve zdravotně přijatelném stavu. Po určité době se začínou vyskytovat potíže s vegetativním klonováním zdravotně oslabených rostlin a počet životaschopných jedinců nemusí postačovat pro osazení hybridizačních školek. Proto tam, kde selhává tradiční technika řízkování a hydroponického zakořeňování, je nutné hledat alternativní postupy.

U řady rostlinných druhů včetně píceň byly vyvinuty a experimentálně prověřeny techniky vegetativní mikropropagace a klonování *in vitro*. Lze je použít u všech objektů, které se vyznačují přirozeně vysokou organogenní schopností. V případě leguminózních píceň patří do této kategorie rostlin např. štirovník růžkatý (Tomes, 1979). Problematičtější situace existuje u rodu *Medicago*, kde se stále zřetelněji ukazuje, že obecná regenerační schopnost podléhá poměrně přísné genetické kontrole (Brown, Atanassov, 1985). Proto zdaleka ne všechny genotypy jsou pro práci *in vitro* vhodné a použitelné. Přitom je zřejmé, že rutinní využívání metod explantátových kultur vojtěšky bude vždy vázáno na materiály, které vybere šlechtitel, a to bez ohledu na toti-

I. Složení a použití kultivačních médií — Culture media composition and use

Číslo média	Základ ^{a)} a ředění	Agar (g.l ⁻¹)	Sacharóza (g.l ⁻¹)	Ticarcilin (g.l ⁻¹)	BAP ^{b)} (mg.l ⁻¹)	NAA ^{c)} (mg.l ⁻¹)	Základní použití
1	0,5 × B5	5,0	5,0	0,5	—	—	úvodní kultivace
2	0,5 × B5	5,0	—	0,5	—	—	zakořeňování os
3	0,5 × B5	5,0	5,0	0,5	—	0,01	zakořeňování os
4	1,0 × B5	10,0	30,0	0,5	2,00	0,10	mikropropagace
5	1,0 × B5	10,0	30,0	0,5	0,05	—	dopěstování os

a) Anorganické soli a vitamíny Gamborgova média B5 v poloviční (0,5 × B5) a předepsané (1,0 × B5) koncentraci (Gamborg et al., 1968)

b) benzylaminopurin

c) kyselina 1-naftyloctová

potenci od nich odvozených kultur. Klade to zvýšené nároky na univerzálnost příslušných metod.

Vedení snahou vyhovět aktuálním potřebám zemědělské praxe, vypracovali jsme metodu vegetativního klonování vojtěšky *in vitro*. Její použitelnost jsme prověřili u dlouhodobě vedených matečných klonů s výrazně potlačenou schopností zakořeňovat. Jejich eventuální ztráta by vážně ohrozila úspěšné završení probíhajících šlechtitelských programů.

MATERIÁL A METODY

Výchozí matečné klony vojtěšky seté, vedené v rámci šlechtitelského programu pod manipulačními čísly 12 ('Hodonínka') a 82 ('Isis'), pocházejí ze Šlechtitelské stanice v Želešicích. Mladé výhonky byly odštířeny, zbaveny listů a důkladně vyprány v tekoucí vodě. Defoliované segmenty o velikosti jednoho až tří listových pater byly povrchově dezinfikovány roztokem 3% H₂O₂ v 70% etanolu a opakovaně (pětkrát) promyty sterilní destilovanou vodou. Sterilizační doba se podle robustnosti výchozích prýtů pohybovala od 30 sekund do tří minut.

Přehled použitých kultivačních půd je uveden v tab. I. Všechna tuhá i polotuhá média byla sterilizována autoklávováním (121 °C, 30 minut). Ticarcilin (tricarpen) byl sterilizován filtrací a přidáván do chladnoucích půd samostatně.

Povrchově dezinfikované segmenty byly asepticky zastřiženy po obou stranách pupenu na délku 1,0 až 1,5 cm a bazálním koncem zasunuty do kultivačního média (7 ml na zkumavku). Nové laterální osy byly opět asepticky odštířeny a řeznou plochou zasunuty do čerstvé půdy (médium 2 nebo 3; 7 ml na zkumavku). Všechny osy, které zde po dalších čtyřech až šesti týdnech vedení vytvořily kořen, byly přesazeny do nádobek (sadbavačů) s nesterilním perlitem, syceným na plnou vodní kapacitu komerčním živným roztokem (Hydroponix). Po dobu zhruba jednoho měsíce byly pak kultivovány v transparentních umělohmotových krabicích a postupně, pomalým odklápěním víka adaptovány na normální vzdušnou vlhkost. Dobře adaptované rostliny byly sestřiženy a přesazeny do květináčů se směsí perlitu a zahradnického rašelinového substrátu (1 : 2). Současně byly jejich oddělené výhonky využity pro opakování celého cyklu klonování.

Paralelně shora uvedeným způsobem byla testována možnost klonování cestou vegetativní mikropropagace. Povrchově sterilizované apikální pupeny osy byly asepticky odštířeny a kultivovány jednotlivě na povrchu indukčního média (médium 4; 15 ml na baňku o objemu 50 ml). Explantáty, u nichž po zhruba šesti týdnech diferencovaly vícečetné prýty, byly pasážovány na médium se sníženou hladinou cytokininů (médium 5; 20 ml na baňku o objemu 100 ml) a kultivovány další čtyři až šest týdnů. Dobře diferencované osy shluku byly pak asepticky odštířeny a jednotlivě zakořeňovány dříve uvedeným způsobem.

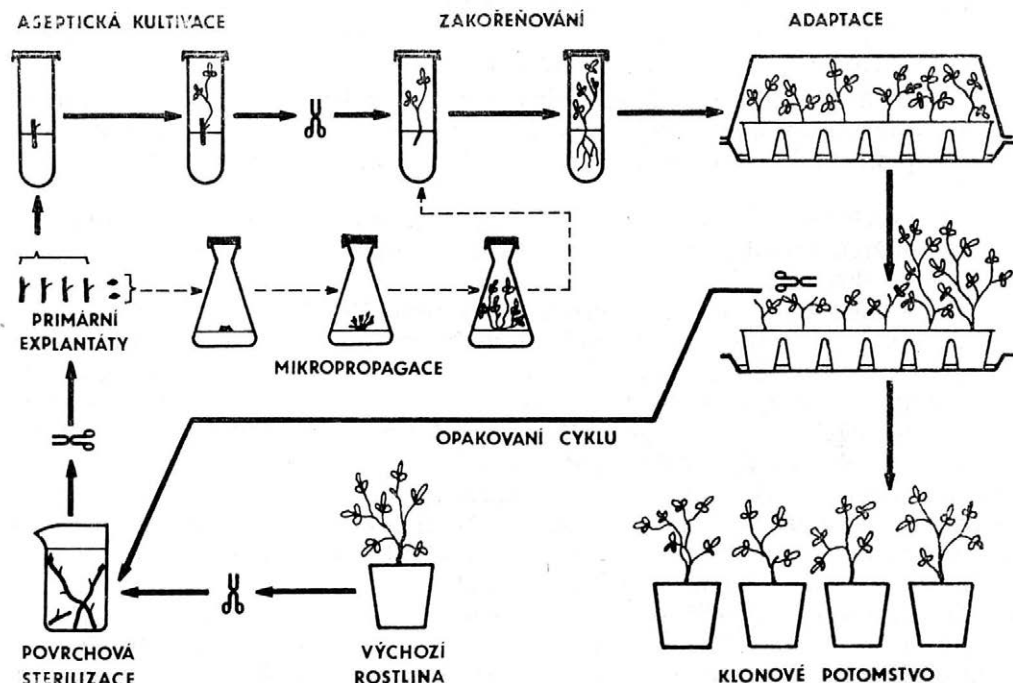
Po dobu aseptického vedení kultur a během adaptace zakořeněných jedinců byl veškerý rostlinný materiál kultivován při 24 až 27 °C pod zářivkovým osvětlením (80—100 $\mu\text{E}/\text{m}^2/\text{s}$, 16h fotoperioda). Výchozí a naklonované rostliny byly uchovávány ve skleníkových podmínkách.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Matečné klony 12 a 82 vykazují řadu šlechtitelsky významných vlastností. Vlivem mnohaletého udržování však postupně ztrácely schopnost zakořeňovat v hydroponických podmínkách. Nesterilně se nám nepodařilo indukovat kořenotvorbu ani pod stimulačním vlivem několika morforegulátorů auxinového typu. Ani jeden z obou klonů neposkytoval *in vitro* embryogenní nebo organogenní kalusovou kulturu. Proto jsme po selhání dříve publikovaných technik vyvinuli alternativní metodu klonování, jejíž celkové schéma uvádíme na obr. 1. Zahrnuje následující kroky:

1. povrchovou dezinfekci výchozích materiálů,
2. indukci laterálních os z úžlabních pupenů,
3. indukci tvorby vícečetných prýtů z vrcholových segmentů,
4. zakořeňování,
5. převod do půdy.

ad 1. Stonkové segmenty vojtěšky poměrně dobře snášejí i drastické formy povrchové sterilizace. Počet plísňových a bakteriálních kontaminací se přesto prakticky vždy pohyboval okolo 50 až 60 % výchozích kultur. Bakteriální kontaminace se podařilo výrazněji potlačit až při-



1. Schematické znázornění klonovacího cyklu — Schematic representation of the cloning cycle

dáním ticarcilinu do všech kultivačních médií. Toto antibiotikum je v použité koncentraci rostlinnými buňkami tolerováno a jeho dlouhodobá přítomnost přispívá k celkovému ozdravení klonů.

ad 2. Na základním kultivačním médiu 1 (tab. I) vyrůstaly z úzlabních pupenů stonku laterální osy i bez hormonálních stimulů. Přítomnost sacharózy v médiu umožňuje brzy identifikovat explantáty kontaminované plísněmi a urychluje vývoj postranních os, což přispívá k vyřazení patogenních faktorů z pletiv. Tento postup se osvědčil u obou testovaných klonů vojtěšky.

ad 3. Tvorbu vícečetných prýtů se podařilo indukovat pouze z meristematických pletiv vzrostopných vrcholů klonu 12. Při optimálních hladinách fytohormonů (médiu 4) diferencovalo pět až 20 os z jediného explantátu. Jejich další vývoj byl uspíšen pasáží na půdu se sníženou koncentrací cytokininů (médiu 5). Klon 82 ochotu k vegetativní mikropropagaci nevykazoval. Proto je zmíněný způsob klonování použitelný jen pro některé genotypy.

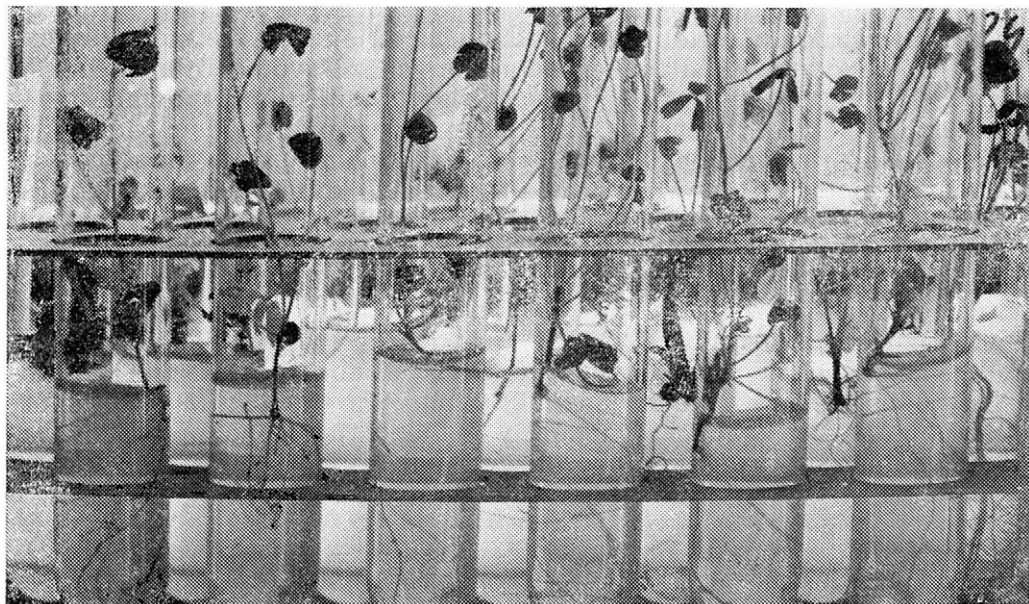
ad 4. Teprve *de novo* diferencované osy zpravidla reagovaly na nutriční a hormonální stimuly způsobem, který je pro vojtěšku typický. K uspokojivé frekvenci zakořeňování docházelo buď v nepřítomnosti cukru (médiu 2), nebo při jeho snížených hladinách pod vlivem nízkých koncentrací NAA (médiu 3). Koncentrace NAA, ale i dalších auxinů, vyšší než 0,1 mg/l kořenotvorbu spíše inhibovaly než podporovaly.

ad 5. Přímý přenos zakořeňovaných rostlin do půdy vede v mnoha případech k jejich ztrátě. Téměř 100% účinnosti převodu jsme dosáhli postupnou adaptací klonů na nesterilní prostředí a nízkou relativní vlhkost vzduchu. Během měsíční předkultivace na živném roztoku rostliny zmohtnuly a poskytovaly větší množství mladých os, použitelných pro opakování celého postupu klonování.

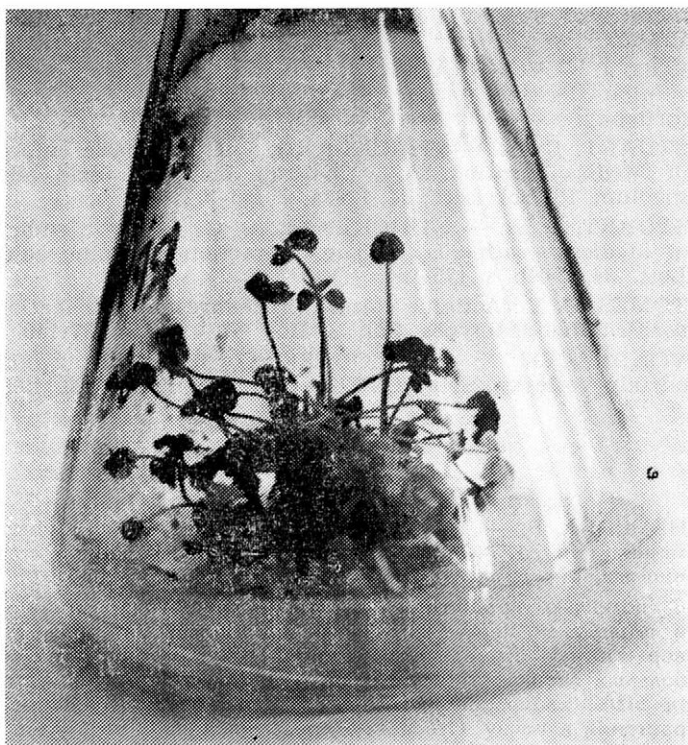
Protože se celkově zlepšil zdravotní stav klonů, nebylo výjimkou, že při opakování klonovacího cyklu docházelo ke spontánnímu zakořeňování primárních explantátů již na základním kultivačním médiu (obr. 2 a 3).

V souvislosti s regenerační schopností kultury buněk či pletiv se často používá termín morfogenetická kompetence. Přestože molekulární podstata takto označovaného jevu není známa, je evidentní, že existuje příčinná souvislost mezi genetickou výbavou buňky a jejím chováním v kultuře. Není náhodné, že řada zásadních poznatků o somatické embryogenezi u vojtěšky byla získána při použití vysoce embryogenních genotypů linie Regen S (např. Stuart, Strickland, 1984a, b) a že konkrétní výsledky dokumentují větší význam genetické složky materiálu než jakýchkoli procedurálních a chemických zásahů do regeneračního procesu (Brown, Atanassov, 1985). Přesto i u vojtěšky poskytuje realizace úplného cyklu tkáňové kultury (výchozí rostlina — nediferencovaná kultura — regenerant) lákavé možnosti mutageneze a selekce variant *in vitro*, ozdravování i klonování (Novák et al., 1984). Jedinou nevýhodou zůstává právě vazba regenerační schopnosti na genotyp. Z našich výsledků vyplývá, že ani relativně jednoduchou techniku mikropropagace nelze uplatnit univerzálně. Výhoda, kterou experimentátor získá současnou diferenciací několika prýtů, nemusí vždy vyvažovat časovou náročnost přípravných metodických pokusů.

Naopak námi navržený postup klonování, který využívá spontánní



2. Zakořeňování diferencovaných os — Rooting of differentiated shoots



3. Mikropropagace vícečetných prýtů — Micropropagation of multiple shoots

schopnosti již existujících úžlabních pupenů diferencovat laterální osy, se zdá být široce použitelný pro většinu materiálů, včetně málo responzibilních genotypů, či silně kontaminovaných zdravotně oslabených jedinců. Celý postup je metodicky nenáročný, rychlost vegetativního množení stoupá geometrickou řadou s každým uzavřeným cyklem klonování. Velmi málo pravděpodobná je možnost náhodného vzniku fenotypových variant a mutací. Diferenciací os v aseptické kultuře dochází ke zřetelnému vyředování patogenních faktorů, což vede k celkovému zlepšení zdravotního stavu klonového potomstva.

Matečné klony 12 a 82 mají zásadní šlechtitelský význam. Zejména klon 82 vyniká vysokými efekty obecné kombinační schopnosti pro mnoho znaků a vlastností. Proto je rodičovskou složkou nadějných syntetických populací, prověřovaných v současné době ve státních odrůdových pokusech. Zde uváděná technika klonování vojtěšky *in vitro* umožnila navrátit oba špičkové materiály do šlechtitelského procesu v potřebném množství a dobrém zdravotním stavu.

Literatura

- BROWN, D. C. W. — ATANASSOV, A.: Role of genetic background in somatic embryogenesis in *Medicago*. Pl. Cell Tissue Organ Cult., 4, 1985, č. 2, s. 111-122.
- GAMBORG, O. L. — MILLER, R. A. — OJIMA, K.: Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell. Res., 50, 1968, s. 151-158.
- NOVÁK, F. J. — NEDBÁLKOVÁ, D. — KONEČNÁ, D.: Somatická embryogeneze u vojtěšky a možnosti jejího využití při množení a šlechtění. Sbor. ÚVTIZ - Genet. a Šlecht., 20, 1984, č. 1, s. 69-76.
- PELIKÁN, J. — CHLOUPEK, O. — ROD, J. — VONDRÁČEK, J.: Empirický výběr komponent do syntetické populace. Sbor. ÚVTIZ - Genet. a Šlecht., 22, 1986, č. 3, s. 221-232.
- ROD, J. — VONDRÁČEK, J.: Tvorba syntetických odrůd jako jedna z cest progresivního šlechtění píce. Sbor. ÚVTIZ - Genet. a Šlecht., 18, 1982, č. 4, s. I-XVI (příloha).
- STUART, D. A. — STRICKLAND, S. G.: Somatic embryogenesis from cell cultures of *Medicago sativa* L. I. The role of amino acid additions to the regeneration medium. Pl. Sci. Lett., 34, 1984a, s. 165-174.
- STUART, D. A. — STRICKLAND, S. G.: Somatic embryogenesis from cell cultures of *Medicago sativa* L. II. The interaction of amino acids with ammonium. Pl. Sci. Lett., 34, 1984b, s. 175-181.
- TOMES, D. T.: A tissue culture procedure for propagation and maintenance of *Lotus corniculatus* genotypes. Can. J. Bot., 57, 1979, s. 137-140.
- VONDRÁČEK, J. — CHLOUPEK, O.: Racionální výběr komponent pro syntetické odrůdy vojtěšky. Sbor. ÚVTIZ - Genet. a Šlecht., 20, 1984, č. 2, s. 157-162.

Došlo dne 13. 5. 1987

НЕМЦОВА, Б. — НАШИНЕЦ, В. — ХЛОУПЕК, О. (Институт экспериментальной ботаники при АН СССР, Ч. Будейовице; Селекционная станция Желечице): Клонирование люцерны *in vitro*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1207-1213.

С помощью простого и действенного метода клонирования люцерны оздоровлен и размножен перспективный селекционный материал. Рабочий прием включает: поверхностную стерилизацию дефолированных сегментов стеблей, культивирование стеблевых эксплантатов с глубинными почками в присутствии антибиотика, укоренение *in vitro*, дифференцированных боковых осей и адаптацию с пересадкой интактных растений в почву. Стеблевые срезы клонового потомства могут служить новым источ-

ником эксплантатов для следующего цикла клонирования. Эффективность альтернативного метода, основанного на образовании многочисленных побегов, сильно обусловлена генотипом.

Medicago L.; глубинные почки; окоренение; универсальность; влияние генотипа

NĚMCOVÁ, B. — NAŠINEC, V. — CHLOUPEK, O. (Institute of Experimental Botany of the Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; Plant Breeding Station, Želešice): *In vitro* Cloning of Lucerne. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1207-1213.

Promising breeding materials of lucerne have been restored to health and multiplied using an efficient and simple procedure of cloning. The cloning procedure involves the following steps: 1) surface sterilization of defoliated stem segments, 2) cultivation of stem explants with axillary buds in the presence of an antibiotic, 3) rooting of the *in-vitro* differentiated lateral shoots, 4) adaptation and transfer of intact plants to the soil. Stem cuttings of the clonal progeny can serve as a new source of explants for the next cloning cycle. The efficiency of an alternative method based on the formation of multiple shoots was strongly influenced by the genotype.

Medicago L.; axillary buds; rooting; universality; genotype effect

NĚMCOVÁ, B. — NAŠINEC, V. — CHLOUPEK, O. (Institut für experimentelle Botanik der ČSAV, České Budějovice; Züchtungsstation, Želešice): *Klonen der Luzerne in vitro*. Rostl. Výr., 33, 1987 (11) : 1207-1213.

Unter Anwendung einer einfachen und wirksamen Methode zum Klonen der Luzerne wurden hoffnungsvolle Züchtungsmaterialien saniert und vermehrt. Das Arbeitsverfahren umfaßt folgende Operationen: die oberflächliche Sterilisation der defoliierten Stengelsegmente, die Kultivierung der Stengelexplantate mit Achselknospen in Anwesenheit von Antibiotika, die Verwurzelung *in vitro* der differenzierten lateralen Achsen und die Adaptation sowie die Übertragung der intakten Pflanzen in den Boden. Die Stengelschnitte der Klonnachkommenschaft können als eine neue Quelle von Explantaten für ein weiteres Klonen dienen. Die Wirksamkeit der alternativen Methode, die auf der Bildung von zahlreichen Trieben beruht, wurde bedeutend vom Genotyp beeinflusst.

Medicago L.; Achselknospen; Verwurzelung; Universalität; Einfluß des Genotypes

Adresy autorů:

Ing. Blanka Němcová, CSc., Vít Našinec, CSc., Ústav experimentální botaniky ČSAV, Na sádkách 702, 370 05 České Budějovice

Ing. Oldřich Chloupek, CSc., Výzkumný a šlechtitelský ústav pícninářský, Troubsko, Šlechtitelská stanice 664 43 Želešice

Ve dnech 30. května až 3. června 1988 se bude pod patronací Mezinárodní společnosti pro cereální vědu a technologii konat

8. MEZINÁRODNÍ KONGRES O CHLEBU A OBILÍ

Místem konání kongresu bude Kongresová hala v Lausanne ve Švýcarsku. Program kongresu zahrnuje vědecký program, technickou výstavu, odborné exkurze a kulturní a společenský program. Před kongresem, ve dnech 26. až 27. května se uskuteční symposium o číroku a prosu.

Kongresová jednání budou simultánně tlumočena do jednacích jazyků — angličtiny, francouzštiny, němčiny a ruštiny.

Registrační poplatek pro jednoho účastníka činí SFr 500,—; pro doprovod SFr 100,—; jednodenní SFr 200,—.

Vědecký program kongresu zahrnuje jednání ve třech paralelních sekcích a poster program, v němž bude prezentována velká částí příspěvků.

Program kongresu:

- 30. 5. Slavnostní zahájení kongresu;
Sekce: Reologie, Využití počítačů, Průmyslové zpracování cereálií;
- 31. 5. Sekce: Výživa I, Nové metody šlechtění, Mlynářství, Výživa II, Pěstování cereálií, Biotechnologie;
 - 1. 6. Sekce: Ochrana zásob, Extruze, Ostatní cereálie, Počítače v laboratorní technice, Elektroforéza, Rezidua, Hygiena a sanitace;
 - 2. 6. Sekce: Skledování, Pekárenská technologie, Pšenice durum a těstoviny, Porostlost, Pekárenské stroje, Výroba těstovin z různých surovin;
 - 3. 6. Sekce: Krmivářství, Trvanlivé pečivo, Světový obchod obilím; Závěr kongresu.

Žádáme autory, aby své příspěvky do vědeckého programu přihlašovali přímo u předsedy výboru pro vědecký program Dr. Wenera Saurera (FAP Reckenholz, Postfach, CH-8036 Zürich) a názvy příspěvků oznámili také národnímu delegátovi ČSSR v ICC ing. Jiřímu Holasovi, CSc. (Výzkumný ústav mlýnského a pekárenského průmyslu, Na Pankráci 30, 140 04 Praha 4).

MYKOLOGICKÉ ASPEKTY VÝROBY BIOINSEKTICIDNÍHO PREPARÁTU BOVEROL

J. Kybal, S. Kálalová

Schopnost některých druhů hub parazitovat na hmyzu byla známa již na počátku našeho letopočtu. První pokusy o jejich umělé šíření s cílem omezit výskyt škodlivého hmyzu se datují již do doby vzniku moderní mikrobiologie na počátku druhé poloviny minulého století (Weiser, 1966).

Přesto se entomofágní houby stávají teprve recentně účinnou složkou průmyslově vyráběných bioinsekticidů. Příčinou této, mnoho desítek let trvající prodlevy mezi výsledky dosaženými výzkumem a jejich využitím ve výrobě jsou především významné zisky z výroby a prodeje chemických insekticidů. Teprve dnes, kdy si vyspělá společnost uvědomuje dopady nedostatečně kontrolovaného používání chemických insekticidů, působících značné škody v oblasti životního prostředí, dochází k rychlému vývoji a realizaci výroby biologických insekticidů, představujících novou generaci pesticidů na kvalitativně vyšší úrovni.

Použití mykoinsekticidních přípravků v ochraně rostlin proti škodlivému hmyzu sleduje současně několik cílů: střídáním s chemickým ošetřováním zpomalit rychlost narůstání rezistence cílového hmyzu k chemickým insekticidům, zamezit pokračujícímu hromadění reziduí toxických látek v půdě, vodě a rostlinách a dosáhnout selektivnějšího účinku s omezeným dopadem na necílové organismy. Biologické přípravky se v půdě mění v organickou hmotu, která je neškodnou potravou v potravním řetězci organismů, a proto nepoškozují přírodní ekologickou rovnováhu.

Spóry — účinná složka mykoinsekticidů

Prvním naším mykoinsekticidem je Boverol (mezinárodně přiznaná ochranná známka), jehož účinnou složkou jsou spóry entomofágní houby druhu *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

Podmínkou úspěšné výroby a užití mykoinsekticidních přípravků je jejich skladovatelnost. Proto je třeba spóry v nich obsažené vhodným postupem konzervovat, aby si dlouhodobě zachovaly klíčivost a po aplikaci přípravku na těle hmyzu, které pro ně představuje utilizovatelný substrát, vyrostly v mycelium. Průmyslová výroba spór *B. bassiana* je sice realizovatelná běžnou fermentační technologií submersní kultivace ve vzdušných a míchaných fermentorech, ale za takových podmínek vznikají tzv. blastospóry, které konzervaci nesnášejí a ztrácejí v jejím průběhu klíčivost (Hall, 1979).

Pro samotný druh *B. bassiana* je tento typ spór arteficiální. Na povrchu infikovaného hmyzu nalézáme vždy jen vzdušné konidie, odškrcující se ze vzdušného mycelia, vyrůstajícího z povrchu odumřelého hmyzu. Tyto vzdušné konidie je možno konzervovat prostým vysušením, aniž přitom ztrácejí klíčivost.

Jak vzdušné konidie, tak i submersní blastospóry jsou strukturami vznikajícími na vegetativní hyfě *de novo* a oba typy spór jsou i podobného, tj. blastického původu. Přesto se však povrchové a submersní spóry od sebe liší. Vzdušné konidie jsou vždy významně menších rozměrů a vyznačují se (u všech druhů vláknitých hub) druhově specifickou uniformitou velikosti a tvaru. Naproti tomu submersní spóry mají silně kolísavou velikost tvaru. Jsou zpravidla větší, vždy více či méně oválné až protáhlé, a podle jejich morfologie zpravidla není možno rozpoznat, kterému druhu houby náleží. Povaha těchto morfologických rozdílů je důsledkem odlišného způsobu diferenciací v povrchové a submersní kultuře. Zatímco v povrchové kultuře se vzdušné konidie odškrcují vždy jen z vrcholů konidiogenních buněk, uspořádaných do geometricky přísné prostorové architektury, submersně vznikají spóry často pučením podél celého vegetativního vlákna bez zřejmého řádu. V sou-

hlase s tím se liší oba typy sporů i fyziologickým stavem. Zatímco vzdušné konidie představují jak cytologicky, tak i fyziologicky uniformní populaci klidových buněk ve stejné fázi buněčného cyklu, jsou submersní spory heterogenní populací buněk různého stáří a různé fyziologické aktivity. Právě z tohoto důvodu nelze submersní spory delší dobu skladovat ani konzervovat. Bylo popsáno, že submersní kultivaci čerstvě připravené spory druhu *B. bassiana* mohou vyvolávat infekci hmyzu stejně jako vzdušné konidie, nebo snad i s rychlejším nástupem účinku (zkráceným o dobu potřebnou k bubření v pregerminační fázi), konzervaci však nesnášejí.

Průmyslová příprava vzdušných konidií

Kultivace aerobních mikroorganismů na hladině kapalného média, či na povrchu pevného substrátu je nejstarším a dodnes nejběžnějším laboratorním způsobem jejich množení. V průmyslových rozměrech však mohla být povrchová kultivace vláknitých hub realizována až před několika lety, kdy se podařilo zajistit sterilitu velkých ploch substrátu použitím rozměrných plastických fermentorů.

Dokud nebyla zvládnuta tato technologie, byla sporulační fáze *B. bassiana* kultivována na různých přírodních substrátech, jako jsou brambory, řepa, či obilky v baňkách nebo na agaru na Petriho miskách (Télenga, 1958; Kononova, 1979; Král, Neubauer, 1956; Télenga, Goral, 1967; Jevlachová, Tarasov, 1968).

Pokusem o provozní metodu bylo použití naklíčených a drcených obilí, plněných do speciálních bubnů, umožňujících kontinuální přesypávání tohoto substrátu. Ve všech těchto případech však výsledný preparát obsahoval nadměrné množství neúčinné hlušiny, při aplikaci se špatně rozmíchával a často docházelo k jeho kontaminaci jinými nežádoucími mikroorganismy. V souvislosti s vysokou příměsí neaktivní hlušiny bylo i množství takto připravených konidií v jednotce hmotnosti preparátu nedostatečné, takže např. pro ošetření 1 ha porostu brambor proti mandelince bramborové bylo nutno aplikovat minimálně 4 kg preparátu (Král, Neubauer, 1956).

Kultivační část technologie výroby vzdušných konidií *B. bassiana* provádíme v polyetylenových fermentorech. Sterilní a předem inokulovanou půdou naplněné fermentory jsou zakládány do regálů a vzdušněny proudem sterilního vzduchu, přiváděného nad povrch rostoucí a sporující kultury (Kybal, Vlček, 1976; Samšíňáková et al., 1981). Po ukončení kultivace na hladině kapalného sporulačního média v plastických fermentorech je narostlá vysporulovaná biomasa odseparována od zbytkové půdy a po zhomogenizování s přidávkou kontrolovaného množství plnidla granulována, sušena a konečně rozezlata na jemný prášek. Takto připravený Boverol obsahuje v 1 g minimálně 10^{10} vzdušných konidií s minimální klíčovostí 70 %.

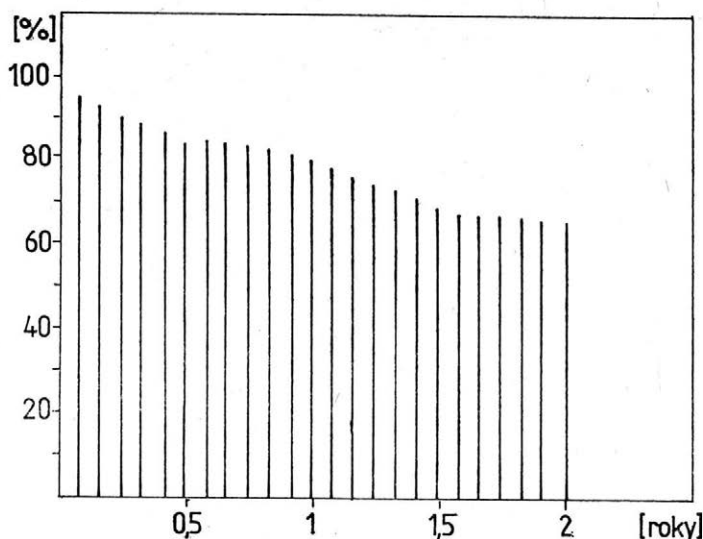
Vysokého obsahu sporů v Boverolu se podařilo dosáhnout experimentálním vytypováním a optimalizací podmínek, umožňujících expresi genů, odpovědných za diferenciaci vzdušných konidií. Limitními dávkami pomalu asimilovatelného uhlíkatého zdroje a dostatečným přísunem snadno disponibilních dusíkatých živin dosahujeme potlačení vegetativního růstu mycelia, které včas diferencuje do sporulační fáze a odškrcuje velká kvanta vzdušných sporů (Samšíňáková et al., 1981). Způsob kultivace, vyznačený specifickým složením sporulační půdy, i zařízení ke kultivaci v polyetylenových fermentorech jsou patentově chráněny (Samšíňáková et al., 1983; Vlček, Kybal, 1978).

Požadavky na kvalitu a skladování

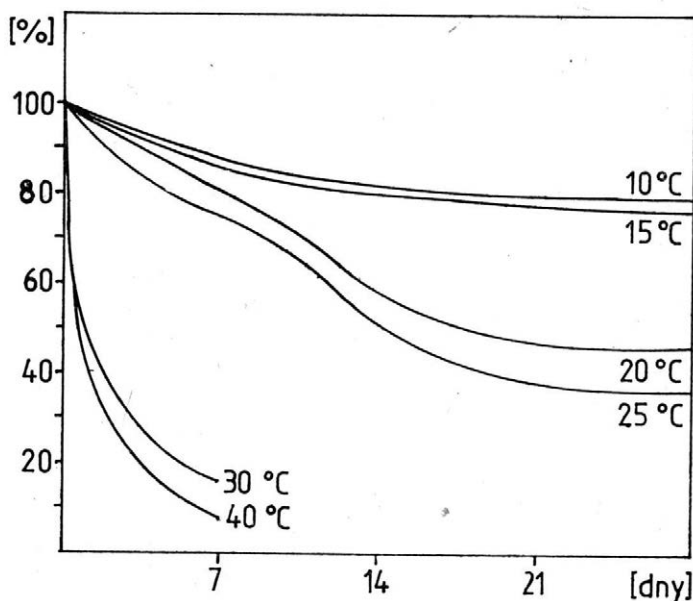
Účinnost Boverolu je kontrolována podle požadavků technické podmínky. Přípravek musí obsahovat dostatečné množství sporů v jednotce hmotnosti (titr minimálně 10^{10} na 1 g); konidie musí být klíživé (minimální klíčovost 70 %); preparát musí vykazovat požadovanou biologickou aktivitu (hodnotí se stanovením LC_{50} na larvách druhého instaru zavíječe *Galleria mellonella*).

Jednotlivé stupně hodnocení podle technické podmínky mají logický sled. Nalezení požadovaného titru nezaručuje ještě účinnost preparátu, protože konidie mohou být odumřelé. O jejich životnosti se přesvědčíme stanovením klíivosti. Doplňujícím testem je stanovení biologické aktivity, která je částo aktivitou kmene houby, použitého pro přípravu Boverolu.

1. Klíčivost konidií Boverolu během dlouhodobého skladování při teplotě +2 až +5 °C — The germination of Boverol conidia in the course of long-continued storage at the temperatures of +2 to +5 °C



2. Klíčivost konidií Boverolu během skladování při teplotě 10, 15, 20, 25, 35 a 40 °C — The germination of Boverol conidia during storage at the temperatures of 10, 15, 20, 25, 35 and 40 °C



Boverol je třeba skladovat v suchu a při snížené teplotě. Při teplotě 0 až 10 °C si uchovává účinnost minimálně 12 měsíců ode dne výroby (obr. 1). Se stoupající teplotou skladování se doba skladovatelnosti zkracuje (obr. 2).

Možnosti použití Boverolu

Insekticidní účinky Boverolu je možno využívat při ochraně polních, lesních a skleníkových kulturních rostlin a proti skladištním škůdcům i v kombinaci s některými chemickými pesticidy. Účinnost postřiku je v případě potřeby možno potencionovat přidavkem vhodných tenzidů. Tab. I informuje o výsledcích zkoušení kompatibility Boverolu s uvedenými přípravky na základě stanovení klíčivosti konidií.

I. Přehled výsledků zkoušení kompatibility Boverolu s vybranými pesticidy, tensidy a hnojivy — A survey of the results of the testing of Boverol compatibility with selected pesticides, detergents and fertilizers

Název přípravku	Zkoušená koncentrace	% vyklíčených spór (vztaženo na kontrolu)
Insekticidy		
Actellic 50 EC	0,015	97,89
Actellic 50 EC	0,03	23,80
Actellic 50 EC	0,06	20,18
Actellic 50 EC	0,12	0
CME 134	0,01	96,7
Coopex	0,1	92,8
Coopex	1,0	0
Cybolt	0,3	0
Cymbush 10 EC	0,008	90,3
Cymbush 10 EC	0,02	66,6
Cymbush 10 EC	0,05	7,1
Cymbush 10 EC	0,1	0
Cyperkil 25 EC	0,05	18,0
Cyperkil 25 EC	0,1	18,0
Cytrolane	0,8	66,0
Damfin	0,1	100,0
Damfin	1,0	0
Decemtion EK 20	0,3	0
Decis 2,5 EC	0,03	91,6
Decis 2,5 EC	0,05	72,0
Decis Quick	0,04	28,4
Diazionon 60 EC	0,06	91,8
Elocron WP 50	0,1	95,3
Furadan 350 F	0,1	100,0
Furadan 350 F	0,15	88,0
Furadan 350 F	0,3	60,0
Metation E 50	0,06	0
Milbol	0,1	87,7
Mitac	0,1	11,75
Nurelle 200 EC	0,05	36,0
Nurelle 200 EC	0,1	1,0
Peropal	0,1	39,0
Phosdrin 24 EC	0,05	34,0
Phosdrin 24 EC	0,1	0
Pirimor DP	0,05	97,1
Pirimor DP	0,075	96,0

1. pokračování tab. I

Název přípravku	Zkoušená koncentrace	% vyklíčených spór (vztaženo na kontrolu)
Plictran	0,1	88,2
PP 993	0,3	71,9
Reldan	0,01	86,3
Reldan	0,1	0
Ripcord 25 EC	0,05	54,0
Ripcord 25 EC	0,1	0
Satisfar	0,01	0
Sumi alfa	0,03	22,3
Sumicidin 20 EC	0,02	63,0
Sumicidin 20 EC	0,04	51,0
Talstar	0,03	0
Ultracid 40 WP	0,03	84,6
Vaztac 10 EC	0,01	95,6
Vaztac 10 EC	0,1	95,0
Zolone 35 EC	0,02	0
Fungicidy		
Aliette	0,3	0
Brestan	0,001	81,0
Brestan	0,01	0
Curzate K	0,3	0
Dithane M-4	0,05	0
Fundazol	0,1	0
Kuprikol	0,1	63,0
Kuprikol	1,0	50,1
Ridomil MZ-72	0,05	0
Ridomil 48 WP	0,3	0,53
Herbicidy		
Afalon	0,4	0
Aminex	0,6	0
Fusilade	0,8	0
Gramoxone	0,4	84,2
Reglone	0,8	85,6
Roundup	1,0	64,7
Simazin	0,8	0
Zeazin	0,4	0
ZnSO ₄	0,15	39,8

2. pokračování tab. I

Název přípravku	Zkoušená koncentrace	% vyklíčených spór (vztaženo na kontrolu)
Tenzidy		
Atplus 210	0,1	91,6
Atplus 240	0,1	76,0
A-411	0,002	93,18
A-412	0,002	92,5
Atlox 5340	1,0	78,21
Atlox 804	1,0	64,04
Atlox 4896	1,0	56,19
Atlox 5320	1,0	86,74
Atlox 4853	1,0	0
Atlox 4862	0,01	85,26
Atlox 4875	1,0	78,21
Citowett	0,1	97,7
Citowett	1,0	66,7
Fomapon	1,0	75,6
Reversal 9	1,0	0
Hnojiva		
DAM	6,8	68,9
DAM	2,3	89,5
močovina	6,8 % DAM	59,2
močovina	2,3 % DAM	93,8
NH ₄ NO ₃	6,8 % DAM	92,5
NH ₄ NO ₃	2,3 % DAM	99,1

Toxikologie Boverolu

Boverol neobsahuje žádné toxiny, což bylo na základě farmakologických zkoušek prokázáno Referenční laboratoří pro pesticidy a jejich rezidua IHE v Praze (Vilímovská, 1986). Vegetativní spóry vláknitých hub obecně toxiny zpravidla neobsahují, a to i v případě, že kmen použitý pro jejich přípravu je schopen toxické sekundární metabolity produkovat. Produkce sekundárních metabolitů je totiž zpravidla vázána na diferenciaci kultury do produkční fáze a v průběhu sporulace k ní nedochází. Proto také Boverol, i když jde o přípravek kontaktní, neusmrcuje hmyz bezprostředně po aplikaci, jako je tomu v případě chemických kontaktních insekticidů, ale až poté, co spóra, která se zachytila na povrchu jeho těla, vyklíčí a mycélium ho začne prorůstat. Dochází-li přitom postupně také k intoxikaci, nebo jde-li jen o proces enzymatického trávení, není dosud v případě druhu *B. bassiana* objasněno.

Proto také nelze vyloučit, že by se různé kmeny tohoto druhu mohly mechanismem svého účinku mezi sebou lišit. Rezistence proti infekci Boverolem nebyla dosud zaznamenána. Je také velmi nepravděpodobná, protože zde chybí inhibiční (toxické) agens, které by vyvolávalo u cílového hmyzu vznik rezistentních mutant.

Literatura

- HALL, R. A.: Pathogenicity of *Verticillium lecani* conidia and blastospores against the aphid, *Macrosiphoniella sanborni*. Entomophaga, 24, 1979, s. 191-198.
- JEVLACHOVÁ, A. A. — TARASOV, L. G.: Experience in the production of the biopreparation Boverin under nonsterile conditions. Biol. Meth. Pl. Contr., 5, 1968, s. 131-133.
- KONONOVA, E. V.: Selection of commercial strains of the fungus *Beauveria bassiana*. Proc. 1st Joint US/USSR Conf., Kijev, 1979, s. 173-191.
- KRÁL, J. — NEUBAUER, Š.: Použití entomofytních hub rodu *Beauveria* proti mandelince bramborové. II. Zool. listy, V, 1956, s. 178-186.
- KYBAL, J. — VLČEK, V.: A simple device for stationary cultivation of microorganisms. Biotechnol. and Bioengng, XVIII, 1976, s. 1713-1718.
- SAMŠINÁKOVÁ, A. — KÁLALOVÁ, V. — VLČEK, V. — KYBAL, J.: Mass production of *Beauveria bassiana* for regulation of *Leptinotarsa decemlineata* populations. J. Invertebr. Path., 38, 1981, s. 169-174.
- SAMŠINÁKOVÁ, A. — KÁLALOVÁ, S. — KYBAL, J. — WEISER, J. — VLČEK, V. — CHROMÍK, J.: Způsob získávání vzdušných konidií entomofágických hub. Autorské osvědčení č. 212 078, 1983.
- TĚLENGA, N. A.: Biologičeskij metod borby s vrediteljami sel'skochozjajstvennykh kultur i lesnykh nasaždenij v SSSR. In: IX. Mežd. Konf. Karant. Zašč. Rast. Vred. Bol., 1958, s. 25-30.
- TĚLENGA, N. A. — GORAL, V. M.: Novoje v vyraščivaniji griba belej muskardiny na židkych pitatel'nyh sredach. Biol. Met. Borb. Vred. sef. Choz., 1967, s. 171-173.
- VILÍMKOVÁ, H.: Biologické prostředky ochrany rostlin. [Kandidátská disertace.] Praha 1986. IHE.
- VLČEK, V. — KYBAL, J.: Zařízení ke kultivaci mikroorganismů. Autorské osvědčení č. 172 552, 1978.
- WEISER, J.: Nemoci hmyzu. Academia 1966.

Došlo dne 13. 5. 1987

Микологические аспекты производства биоинсектицидного препарата Боверол

Промышленная технология производства микоинсектицидного препарата Боверол включает в качестве действенного компонента воздушные споры гриба вида *Beauveria bassiana*. Боверол — беловатый, водонерастворимый порошок, наносимый в форме водной суспензии как отдельно, так и в комбинации с некоторыми пестицидами и смачивателями. Его качество контролируется на основе требований техн. условий. Препарат должен содержать минимально 10^{10} спор/г, в том числе хотя бы 70% всхожих спор, и обладать требуемым биодействием. Хранить при макс. +10 °C по крайней мере 12 мес. Он не содержит никаких токсинов. Его действие контактное, но не наступает сразу же после нанесения, а лишь когда споры заразят нужных насекомых и начинают сквозь них прорастать.

Beauveria bassiana; энтомофагные грибы; конидии; биологические инсектициды

Mycological Aspects of the Production of the Bioinsecticidal Preparation Boverol

Industrial technology of the production of a mycoinsecticidal preparation, denoted as Boverol, has been introduced. The active ingredient of the product are the air-borne spores of the entomophagous fungus of the species *Beauveria bassiana*. Boverol is a whitish powder, insoluble in water. It is applied as water suspension either alone or in combination with selected pesticides and wetting agents. The quality is controlled on the basis of the requirements of technical standard. The product must contain at least 10^{10} spores per 1 g and 70% of these spores must be germinable; it should of course exhibit the required biological effectiveness. Boverol can be stored at temperatures not higher than +10 °C minimally for 12 months. The product contains no toxins. Its action is contact but does not start immediately after application: the spore must infect the insects to be controlled and start growing through its tissue.

Beauveria bassiana; entomophagous fungi; conidia; biological insecticides

Mykologické aspekty produkce Boverolu

Es wurde die industriemäßige Anbautechnologie für die Produktion des Mykoinsektizides Boverol eingeführt. Die Wirkungskomponente von Boverol sind die Luftsporen des entomophagen Pilzes der Art *Beauveria bassiana*. Boverol ist ein weißes, wasserunlösliches Pulver. Es wird in Form von Wassersuspension allein oder in Kombination mit ausgewählten Pestiziden und Benetzungsmitteln verwendet. Die Qualität wird entsprechend den Anforderungen der technischen Bedingung kontrolliert. Das Mittel muß die minimale Menge an Sporen von $10^{10}/1\text{ g}$ enthalten, davon müssen mindestens 70 % keimende Sporen sein und es muß weiterhin die erforderliche biologische Wirksamkeit besitzen. Boverol kann bei 10°C mindestens 12 Monate eingelagert werden. Das Mittel enthält keine Toxine, seine Wirkung ist kontakt, sie tritt aber keineswegs unmittelbar nach der Applikation ein, sondern erst wenn die Sporen die Insekten infizieren und durch sie durchzuwachsen beginnen.

Beauveria bassiana; entomophage Pilze; Konidien; biologische Insektizide

RNDr. Jan Kybal, CSc., RNDr. Sylvie Kálalová, Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii, Kourimská 17, 130 00 Praha 3 - Vinohrady

SMĚRY STUDIA INTERAKCÍ RHIZOBIÍ S PESTICIDY

D. Siblíková

Jedním z limitujících prvků zemědělské produkce je dusík. V současné době jsou jak výroba, tak i používání průmyslových hnojiv spojeny s velkými energetickými a ekologickými problémy. Na významu proto nabývá využití přirozené součásti koloběhu dusíku — biologické fixace molekulárního dusíku.

Biologická fixace je redukce atmosférického dusíku na amoniak pomocí enzymového nitrogenázového komplexu (Marečková, 1983). Nejvýznamnější je symbiotická fixace vzdušného dusíku půdními bakteriemi — rhizobii — na kořenech vřkovitých rostlin. Efektivní kultura rhizobií umožňuje získání levného zdroje dusíku, mikrobiologickou aktivaci půdy a následné zvyšování výnosů rostlin. Vysoce účinná specifická rhizobia, vnesená na semeno nebo do jeho bezprostřední blízkosti na vhodném nosiči, představují praktický výstup do zemědělské praxe — bakteriální přípravek Rhizobin (Oseva — VOL Stránčice). Aplikací Rhizobinu dochází v průměru k zvýšení výnosů u jetelovin o 5 % a u luskovin o 7,5 %. Inokulací plochy leguminóz byl v roce 1986 zjištěn v hodnotě suché píce, zrna a ušetřeného dusíkatého hnojiva přínos 60 milionů Kčs (Máchová, Pačour, 1987).

Základním předpokladem rychlé infekce, a tím i efektivity fixace dusíku, je přežití uměle vnesených účinných rhizobií na semeni nebo v jeho těsné blízkosti. Součástí agrotechniky leguminóz je aplikace prostředků ochrany rostlin. Existence těchto faktů způsobila intenzivní zájem o studium interakcí mezi pesticidy a rhizobii.

U bakterií jde o zkoumání hledisek vitality, senzitivity, případné rezistence druhově specifických rhizobií. V souvislosti s vitalitou a charakterem růstu mikrobiologické populace se zjišťuje i senzitivita jednotlivých kmenů v rámci jednotlivých druhů. Tyto vlastnosti jsou uvažovány ve vztahu k parametrům nodulační kapacity, acetylen — redukční aktivity, celkového obsahu dusíku, složení a obsahu proteinů v jednotlivých částech rostlin, výnosových parametrů včetně sušiny, vývoje rostlin, působení v osevních postupech.

U pesticidů jsou zkoumány chemické vlastnosti účinných látek včetně jejich perzistence a reziduálních účinků. Je ověřován i dopad působení látek doplňkových — aplikačních. Sledování se týká dávkování, časových intervalů aplikace a možného kontaktu s chemikálií.

Pozorování jsou prováděna nejenom v umělém prostředí, ale i v konkrétních půdně-klimatických a agrotechnických podmínkách stanoviště s aktuálně druhově zastoupenou půdní mikroflórou.

Variabilita výsledků výzkumu se odrazila ve snahách po nalezení nových směrů řešení kompatibility pesticidů a rhizobií. Současné cesty jsou: využití peletizace a granulace, získání kompatibilních a vůči pesticidům rezistentních kmenů, genetické transformace.

Peletizací a granulací předcházely práce testující vhodnost separačních materiálů. Tak např. Diatloff (1970) snížil nežádoucí účinky fungicidů thiramů a dextrinu na *Rhizobium trifolii* pomocí separační vrstvičky polyvinyl-acetátové pryskyřice (P. V. A.). Její použití nenarušilo emergenci semenáčků. Nodulace byla v kombinaci s fungicidy dokonce vyšší. Použití dextrinu bylo z hlediska nodulace vhodnější.

O vytvoření vhodných pelet se ve své práci pokusili Faizah et al. (1980). Teoreticky vyšli z názoru, že izoláty rhizobií se liší schopností existence v rhizosféře, v prostředí nativních hlízkových bakterií. Teorii podmiňují i druhovou specifikou rhizobií podle hostitelské rostliny. Testovali účinek přírodních fosfátů vápníku různého původu, kostní moučky, talku a pojidel Cellofas, Methofas, arabské gumy. S 19 izoláty druhových rhizobií kombinovali fungicidy (Actidione, Benlate, Captan-SR 406, Dithane M45, Fernasan, Karathene WD, Thiram), insekticidy (Aldrin, Heptachlor, Rogor 40) a herbicidy (Dalapon, Goal, Roundup, TOK E 45). Jejich působení bylo vztaženo k růstu *Glycine max.* L., *Cajanus cajan*, *Centrosema pubescens* a *Psophocarpus tetragonolobus*. Z hlediska toxicity byly nejméně škodlivé Benlate a Heptachlor. Následoval Aldrin, Actidione a Thiram. Zhoršení způsobily Captan, Dalapon, Roundup, Fernasan a Rogor 40. Největší jedovatost vykazovaly Dithane M45 a Karathene WD. Ve vztahu k toxicitě autoři konstatovali, že různé kmeny rhizobií reagují různě. U Goalu, TOK E-45 vzrůstala se vzrůstající koncentrací zároveň i toxicita. Aldrin snížil tvorbu hlízek v případě KNO₃ i bez něj. Captan ani Furadan neovlivnily růst ani nodulaci *Centrosema pubescens*. Fernasan ovlivnil klíčení i nodulaci záporně. Nejvíce odolné s ohledem na účinek různých peletizačních materiálů byly *Glycine max.* a *Centrosema pubescens*. Výše uvedené zkoušené materiály nepůsobily nepříznivě. Mortalitou *Rhizobium meliloti* a *Rhizobium trifolii* byla provázena kombinace arabské gumy, CaCO₃ s formathionem, phosmetem, malathionem, methidationem a dimethoatem, jak uvádějí Brockwell, Robinson (1976).

Kombinaci bentonitu, amorfního kyslíčnicku křemičitého, adheziva, cukru s insekticidem carbofuranem otestovali u *Rhizobium leguminosarum* Schiffers et al. (1982) aplikací tekutého inokula nebo suspenze bakterií na vermikulitu. Rennie, Dubetz (1984) sledovali fungicidy kaptan, thiram, karbathiin, preemergentně herbicidy chloranben, trifluralin a postemergentně herbicid diclop. Pesticidy byly použity v doporučených dávkách s granulovaným inokulantem. Zjistili, že v tomto množství nepůsobí na nodulaci ani na fixaci dusíku škodlivě. Jako další možnost preventivního zmírnění kontaktu rhizobia a chemikálie uvádějí autoři možnost aplikace granulovaného inokulantu do půdy. Signifikantní snížení hmotnosti, množství hlízek a acetylén — redukční aktivity kaptanu na semeno nebo na granulovaný inokulant u sóji popsali Chamber Perez, Montes Augusti (1982). Výnos semen nebyl ovlivněn. Tendence snížení bílkovin byla zvlášť výrazná při přímé aplikaci na semeno.

Inhibice závisí na době kontaktu a koncentraci pesticidu (Dunigan et al., 1972, Goring, Vaskowski, 1982). Užití fungicidů na semeno může zpomalovat nodulaci. Pomalejší nodulace je charakteristická pro kořeny primární. U kořenů laterálních nemusí jít o trvalé ovlivnění. V této souvislosti upozorňují autoři na možnou škodlivost systémických a preemergentních herbicidů. Na záporné působení preemergentních herbicidů poukazují také Chamber Perez, Montes Augusti (1982). Biocidní nebo biostatiký projev rhizobií je podmíněn dědičnou citlivostí kmenů, způsobem aplikace a dobou mezi inokulací a zasetím (Rennie, Dubetz, 1984). Míra rezistence rhizobií závisí na rychlosti jeho růstu (Kascubiak, 1966). Rychle rostoucí *Rhizobium meliloti*, *Rhizobium trifolii*, *Rhizobium leguminosarum* jsou rezistentnější vůči vyšším dávkám herbicidů než pomalu rostoucí *Rhizobium japonicum* a *Rhizobium lupini*. Obdobnou myšlenku vyslovili i Jansen van Rensburg, Strijdom (1984).

Problematika rezistentních kmenů rhizobií, tj. jejich izolace, přetrvávání vlastnosti získané rezistence vůči dané dávce pesticidu, charakteristiky populace rezistentních rhizobií, možnosti jejich využití a konkurenční schopnosti v rámci jiných rhizosférických mikroorganismů, je součástí prací řady autorů.

Byly izolovány kmeny rezistentní k určitým dávkám pesticidů. U *Rhizobium meliloti* vůči dávce 50 $\mu\text{g/ml}$ captanu (Orthocid), spontánní rezistentní mutanty k 200 $\mu\text{g/ml}$ Neo-Voronitu a 15 $\mu\text{g/ml}$ herbicidu dinoseb (Harcamin). Při rezistenci k 800 $\mu\text{g/ml}$ MCPA (Hedonal M) byla objevena i zlepšená fixační schopnost (Gillberg, 1971). *Rhizobium meliloti* rezistentní k 200 $\mu\text{g/ml}$ thiramu získali Odeyemy, Alexander (1977). Ve stejných dávkách jako pro *Rhizobium meliloti* izoloval Gillberg (1971) rezistentní kmeny i u *Rhizobium leguminosarum* a *Rhizobium trifolii*. U *Rhizobium trifolii* se lišila hladina rezistence k 100 $\mu\text{g/ml}$ Neo-Voronitu. Maximální rezistence pro *Rhizobium phaseoli* byla 150 $\mu\text{g/ml}$ (Odeyemy, Alexander, 1977). K 30 $\mu\text{g/ml}$ TMTD rezistentní *Rhizobium japonicum* a izoláty rezistence z *Phaseolu mungo* a *Vigna unguiculata* obdrželi Gupta, Shirkot (1981). *Rhizobium japonicum* rezistentní k 100 $\mu\text{g/ml}$ benomylu a k 500 $\mu\text{g/ml}$ oxamylu v kombinaci s erytromycinem a streptomycinem uvádějí Hossain, Alexander (1984). Množství hlízek vytvořených po inokulaci rezistentním kmenem v kombinaci s aplikací benomylu bylo větší než při inokulaci bez použití pesticidu. Poukázali však na to, že při použití rezistentního kmene byla kolonizována jen omezená část kořenového systému. Při aplikaci látky na semeno došlo ke zvýšení celkového obsahu dusíku, zvýšil se výnos lusků i celkový výnos. Při užití insekticidu oxamylu na semeno, na list nebo obojího s uvedeným typem inokulace se opět projevilo zvýšení výnosu obsahu dusíku, hmotnosti hlízek, lusků, semene a došlo ke změně relativní frekvence hlízek vytvořených inokulovaným kmenem. Některé nejednotnosti výsledků byly zřejmě způsobeny růzností půd a denzity porostu. Odeyemy, Alexander (1977) zjistili, že obdržené rezistentní kmeny nemění svou schopnost nodulace a fixace dusíku u příslušných hostitelských leguminóz. Schopnost rezistence se zachovává i při opakovaném pasážování. Obdobný názor vyslovili Gupta, Shirkot (1981). Charakter a velikost jsou u rezistentních kmenů obdobou kmenů rodičovských (Odeyemy, Alexander, 1977). U rezistentních kmenů klesá konečný počet buněk, i když rostou rychleji než senzitivní rhizobia (Gupta, Shirkot, 1981). Se vzrůstem rezistence roste obsah totálních lipidů a fosfolipidů a klesají glykolipidy. Použitím látek stimulujících lipidovou funkci dochází ke zvýšení totálních lipidů a jejich rezistence vůči TMTD. Při aplikaci senzitivního inokula v kombinaci s pesticidem jsou rostliny zakrnělé, chlorotické a fixují méně dusíku. Naopak při dodání rezistentního kmene a použití daného pesticidu rostou rostliny dobře. Fixace dusíku je větší než u rostlin ze semen neošetřených. Není-li fungicid použit, není rozdíl ve vývoji rostlin, měřeném podle sušiny a dusíkatého obsahu. Tato skutečnost platí, ať už je použito rezistentní nebo senzitivní inokulum. O negativním ovlivnění nodulační kapacity kmenů v přítomnosti bakteriostatického činidla se zmiňují Odeyemy, Alexander (1977). Jansen van Rensburg, Strijdom (1971) referují o zmenšené schopnosti nodulace u *Rhizobium japonicum* v přítomnosti acriflavinu. V těchto souvislostech opačné názory vyslovili např. Obaton (1971) nebo Mackenzie et al. (1972). Z hlediska udržení nodulační kapacity se jednou z možností řešení jeví využití kmenů podle rozdílné kompatibility vůči různým pesticidům (Odeyemy, Alexander, 1977). Nabízí se myšlenka použít schopnosti tolerance rhizobií k fungicidům k identifikaci rezistentních kmenů ve společnosti rhizobií nativních a ke studiu vztahu rhizobií k ostatním mikroorganismům rhizosféry. Nutnost komplexnosti problematiky výzkumu dokládají ve svých pracích Curley, Burton (1975) a Ramirez, Alexander (1980), kteří provedli praktické ověření vlivu dalších mikroorganismů v rhizosféře. Sledování se týkalo celkového počtu bakterií, *Bdellovibria*, lytických mikroorganismů, producentů antibiotik, bakteriofágů a protozoí. U *Rhizobium phaseoli* a *Rhizobium meliloti* rezistentních k 500 $\mu\text{g/ml}$ thiramu se streptomycinem autoři neprokázali přímou úlohu bakteriálních kompetitorů, lytických bakterií, producentů antibiotik a *Bdellovibria* na potlačení *Rhizobium phaseoli* kolem klíčícího semene. Rozsah kolonizace rhizobiem byl shledán přímo úměrný přítomnosti velkého počtu bakterií a protozoí. Po vysetí semen došlo ke zvýšení množství protozoí a současněmu snížení *Rhizobium phaseoli*. K zlepšení situace přispěla aplikace thiramu nebo Tritonu X-100 (cykloheximidu), fungujících jako inhibitory protozoí. S manilem byly saprobovány exudáty semen a kořenů. Autoři odůvodnili tuto situaci tím, že se protozoa živí bakteriemi, které bují využíváním exudátů semen a kořenů. Práce potvrzuje závěry, ke kterým dospěli Vincent

(1965) a Obaton (1971), tvrdící, že se v ekologii rhizobia významně neuplatňují producenti antibiotik. Interakcemi se zabývali i Lennox, Alexander (1981). Referovali o možnosti využití vlastnosti rezistence z hlediska biologické kontroly. Protože potenciální antagonisté byli inhibováni přidanou chemikálií, mohl kmen rezistentní k 75 $\mu\text{g/ml}$ thiamu a streptomycin-sulfátu, erytromycinu, cykloheximidu snadněji pronikat do rhizosféry rostlin a indukovat častější nodulaci. Větší inhibice protozoí thiamem se projevila v případě flagelates a amoebae. V přítomnosti ciliates, flagelates a amoebae byla jeho působnost nižší. Skutečnost, že nodulace s kmenem rezistentním vůči fungicidu byla podporována pouze v raném stadiu vývoje, byla potvrzena nálezy, které uvádějí Ramirez, Alexander (1980). Časová relace nodulace platí i pro obsah rezistentního inokula v hlízkách. Existence stimulačního účinku byla zřejmá, ať se rezistentní kmen nacházel přímo v půdě, nebo na semeni. Tento fakt platil pro inokulum užití v daném pokuse i vnesené předešlou aplikací.

Nejnovější poznatky sledují jako třetí perspektivní cestu genetické řešení problematiky. Např. Don, Pemberton (1981) konstatovali, že schopnost degradovat pesticidy jako 2,4-D a MCPA je determinována plasmidy. Z nich pJP4 je přírodní a samopřenositelný mezi množstvím gramnegativních bakterií včetně *Escherichia*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*. Vedle funkcí degradujících herbicid, které jsou výlučné u *Alcaligenes eutrophus*, *paradoxus* a *Pseudomonas putida*, přispívá plasmid i k rezistenci vůči fenymerkuriacetátu a rtuťovým iontům. Přenos tohoto plasmidu byl prokázán na *Escherichia coli*, *Rhodopseudomonas shaeroides*, *Rhizobium* sp. a *Agrobacterium tumefaciens*. Friedrichová et al. (1983) se zabývali přenosem a expresí tohoto plasmidu u aerobních autotrofních bakterií. Navázali tak na předešlou práci. Po vyšetření fenotypového vyjádření funkcí zakódovaných v plasmidu uvedli důkaz pro koexistenci plasmidu pJP4 a rezistentního plasmidu DNA, nedávno nalezených u recipientů.

V rešerši není pro omezený rozsah textu uvedena řada prací týkajících se vlastní interakce pesticid-rhizobium. V tomto směru odkazujeme zejména na práce, které zveřejnili Kecskés (1972), Gaur (1980), Klincare (1983).

Literatura

- BROCKWELL, J. — ROBINSON, A. C.: Effects of commercial organo-phosphorus insecticides on the growth in culture, viability in seed pellets, and symbiotic nitrogen fixation of *Rhizobium* spp. Austral. CSIRO Div. Pl. Fld Stn Res., 15, 1976, s. 15-26.
- CURLEY, R. L. — BURTON, J. C.: Compatibility of *Rhizobium japonicum* with chemical seed protectants. Agron. J., 67, 1975, s. 807-808.
- DIATLOFF, A.: Overcoming fungicide toxicity to rhizobia by inoculating with a polyvinyl acetate layer. Austral. J. agric. Sci., 1970, s. 293-294.
- DON, R. H. — PEMBERTON, J. M.: Properties of six pesticide degradation plasmids isolated from *Alcaligenes paradoxus* and *Alcaligenes eutrophus*. J. Bact., 145, 1981, s. 681-686.
- DUNIGAN, E. P. — FREY, J. P. — ALLEN, L. D. — MAHON, J. A. M.: Herbicidal effects of the nodulation of *Glycine max.* (L.) Merril. Agron. J., 64, 1972, s. 806-808.
- FAIZAH, A. W. — BROUGHTON, W. J. — JOHN, C. K.: Rhizobia in tropical legumes. XI. Survival in the seed environment. Soil Biol. and Biochem., 12, 1980, s. 219-227.
- FRIEDRICH, B. — MEYER, M. — SCHLEGEL, H. G.: Transfer and expression of the herbicide-degrading plasmid pJP4 in aerobic autotrophic bacteria. Arch. Mikrobiol., 134, 1983, s. 92-97.
- GAUR, A. C.: Effect of pesticides on symbiotic nitrogen fixation by legumes. Indian J. Microbiol., 20, 1980, č. 4, s. 362-370.
- GILLBERG, B. O.: On the effects of some pesticides on *Rhizobium* and isolation of pesticide-resistant mutants. Arch. Mikrobiol., 75, 1971, s. 203-208.
- GORING, C. A. J. — VASKOWSKI: The effect of pesticides on nitrogen transformation in soils. Nitrogen in agricultural soils. Agron. J., 22, 1982, s. 689-720.
- GUPTA, K. G. — SHIRKOT, C. K.: Tetramethylthiuram disulfide (TMTD) resistance in slow-growing rhizobia. Soil Biol. and Biochem., 13, 1981, s. 337-380.

HOSSAIN, A. K. M. — ALEXANDER, M.: Enhancing growth and nitrogen uptake by soybeans using pesticides. *Pl. and Soil*, 81, 1984, s. 133-141.

CHAMBER PEREZ, M. A. — MONTES AUGUSTI, F. J.: Effects of some seed disinfectants and methods of rhizobial inoculation on soybeans *Glycine max.* (L.) Merrill. *Pl. and Soil*, 66, 1982, s. 353-360.

KASCZUBIAK, H.: The effect of herbicides on *Rhizobium*. *Acta microbiol. pol.*, 15, 1966, s. 357-364.

KECSKÉS, M.: A survey of herbicide sensitivity and resistance of rhizobia. *Symp. biol. hung.*, 11, 1972, s. 405-415.

KLINCARE, A. A.: Pesticidy i mikroflora rasténij. Riga Zinatne, Akad. Nauk Latv. SSR, 1983, s. 1-168.

JANSEN VAN RENSBURG, H. — STRIJDOM, B. W.: Stability of infectivity in strains of *Rhizobium japonicum*. *Phytophyllactica*, 3, 1971, s. 125-130.

JANSEN VAN RENSBURG, H. — STRIJDOM, B. W.: Effect of herbicides on survival of rhizobia and nodulation of peas, groundnuts and lucerne. *S.-Afr. J. Pl. Soil*, 1, 1984, č. 4, s. 135-138.

LENNOX, L. B. — ALEXANDER, M.: Fungicide enhancement of nitrogen fixation and colonization of *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium phaseoli*. *Appl. Envir. Mikrobiol.*, 41, 1981, č. 2, s. 404-411.

MÁCHOVÁ, M. — PAĎOUR, J.: Společenský přínos inokulace leguminóz preparátem Rhizobin v ČSSR v r. 1986 a 1987, (v tisku).

MACKENZIE, J. — GLASBY, T. — DIATLOFF, A.: The role of nodulation and damping-off in lucerne establishment on acidic sandy soils on the Darling Downs. *Austral. J. exp. Agric. anim. Husb.*, 12, 1972, s. 428-432.

MAREČKOVÁ, H.: Biologická fixace dusíku a její využití. *Stud. Inform. ÚVTIZ, Půdoznal. Melior.*, 1983, č. 3, s. 7.

OBATON, M.: Utilization de mutants spontaneo résistants aux antibiotiques pour l'étude écologique des *Rhizobium*. *C. R. hebdom. Séanc. Acad. Sci. Ser. D. Sci. Nat. (Paris)*, 272, 1971, s. 2630-2633.

ODEYEMY, O. — ALEXANDER, M.: Use of fungicide-resistant rhizobia for legume inoculation. *Soil Biol. and Biochem.*, 9, 1977, s. 247-251.

RAMIREZ, C. — ALEXANDER, M.: Evidence suggesting protozoan predation on *Rhizobium* associated with germination seeds and in the rhizosphere of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Appl. Envir. Mikrobiol.*, 40, 1980, č. 3, s. 492-499.

RENNIE, R. J. — DUBETZ, S.: Effect of fungicides and herbicides on nodulation and N₂-fixation in soybean fields. Lacking indigenous *Rhizobium japonicum*. *Agron. J.*, 76, 1984, s. 498-502.

SCHIFFERS, B. — CORNET, D. — FRASELLE, J. — MBOKA UNDA, B.: Etude de l'association du *Rhizobium* et de l'insecticide carbofuran dans le pralinage des semences de soja [*Glycine max.* (L.) Merrill]. *Parasitica*, 38, 1982, č. 2, s. 55-63.

VINCENT, J. M.: Environmental factors in fixation of nitrogen by the legume. In: W. V. Bartholomew and F. E. Clark (ed.) *Soil nitrogen*. Madison, Wis., Amer. Soc. Agron., 1965, s. 384-435.

Došlo dne 13. 5. 1987

Направления изучения взаимодействий между ризобиями и пестицидами

В настоящее время биотехнологическое использование биосимбиотической фиксации атмосферного азота растениями посредством почвенных бактерий-ризобий (препарат Ризобин) обусловлено одновременным проведением химической защиты. Статья обозревает главные направления в совместности пестицидов-ризобий путем получения устойчивых штаммов, использования палетизации и генетических трансформаций.

азотная фиксация; ризобии; пестициды

The Lines of Study of Rhizobia X Pesticides Interactions

The biotechnology making use of the symbiotic biological fixation of atmospheric nitrogen by the plants through the soil bacteria — rhizobia (the Rizobin preparation) is affected by the chemical control practices which are still necessary at present. We present a survey of the main lines of the study of the compatibility of pesticides and rhizobia based on the development of resistant strains, on the use of pelleting, and on genetic transformations.

nitrogen fixation; rhizobia; pesticides

Trends des Studiums der Wechselwirkungen zwischen Rhisobien und Pestiziden

Die Biotechnologie der Ausnutzung der symbiotischen biologischen Fixation des Luftstickstoffes durch Pflanzen mittels Bodenbakterien — Rhisobien (Präparat Rhisobin) steht unter dem Einfluß einer notwendigen Applikation des chemischen Schutzes. Die vorliegende Arbeit faßt die wichtigsten Trends der Lösung der Kompatibilität der Pestizide und Rhisobien durch Gewinnung der resistenten Stämme, durch Ausnutzung der Möglichkeiten zur Peletisierung als auch der genetischen Transformationen zusammen.

N-Fixation; Rhisobien; Pestizide

Ing. Darja Siblíková, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507,
161 06 Praha 6 - Ružyně

VÝZKUM A UPLATNĚNÍ MYKOINSEKTICIDŮ TYPU BOVEROL

O. Dirlbeková, J. Dirlbek

V posledních letech byl v ČSSR vypracován původní způsob výroby biopreparátu Boverol. Podstatou výrobního procesu je povrchová kultivace entomopatogenní houby druhu *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. ve vhodném živném prostředí a tvorba vlastního bioagens — spor uvedené houby. Biotechnologickým způsobem je tak získáván infekční materiál vzdušných konidií, který tvoří účinnou složku myko-insekticidu Boverol. Tento myko-insekticid je určen k ochraně proti hmyzím škůdcům v krytých prostorách (s rostoucími zemědělskými a okrasnými rostlinami nebo s uskladněnými produkty) i k ochraně polních kultur. V různých zemích jsou biopreparáty na bázi *Beauveria bassiana* pod různým označením využívány proti hmyzím škůdcům (můžeme je označovat jako myko-insekticidy typu Boverol), např. v SSSR proti mandelince bramborové, v ČLR proti zavíječi kukuřičnému, v ČSSR k dezinfekci skladovacích zemědělských prostor. V ČSSR je výroba myko-insekticidů typu Boverol soustředěna v přidružené zemědělské výrobě JZD Blatnice, ACHP Milevsko, JZD Vladislav.

Je pochopitelné, že logická řada — věda, výzkum, vývoj, výroba, praxe — u myko-insekticidů typu Boverol má ještě před sebou určitá úskalí a že existují některé pracovní úseky, vyžadující další zdokonalení a lepší organizační zajištění. Na některé problematické otázky je proto třeba upozornit.

Za základní otázku je možno považovat výběr infekčního materiálu s ohledem na cílového škůdce — pracovat s kmenem vysoce agresivním a pokud možno se specifickým působením, s širokou ekologickou valencí a vyhovující sporulací, která

je předpokladem dobré výtěžnosti při použité technologii. V této oblasti základního výzkumu budou vždy rezervy nových možností. Úspěšné zvládnutí výběru inokulačního materiálu pro výrobu mykoinsekticidu určuje nejen jeho biologickou účinnost, ale ovlivňuje i cenu přípravku a možnosti jeho uplatnění v praxi. Systematický výzkum a volba inokulačního materiálu musí mít své pracovní základy v udržování, pasážování, srovnávání vlastností a znaků, v testování izolovaného materiálu, dále pak ve znalosti vlastností srovnatelných zahraničních preparátů a standardních kmenů, v udržování sbírkového materiálu. Do oblasti základního výzkumu spadá také studium vlastností látek vylučovaných entomopatogenní houbou do prostředí během kultivace.

V oblasti aplikovaného výzkumu se vyskytují otázky neméně významné. Jsou to čtyři okruhy otázek: okruh metodický, biologicko-technický, ekologický a ekonomicko-organizační. Je třeba si uvědomit, že Boverol je první čs. mykoinsekticid a že dosud nebyly u nás žádné zkušenosti ani s posuzováním jeho účinnosti, ani s aplikací. K výzkumné modelové práci s mykoinsekticidem Boverol byla vybrána mandelinka bramborová. Byly vypracovány metody pro terénní testování biologické účinnosti, strategie a taktika použití mykoinsekticidu v polních podmínkách, stanoveny základní technické parametry pro pozemní aplikaci. U ostatních hospodářsky významných hmyzích škůdců, kde použití Boverolu přichází v úvahu, bude třeba tuto část aplikovaného výzkumu teprve řešit. V zemědělském výzkumu je třeba věnovat pozornost i aplikační technice — stanovení optimální velikosti částic postřikové suspenze pro docílení silné infekce u škůdce a pro vysokou biologickou účinnost ošetření. Velké pole působnosti má aplikovaný výzkum ve volbě přídatných (povrchově aktivních) látek k mykoinsekticidům typu Boverol a ve zvýšení účinnosti ošetření kombinací mykoinsekticidů se stresory (biologickými nebo chemickými). Cestu v tomto směru výzkumu ukazuje ošetření mykoinsekticidem Boverin (na bázi *Beauveria bassiana*) se sníženou dávkou insekticidu proti mandelince bramborové v SSSR. Kombinovaným ošetřením biopreparátem Boverin se sníženou dávkou insekticidu je zajišťována ochrana proti mandelince bramborové v celé západní části SSSR.

Dosavadní výsledky práce Výzkumného ústavu pro farmacii a biochemii v Praze a Výzkumného ústavu rostlinné výroby v Praze-Ruzyni při studiu kombinovaného ošetření mykoinsekticidem Boverol se sníženou dávkou insekticidu proti mandelince bramborové naznačují i další cesty výzkumu. Je to využití řízeného stresu a volba stresoru pro kombinované ošetření s mykoinsekticidy. Metoda řízeného stresu spočívá ve volbě integrované dávky insekticidu (stresoru) pro kombinované ošetření s mykoinsekticidem Boverol podle vhodnosti podmínek pro ošetření. Vhodnost podmínek pro ošetření u mandelinky bramborové určuje jednak fyziologický stav škůdce a struktura populace, jednak průběh podmínek vnějšího prostředí (teplota, vlhkost, sluneční svit). Maximum výskytu larev prvního a druhého vývojového stupně u mandelinky bramborové v porostu brambor (80 % vajíčka + L_{1-2} , z toho více než 60 % L_{1-2}) považujeme za optimální strukturu populace škůdce pro ošetření. Další vhodné podmínky prostředí pro aplikaci mykoinsekticidu Boverol nebo jeho kombinace se sníženou dávkou insekticidu jsou: teplota vzduchu 20 až 26 °C, relativní vlhkost vzduchu vyšší než 80 %, podmráčené počasí, výška natě do 30 cm, nezapojený porost brambor, pokryvnost postřiku — více než 20 kapének na cm². Podle metodiky vypracované ve VÚFB a VÚRV může specialista pro biologickou ochranu rostlin řídit dávkování stresoru k mykoinsekticidu a dosáhnout požadované biologické účinnosti ošetření. Volba druhu stresoru je stejně důležitá jako volba dávky. Stresor nesmí snižovat infekibilitu Boverolu. Zásadou pro volbu stresoru by mělo být souhlasné teplotní optimum působení stresoru s teplotou při ošetření, střídání stresorů s kontaktním a požerovým působením. Důležitou otázkou je začlenění ochranných zásahů mykoinsekticidy do postřikových programů proti původcům chorob zemědělských plodin. U porostů brambor správná signalizace termínu ochranného zásahu Boverolem eliminuje překrytí termínu ošetření proti mandelince a proti plísni bramborové.

Velmi závažné je řešení ekologických otázek při použití biopreparátu typu Boverol v polních podmínkách. Je to především otázka působení biopreparátu v agrobiocenóze, působení na predátory, parazity (nejen v krátkém časovém úseku po ošetření, ale i v delších časových řadách), působení opakovaných ošetření apod. S tím souvisí i studium otázek přetrvání infekčního materiálu u ošetřeném porostu, po sklizni ošetřené plodiny a v příští vegetační sezóně. U cílových škůdců do této oblasti výzkumu spadá sledování změn v populační dynamice po ošetření, početnost následujících generací, možnost vzniku epizootie. Pod kontrolu spadá vliv bio-

preparátu na včely, ryby, domácí i divoce žijící zvířata a dodržování hygienicko-epidemiologických předpisů při práci s biopreparáty.

Z ekonomicko-organizačních otázek je prvořadá otázka řízení biologické ochrany specialisty. V naprosté většině případů prognóza a signalizace rozhoduje o úspěchu nebo neúspěchu aplikace mykoinsekticidů. Např. u mandelinky bramborové opožděná nebo předčasná aplikace Boverolu (odchylna tři až pět dní od signalizovaného termínu) snižuje biologickou účinnost o 15 až 30 %. Pro výrobce není zanedbatelné vyřešení vhodného balení biopreparátu, otázka mikrobiální čistoty a kontroly mikrobiální čistoty mykopreparátu, vypracování standardní metody kontroly klíčivosti spór v postřikové suspenzi mykoinsekticidu s přídatnými látkami (např. stresory a povrchově aktivními látkami), kontrola účinnosti proti cílovému škůdci a skladování biopreparátu.

Závěrem této úvahy o výzkumu a uplatnění mykoinsekticidů typu Boverol v ČSSR je třeba zdůraznit, že přechodem od pouhého využívání (přirozených i umělých regulačních systémů v ochraně zemědělských plodin před škodlivými činiteli) k řízení vztahů mezi pěstovanými rostlinami, vnějším prostředím a škodlivými činiteli dochází i ke kvalitativní změně v postavení a realizaci biologických metod ochrany. Ekologická ochrana rostlin vyžaduje nejen propojení všech metod ochrany rostlin, ale i jejich integraci podle měnících se ekologických podmínek. Zvládnutí vysokých nároků ekologické ochrany se bude odrážet především v odbornosti řízení ochranných zásahů a bude základní podmínkou pro úspěšné uplatnění všech biologických způsobů ochrany rostlin.

Исследование и применение микоинсектицидов типа Боверол

В ЧССР был разработан первоначальный способ производства микоинсектицида Боверол, действующим веществом которого являются воздушные конидии гриба *Beauveria bassiana*. Использование микоинсектицидов этого типа в защите растений против насекомых-вредителей требует расширять сегодняшние знания по части отбора штаммов *B. bassiana* высоко агрессивных против целевых насекомых, качества техники для применения и усилению действия микоинсектицида добавлением невысокой дозы химического инсектицида, влияющего как стресс — фактор. Следует заниматься также проблемами из области экологической и экономико-организационной. Для использования Боверола против колорадского жука приведены условия и способы обработки, которые обеспечат хорошее биологическое действие.

биотехнология; *Beauveria bassiana*; Боверол; исследование; использование

Research and Use of Mycoinsecticides of the Boverol Type

An original method of the production of the Boverol mycoinsecticide containing air-borne conidia of the fungus *Beauveria bassiana* as its active ingredient has been worked out in Czechoslovakia. The use of mycoinsecticides of this type in the protection of plants against insect pests requires continuous enhancement of knowledge concerning the selection of the *B. bassiana* strains highly aggressive to the insects to be controlled, good quality of the application equipments, and higher effectiveness of the mycoinsecticide, based on the addition of a low dose of chemical insecticide. Ecological, economic and organizational problems should also be studied. Conditions and methods of treatment securing the high biological effectiveness are described for the use of Boverol in the control of the Colorado potato beetle.

biotechnology; *Beauveria bassiana*; Boverol; research; use

Untersuchungen und Einsatz von Mykoinspektiziden vom Typ Boverol

In der ČSSR wurde ein Originalverfahren erarbeitet zur Herstellung von Mykoinspektiziden des Typs Boverol, dessen Wirkstoff durch Luftkonidien des Pilzes *Beauveria bassiana* gebildet ist. Der Einsatz von Mykoinspektiziden dieses Typs im

Pflanzenschutz gegen Insektenschädlinge erfordert eine Vertiefung der bisherigen Kenntnisse in den Bereichen der Auswahl von Stämmen der *B. bassiana*, die gegen bestimmte Insektenarten hoch aggressive sind, der Qualität der Applikationstechnik und der Verstärkung des Wirkungsgrads der Mykoinsektizide durch Beigabe einer niedrigen Dosis eines als Stressor wirkenden chemischen Insektizids. Auch sind die Probleme auf dem Gebiet der Ökologie sowie ökonomisch-organisatorische Fragen zu untersuchen. Für den Einsatz von Boverol gegen den Kartoffelkäfer werden die Behandlungsbedingungen und -methoden, die eine gute biologische Wirksamkeit gewährleisten, angeführt.

Biotechnologie; *Beauveria bassiana*; Boverol; Forschung; Anwendung

Ing. Olga Dirlbeková, CSc., Výzkumný ústav pro farmacii a biochemii,
Jilská 16, 110 00 Praha 1 - Staré Město

Ing. Jan Dirlbek, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507,
161 06 Praha 6 - Ruzyně

MYKOPREPÁRÁTY ČESKOSLOVENSKÉ VÝROBY A JEJICH VYUŽITÍ V OCHRANĚ POLNÍCH KULTUR

Praha, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Sbor. Ref. z 1. Semin. Biotechnologie v integrované ochraně rostlin, 1986, 64 s.

V listopadu 1986 se ve VÚRV v Praze konal 1. seminář plánované tématické řady seminářů Biotechnologie v integrované ochraně rostlin. Referáty byly shromážděny ve sborníku pod názvem Mykopreparáty československé výroby a jejich využití v ochraně polních kultur. Zabývají se problematikou dvou v CSSR vyvinutých mykopreparátů.

Prvním z nich je Polygandron, o němž pojednává obsáhlý referát vynálezce tohoto preparátu ing. Veselého, DrSc., z VÚRV, Praha-Ruzyně. Polygandron je prášek žlutavého zabarvení, který po vhodné aplikaci chrání vzcházející rostliny proti chorobám kořenů. Jeho bioagens tvoří spóry *Pythium oligandrum*.

Houby rodu *Pythium* jsou známy jako agresivní patogeni rostlin. Avšak tento rod obsahuje také čtyři mykoparazity, mezi něž patří i *Pythium oligandrum*, které je agresivním parazitem některých fytopatogenních hub včetně hub rodu *Pythium*. Kromě mykoparazitismu byla zjištěna i kompetice. V řadě zahraničních publikací je *Pythium oligandrum* sledováno zodpovědným za supresivnost půd k *Pythium ultimum*.

Od roku 1979 je sledována účinnost Polygandronu proti spále řepy cukrové s velmi dobrými výsledky. Polygandron je dále účinný proti padání okurek a napadání kořenů mrkve fytopatogenními houbami. Velmi dobré výsledky jsou i s ochranou proti kořenomorce u brambor a sledují se možnosti ochrany proti suché fomové hnilobě vyvolané houbou *Phoma exigua* var. *foveata*.

Polygandron je možno dlouhodobě skladovat bez snížení účinnosti a jeho dávkování je analogické dávkám chemických fungicidů, a tudíž je možno při jeho aplikaci využívat techniku, jež je používána i u chemických fungicidů. V případě potřeby je možno biopreparát kombinovat s chemickými insekticidy.

Druhým mykopreparátem, jímž se zabývá sedm dalších referátů, je mikrobiální insekticid Boverol. Jeho účinnou složkou jsou vzdušné spóry — konidie entomopatogenní houby druhu *Beauveria bassiana*. Její účinnost jako biologického insekticidu byla během dlouhodobého výzkumu mnohokrát prokázána, ale teprve nedávno byla vyvinuta náročná technologie, pomocí níž je možno kultivovat tunová množství účinných vzdušných konidií, které vznikají odškrabováním z vrcholků konidioforů jen v povrchové stacionární kultuře na svrchní straně mycelia (ing. Kybal, CSc., VÚRV, Praha-Ruzyně a ing. Chlebníčková, RNDr. Nesrsta, JZD Budoucnost, Blatná).

První práce o možnosti využití entomopatogenní houby *Beauveria bassiana* se v ČSSR, PLR a SSSR objevily v 50. letech v důsledku rozšíření mandelinky bramborové v Evropě po druhé světové válce. V SSSR a BLR je nyní používán proti mandelince bramborové přípravek na bázi *Beauveria bassiana* pod názvem Boverin (RNDr. Nováková, VÚRV, Praha-Ruzyně). Průběh infekce hmyzu houbou *Beauveria bassiana* a symptomy napadení u mandelinky bramborové popsala ing. Souláková z VÚFB, Praha. K ovlivnění fyziologického stavu škůdce vypracovala ing. Dirlbeková, CSc., z VÚFB, Praha metodu řízeného stresu s použitím snížené dávky chemického insekticidu Decis 2,5 EC, aplikovaného společně s Boverolem. Pro řízení ochranných zásahů proti mandelince bramborové ing. Dirlbek, DrSc., z VÚRV, Praha-Ruzyně vyhotovil informační modul, skládající se ze tří částí, které představují průzkum intenzity výskytu brouků přezimující generace, stanovení optimálního termínu ošetření a rozhodovací tabulky pro volbu poměru dávky stresoru. Ing. Dirlbeková, CSc., ing. Souláková, RNDr. Nováková a ing. Hrozinka (VÚRV, Praha-Ruzyně) vypracovali kritéria hodnocení účinnosti Boverolu a v dalším referátu ing. Dirlbek, DrSc., a ing. Dirlbeková, CSc., provedli stručné ekonomické zhodnocení ochranného zásahu. Neméně cenným byl úvodní referát RNDr. Nováka, CSc., z VÚRV, Praha-Ruzyně, který poukázal na možnosti uplatnění biologických metod v ochraně rostlin. V závěru RNDr. Šifner, CSc., z ČAZ, Praha zdůraznil některé nesprávné výhody biologických metod ochrany rostlin, avšak varoval před jejich nesprávným chápáním a eventuelním přeceňováním.

Ing. Jitka Chlumská

Ze závěrů XVII. sjezdu KSČ (tzv. ekologického sjezdu) vyplývají pro celý zemědělsko-potravinářský komplex závažné úkoly ekonomické i ekologické. V souvislosti s nutností urychlování sociálně ekonomického rozvoje ČSSR musí zemědělství zabezpečovat a zkvalitňovat výživu lidu při současném zvyšování celkové míry soběstačnosti ve výrobě potravin. Při plnění těchto náročných ekonomických úkolů musí však věnovat velkou pozornost úkolům ekologickým, tzn. uvádět proces intenzifikace důsledněji v soulad s péčí o zlepšení životního prostředí a s celkovou ochranou přírody. Tato úvodní slova jednoho z prvních referátů, který se podrobně zabývá vztahem moderní zemědělské výroby k životnímu prostředí, by mohla být motem celého sborníku referátů z konference s názvem Možnosti využití bioagens v integrované ochraně rostlin. Konference se konala 2. až 3. června 1987 v Jaroměřicích u Jevíčka. Sešlo se na ni více než 20 referujících výzkumných pracovníků, výrobců biopreparátů i praktických uživatelů dosavadních poznatků tohoto nového oboru.

Úvodní referát rozebíral ekologické aspekty civilizace. Na něj pak navázal již zmíněný referát, vysvětlující vztah zemědělství k jednotlivým složkám životního prostředí a pojem ekologického zemědělství.

Další výsoce hodnotné příspěvky se zabývaly již konkrétnější tematikou. Byl zhodnocen význam mikroorganismů pro rovnovážný stav v ekosystému a úloha hub při tvorbě rovnovážného stavu v agrosystémech, která se obvykle ukáže, až některá skupina hub v ekosystému v důsledku lidských zásahů vymizí.

Obsáhlý referát pojednával též o využití bakterií v biologické ochraně rostlin proti bakteriálním a houbovým chorobám, plevelům a proti poškození mrazem během vegetace.

Několik referátů se zabývalo biologickým bojem proti škůdcům. Jeden z nich podal přehled škůdců v ČSSR a uvedl některé zásady při ošetřování napadených ploch.

V referátu s názvem Mikroorganismy a viry v úloze regulátorů stavu živočišných škůdců rostlin byly uvedeny některé příklady a zároveň byla připomenuta i možnost využití genového inženýrství, a to při přenosu toxinu, který produkuje plasmid *Bacillus thuringiensis* do pletiv nových hostitelů.

Další autoři se zabývali mikrobiálními preparáty používanými v boji proti škůdcům. Mezi konkrétní příklady patří Boverol (podrobné seznámení hlavně s řízením ochranného zásahu podle prognózy a signalizace). Boverosil (založen stejně jako Boverol na bázi entomopatogenní houby *Beauveria bassiana*), Bathurin 82 (první československý biologický insekticid, jehož bioagens je *Bacillus thuringiensis*) a Moskitur (založený na bázi *Bacillus thuringiensis* H 14), využitelný pro biologický boj s larvami komárů a muchniček, který bude vyráběn od roku 1988 v JZD Slušovice.

O zkušenostech s cílevědomou manipulací s populacemi škůdců a jejich přirozených nepřátel a o využití prognózy a signalizace v jablonořných sadech informovali zástupci JZD Mír, Chelčice.

Mezi perspektivy biologického boje s hmyzími škůdci patří i uplatnění hlístic a hlístovek.

Byly diskutovány i možnosti využití biologických metod při ochraně lesů a v dalším referátu nebyla opomenuta ani rizika využívání mikrobiálních insekticidů.

Biofungicidem Polygandron se zabývaly dva referáty, jejichž autorem byl jednak vynálezce a jednak zástupce výrobce (JZD Slušovice). Tento výrobek představuje originální československou biotechnologii, která nebyla převzata ze zahraničí. Účinným agens je houba *Pythium oligandrum*, která je schopna parazitovat na jiných fytopatogenních houbách, zejména na *Pythium ultimum*.

Rovněž houby rodu *Trichoderma* mají široké spektrum účinnosti v potlačování fytopatogenních hub. Působí antagonisticky (antibiotika) a mají též schopnost parazitovat.

V tomto obsáhném sborníku byly tedy shromážděny hlavní poznatky výzkumu i počáteční praktické zkušenosti v současné době v ČSSR dosažené v novém, rychle se rozvíjejícím oboru — biotechnologii v integrované ochraně rostlin.

Ing. Jitka Chlumská

Штрафелда Я., Велих Й., Пардус И.: Удобрение лугостоя шламом из станции для очистки сточных вод	1154
Стиборова М., Доубравова М.: Влияние ионов Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} и Pb^{2+} на этанолдегидрогеназу ярового ячменя (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	1164
Петржикова В.: Свойства органических удобрений после производства биогаза	1172
Моухова Г., Аплтауэр Й., Липпольд Г., Матцел В.: Баланс азота в почве и растениях с помощью ^{15}N у озимой пшеницы посредством ингибитора нитрификации	1181
Кубат Я., Новак Б., Калинова С.: Разложение микромологотого Гафса-фосфорита почвенными микроорганизмами	1188
Бенишова С., Покорна Я.: Метод определения интенсивности разложения клетчатки как индикатора биотехнологических процессов	1196
Врба В.: Влияние гумусного концентрата на рост растений в начальный период вегетации	1205
Немцова Б., Нашинец В., Хлоупек О.: Клонирование люцерны <i>in vitro</i>	1212
Кибал Я., Калалова С.: Микологические аспекты производства биоинсектицидного препарата Боверол	1221
Сибlikова Д.: Направления изучения взаимодействий между ризобиями и пестицидами	1226
Дирлбекова О., Дирлбек Я.: Исследование и применение микоинсектицидов типа Боверол	1229

CONTENTS — Biotechnologies

Novák B.: Biotechnologies in Crop Production	1128
Löbl F., Štiková A., Váňa J.: The Status of the Microbial and Biochemical Activity of Commercially Produced Composts	1136
Nováková J.: The Regulatory Effect of Clay Minerals on the Conversions of Organic Substances Contained in the Sludges	1145
Štráfelda J., Velich J., Pardus I.: Fertilization of Meadow Stands with City Sewage Sludges	1154
Stiborová M., Doubravová M.: The Effect of the Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} Ions on the Alcohol Dehydrogenase of Spring Barley (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	1164
Petříková V.: The Properties of Organic Fertilizers after the Production of Biogas	1172
Mouchová H., Apltauer J., Lippold H., Matzel W.: The Balance of Supplied Nitrogen in the Soil and Plant Determined by means of ^{15}N in Winter Wheat with the Use of a Nitrification Inhibitor	1181
Kubát J., Novák B., Kalinová S.: Solubilization of Gafsa Rock Phosphate by Soil Microflora	1188
Bönischová S., Pokorná J.: A Method of Determining Cellulose Decomposition as an Indicator of Biotechnological Processes	1196
Vrba V.: The Effect of Humus Concentrate on the Growth of Plants in the Initial Period of Vegetation	1205
Němcová B., Našinec V., Chloupek O.: <i>In vitro</i> Cloning of Lucerne	1213
Kybal J., Kybalová S.: Mycological Aspects of the Production of the Bioinsecticidal Preparation Boverol	1221
Siblíková D.: The Lines of Study of Rhizobia X Pesticides Interactions	1227
Dírlbeková O., Dírlbek J.: Research and Use of Mycoinsecticides of the Boverol Type	1229

INHALT — Biotechnologien

Novák B.: Biotechnologien in der pflanzlichen Produktion	1128
Löbl F., Štiková A., Váňa J.: Mikrobielle biochemische industriell hergestellten Komposten	1136



Nováková J.: Regulationseinfluß der Tonmineralien auf Umwandlungen organischer Stoffe der Schlämme	1146
Štráfelda J., Velich J., Pardus I.: Düngung von Wiesenbeständen mit Klärschlämmen	1155
Stiborová M., Doubravová M.: Einfluß der Ionen Cu^{2+} , Zn^{2+} , Cd^{2+} und Pb^{2+} auf die Alkoholdehydrogenase der Sommergerste (<i>Hordeum vulgare</i> L.)	1164
Petříková V.: Eigenschaften der organischen Dünger nach der Biogasproduktion	1172
Mouchová H., Apltauer J., Lippold H., Matzel W.: Bilanz des zugeführten Stickstoffs im Boden und der Pflanze mittels ^{15}N bei Winterweizen unter Einsatz eines Nitrifizierungsinhibitors	1182
Kubát J., Novák B., Kalinová S.: Zerlegung des mikrogemahlenen Gafsa-Phosphorits durch Bodenmikroflora	1188
Bönischová S., Pokorná J.: Methode zur Bestimmung der Intensität des Zelluloseabbaus als Indikator Biotechnologischer Prozesse	1196
Vrba V.: Einfluß des Humuskonzentrates auf das Pflanzenwachstum in der Anfangsvegetationsperiode	1206
Němcová B., Našinec V., Chloupek O.: Klonen der Luzerne <i>in vitro</i>	1213
Kybal J., Kálalová S.: Mykologische Aspekte der Produktion des Bioinsektizides Boverol	1222
Siblíková D.: Trends des Studiums der Wechselwirkungen zwischen Rhizobien und Pestiziden	1227
Dírlbeková O., Dírlbek J.: Untersuchungen und Einsatz von Mykoinsektiziden vom Typ Boverol	1230

Rukopisy odevzdány k tisku 7. 7. 1987, podepsáno k tisku 13. 10. 1987

Vědecký časopis ROSTLINNÁ VÝROBA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka RNDr. Eva Štříbrná • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1987

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07; Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Kubánská 1539, 708 72 Ostrava-Poruba. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.