

ÚZPI

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

ROSTLINNÁ VÝROBA

Plant Production

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

5

VOLUME 41 (LXVIII)
PRAHA
KVĚTEN 1995
CS ISSN 0370-663X

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření České akademie zemědělských věd a s podporou Ministerstva zemědělství České republiky

An international journal published by the Czech Academy of Agricultural Sciences and with the promotion of the Ministry of Agriculture of the Czech Republic

Redakční rada – Editorial Board

Předseda – Chairman

Doc. ing. Josef Šimon, CSc. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně, ČR)

Členové – Members

Doc. ing. Pavol Bajči, CSc. (Vysoká škola poľnohospodárska, Nitra, SR)

Prof. dr. Márta Birkás (Agrártudományi Egyetem, Gödöllő, Hungária)

Doc. ing. Jozef Ciglar, CSc. (Vysoká škola poľnohospodárska, Nitra, SR)

Ing. Helena Donátová, CSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Prof. ing. Václav Fric, DrSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Ing. Norbert Gáborčík, CSc. (Výskumný ústav trávnych porastov a horského poľnohospodárstva, Banská Bystrica, SR)

Ing. Alois Chalupa, CSc. (AGRITEC, výzkum, šlechtění a služby, Šumperk, ČR)

Ing. Bohdan Juráni, CSc. (Univerzita Komenského, Bratislava, SR)

Prof. dr. Günter Kahnt (Universität Hohenheim, Stuttgart, BRD)

Prof. ing. Josef Kozák, DrSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Ing. Ladislav Lorenčík, DrSc. (Oblastný výskumný ústav agroekológie, Michalovce, SR)

Prof. ing. Lubomír Minx, DrSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, ČR)

Ing. Timotej Miština, CSc. (Výskumný ústav rastlinnej výroby, Piešťany, SR)

Dr. Peter Newbould (The Macaulay Land Use Research Institute, Aberdeen, Scotland, UK)

Ir. Cees van Owerkerk (Instituut voor Bodemvruchtbaarheid, Haren Gn, Nederland)

Ing. Jaromír Procházka, CSc. (Výzkumný ústav pícninářský, Troubsko u Brna, ČR)

Prof. ing. Stanislav Procházka, DrSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, ČR)

Doc. ing. Vlastimil Rasocha, CSc. (Výzkumný ústav bramborářský, Havlíčkův Brod, ČR)

Doc. ing. Ladislav Slavík, DrSc. (Výzkumný ústav meliorací a ochrany půdy, Praha, ČR)

Doc. ing. Miron Suškevič, DrSc. (Výzkumný ústav výživy zvířat, Odbor základní agrotechniky, Hrušovany u Brna, ČR)

Prof. ing. Václav Vaněk, CSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Ing. Marie Váňová, CSc. (Zemědělský výzkumný ústav, Kroměříž, ČR)

Prof. ing. Karel Voříšek, CSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Doc. ing. František Vrkoč, DrSc. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně, ČR)

Prof. dr. hab. Kazimiera Zawislak (Akademia Rolniczo-Techniczna, Olsztyn, Polska)

Vedoucí redaktorka – Editor-in-Chief

RNDr. Eva Stříbrná

Cíl a odborná náplň: Časopis publikuje původní vědecké práce, výsledky výzkumu a studie z oborů rostlinná výroba, půdoznalství, meliorace a z navazujících disciplín.

Časopis je citován v bibliografickém časopise Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: Agricola, Agris, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicita: Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 41 vychází v roce 1995.

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: RNDr. Eva Stříbrná, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 25 41, fax: 02/25 70 90. Den doručení rukopisu do redakce je publikován jako datum přijetí k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslány na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1995 je 468 Kč.

Aims and scope: The journal publishes scientific papers, results of research and studies of the branches plant production, pedology, amelioration and related disciplines.

The journal is cited in the bibliographical journal Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences abstracts from the journal are comprised in the databases: Agricola, Agris, CAB Abstracts, Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus, WLAS.

Periodicity: The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 41 appearing in 1995.

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: RNDr. Eva Stříbrná, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/25 25 41, fax: 02/25 70 90. The day the manuscript reaches the editor for the first time is given upon publication as the date of reception.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1995 is 118 USD (Europe), 123 USD (overseas).

AKTIVITA KYSELÉ FOSFATÁZY JARNÍHO JEČMENE V ZÁVISLOSTI NA FOSFÁTOVÉ VÝŽIVĚ

ACID PHOSPHATASE ACTIVITY OF SPRING BARLEY IN DEPENDENCE ON PHOSPHATE NUTRITION

M. Kummerová, M. Hladilová, R. Brandejsová

Masaryk University, Faculty of Science, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Rational utilization of nutrients as one of the ways of obtaining economically justified yields also assumes the knowledge of the character of the genotype specificity of mineral nutrition of plants (Wieneke, 1990). The use of biochemical parameters, particularly enzymes, as markers for the assessment of metabolic potentials and their heredity is a modern trend of testing the potential productivity of genotypes. When studying a number of factors connected with the ability of plant adaptation to conditions of low phosphorus level an important role was also ascribed to the activity of non-specific phosphatases (Mc Lachlan et al., 1987). In view of the above problems and linking up to our earlier papers (Kummerová, Burešová, 1990) the effect of exogenous phosphate deficiency on the activity of acid phosphatase, Pi (inorganic phosphate) content and the formation of biomass were studied. The results obtained document significant differences in enzymatic activity and Pi content between the genotypes of spring barley KM 743 and Rubín in dry and imbibed grains (Fig. 1) and in acid phosphatase activity of the third leaf of plants growing for 21 and 28 days in solutions with decreasing phosphate content (Fig. 2). Reduced phosphate content ($P_{0.5}$) and, in particular, its complete exclusion (P_0) evoked a demonstrable drop in Pi content in the root and in the third leaf in two genotypes (Fig. 3). The absence of phosphorus in the nutrient solution (P_0) for the whole time of cultivation induced an unambiguous increase in acid phosphatase activity of the root and the third leaf of plants of the two genotypes (Fig. 2). Negative correlation between enzymatic activity and the Pi content in tissue, induced by its exogenous deficiency, was also demonstrated in other plant species (García, Ascencio, 1992). Differences between the genotypes in the formation of biomass were significant for the whole time of plant cultivation in nutrient solutions with 1, and 0.5 mM KH_2PO_4 (Fig. 4). Whereas in spring barley plants of the genotype KM 743 after 21 and, particularly, after 28 days of culture a significant growth inhibition was recorded in comparison with the plants of the variant P_1 , the formation of dry matter weight of the whole plant of the genotype Rubín with half the content of phosphorus ($P_{0.5}$) in the culture medium was not affected. The results obtained support the justification of the view (Furlani et al., 1984) of utilizing genotype differences in the absorption or utilization of phosphorus as a criterion for economic utilization of the fertilizers used or for obtaining higher productivity in soils with lack of phosphorus. Such an approach to the field of improvement can also fulfil required conditions for the quality of production and environment as well.

spring barley; acid phosphatase activity; exogenous phosphate deficiency; phosphorus content; formation of biomass; genotype differences

ABSTRAKT: Byl sledován vliv exogenní deficiencie fosfátu na aktivitu kyselý fosfatázy, obsah anorganického fosforu (Pi) a tvorbu biomasy dvou genotypů jarního ječmene. Získané výsledky dokládají mezi genotypy KM 743 a Rubín významné rozdíly v enzymatické aktivitě a obsahu Pi u suchých i imbibovaných obilí a v aktivitě kyselý fosfatázy třetího listu rostlin rostoucích 21 a 28 dnů v roztocích se snižujícím se obsahem fosfátu. Snižovaný obsah fosforu ($P_{0.5}$) a zejména jeho úplné vyloučení z roztoku (P_0) vyvolalo u obou genotypů prokazatelné snížení obsahu Pi v kořenu i třetím listu. Nepřítomnost fosforu v živném roztoku (P_0) po celou dobu kultivace indukovala jednoznačné zvýšení aktivity kyselý fosfatázy kořene i třetího listu rostlin obou genotypů. Rozdíly mezi genotypy v tvorbě biomasy byly průkazné po celou dobu kultivace rostlin v živných roztocích s 1 a 0,5 mM KH_2PO_4 . U genotypu Rubín nebyl po 21 a 28 dnech růstu zaznamenán pokles sušiny při sníženém obsahu fosforu v živném médiu ($P_{0.5}$).

jarní ječmen; aktivita kyselý fosfatázy; exogenní deficiencie fosfátu; obsah fosforu; tvorba biomasy; genotypové rozdíly

ÚVOD

Racionální využití živin jako jedna z cest získávání ekonomicky oprávněných výnosů předpokládá i pozná-

ní podstaty genotypové specifičnosti minerální výživy rostlin (Sarič, 1987; Wieneke, 1990). Při řešení této problematiky je pozornost zaměřena i na studium těch fyziologicko-biochemických procesů, které v rozhod-

jící míře ovlivňují produkci kulturních plodin a jejichž markery se mohou uplatnit jako jedno ze selekčních kritérií (K l u s á k, 1988).

Fosforu je pozornost věnována nejen s ohledem na jeho nezastupitelnou úlohu v rostlinném metabolismu, ale do popředí vystupuje i otázka kontaminace životního prostředí jeho aplikovanými sloučeninami, které jsou příčinou jak eutrofizace vod, tak i obohacování půdy těžkými kovy.

Je známo, že nejen rostlinné druhy, ale i jejich odrůdy se liší schopností adaptace růstu na nízkou hladinu fosforu v prostředí (M a j u m d e r et al., 1990). Při studiu řady faktorů spojených se schopností rostlinné adaptace k podmínkám nízké hladiny fosforu byla důležitá úloha připsána i aktivitě nespecifických fosfatáz (M c L a c h l a n et al., 1987). Stanovení jejich aktivity náleží mezi moderní diagnostické metody, jimiž lze včasné detekovat nedostatky prvku, v našem případě fosforu, v rostlinném organismu. Jelikož enzymy jsou produkty genů, lze právem očekávat i uplatnění tohoto tzv. vnitřního biochemického signálu při posuzování genotypové specifity.

S přihlédnutím k uvedené problematice a v návaznosti na naše předcházející práce (K u m m e r o v á et al., 1989; K u m m e r o v á, B u r e š o v á, 1990) jsme přistoupili ke studiu vlivu snižující se koncentrace fosforu v živném roztoku na tvorbu biomasy, aktivitu kyselé fosfatázy a obsah Pi kořenů i listů dvou genotypů jarního ječmene.

MATERIÁL A METODA

Experimentálním materiálem byly dva genotypy jarního ječmene – KM 743 a Rubín. Čtyřdenní klíčící rostliny obou genotypů byly umístěny do kultivačních van s 5 l živného roztoku (R e i d, Y o r k, 1958), se snižujícím se obsahem fosfátů (P_1 , $P_{0,5}$ a P_0 mM KH_2PO_4). Rostliny byly kultivovány ve skleněku, ve stacionární a proudzkušované vodní kultuře, s úplnou výměnou živného roztoku po 48 h. Každá experimentální varianta měla tři opakování po 56 rostlinách.

Izolace kyselé fosfatázy z rostlinného materiálu a stanovení enzymatické aktivity, jakož i obsahu Pi detailně popsala K u m m e r o v á (1983). Enzymatická aktivita a obsah Pi byly stanoveny v suchých a imbibovaných obilkách, v kořenu a třetím listu všech pokusných variant obou genotypů po 14, 21 a 28 dnech kultivace v živných roztocích. Ve stejném časovém intervalu byla hodnocena i produkce sušiny jednotlivých orgánů rostlin jarního ječmene.

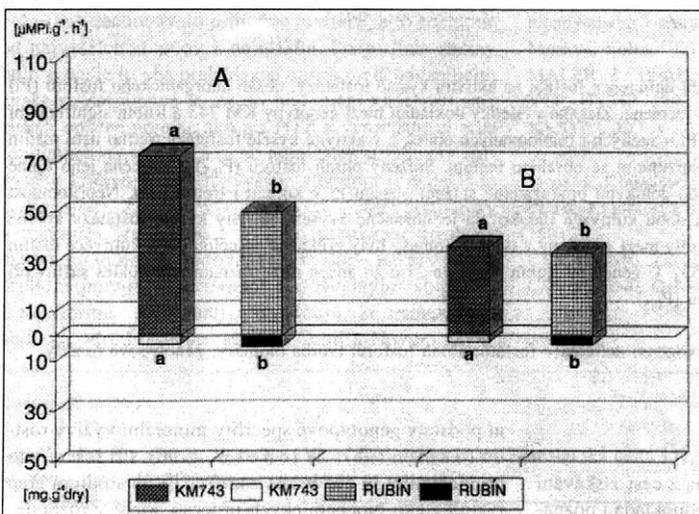
Uvedené výsledky jsou průměrem ze tří opakování. Statisticky byly hodnoceny metodou *t*-testu. Novověšlechťen KM 743 bylo v roce 1994 označeno jako odrůda Viktor.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Využívání biochemických parametrů, zejména enzymů, jako markerů k hodnocení metabolického potenciálu a jeho dědivosti představuje moderní směr testování potenciální produktivity nových genotypů. Růst rostlin, výnos a jeho kvalita jsou do značné míry podmíněny i biochemickými reakcemi katalyzovanými enzymy.

Výsledky mnoha prací (G o l d s t e i n et al., 1988; G a r c i a, A s c e n c i o, 1992) lze doložit, že činnost fosfatáz, které jsou předmětem našeho studia, náleží k mechanismům, které se v rostlinách vytvořily v průběhu evoluce jako adaptace umožňující v případě deficitu fosfátu dočasně normální průběh metabolických reakcí, závislých na jejich přítomnosti.

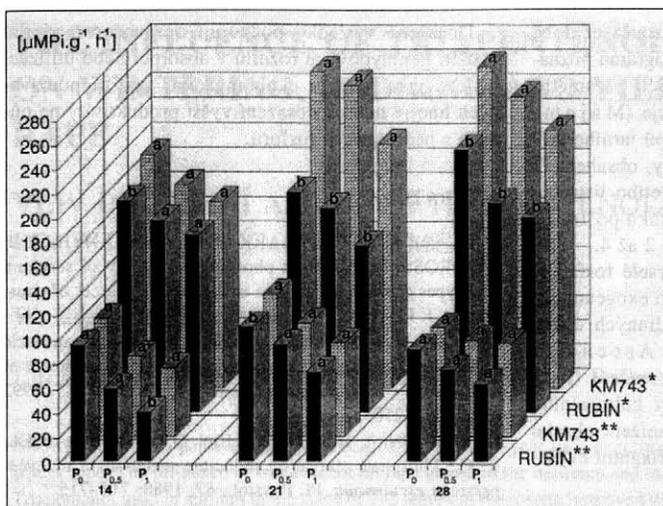
Přítomnost fosfatázové aktivity v suchých i imbibovaných obilkách obou genotypů (obr. 1) dokládá fosforylační degradaci látek a koresponduje s již publikovanými závěry (K u m m e r o v á, B u r e š o v á, 1990). Ze získaných výsledků je zřejmý i vztah enzymatické aktivity k obsahu endogenního Pi a existenci genotypových rozdílů v obsahu Pi a aktivitě kyselé fosfatázy (obr. 1). Signifikantně nižší obsah Pi v obilkách genotypu KM 743 je provázen vyšší aktivitou kyselé fosfatázy.



1. Aktivita kyselé fosfatázy a obsah Pi v suchých a imbibovaných obilkách jarního ječmene (rozdíly mezi genotypy u suché a imbibované obilky jsou statisticky průkazné, pokud jsou hodnoty označeny různými písmeny) – Acid phosphatase activity and Pi content in dry and imbibed caryopses of spring barley (for dry and imbibed caryopses, the differences between the genotypes are statistically significant, if values are marked by different letters)

osa y (nahore): aktivita kyselé fosfatázy – y axis (above): acid phosphatase activity ($\mu\text{M Pi} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
osa y (dole): obsah Pi ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny) – y axis (under): Pi content ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ of dry matter)

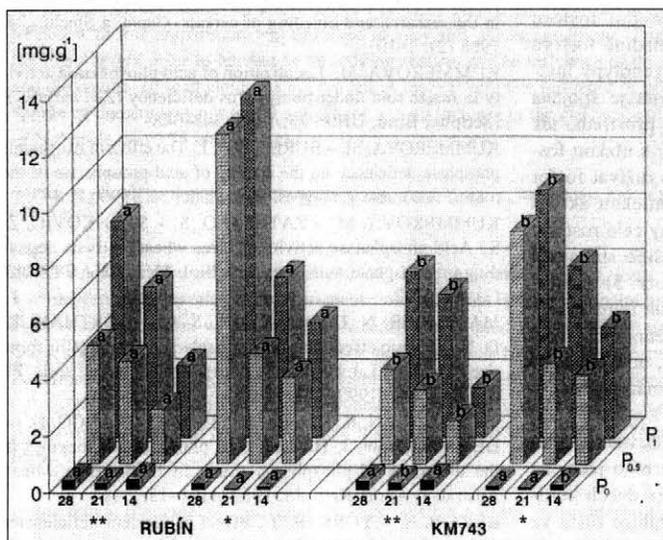
A – suchá obilka – dry caryopsis
B – imbibovaná obilka – imbibed caryopsis



2. Aktivita kyselých fosfatáz v kořenu a třetím listu jarního ječmene (rozdíly mezi genotypy v rámci každého orgánu, rostlinné části, dne kultivace a varianty jsou statisticky průkazné, pokud jsou hodnoty označeny různými písmeny) – Acid phosphatase activity in the root and the third leaf of spring barley (within each organ, plant segment, day of cultivation and treatment, differences between genotypes are statistically significant, if the values are marked by different letters)

osa y: aktivita kyselých fosfatáz – y axis: acid phosphatase activity ($\mu\text{M Pi.g}^{-1}.\text{h}^{-1}$)
osa x: dny kultivace – x axis: days of cultivation

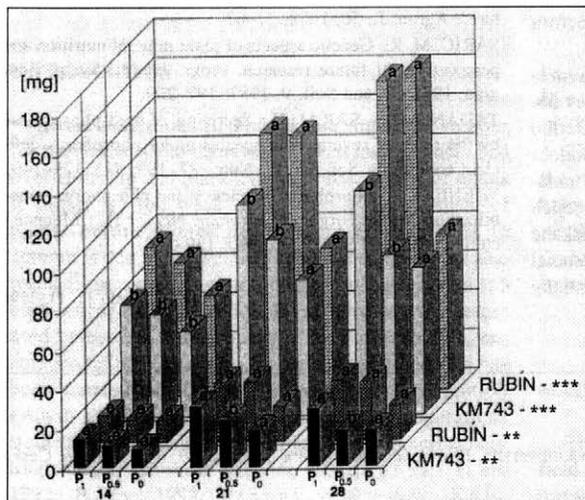
* 3. list – 3rd leaf
** kořen – root



3. Obsah Pi v kořenu a třetím listu jarního ječmene (rozdíly mezi genotypy v rámci každého orgánu, rostlinné části, dne kultivace a varianty jsou statisticky průkazné, pokud jsou hodnoty označeny různými písmeny) – Pi content in the root and in the third leaf of spring barley (within each organ, plant segment, day of cultivation and treatment, differences between genotypes are statistically significant, if the values are marked by different letters)

osa y: obsah Pi (mg.g^{-1} sušiny) – y axis: Pi content (mg.g^{-1} of dry matter)
osa x: dny kultivace – x axis: days of cultivation

* 3. list – 3rd leaf
** kořen – root



4. Hmotnost sušiny rostlin jarního ječmene (rozdíly mezi genotypy v rámci každého orgánu, rostlinné části, dne kultivace a varianty jsou statisticky průkazné, pokud jsou hodnoty označeny různými písmeny) – The mass of dry weight of plants of spring barley (within each organ, plant segment, day of cultivation and treatment, differences between genotypes are statistically significant, if the values are marked by different letters)

osa y: hmotnost sušiny – y axis: dry matter weight (mg)
osa x: dny kultivace – x axis: days of cultivation

*** nadzemní část – above-ground part
** kořen – root

Při výběru perspektivních odrůd je v současné době středem zájmu mnoha šlechtitelských programů poznání a využití fyziologicko-biochemických parametrů právě na počátku ontogenetického vývoje (Majumder et al., 1990). Reakce obou genotypů jarního ječmene, charakterizovaná tvorbou biomasy, obsahem Pi a aktivitou kyselých fosfatázy kořene a třetího listu, na snižující se obsah fosforu v živném roztoku po 14, 21 a 28 dnech kultivace je uvedena na obr. 2 až 4.

Negativní korelace mezi aktivitou kyselých fosfatázy a obsahem Pi v pletivu, indukovaná jeho exogenní deficiencí, byla prokázána u mnoha rostlinných druhů (Tadano, Sakai, 1991; Garcia, Ascencio, 1992). Také u rostlin jarního ječmene snížení ($P_{0,5}$) a zejména pak vyloučení (P_0) fosforu z kultivačního prostředí zapříčinilo u obou genotypů snížení obsahu Pi v pletivu kořene i třetího listu a signifikantní zvýšení aktivity kyselých fosfatázy (obr. 2 a 3).

Furlani et al. (1984) při studiu vztahu mezi fosfatázovou aktivitou a obsahem exogenního fosforu zjistil, že genotypy tolerantní k nízké hladině fosforu vykazovaly nižší aktivitu fosfatázy než genotypy intolerantní. Jelikož nižší fosfatázová aktivita je spojena s dostatečným obsahem fosforu jak v prostředí, tak i v rostlině, lze předpokládat, že rostliny s nízkou fosfatázovou aktivitou mohou růst lépe a využívat fosfor účelněji než rostliny s vysokou enzymatickou aktivitou. Prokazatelně vyšší akumulace sušiny celé rostliny (obr. 4) i obsah Pi v kořenu a ve většině stanovení i v třetím listu rostlin jarního ječmene (obr. 3) genotypu Rubín, majícího signifikantně nižší aktivitu kyselých fosfatázy třetího listu ve srovnání s genotypem KM 743 (při kultivaci v roztocích $P_{0,5}$ a P_0), dokládá realnost uvedené hypotézy. Z grafického znázornění výsledků (obr. 4) je patrná i rozdílná růstová odezva obou genotypů na snížený obsah fosforu v kultivačním médiu (varianta $P_{0,5}$). Zatímco u rostlin jarního ječmene genotypu KM 743 po 21 a zejména po 28 dnech kultivace byla zaznamenána signifikantní inhibice růstu ve srovnání s rostlinami varianty P_1 , tvorba sušiny celé rostliny genotypu Rubín polovičním obsahem fosforu v kultivačním prostředí ovlivněna nebyla.

Rozdílný stupeň tolerance obou genotypů k navození stresu (vyloučení fosforu z živného roztoku) dokládá i signifikantně vyšší enzymatická aktivita třetího listu genotypu KM 743 (obr. 2). Je velmi pravděpodobné, že uvedené skutečnosti souvisejí s rozdílným metabolickým potenciálem obou genotypů, a tím i s jejich schopností utilizace přijatého fosforu. Námi získané výsledky rovněž naznačují, že metabolický potenciál rostlin určený jejich genotypem se charakteristicky projevuje již v obilkách (obr. 1).

Dosažené výsledky podporují oprávněnost návrhu využití genotypových rozdílů v absorpci nebo utilizaci fosforu jako kritéria ekonomického využití používaných hnojiv nebo k dosažení vyšší produktivity na půdách s nedostatkem fosforu.

LITERATURA

- FURLANI, A. M. C. – CLARK, R. B. – MARANVILLE, J. W. – ROSS, W. M.: Root phosphatase activity of sorghum genotypes grown with organic and inorganic sources of phosphorus. *J. Pl. Nutr.*, 7, 1984 (11): 1583–1595.
- GARCIA, M. – ASCENCIO, J.: Root morphology and acid phosphatase activity in tomato plants during development of and recovery from phosphorus stress. *J. Pl. Nutr.*, 15, 1992 (11): 2491–2503.
- GOLDSTEIN, A. H. – BAERTLEIN, D. A. – MC DANIEL, R. G.: Phosphate starvation inducible metabolism in *Lycopersicon esculentum*. *Pl. Physiol.*, 87, 1988: 711–715.
- KLUSÁK, H.: Contemporary trends of applied biochemistry in the research and breeding of cereals. *Genet. a Šlecht.*, 24, 1988 (2): 1–10.
- KUMMEROVÁ, M.: Localization of acid phosphatase activity in maize root under phosphorus deficiency (*Zea mays* L.). [Scripta.] Brno, UJEP, 13, 1983: 343–348.
- KUMMEROVÁ, M. – BUREŠOVÁ, I.: The effect of exogenous phosphate deficiency on the activity of acid phosphatase of the root of two maize genotypes. *Biol. Plant.*, 32, 1990 (1): 1–7.
- KUMMEROVÁ, M. – ZATEZALO, S. – STANKOVIČ, Ž. S.: Acid phosphatase activity of three wheat cultivars depending on phosphate nutrition. *Acta Biol. Med. Exp.*, 14, 1989 (2): 167–172.
- MAJUMDER, N. D. – RAKSHIT, S. C. – BORTHAKUR, D. N.: Genetic effect on uptake of selected nutrients in some rice (*O. sativa* L.) varieties in phosphorus deficient soils. *Pl. and Soil*, 123, 1990: 117–120.
- MC LACHLAN, K. D. – ELLIOTT, D. E. – MARCO, D. G. DE – GARRAN, J. H.: Leaf acid phosphatase isozymes in the diagnosis of phosphorus status in field-grown wheat. *Austral. J. Agric. Res.*, 38, 1987 (1): 1–13.
- REID, P. H. – YORK, E. T.: Effect of nutrient deficiencies on growth and fruiting characteristics of peanuts in sand cultures. *Agron. J.*, 50, 1958: 37–63.
- SARIĆ, M. R.: Genetic aspects of plant mineral nutrition and perspectives of future research. *Progr. 1st Int. Symp. Beograd, 1982, Pl. and Soil*, 9, 1987: 197–209.
- TADANO, T. – SAKAI, H.: Secretion of acid phosphatase by the roots of several crop species under phosphorus-deficient conditions. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, 37, 1991 (1): 129–140.
- WIENEKE, J.: Phosphorus efficiency and phosphorus remobilization in two sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench.] cultivars. *Pl. and Soil*, 123, 1990: 139–145.

Došlo 11. 11. 1994

Kontaktní adresa:

Doc. RNDr. Marie Kummerová, CSc., Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kotlářská 2, 611 37 Brno, Česká republika, tel.: 05/41 12 95 56, fax: 05/41 21 16 23

THE INFLUENCE OF TRIAPENTENOL USED IN AUTUMN ON WINTERING, LODGING AND YIELDING OF WINTER RAPE

VLIV PODZIMNÍ APLIKACE TRIAPENTENOLU NA PŘEZIMOVÁNÍ, POLÉHÁNÍ A VÝNOSY OZIMÉ ŘEPKY

W. Budzyński, T. Ojczyk

University of Agriculture and Technology, Olsztyn, Poland

ABSTRACT: This paper describes the results of two three-year field experiments concerning an autumn triapentenol use in winter rape. The influence of triapentenol on rape grown in the optimum and increased degree of plant density was examined. Triapentenol used in autumn in the stage of 2–3 leaves in the rosette improved the habitus of plants before winter and increased the content of dry matter in above-ground parts of plants. However, no significant increase in winter hardiness of plants treated with this preparation was observed in very soft winter conditions. Triapentenol used in autumn had no influence on the plant height prior to harvest or on lodging reduction. The influence of this preparation on the elements of crop structure and the amount of seed yield was not proved. A more favourable influence of triapentenol in the standing rape of a provocative degree of density was not found out. There was no increase in the efficiency of the effect of this growth regulator when used in higher doses (0.75 and 1.0 kg).

winter rape; triapentenol; autumn application; stand density; hardiness; lodging; yield

ABSTRAKT: Práce přináší výsledky dvou tříletých polních pokusů, které se zabývaly podzimní aplikací triapentenolu k ozimé řepce. Sledovali jsme vliv triapentenolu na porost řepky s optimální hustotou a s vyšší hustotou rostlin. Triapentenol aplikovaný na podzim ve fázi 2–3 listů v růžici zlepšil před zimou celkový stav rostlin a zvýšil obsah sušiny v nadzemních částech rostliny. Při mírné zimě jsme však nezaznamenali žádné významné zvýšení odolnosti ošetřených rostlin proti zimě. Podzimní aplikace triapentenolu neovlivnila výšku rostlin před sklizní ani nesnížila poléhání porostu. Neprokázali jsme vliv tohoto přípravku na složky struktury výnosu ani na výši výnosu semene. Nejistili jsme příznivější vliv triapentenolu na porost řepky na stojato o značné hustotě rostlin. Použití vyšších dávek (0,75 a 1,0 kg) nevyšlo účinnost tohoto regulátoru růstu.

ozimá řepka; triapentenol; podzimní aplikace; hustota porostu; zimovzdornost; poléhání; výnos

INTRODUCTION

In the conditions of Poland, the important reasons for the risk of yield decrease, or even loss, include: bad overwintering and plant lodging. Frost killing of plants is caused by too weak or too strong development of plants before winter. An overgrowth of plants in autumn is due to the weather conditions, but it may also result from too early or too dense sowing, or from too high nitrogen fertilization level. Growth regulators used before the final shaping of rosette in autumn, enable modelling of habitus. So far not much research has been carried out on spring use of new generation growth regulators in rape. Among the preparations studied, compounds of the triazole group, especially triapentenol, are most effective (Budzyński et al., 1992; Bury, 1992; Franek et al., 1989; Küb-

ler, Aufhammer, 1990; Lembrich, 1988; Muśnicki et al., 1987; Ojczyk, 1993; Paul, 1987; Tobała et al., 1990).

The aim of the authors' research was to determine the influence of triapentenol use in the autumn on the habitus traits of rape plants before winter and on their wintering, as well as to determine the influence of this preparation on the plants' spring growth and the development, and increase in their lodging resistance.

MATERIAL AND METHODS

This paper described the results of two three-year field experiments concerning an autumn triapentenol use in winter rape.

Experiment I, in which the reaction of rape grown in diversified degree of density to triapentenol was investigated, was carried out within the years 1986/1987–1988/1989 in the Agricultural Experimental Station at Bałyny (60 km from Olsztyn). The experiment, established according to the randomized subblock method in four replications, included:

- factor of the 1st order – number of seeds sown on the area of 1 m²: 120 seeds; 240 seeds.
- factor of the 2nd order – growth regulator: triapentenol – 0.5 kg/ha; control – without regulator.

Experiment II, in which the reaction of rape to increasing triapentenol doses (0; 0.50; 0.75; 1.00 kg/ha) was investigated, was carried out within the years 1989/1990–1991/1992 in the Agricultural Consultation Centre at Stare Pole (20 km from Elbląg). It was a one-factor experiment, established four replications.

The experiments were located on the soil of good wheat complex; types of soil – specific lesvives (experiment I) and medium alluvial soil (experiment II). The soil reaction was close to neutral and ranged from 6.2 to 6.8 pH in 1n KCl. The rape forecrop was grain-leguminous mixture for green forage (experiment I) or winter barley (experiment II).

The following mineral fertilization was used prior to sowing: 110–120 kg P₂O₅ per 1 ha in the form of single superphosphate, 160 kg K₂O in the form of potash salt and 50 kg N in the form of ammonium nitrate. In spring, nitrogen fertilization was used twice: 90 kg N during the renewal of vegetation and 90 kg N in the boot stage.

In both experiments doubly improved Jantar variety rape (experiment I) or Ceres variety rape (experiment II) was sown.

Rapeseed was sown every year in the time optimum for the region, distance between rows being 15 cm, in experimental II with 80 seeds per 1 m², in experimental I – according to the scheme. Full chemical protection of rape plants was used.

Triapentenol growth regulator (commercial name Baronet 70 WG) by Bayer firm was used on rape in autumn during the stage of 2–3 leaves in the rosette, in 400 dm³ of water, by means of the knapsack sprayer Turbine, screening adjacent plots.

Just before autumn vegetation inhibition, biometric measurements were taken and the proportional content of dry matter in the above-ground parts of plants was determined on the basis of 15 plants selected at random from each plot.

During the stage of technical maturity, the plant lodging degree was evaluated according to a 9-point scale (9 – no lodging symptoms, 1 – complete lodging) or according to the degree of deflection of standing crop:

$$\text{deflection of standing crop} = \left(1 - \frac{\text{height of standing crop}}{\text{height of plants}} \right) \times 100\%$$

Biometric measurements were done on 15 plants selected at random from each plot (60 from combination) just before the harvest. The rape was harvested in two

stages, starting cutting down at technical maturity. The area of the plot to be harvested was 19.6–20.0 m². The mass of 1,000 seeds was determined on the basis of a sample from the whole plot, after threshing with a combine-harvester. The mass of 1,000 seeds and the seed yield was determined at the moisture of 8%.

The analysis of variance for orthogonal experiments in the split-plot system was used, LSD calculations were given at $\alpha = 0.05$.

RESULTS

The influence of triapentenol on rape growing in different density

Differences in the habitus of the plants sprayed with triapentenol and the control ones became visible about 20 days after the treatment. The plants treated with the growth regulator were characterized by a smaller size of the leaf blade and a stronger anthocyan colouring of leaves than the control plants. Just before vegetation inhibition in the plots in which triapentenol was used, the plants produced significantly more leaves. The leaves remained on the plant for a longer time. Besides, the plants treated with this preparation formed the shoot apex significantly lower. Triapentenol also increased the content of dry matter in the above-ground parts of the plants. In the atypical, thermally very soft winter conditions during the years of this research, the trait of better wintering of the plants treated with triapentenol (by 4.5%) was not proved in statistical terms (Tab. I).

There was no interaction between sowing density and the growth regulator. This means that the influence of triapentenol on the traits of habitus and wintering of plants growing at higher density was not more favourable than in the plots with a lower density of plants (Tab. I).

The factor of differentiated sowing density strongly modified the habitus of plants before winter, in spite of the fact that the real differentiation of sowing density was much lower than it was theoretically assumed. A less favourable habitus of plants appeared in the objects with a high (240 seeds/m²) sowing density: a significantly smaller diameter of the root neck, fewer leaves developed and fewer leaves remaining on the plant before vegetation inhibition. In the thermally soft winter and early spring conditions, the sowing density – very significant factor for wintering – did not differentiate significantly the winter survival of the plants (Tab. I).

Triapentenol used in autumn strongly inhibited the growth of the plants in the early spring, too. Differences in the height of the control plants and those treated with the preparation remained evident till the end of the flowering stage. It was only just before the harvest that the height of both the control plants and the treated ones was the same (Tab. II). During all the years of research, a 2–3 day delay in the beginning of flowering in the objects with triapentenol was observed.

I. The influence of triapentenol on the character of hibernating plants and wintering of rape (experiment I)

Growth regulator	Sowing density (seeds/m ²)		Means
	120	240	
Number of leaves in rosette			
Control	9.3	8.5	8.9
Triapentenol	9.8	8.9	9.4
Means	9.5	8.7	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: sowing density – 0.4; growth regulator – 0.3			
Number of leaves keeping themselves in the rosette			
Control	5.8	4.7	5.3
Triapentenol	6.4	5.1	5.8
Means	6.1	4.9	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: sowing density – 0.2; growth regulator – 0.3			
Diameter of root neck (mm)			
Control	8.6	6.5	7.5
Triapentenol	8.8	6.8	7.8
Means	8.7	6.7	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: sowing density – 0.5			
Elevation of shoot apex (mm)			
Control	3.6	4.0	3.8
Triapentenol	3.1	3.1	3.1
Means	3.4	3.6	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: growth regulator – 0.2			
Content of dry matter in the above-ground part of plant (%)			
Control	15.9	16.7	16.3
Triapentenol	18.0	17.9	17.9
Means	16.9	17.3	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: growth regulator – 0.7			
Wintering of rape (in % of plant)			
Control	87.7	88.0	87.8
Triapentenol	93.4	91.2	92.3
Means	90.5	89.6	.
LSD ($\alpha = 0.05$) – ns			

The influence of triapentenol on the reduction of lodging was unimportant – on the average, only 0.3 points in the 9-degree scale. There was no more favourable effect of this preparation in the rape with a higher degree of density. However, plant lodging was found to be more intense in the objects of a higher degree of density (Tab. II).

Triapentenol used on rape in autumn did not have a significant influence on the differentiation of the elements of the yield structure: the number of siliques on the plant, the number of seeds in the silique and the mass of 1,000 seeds. Consequently, it did not have any influence on the level of the rape seed yield. However, sowing density did have a significant influence on the level of the rape seed yield. An increase in sowing density from 120 to 240 seeds/m² brought about a 10% yield decrease. It resulted from a significant (by 36%) decrease in the number of siliques developed on the plants in the plots of a higher degree of plant density. A statistical analysis of yielding did not prove any sig-

II. The influence of triapentenol on the character of ripening plants, their lodging and rapeseed yield (experiment I)

Growth regulator	Sowing density (seeds/m ²)		Means
	120	240	
Plants height (cm)			
Control	144	137	140
Triapentenol	143	137	140
Means	143	137	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: sowing density – 4			
Lodging of plants (9 – no lodging, 1 – total lodging)			
Control	5.5	4.5	5.0
Triapentenol	6.1	4.5	5.3
Means	5.8	4.5	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: sowing density – 0.4			
Number of siliques per plant			
Control	67	42	54
Triapentenol	66	42	54
Means	66	42	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: sowing density – 5			
Number of seeds per silique			
Control	18.9	18.6	18.7
Triapentenol	19.4	18.4	18.9
Means	19.1	18.5	.
LSD ($\alpha = 0.05$) – ns			
Weight of 1,000 seeds (g)			
Control	4.52	4.65	4.58
Triapentenol	4.59	4.51	4.55
Means	4.55	4.58	.
LSD ($\alpha = 0.05$) – ns			
Rapeseed yield (t/ha)			
Control	4.87	4.42	4.64
Triapentenol	4.94	4.42	4.68
Means	4.90	4.42	.
LSD ($\alpha = 0.05$) for: sowing density – 0.19			

nificance of interaction between triapentenol and sowing density (Tab. II).

The influence of increasing triapentenol doses on rape

All triapentenol doses used on rape in autumn had a modifying impact on the habitus of plants starting winter dormancy. In the plots where this preparation was used (irrespective of the dose), the rape rosettes had a bigger number of leaves which remained on the plant for a longer period of time (Tab. III). A tendency to a favourable reduction of the height of the shoot apex raising in the plants treated with this growth regulator was observed, too. Besides, triapentenol used in the dose of 0.75 kg/ha significantly increased the content of dry matter in the above-ground parts of the plants. An increase of the dose to 1 kg per 1 ha eliminated a favourable influence on this feature. In very soft winter conditions during all years of research, rape

III. The influence of triapentenol on the character of hibernating plant and wintering of rape (experiment II)

Specification	Dose of triapentenol (kg/ha)				LSD $\alpha = 0.05$
	0	0.50	0.75	1.00	
Number of leaves in rosette	7.3	7.9	7.9	8.2	0.6
Number of leaves keeping themselves in the rosette to the end of vegetation	4.5	5.0	4.9	5.2	ns
Diameter of root neck (mm)	8.4	8.8	8.6	8.5	ns
Elevation of shoot apex (mm)	4.5	4.1	4.1	4.1	ns
Content of dry matter in above-ground part of plant (%)	12.6	13.0	13.9	12.7	0.7
Wintering of rape (in % of plants)	82.8	85.2	87.6	85.1	ns

wintered well – therefore, a statistically favourable influence of the growth regulator on the wintering of rape plants was not proved (Tab. III).

All the triapentenol doses used in autumn, differentiated the dynamics of plant growth in spring to a low degree. A slight inhibition of growth and in the development of plants treated with triapentenol were observed only before the flowering stage. Just before harvest the heights of plants in particular objects did not differ significantly (Tab. IV). Consequently, none of the triapentenol doses had a significant influence on lodging reduction.

The use of triapentenol in autumn had no significant influence on the values of the elements of the yield structure, and therefore it had no influence on the seed yield level, either. There was no favourable impact of higher doses of this growth regulator on the improvement of rape plant yield (Tab. IV).

DISCUSSION

In all the triapentenol tests, favourable changes in the habitus of plants after autumn utilization were found out: an increase in the number of leaves formed and remaining in the rosette, lowering of the shoot apex raising, and an increase in the content of dry matter in the above-ground parts of plants before the vegetation inhibition, which contributed to better (by 4–15%) wintering plants (Budzyński et al., 1992; Bury, 1992; Muśnicki et al., 1987; Lembrich, 1988; Ojczyk, 1993; Paul, 1987; Teutsch, 1988; Tobała et al., 1990). The same tendency in rape reaction to triapentenol used in autumn was observed in the authors' research. Under the influence of 0.5 kg of triapentenol, the height of epicotyl decreased (by 18%), whereas the number of leaves in the rosette increased. There was also an increase in the content of dry matter in the above-ground parts of plants (by 1.6%). In the very soft winter conditions during the years of research, the improvement of the wintering ratio was considerable and, on the average, amounted to 4.5%.

IV. The influence of triapentenol on the character of ripening plants, their lodging and rapeseed yield (experiment II)

Specification	Dose of triapentenol (kg/ha)				LSD $\alpha = 0.05$
	0	0.50	0.75	1.00	
Plants height (cm)	135.0	134.0	128.0	134.0	ns
Deflection of standing crop (%)	24.8	26.0	22.6	28.3	ns
Number of silicles per plant	58.0	54.0	57.0	58.0	ns
Number of seeds per silique	23.5	24.0	24.2	24.1	ns
Weight of 1,000 seeds (g)	4.66	4.58	4.60	4.59	ns
Rapeseed yield (t/ha)	3.09	3.01	3.01	2.98	ns

The influence of triapentenol, used in autumn, on the dynamics of the growth of plants after the spring renewal of vegetation, was fairly differentiated in the investigations of particular authors. Budzyński et al. (1992), Muśnicki et al. (1987), Ojczyk (1993) and Tobała et al. (1990) report that triapentenol used in autumn delays by 3–4 days the phasic development of plants in spring and delays the growth of plants, reducing the final height of stems. The results of our research confirm the delay of plant development during the spring period, however, without any influence on the final height of the plants. The same results were obtained in a one-year experiment by Bury (1992). Other authors (Franek et al., 1989; Kübler, Aufhammer, 1990; Lembrich, 1988; Paul, 1987; Teutsch, 1988) proved that influence was not very noticeable and had no practical importance. Both in our own research and in the research of the authors quoted above it was concluded that the autumn use of triapentenol slightly influenced lodging reduction – the difference between the control object and that treated with the growth regulator may be defined only as a favourable tendency. Therefore, the autumn use of the growth regulator cannot be substituted for the spring use, done for the purpose of lodging prevention.

The results concerning the influence of the autumn use of triapentenol on the plant yield, obtained so far are fairly divergent. According to the investigations of Budzyński et al. (1992), Kübler, Aufhammer, 1990; Ojczyk (1993) and Tobała et al. (1990), triapentenol used in autumn had no significant influence on the rapeseed yield. Such a conclusion is also justified by the results interpreted in this paper and coming from the authors' own research. However, Lembrich (1988), in 6 one-year experiments, gained a yield increase in the plots with triapentenol – on the average by 120–200 kg/ha, as compared with control. Paul (1987) and Bury (1992) had a 2–15% yield increase after the autumn use of this preparation. Even more favourable results (yield increase by 25–37%) were obtained by Franek et al. (1989). Subsequent investigations of these authors (Franek

et al., 1991) showed a yield increase in the treated plants only by 7%.

The results of few investigations on the interaction of growth regulators with the rape field stand are very divergent. Teutsch (1988) reports that the autumn use of triapentenol on rape may be advisable an economically justified only at the optimum field stand. The research of Budzyński et al. (1992) and Ojczyk (1993) proves that the influence of growth regulators used in autumn on rape plants in the optimum and provocatively increased field stand was the same. Our own research did not show that triapentenol acted more favourably in the conditions leading to exuberance, i.e. in the conditions of a higher degree of density, than in the objects of a low degree of plant density. No relation between the degree of density and the degree of influence of this regulator on lodging and yield of rape was proved, either. Quite opposite results were obtained by Bury (1992), who indicated a high efficiency of triapentenol used in autumn on rape grown in the conditions of a high degree density (sowing 300 seeds on 1 m²).

According to the research of Kübler, Aufhammer (1990) there were no significant differences in the influence of the tested (0.36 and 0.54 kg/ha) doses of triapentenol. Lembrich (1988) obtained more favourable effects after application of lower doses (0.25–0.50 kg) than the higher doses of 0.75 kg. Similar results were obtained by Paul (1987). However, Franek et al. (1989) and Bury (1992) found out that the most favourable was the dose of 0.75 kg/ha, whereas increasing the dose to 1.0 kg always gave worse effects. Analysing the results obtained by these authors, it should be stated that from the economical and ecological points of view, the use of lower doses is more reasonable – in the research of Franek et al. (1989) the difference in the yield increase between the dose 0.50 and 0.75 kg was only 2%. Our own research did not show a more efficient action of doses higher than 0.5 kg.

For economic but also ecological reasons – residues in seeds after the application of higher doses of this preparation, Franek et al., (1989) – it seems that the autumn dose of triapentenol should not exceed 0.5 kg/ha.

REFERENCES

- BUDZYŃSKI, W. – HORODYSKI, A. – OJCZYK, T. – MALARZ, W. – KOTECKI, A.: Wpływ bioregulatorów na dynamikę wzrostu, zimowanie i plonowanie podwójnie uszlachetnionego rzepaku ozimego. Biul. IHAR, 183, 1992: 175–181.
- BURY, M.: Zmiany powodowane przez bioregulator Baronet (RSW 0411) w niektórych cechach morfologicznych i plonie rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.). Zesz. Probl. IHAR – Rośliny oleiste. Wyniki badań za rok 1991, 2, 1992: 255–264.
- FRANEK, M. – KOSTOWSKA, B. – ROLA, J.: Wpływ bioregulatora Baronet na rozwój i plonowanie rzepaku ozimego oraz pozostawski tego preparatu w nasionach. Zesz. Probl. IHAR – Rośliny oleiste. Wyniki badań za rok 1988, 2, 1989: 239–247.
- FRANEK, M. – KOSTOWSKA, B. – ROLA, J. – SADOWSKI, J.: Efektywność działania, dynamika zanikania i pozostawski regulatora „Baronet 70 WG” w rzepaku ozimym. Zesz. Probl. IHAR – Rośliny oleiste. Wyniki badań za rok 1990, 2, 1991: 93–100.
- KÜBLER, E. – AUFHAMMER, W.: Einflüsse von Triazoloapplikationen auf Kornertrag und -qualität von Winterraps. Fat Sci. Technol., 92, 1990 (2): 68–74.
- LEMBRICH, H.: Application of the plant growth regulator Baronet to improve stand stability and winter hardiness of oilseed rape (*Brassica napus*). Pfl.-Schutz-Nachr. Bayer, 41, 1988 (3): 354–370.
- MUŚNICKI, C. – MRÓWCZYŃSKI, M. – TOBOŁA, P. – CICHY, H.: Growth regulators in winter oilseed rape cultivation. Proc. 7th Rapeseed Congr., 4, 1987: 940–947.
- OJCZYK, T.: Studium nad wpływem regulatorów wzrostu na cechy rolnicze rzepaku ozimego. [Praca doktorska.] AR-T Olsztyn, 1993.
- PAUL, V. H.: Zum Einsatz von Wachstums-Regulatoren einer neuen Generation in Winterraps. Erfahrungen aus 5 jährigen Versuchen. Raps. 5, 1987 (4): 182–188.
- TEUTSCH, D.: Was bringen Wachstumsregler im Winterraps? Top agrar., 3, 1988: 58–60.
- TOBOŁA, P. – MUŚNICKI, C. – JODŁOWSKI, M.: Wpływ różnych retardantów na zimotrwałość, wyleganie i plonowanie rzepaku ozimego. Zesz. Probl. IHAR – Rośliny oleiste. Wyniki badań za rok 1989, 2, 1990: 351–368.

Received on February 16, 1994

Contact Address:

Prof. Wojciech Budzyński, Akademia Rolniczo-Techniczna im. M. Oczapowskiego, Katedra Produkcji Roślinnej, Zakład Roślin Zbożowych i Przemysławych, ul. Oczapowskiego 8, 10-719 Olsztyn, Polska

VEDECKÁ KONFERENCIA

AKTUÁLNE OTÁZKY OŽIVENIA AGROKOMPLEXU

Oblasťný výskumný ústav agroekológie, Michalovce pri príležitosti 30. výročia svojho vzniku usporiada pod gesciou Ministerstva pôdohospodárstva Slovenskej republiky **v dňoch 15. až 16. júna 1995 v Michalovciach** vedeckú konferenciu s medzinárodnou účasťou.

Cieľom konferencie je prispieť aktualizovanými námetmi pri realizácii agrárnej politiky štátu vo väzbách pôda–voda–rastlinná výroba–živočíšna výroba–ekológia–ekonomika. V programe odznejú súborné referáty k nosným problémom revitalizácie poľnohospodárstva v SR:

- Ekonomické nástroje vo vzťahu k potravinovej bezpečnosti štátu a regionálne vyváženému rozvoju.
- Stratégia využívania a zúrodňovania poľnohospodárskeho pôdneho fondu v súčasných podmienkach.
- Súčasná prax, tendencie a perspektívy trvale udržateľného rozvoja rastlinnej výroby.
- Východiská a možnosti revitalizácie živočíšnej výroby.
- Formovanie a funkcia poľnohospodárskeho a potravinárskeho komoditného trhu v SR.

Formy prezentácie účastníkov: referát, vystúpenie v diskusii, poster, trojrozmerné exponáty, videopremietanie, sponzorská účasť.

Pozývame vedeckú komunitu na vedeckú konferenciu **Aktuálne otázky oživenia agrokomplexu**.

Kontaktná adresa: Oblasťný výskumný ústav agroekológie
Špitálska 1273
071 01 Michalovce
Ing. L. Lorenčík, DrSc.
Ing. A. Hnát
Tel.: 0946/244 29, 250 65, 250 07
Fax: 0946/244 29

DISTRIBÚCIA PCB LÁTKOK V SYSTÉME PÔDA–RASTLINA

DISTRIBUTION OF PCB SUBSTANCES IN THE SYSTEM SOIL–PLANT

G. Barančíková¹, L. Matúšková², Z. Gergeľová²

¹*Soil Fertility Research Institute, Research Station, Prešov, Slovak Republic*

²*Soil Fertility Research Institute, Bratislava, Slovak Republic*

ABSTRACT: Behaviour of polychlorinated biphenyls in soil greatly depends on the soil quality. That is why five soil samples of very distinct soil characteristics, such as: content of organic carbon, amount of clay fraction, pH value and the value of sorption index, were chosen for vegetation trial aimed at monitoring the PCBs transport in the system soil–plant. Contamination of soil samples was done by technical mixture Delor-106, containing prevalingly higher chlorinated biphenyls. Spring kohlrabi was used as a plant material. After completing three-month experiment significant linear correlations between PCBs residue in soil and sorption capacity of soil or pH value was found out (Tab. IV). No correlation was ascertained between the percentage of clay fraction and Cox as basic components of soil sorption capacity and PCBs residue in soil. Positive linear correlation was found out between qualitative indicators of soil organic matter (percentage of carbon in humic acids, percentage of aromatic carbon in humic acids) and PCBs residue in soil. Based on these results it is assumed that in binding organic xenobiotics more important role is played by qualitative side than a total amount of organic matter in soil. Higher uptake of PCBs through the root system compared to above-ground biomass is evident from the data of concentrations of D-106 in kohlrabi (Tab. III). When an average initial concentration of PCBs was 0.5 mg/kg, what is a risk value in soil, the highest concentration found out in kohlrabi was 0.16 mg/kg.

PCB substances; transport; soil; plant

ABSTRAKT: V nádobovom vegetačnom pokuse bol sledovaný transport technickej zmesi polychlórovaných bifenylov (Delor-106) v systéme pôda–rastlina. Výsledky pokusu potvrdili všeobecne uznávaný názor, že chovanie a osud PCBs v pôde je výrazne ovplyvnený základnými pôdnymi vlastnosťami ako sú pH, S, Cox. Čo sa týka pôdnej organickej hmoty, do popredia pri interakciách s PCBs vystupuje skôr jej kvalita ako celkové množstvo v pôde. Výsledky experimentu ďalej potvrdili možný príjem PCBs rastlinným materiálom. Použitá počiatočná koncentrácia 0,5 mg/kg predstavuje rizikovú hodnotu týchto polutantov v pôde. Najvyššia zistená koncentrácia PCBs v rastlinnom materiáli bola 0,16 mg/kg.

PCB látky; transport; pôda; rastlina

ÚVOD

V dôsledku rozsiahlej kontaminácie životného prostredia látkami antropogénneho pôvodu existuje v súčasnosti obava, že tieto polutanty môžu byť akumulované rastlinným materiálom, ktorý je hlavným zdrojom ich bioakumulácie v potravinovom reťazci, a teda dôležitým zdrojom expozície zvierat i človeka.

Faktory ovplyvňujúce príjem kontaminantov a ich distribúciu v rastlinách môžeme rozdeliť do troch skupín (Wolf et al., 1988; Paterson et al., 1990):

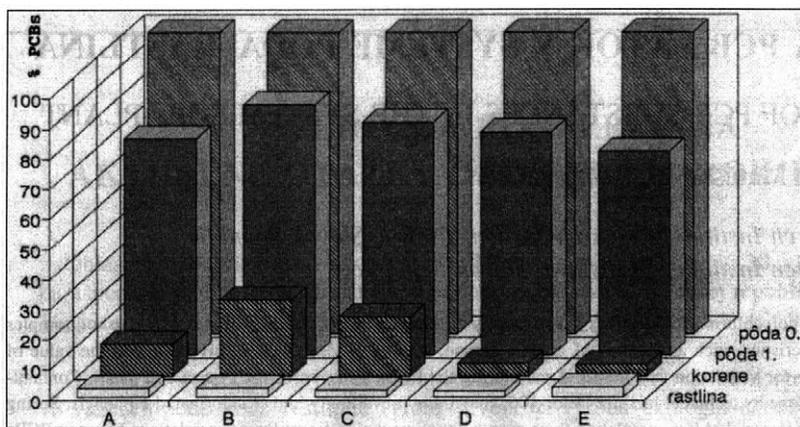
- fyzikálno-chemické charakteristiky kontaminantu (rozpustnosť vo vode, tlak nasýtených pár, molekulová hmotnosť, rozdeľovací koeficient oktanol–voda);
- environmentálne charakteristiky (teplota, vlhkosť, pH, množstvo a kvalita organickej a minerálnej zložky v pôde);
- charakteristiky rastlín (typ koreňového systému, tvar a chemické charakteristiky listov a obsah lipidov).

Medzi vážne organické kontaminanty negatívne ovplyvňujúce celý biologický svet patria aj polychlórované

bifenyly (PCBs). V dôsledku ich stálosti, nereaktívnosti, odolnosti voči žieravinám, termostabilite a nevodivosti nadobudli tieto látky všestranné využitie v mnohých oblastiach života (Safe, Hutzinger, 1987). Práve tieto vlastnosti sú však príčinou ich nízkej degradovateľnosti a z toho vyplývajúcej vysokej perzistencie v životnom prostredí.

PCBs sú zlúčeniny s extrémne nízkou rozpustnosťou vo vode a ich chovanie v prostredí je výrazne ovplyvnené stupňom chlorácie (Moza et al., 1976a, b; Strek, Weber, 1982; Hajšlová, Vávrová, 1991). Bol pozorovaný trend zvýšenej sorpcie vyššie chlorovaných kongenéroov PCBs a tiež skutočnosť, že adsorpciu ovplyvňuje aj poloha chlóru na bifenylovom kruhu. Všeobecne sa usudzuje, že chloroaromáty s nízkou rozpustnosťou vo vode disponujú silnou afinitou k pôdnym časticiam.

Transport PCBs do rastlín je potenciálne možný dvoma spôsobmi (Paterson et al., 1990). Jedným z nich je príjem PCBs cez koreňový systém, druhým je adsorpcia PCBs zo vzduchu cez listy a stonku a násled-



1. Koncentrácia PCBs (%) v pôde a v kalerábe po skončení pokusu – PCBs concentration (%) in soil and kohlrabi after finishing the trial

os x: varianty – x axis: treatments
 pôda – soil
 korene – roots
 rastlina – plant

ne epidermálnymi vrstvami do apoplastov a symplastov. Príjem PCBs vegetáciou bol študovaný na viacerých rastlinných druhoch pri rôznej koncentrácii PCBs v pôde (od 0,046 do 100 ppm). Z faktorov podrobných analýze bolo zistené, že druh rastliny, stupeň chlorácie bifenyly a dĺžka rastovej fázy sa uvádzajú ako najsignifikantnejšie faktory pri prijíme PCBs rastlinami (Streik, Weber, 1982). V literatúre môžeme nájsť pomerne veľký počet prác zaoberajúcich sa transportom PCBs. Medzi jednotlivými štúdiami však existujú značné rozdiely týkajúce sa príjmu PCBs rôznymi časťami rastlín. Niektorí autori uvádzajú výrazne vyššiu koncentráciu PCBs v koreňoch (Iwata, Gunther, 1974; Moza et al., 1976a, b; Offenbacher, 1992), iní v nadzemnej rastlinnej hmote (Sawhney, Hankin, 1984; Qiuping et al., 1991). Aj napriek intenzívnemu štúdiu transportu PCBs v prírode obsahuje daný problém ešte mnoho nejasností, preto sme sa rozhodli v rámci svojich možností prispieť k riešeniu danej problematiky.

MATERIÁL A METÓDA

Nakolko literárne údaje jednoznačne poukazujú na to, že transport PCBs vo veľkej miere závisí od typu a kvality pôdy a jedným z hlavných parametrov, ktorý ovplyvňuje chovanie PCBs v pôde, je množstvo organickej hmoty, vybrali sme päť pôdnych vzoriek líšia

cih sa od seba percentom Cox. Základné chemické a fyzikálne vlastnosti použitých pôd sú uvedené v tab. I. Kontaminácia pôdnych vzoriek bola uskutočnená technickou zmesou Delor-106, ktorá obsahuje prevažne vyššie chlórované bifenyly, a to obdobným spôsobom, aký je popísaný v literatúre (Quiuping et al., 1991). Počiatočná koncentrácia D-106 v kontaminovaných pôdach sa pohybovala okolo 0,5 mg/kg. Každý pôdny variant sa nachádzal v piatich opakovaníach. Z každej pôdy bol pripravený aj nulový variant (bez D-106). Ako rastlinný materiál bol použitý kaleráb jarný. Po skončení pokusu (cca tri mesiace) boli odobrané pôdne vzorky (priemerné vzorky z piatich opakovaní) na analýzu PCBs. Analýze na prítomnosť PCBs bol podrobený aj rastlinný materiál, pričom sa zvlášť analyzoval koreňový systém a zvlášť nadzemná časť kalerábu.

PCBs boli extrahované hexánom a merané na plynovom chromatografe Varian 3400 s EC detektorom. Lineárne závislosti charakterizované korelačným koeficientom *R* boli vypočítané metódou najmenších štvorcov.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Namerané koncentrácie PCBs v pôdnom i rastlinnom materiáli sú zhrnuté v tab. II a ilustrované na obr. 1. Z týchto údajov je evidentné, že aj keď medzi jednotlivými pôdami nie sú veľké rozdiely, najvyššia

I. Základné chemické a fyzikálne parametre pôdnych vzoriek – Basic chemical and physical parameters of soil samples

Pôdna vzorka ¹	Cox (%)	Ílová frakcia ⁶ < 0,001 mm (%)	pH	S ⁷ (mol/kg)
A – hnedozem ²	2,6	23	3,8	0,324
B – čiernica typická karbonátová ³	1,9	16	7,8	0,741
C – černoziem karbonátová ⁴	1,6	20	7,3	0,616
D – hnedozem ²	1,1	18	5,6	0,412
E – kambizem pseudoglejová ⁵	0,7	26,6	4,2	0,264

¹soil sample, ²luvisol, ³typical carbonated chernitsa, ⁴carbonated chernoziem, ⁵glycic cambisol, ⁶clay fraction, ⁷CEC

II. Základné chemické charakteristiky humínových kyselín – Basic chemical characteristics of humic acids

Pôdna vzorka ¹	C* (%)	H/C	H/O	E ₆ ^{1%}	Car (%)	α (%)
A	39,96	1,00	2,33	16,4	38,0	45,1
B	46,34	0,69	1,71	30	45,8	64
C	44,33	0,77	1,96	31,2	43,7	55,4
D	40,07	0,98	2,4	9,7	35,6	44,6
E	38,65	1,07	2,51	6,3	29,3	35,8

* atómové percentá²

aromatickosť³ $\alpha = \text{Car} / (\text{Car} + \text{Calif}) \cdot 100 (\%)$

E₆^{1%} – stupeň humifikácie podľa Kumadu⁴

¹ soil sample, ² atomic percentage, ³ aromaticity, ⁴ degree of humification after Kumada

koncentrácia PCBs (v percentách oproti východiskovému stavu) zostala po skončení experimentu v pôdných vzorkách A a B. Medzi hlavné komponenty ovplyvňujúce chovanie PCBs v pôde patrí pH a množstvo organického, resp. minerálneho podielu. Organická hmota a ťažké minerály sú hlavnými komponentami základného pôdneho parametra – sorpčnej schopnosti *S*, ktorá výrazne ovplyvňuje chovanie živín i polutantov v pôde. Medzi týmito pôdnymi parametrami a množstvom PCBs v pôde po skončení experimentu sme sa pokúsili zistiť vzájomný vzťah. Signifikantné lineárne korelácie boli zistené medzi pH, resp. sorpčnou kapacitou pôdy (tab. III) a koncentráciou PCBs v pôdach po skončení experimentu. Medzi hlavnými zložkami sorpčnej schopnosti pôdy, ťažkou frakciou, percentom Cox a zostatkom PCBs v pôdach sme nezaznamenali vzájomnú súvislosť.

III. Lineárne závislosti medzi PCBs (%) v pôde po skončení experimentu a rôznymi pôdnymi vlastnosťami – Linear dependences between PCBs (%) in soil after finishing the trial and various soil properties

Y	X	R	n
PCBs (%)	pH	0,91	5
	<i>S</i> (mol/kg)	0,97	5
	Cox ¹	0,98	4
	Cox ²	0,37	5
	% C (HK)	0,96	5
	% Car (HK)	0,93	5

Y – závisle premenná – dependently variable

X – nezávisle premenná – independently variable

R – korelačný koeficient – correlation coefficient

n – počet korelovaťelných dvojíc – number of correlated pairs

Cox¹ – bez pôdnej vzorky A – without soil sample A

Cox² – s pôdnou vzorkou A – with soil sample A

Pri analýze kvality pôdnej organickej hmoty charakterizovanej percentom uhlíka, resp. percentom aromatického uhlíka (% Car) v humínových kyselinách a zostatkom PCBs v pôdach sme zaznamenali pozitívnu

signifikantnú lineárnu závislosť ($R = 0,93$). Z kvalitatívnych ukazovateľov pôdnej organickej hmoty (tab. II) je zrejmé, že pôda A s najvyšším zastúpením Cox disponuje relatívne nízkou kvalitou organickej hmoty. V prípade závislosti medzi Cox a zostatkom PCBs v pôdach bez pôdnej vzorky A sme zaznamenali signifikantný kladný lineárny vzťah ($R = 0,98$). Na základe týchto výsledkov sa domnievame, že organická hmota zohráva veľmi významnú úlohu pri pútaní organických xenobiótik v pôde, ale skôr ako jej množstvo vystupuje do popredia pri týchto interakciách kvalita humusu.

Z údajov o koncentrácii D-106 v kalerábe (tab. IV, obr. 1) vyplýva vyšší príjem PCBs koreňovým systémom kalerábu ako jeho nadzemnou hmotou. Táto skutočnosť je v súlade s literárnymi údajmi, ktoré uvádzajú vyššiu koncentráciu PCBs v koreňovom systéme ako v nadzemnej časti rastliny (Moza et al., 1976a, b;

IV. Vegetačný pokus: hodnoty D-106 (μg/kg; %) oproti počiatočnému stavu v pôdach a v rastline kalerábu – Vegetation trial: values of D-106 (μg/kg; %) compared to initial state in soils and in kohlrabi plant

Variant ¹	P.0	P.1	N	K
A μg/kg	557,6	401,3	15,3	43,4
%	100	72,0	2,7	7,8
B μg/kg	567,5	471,3	15,7	143,2
%	100	83,1	2,8	25,2
C μg/kg	609,5	470,2	13,5	109,0
%	100	77,2	2,2	17,9
D μg/kg	535,7	397,0	11,2	21,9
%	100	74,1	2,1	4,1
E μg/kg	603,5	412,1	20,7	24,0
%	100	68,3	3,4	4,0

P.0 – koncentrácia D-106 v pôde na začiatku pokusu – concentration of D-106 in soil at the beginning of the trial

P.1 – koncentrácia D-106 v pôde po skončení pokusu – concentration of D-106 in soil after completing the trial

N – koncentrácia D-106 v nadzemnej časti rastliny – concentration of D-106 in above-ground part of plant

K – koncentrácia D-106 v koreňovom systéme rastliny – concentration of D-106 in root system of plant

¹ treatment

Iwata, Gunther, 1976). Paterson et al. (1990) a Offenbacher (1992) však poznamenávajú, že zvýšená koncentrácia PCBs v koreňoch mrkvy bola zistená iba vo vrchnej vrstve a nie vo vnútornej časti koreňa. Z tohto dôvodu sa nepredpokladá penetrácia PCBs do vnútra koreňového systému a následná distribúcia do ostatných častí rastliny.

Iní autori však uvádzajú zvýšenú koncentráciu PCBs v nadzemnej hmoty oproti koreňovému systému (Sawhney, Hankin, 1984; Quiping et al., 1991). Quiping et al. (1991) navyše zaznamenali zvýšenú koncentráciu PCBs v rastlinách pestovaných na nekontaminovaných variantoch, ktoré sa nachádzali v blízkosti kontaminovanej pôdy. V našom experimen-

te na rozdiel od citovaných autorov koncentrácia PCBs v kalerábe pestovanom na nekontaminovanej zemine bola pod detekčným limitom stanovenia (2 µg/kg). Možné vysvetlenie sa naskytuje pri bližšom pohľade na použité zmesi PCBs. Qui ping et al. (1991) vo svojich experimentoch použili zmes PCBs obsahujúcu Aroclor 1221, 1242 a 1260. Z tejto zmesi v rastlinnom materiáli identifikovali predovšetkým nižšie chlórované kongenéry PCBs. My sme v experimente použili technickú zmes D-106, obsahujúcu prevažne vyššie chlórované kongenéry PCBs. Volatilizácia týchto kongenérovo je vzhľadom k vysokým hodnotám tlaku nasýtených pár a Henryho konštant minimálna. Nižšie chlórované kongenéry na rozdiel od vyššie chlórovaných môžu volatilizovať z pôdneho povrchu, interagovať s prachovými častočkami vzduchu a následne kontaminovať nadzemnú časť rastlín.

ZÁVER

Táto práca je jedným z prvých pokusov u nás v oblasti skúmania transportu PCBs v systéme pôda–rastlina. Získané údaje podávajú určitý pohľad na chovanie a osud vyššie chlórovaných bifenyllov v pôde. Vyplynulo z nich, že osud D-106 môže byť v značnej miere ovplyvnený určitými pôdnymi parametrami, ako sú pH, S, Cox. V prípade organickej hmoty sa domnievame, že významnejším parametrom ovplyvňujúcim osud D-106 môže byť skôr jej kvalita ako celkové množstvo v pôde.

Čo sa týka transportu PCBs v systéme pôda–rastlina, na základe nami nameraných údajov môžeme konštatovať, že príjem PCBs, konkrétne technickej zmesi D-106, obsahujúcej hlavne vyššie chlórované kongenéry, je možný, pričom podstatne vyššiu koncentráciu PCBs sme zistili v koreňoch kalerábu na rozdiel od nadzemnej hmoty. Pri priemernej počiatkovej koncentrácii PCBs 0,5 mg/kg, ktorá predstavuje rizikovú hodnotu v pôde, bola najvyššia zistená koncentrácia v kalerábe 0,16 mg/kg.

Na základe týchto faktov môžeme konštatovať, že aj keď príjem polychlórovaných bifenyllov z pôdy rastlin-

ným materiálom je možný, nepredstavuje výraznejší zdroj kontaminácie rastlinnej produkcie týmito polutantami.

LITERATÚRA

- HAJŠLOVÁ, J. – VÁVROVÁ, M.: Problematika PCB a ďalších organických kontaminantů v zemědělství. Studie VTR, 1991 (3): 52.
- IWATA, Y. – GUNTHER, F. A.: Translocation of the polychlorinated biphenyls Aroclor 1254 from soil into carrots under field condition. Arch. Envir. Toxicol., 1976 (4): 44–59.
- MOZA, P. – SCHEUNERT, I. – KLEIN, W. – KORTE, F.: Studies with 2,4',5-trichlorobiphenyl-¹⁴C and 2,2',4,4',6-pentachlorobiphenyl-¹⁴C in carrots, sugar beets and soil. J. Agric. Fd Chem., 27, 1976a (5): 1120–1124.
- MOZA, P. – WEISGERBER, I. – KLEIN, W.: Fate of 2,2'-dichlorobiphenyl-¹⁴C in carrots, sugar beets and soil under outdoor conditions. J. Agric. Fd Chem., 24, 1976b (4): 881–885.
- OFFENBÄCHER, G.: The PCB transport from soil into plants depending on supply and degree of chlorination. Comm. Eur. Commun., 1992: 90–102.
- PATERSON, S. – MACKAY, D. – TAN, D. – SHIU, W. J.: Uptake of organic chemicals by plants: a review of processes, correlations and models. Chemosphere, 21, 1990 (3): 297–331.
- QUIPING, Y. E. – PURI, R. K. – KAPILA, S. – LOWER, W. R. – YANDERS, A. F.: Studies on uptake of PCB by *Hordeum vulgare* (barley) and *Lycopersica esculentum* (tomato). Chemosphere, 23, 1991 (8–10): 1397–1406.
- SAFE, S. – HUTZINGER, O.: Polychlorinated biphenyls (PCBs): mammalian and environmental toxicology. Berlin, Springer-Verlag 1987: 1–48.
- SAWHNEY, B. – HANKIN, L.: Plant contamination by PCBs from amended soils. J. Fd. Protec., 47, 1984 (3): 232–236.
- STREK, H. J. – WEBER, J. B.: Behaviour of polychlorinated biphenyls (PCBs) in soils and plants. Envir. Poll. (Ser. A), 28, 1982: 291–312.
- WOLF, K. – BRINK, W. J. VAN DEN – COLON, F. J.: Contaminated soil 1988. Dordrecht, 1988: 1649 s.

Došlo 2. 5. 1994

Kontaktná adresa:

RNDr. Gabriela Barančíková, CSc., Výskumný ústav pôdnej úrodnosti, Výskumná stanica, Reimannova 1, 080 01 Prešov, Slovenská republika, tel.: 091/73 10 54, fax: 091/72 31 84

THE EFFECT OF FUNGICIDES ON THE VIABILITY OF FABA SEEDLINGS

VLIV FUNGICIDŮ NA VITALITU KLÍČNÍCH ROSTLIN BOBU OBECNÉHO

H. A. H. Hasan

Faculty od Science, Assiut University, Assiut, Egypt

ABSTRACT: Fabia bean seeds of 25% moisture content were treated with fungicides (benomyl, carbendazim and thiophanate-methyl), inoculated with spores of *Fusarium moniliforme*, and stored at 80% relative humidity and two temperatures (10 and 25 °C). The fungicides significantly increased the viability and seedling respiration of infected seeds stored at 10 °C for up 3 months. They also, promoted the degradation of polysaccharides and insoluble protein with accumulation of free amino acids and soluble protein. On the contrary, the fungicides at 25 °C suppressed germination and CO₂ evolution after 1 month of seed storage. They also, impaired the degradation of storage polysaccharides and insoluble protein.

faba bean; fungicides; infected seeds; germinating plants; vitality; respiration; polysaccharides; insoluble protein

ABSTRAKT: Semena bobu obecného o 25% obsahu vody jsme ošetřili fungicidy (benomyl, carbendazim a thiophanate-methyl), inokulovali spórami *Fusarium moniliforme* a skladovali při 80% relativní vlhkosti a při dvou teplotách (10 a 25 °C). Fungicidy významně zvýšily vitalitu a respiraci klíčcích rostlin z infikovaných semen, která jsme skladovali po dobu až tří měsíců při teplotě 10 °C. Ošetření fungicidy také přispělo k degradaci polysacharidů a nerozpustného proteinu při současně akumulaci volných aminokyselin a rozpustného proteinu. Fungicidy při teplotě 25 °C naopak po jednom měsíci skladování snížily klíčivost a uvolňování CO₂ a rovněž omezily degradaci zásobních polysacharidů a nerozpustného proteinu.

bob obecný; fungicidy; infikovaná semena; klíčící rostliny; vitalita; respirace; polysacharidy; nerozpustný protein

INTRODUCTION

Problems concerning fungal deterioration of seed in storage have received considerable attention in recent years. Seeds in storage under the moisture, temperature and humid conditions prevailing in Egypt were invaded by a number of storage fungi in addition to their field fungi. These fungi are responsible for considerable deteriorative changes in seeds including reduced germination, reduced seedling growth, loss in essential chemical constituents and production of mycotoxins. On the other hand, viability loss in treated seeds is due, in part, to high seed moisture content, the action of fungi, and perhaps, to a phytotoxicity effect of the fungicides which under these storage conditions was not clearly defined (Moreno et al., 1987).

Faba bean (*Vicia faba* L.) seeds represent the main legume crop not only in Egypt but also in different parts of the world. Also, stored food reserves about 50% carbohydrates and 25% protein. *Fusarium moniliforme* Sheldon [Teleomorph: *Gibberella fujikuroi* (Saw.) Ito] represents the common strain associated with faba bean (Hasan, 1991). Also, it is a widespread plant pathogen causing mostly severe root, stem or crown rots on a wide range of host crops.

The studies reported herein were initiated to investigate the physiological effects of benomyl, carbendazim and thiophanate-methyl on viability, respiration and the changes in food reserves of seedlings of infected faba bean seed with *F. moniliforme* under different storage conditions.

MATERIAL AND METHODS

Fungicides: Three commercial fungicides benomyl or benlate 50% W. P. [methyl-1-(butyl carbamoyl)-2-benzimidazole carbamate] (DUPONT), carbendazim or bavistin 50% W. P. (methyl-2-benzimidazole) (BASF) and thiophanate-methyl or topsin-M 70% W. P. [1,2-bis (3-methoxy carbonyl-2-thioureido) benzene] (NIPPON SODA).

Infection and treatment: Lots of 50 g of faba bean seeds were first surface-sterilized by shaking in 5% NaOCl solution for 5 minutes and rinsing in three-times changed sterile distilled water. Thereafter, each sample was placed in sterile polyethylene bags and thoroughly mixed with the fungicide. Each fungicide was applied at three different doses (1,5 and 10 g/kg seeds), the lowest was the recommended dose. Treatments were

set up in duplicates in addition to the control. Each bag was inoculated with 1 ml of a heavy spore suspension of *Fusarium moniliforme*. Sterile distilled water was added, sufficient to raise the moisture content of the seed to 25% according to the method described by Lutey, Christensen (1963). The infected seed were incubated for 3 months at 10 and 25 °C in closed desiccators at 80% RH and at intervals the water content was readjusted. Periodically, samples were collected for assaying the viability of embryos.

Seed germination: Germination of faba bean seeds was carried out after 1 and 3 months of fungicide treatment. Seed samples were surface-sterilized by shaking in 5% NaOCl for 5 minutes, rinsed in three-times changed sterile distilled water. Thereafter, seed were allowed to germinate on moist sterile filter paper, placed in a Petri-dish. Five replicate Petri-dishes were prepared for each treatment. The dishes were incubated in the dark at 25 °C. The germination percentage, lengths of radical and plumule and vigour index were determined after 7 days of growth. The early vigour of seedlings was determined by calculating the vigour index [VI = length of radical + plumule (cm) x germination percentage] of the seeds.

Biochemical assay

Respiration: The respiration of germinating seed was measured by continuous air current method adopted by Kyo Sato (1981).

Carbohydrates: The method described by Nelson (1944) and modified by Naguib (1965) was employed for determination of carbohydrates in dry seedling powder.

Amino acids: Free amino acids were estimated according to the procedure described by Lee, Takahashi (1966).

Protein: The method described by Lowry et al. (1951) was employed.

RESULTS AND DISCUSSION

Benomyl, carbendazim and thiophanate-methyl significantly increased the viability of infected bean seeds at the three doses (1, 5 and 10 g/kg seeds) after 1 and 3 months of treatment at 10 °C (Tab. I). These results agreed with those reported by Singh, Agarwal (1984, 1986) and Singh et al. (1988). Since seed treatment with carbendazim improved germination of infected soybean seeds, but was still less than that of healthy seeds. Carbendazim was significantly effective in controlling the pathogen and improving the percentage of seed germination, root and shoot lengths of infected pigeon pea seeds (Kumar, Patnaik, 1985, 1986). Gomes et al. (1986) found that benomyl, carbendazim and thiophanate-methyl controlled *Fusarium* sp. infected snap bean seeds. Also, Pardeshi et al. (1989) found that treatment of soybean seeds with carbendazim increased germination percentage and seedling vigour.

Seedling vigour of infected seeds was significantly inhibited by the three doses of all fungicides used after month of treatment at 25 °C (Tab. I). In this respect, Ellis et al. (1975) reported that the poor quality soybean seeds were phytotoxicated with benomyl. Also, Mengistu et al. (1975) reported that benomyl had phytotoxic effect to both good and poor quality soybean seeds under field conditions.

Benomyl and thiophanate-methyl significantly promoted CO₂ evolution by the three doses after 1 month and the higher doses after 3 months of infected seed treatment at 10 °C (Tab. I). On the other hand, respiration was significantly inhibited with the higher doses of all fungicides used after 1 month of treatment at 25 °C. The reduction in the rate of respiration of germinating seeds treated with pesticides evidently suggests the blocking of biochemical processes essential for the supply of energy to the growing embryo (Dalvi et al., 1972). Also, Meenakshi, Raghu (1992) observed that carbendazim, at 5 g/kg soil, de-

I. Effect of benomyl, carbendazim and thiophanate-methyl on germination percentage (%), vigour index (VI) and CO₂ evolution (mg/100 seedlings/6 h) after 1 and 3 months of infected bean seed with *F. moniliforme* treatment

Compounds	Dose (g/kg seed)	10 °C						25 °C					
		1 month			3 months			1 month			3 months		
		%	VI	CO ₂	%	VI	CO ₂	%	VI	CO ₂	%	VI	CO ₂
	0	86.7	476.9	464.0	73.3	337.2	254.0	46.7	56.0	90.0	not germinated		
Benomyl	1	100.0	610.0*	581.0*	100.0	650.0*	273.0*	46.7	42.0*	65.0*			
	5	100.0	630.0*	537.0*	100.0	800.0*	332.0*	40.0	28.0*	40.0*			
	10	100.0	590.0*	508.0*	100.0	700.0*	370.0*	40.0	32.0*	20.0			
Carbendazim	1	93.3	720.5*	489.5	85.5	625.6*	318.0*	40.0	28.8*	51.4*			
	5	93.3	740.3*	474.2	73.3	683.2*	304.6*	13.3	4.2*	15.4*			
	10	100.0	804.0*	469.1	91.6	565.2*	299.4*	13.3	2.2*	10.3*			
Thiophanate-methyl	1	93.3	587.8*	522.0*	93.3	513.2*	285.0	13.3	3.9*	12.0*			
	5	93.3	681.1*	552.0*	93.3	625.1*	327.0*	13.3	3.1*	12.0*			
	10	93.3	625.1*	552.0*	93.3	550.5*	316.0*	6.7	0.4*	8.0*			

* Means of significant difference, compared to the control at 5% level

II. Effect of benomyl, carbendazim and thiophanate-methyl on carbohydrates and nitrogen metabolism (mg/g dry seedling) after 1 and 3 months of infected bean seed with *F. moniliforme* treatment

Compounds	Dose (g/kg seed)	10 °C									25 °C						
		1 month					3 months				1 month						
		carbohydrates			free amino acids	protein		carbohydrates		free amino acids	protein		carbohydrates		free amino acids	protein	
		reducing sugars	polysaccharides	soluble		insoluble	reducing sugars	polysaccharides	soluble		insoluble	reducing sugars	polysaccharides	soluble		insoluble	
	before germination	3.1	398.0	4.0	85.0	165.0	3.1	398.0	4.0	85.0	165.0	3.1	398.0	4.0	85.0	165.0	
	0	5.7	302.1	10.4	101.8	88.0	4.4	244.6	13.4	116.7	84.2	5.6	263.2	7.6	75.7	129.4	
Benomyl	1	6.0	242.0*	12.1	106.8	85.2	9.0*	245.1	15.0	129.0	74.1	4.6	293.2	4.2*	57.2	143.3	
	5	6.5	271.0*	13.7	107.3	84.0	11.2*	230.0	15.3	140.1*	61.2*	1.0*	305.1	4.1*	67.8	137.5	
	10	7.8	235.2*	12.6	109.7	78.2	10.3*	222.1	14.3	139.2*	63.6*	3.0	337.5*	4.1*	67.4	133.7	
Carben-dazim	1	6.1	281.2	10.5	103.5	85.0	13.0*	231.4	16.4	137.4	63.8	2.1	281.2	4.4*	67.2	133.2	
	5	6.2	283.3	11.2	104.7	80.3	10.9*	233.9	14.3	131.6	67.6	1.1*	313.3*	4.8*	65.3	134.1	
	10	7.1	291.0	11.5	104.8	78.5	14.5*	229.4	16.9	133.2	69.7	1.2*	332.1*	4.5*	57.3*	136.0	
Thio-phanate-methyl	1	8.9	236.4*	12.5	104.1	89.3	9.2*	250.2	14.0	119.9	82.0	0.9*	322.4*	4.3*	64.6	131.2	
	5	8.0	304.2	12.2	108.9	83.6	8.9*	243.2	13.9	124.0	81.9	1.1*	343.2*	4.7*	63.8	136.2	
	10	8.7	281.4	12.8	109.0	83.3	8.3	246.1	14.3	117.7	82.4	1.1*	295.9*	4.0*	63.2	133.0	

* Means of significant difference, compared to the control at 5% level

creased the respiration at zero day, however, further observation revealed stimulatory effect of fungicide.

Degradations of polysaccharides and insoluble protein promoted by the three doses of benomyl, carbendazim and thiophanate-methyl occurred after 1 and 3 months of infected seed treatment at 10 °C, but inhibited at 25 °C (Tab. II). An accumulation of reducing sugars, free amino acids and soluble protein increased at 10 °C, but decreased at 25 °C. The accumulations of carbohydrates in seedlings of stored seeds at 25 °C are attributed to the decline rate of respiration which could be due to the disintegration of mitochondria. Balasimba et al. (1977) reported that sodium diethyl dithiocarbamate caused an inhibition of *Phaseolus radiates* seedlings accompanied by specific inhibition of protein synthesis. H a n k e r et al. (1978) reported that folcidin (benomyl-related fungicide) treatment resulted in an accumulation of amino acids in cucurbita plants, which is probably correlated with cytokinin-like characters of this fungicide. Recently, H a s a n (1993) attributed growth inhibition of fungi with fungicides to the lowered rate of sugar absorption and reduced rates of α -amylase production.

CONCLUSION

All tested benzimidazoles significantly increased the seedling vigour and associated metabolic activities (CO₂ evolution, degradation of polysaccharides and insoluble protein and accumulation of reducing sugars, free amino acids and soluble protein) in infected bean seed with *F. moniliforme* after 1 and 3 months of seed treatment at 10 °C. However, at 25 °C the seedling

vigour and all the associated activities were significantly inhibited after 1 month of treatment. In addition, no germination recorded in both control and treatment of infected bean seeds after 3 months of storage at 25 °C. The results suggest preserving the viability of contaminated bean up to 3 months by treatment with 0.5% of benzimidazole formulations below 10 °C.

REFERENCES

- BALASIMHA, D. – TEWARI, M. N. – RAM, C.: Growth and certain metabolic aspects in relation to sodium diethyl dithiocarbamate effects in *Phaseolus radiatus* seedlings. Biochem. u. Physiol. Pfl., 171, 1977: 43–47.
- DALVI, R. R. – SINGH, B. – SALUNKHE, D. K.: Influence of selected pesticides on germination and associated metabolic changes in wheat and mung bean seeds. J. Agric. Fd Chem., 20, 1972: 1000–1003.
- ELLIS, M. A. – ILYAS, M. B. – SINCLAIR, J. B.: Effect of three fungicides on internally seed-borne fungi and germination of soybean seeds. Phytopathology, 65, 1975: 553–556.
- GOMES, J. L. L. – ONKAR, D. D. – ROBERTO, F. DA SILVA: Influence of foliar application on fungicides during rainy and nonrainy planting season on fungal seed infection of snap beans. Fitopatol. Bras., 11, 1986: 163–169.
- HANKER, I. – KUDELOVA, A. – EDGER, J.: The effect of the folcidin (cypendazole) fungicide on the control of bound and free amino acids in crucifer plants. Ochr. Rostl., 14, 1978: 285–297.
- HASAN, H. A. H.: Studies on mycotoxins and some metabolic activities of seed and seed-borne fungi treated with benzimidazole fungicides. Egypt, Assiut Univ. Ph. D. Thesis 1991.

- HASAN, H. A. H.: Fungicide inhibition of aflatoxins, diacetoxyscirpenol and zearalenone production. *Folia Microbiol.*, 38, 1993: 292–298.
- KUMAR, K. – PATNAIK, P.: Seed-borne nature of *Alternaria alternata* in pigeon pea, its detection and control. *Indian J. Pl. Pathol.*, 3, 1985: 69–73.
- KUMAR, K. – PATNAIK, P.: Effect of fungicidal treatment of *Alternaria alternata* infected pigeon-pea (*Cajanus cajan*) seed on germination. *Pesticides (Bombay)*, 20, 1986: 17–18.
- KYO SATO: Relations between soil microflora and CO₂ evolution upon decomposition of cellulose. *Pl. and Soil*, 61, 1981: 251–258.
- LEE, Y. P. – TAKAHASHI, T.: An improved colorimetric determination of amino acids with the use of ninhydrin. *Analyt. Biochem.*, 14, 1966: 71–77.
- LOWRY, O. H. – ROSEBROUGH, N. J. – FARR, A. L. – RANDALL, R. J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 1951: 256–275.
- LUTEY, R. W. – CHRISTENSEN, C. M.: Influence of moisture content, temperature and length of storage upon survival of fungi in barley kernels. *Phytopathology*, 53, 1963: 713–717.
- MEENAKSHI, M. – RAGHU, K.: Effect of fungicides on soil respiration and biomass. *Adv. Pl. Sci.*, 4, 1992: 61–67.
- MENGISTU, A. – ELLIS, M. A. – ROYCE, D. J. – SINCLAIR, J. B.: Soybean seed treatment studies. Fungicide-Nematicide Test Results of 1974, 30, 1975 (in press).
- MORENO, E. M. – GONZALEX, J. R. – PLATA, H. B.: Preservacion de Semilla de Maiz Tratada con Fungicidas, Almacenada con Diferentes Contenidos de Humedad. *Turrialba*, 37, 1987: 93–99.
- NAGUIB, M. I.: Effect of ascorbic acid on respiration and carbohydrate metabolism of *Cunninghamella* sp. *Folia Microbiol.*, 10, 1965: 215–223.
- NELSON, N.: A photometric adaptation of the Somogyi method for determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153, 1944: 375–380.
- PARDESHI, V. F. – REDDY, V. G. – NALWANDIKAR, P. K.: Effects of different fungicides on seedling vigour and seed viability in soybean. *J. Maharashtra Agric. Univ.*, 14, 1989: 33–36.
- SINGH, D. P. – AGARWAL, V. K.: Effect of different levels of purple stain infection on viability and germination of soybean seed. *Seed Res.*, 12, 1984: 44–46.
- SINGH, D. P. – AGARWAL, V. K.: Purple stain of soybean and seed viability. *Seed Res.*, 14, 1986: 126.
- SINGH, S. N. – SRIVASTAVA, S. K. – AGARWAL, S. C.: Viability and germination of soybean seeds in relation to pre-treatment with fungicides, period of storage and type of storage container. *Trop. Agric. (UK)*, 65, 1988: 106–108.

Received on February 16, 1994

Contact Address:

Dr. H. A. H. Hasan, Department of Botany, Faculty of Science, Assiut University, Assiut, Egypt

REAKCIA VYBRANÝCH ODRÔD OBILNÍN NA HÁĎATKO OVSEŇÉ (*HETERODERA AVENAE* WOLL.) PATOTYP Ha 12

RESPONSE OF SELECTED CEREAL CULTIVARS TO *HETERODERA AVENAE* WOLL. PATHOTYPE Ha 12

B. Valocká, M. Sabová, M. Lišková

Parasitological Institute, Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic

ABSTRACT: Cereal cyst Nematode *Heterodera avenae* Woll. is distributed in the Slovak Republic and the Czech Republic mainly in the regions where the share of cereals in the crop rotation is very high. The most efficient method for controlling this nematode is the use of resistant cultivars. The response of 50 domestic cereal cultivars to *Heterodera avenae* Woll. pathotype Ha 12 was studied (16 winter wheat cultivars, four spring wheat cultivars, 18 spring barley cultivars and 12 oat cultivars). The level of susceptibility or resistance of the cereal cultivars tested was determined by counting the number of newly formed cysts. In most of the domestic cultivars screened medium to very high degree of susceptibility was found out. Eight cultivars of low to very low degree of susceptibility were considered as resistant to *Heterodera avenae* Woll.: one winter wheat cv. (Hana), five spring barley cvs. (Bonus, Korál, Orbit, Rubín and Zenit), two oat cvs. (Adam and Diadém). These cultivars are recommended for use in the crop rotations in the areas threatened by cereal cyst nematode in the Slovak Republic and the Czech Republic.

cereal cultivars; *Heterodera avenae* Woll.; degree of susceptibility; resistance; crop rotation

ABSTRAKT: Reakcia k *Heterodera avenae* Woll. patotypu Ha 12 bola sledovaná u 50 domácich odrôd obilnín pestovaných v SR a ČR (16 odrôd ozimnej pšenice, štyri odrody jarnej pšenice, 18 odrôd jarného jačmeňa a 12 odrôd ovsa). U väčšiny odrôd bol stupeň náchylnosti stredný až vysoký. Osem odrôd možno považovať za rezistentné, a to jednu odrodu ozimnej pšenice (Hana), päť odrôd jarného jačmeňa (Bonus, Korál, Orbit, Rubín a Zenit) a dve odrody ovsa (Adam a Diadém). Odrody môžu byť využité v oblastiach s vysokým výskytom háďatka ovseného.

odrody obilnín; *Heterodera avenae* Woll.; stupeň náchylnosti; rezistencia; oševný postup

ÚVOD

Háďatko ovsené *Heterodera avenae* Woll. je rozšírené v SR a ČR na 60 % plôch obilnín, najmä v oblastiach s intenzívnym pestovaním obilnín (Sabová et al., 1989; Valocká et al., 1993a). V týchto podmienkach sa zvyšuje riziko negatívneho vplyvu parazita na úrody našich výkonných odrôd obilnín.

V ochrane proti háďatku ovsenému sa uplatňujú hlavne preventívne a agrotechnické opatrenia, za najúčinnejší spôsob sa však považuje pestovanie rezistentných odrôd. V krajinách, kde sa už uplatňuje táto koncepcia ochrany obilnín proti *Heterodera avenae* Woll., majú vyšľachtené rezistentné odrody najmä jačmeňa a ovsa (Cook, Evans, 1987; Decker, Fritzsche, 1991; Rivoal, Cook, 1993).

V rámci štúdia parazito-hostiteľských vzťahov pri heteroderóze obilnín v poslednom období zisťujeme stupeň rezistencie širokého sortimentu odrôd obilnín (genetické zdroje, novošľachtené odrody, povolené odrody) k *Heterodera avenae* Woll. patotypu Ha 12 (Valocká et al., 1992, 1993b).

Predložený príspevok zhrňuje výsledky testovania sortimentu domácich povolených odrôd obilnín, pestovaných na území SR a ČR.

MATERIÁL A METÓDA

V rokoch 1992 až 1994 sme sledovali reakciu 50 odrôd obilnín pestovaných v SR a ČR (16 odrôd ozimnej pšenice, štyri odrody jarnej pšenice, 18 odrôd jarného jačmeňa a 12 odrôd ovsa) k *Heterodera avenae* Woll. patotypu Ha 12. Populácia parazita pochádzala z lokality Nitra. Osivo testovaných odrôd poskytli VÚRV Piešťany, ŠS Krukanice a ÚKSÚP Bratislava. Pokusy sa uskutočnili v piatich opakovaniach v skúmavkách s prirodzene kontaminovanou pôdou (10 cyst/100 g pôdy), ku koreňom klíčiacych rastlín bolo pridaných 2 000 lariev. Skúmavky boli umiestnené v prirodzených podmienkach počas vegetačného obdobia.

Stupeň náchylnosti, resp. rezistencie testovaných odrôd sa hodnotil podľa počtu bielych cyst parazita v koreňoch v pomere ku kontrolnej náchylnej odrode

(v %) v nasledovnej škále (Rumpenhorst – osobná informácia):

+I.	veľmi nízka	0 – 2 %
+II.	veľmi nízka až nízka	2,1 – 5 %
+III.	nízka	5,1 – 15 %
IV.	nízka až stredná	15,1 – 30 %
V.	stredná	30,1 – 50 %
VI.	stredná až vysoká	50,1 – 70 %
VII.	vysoká	70,1 – 90 %
VIII.	vysoká až veľmi vysoká	90,1 – 110 %
IX.	veľmi vysoká	> 110 %

Kontrola (100 %) ozimná pšenica – Remia, jarná pšenica – Capa, jarný jačmeň – Beatrice, ovos – Sun II; + stupne I., II a III. sú rezistentné.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z výsledkov vyplýva, že háďatko ovsené sa vyvíjalo na koreňoch všetkých testovaných odrôd obilnín, stupeň náchylnosti jednotlivých druhov a odrôd obilnín k parazitovi bol však rôzny.

U odrôd ozimnej pšenice (tab. I) bol zistený pomerne vysoký stupeň náchylnosti k *Heterodera avenae* Woll. Väčšina zo 16 testovaných odrôd mala stredný až vysoký stupeň náchylnosti, najhoršia sa pritom ukázala odroda Sparta (VIII). Len jednu odrodu (Hana) môžeme označiť za rezistentnú, keď dosiahla III. stupeň.

Odrody jarnej pšenice (tab. I) ukázali strednú mieru náchylnosti k *Heterodera avenae* Woll., pričom odrody Sandra a Sylva dosiahli lepšie výsledky ako odrody Jara a Rena.

Reakcia 18 odrôd jarného jačmeňa (tab. II) zodpovedala nízkej až strednej náchylnosti k parazitovi. U piatich odrôd sa zistil nízky stupeň náchylnosti (Bonus, Korál, Orbit, Rubín a Zenit) a možno ich považovať za rezistentné. Najhoršie z hľadiska rezistencie boli odrody Horal a Terno (V).

Odrody ovsu (tab. III) ukázali väčšie rozdiely v náchylnosti k *Heterodera avenae* Woll. Dve odrody (Adam a Diadém) považujeme za rezistentné. Nahý ovos Adam dosiahol dokonca najlepšie výsledky zo všetkých testovaných odrôd obilnín. Väčšina odrôd však na rozdiel od jarného jačmeňa vykazovala vyšší stupeň náchylnosti. Najhoršie boli odrody Pan, Zlaťák, Felix a Auron.

Výsledky dopĺňajú charakteristiku odrôd obilnín pestovaných v SR a ČR z hľadiska ich rezistencie k háďatku ovsenému. Testované odrody prejavili pomerne vysokú náchylnosť k *Heterodera avenae* Woll. patotypu Ha 12, ktorý sa vyskytuje na celom území SR a ČR (Sabová et al., 1990). Podľa reakcie k parazitovi môžeme len osem odrôd považovať za rezistentné, a to jednu odrodu ozimnej pšenice (Hana), päť odrôd jarného jačmeňa (Bonus, Korál, Orbit, Rubín a Zenit) a dve odrody ovsu (Adam a Diadém). Tieto odrody môžu byť využité v oblastiach s vysokým výskytom háďatka ovseného.

I. Reakcia odrôd ozimnej pšenice a jarnej pšenice k *Heterodera avenae* Woll. – Response of winter wheat cultivars and spring wheat cultivars to *Heterodera avenae* Woll.

	Odroda ¹	Počet bielych cyst <i>H. avenae</i> na 1 rastlinu ²					Náchylnosť ³	
							%	stupeň ⁴
Ozimná pšenica ⁵	Barbara	0	37	46	31	27	60	VI
	Blava	23	16	21	16	17	39	V
	Branka	14	12	17	15	14	30	IV
	Danubia	37	35	22	35	32	69	VI
	Hana	10	7	10	8	0	15	III
	Ilona	25	31	20	37	14	54	VI
	Iris	29	21	14	28	15	45	V
	Košútka	33	27	26	23	24	57	VI
	Livia	15	31	34	46	12	59	VI
	Samanta	5	22	22	21	29	42	V
	Selekta	11	13	14	17	16	30	IV
	Sofia	49	45	31	10	11	63	VI
	Sparta	39	47	46	44	57	108	VIII
	Torysa	15	33	34	12	7	43	V
Viginta	21	22	22	27	10	43	V	
Vlada	33	38	21	23	16	56	VI	
Jarná pšenica ⁶	Jara	26	31	22	24	21	40	V
	Rena	18	32	69	11	9	44	V
	Sandra	21	1	5	21	19	21	IV
	Sylva	6	20	19	7	8	19	IV

¹cultivar, ²number of white cysts of *H. avenae* per plant, ³susceptibility, ⁴degree, ⁵winter wheat, ⁶spring wheat

II. Reakcia odrôd jarného jačmeňa k *Heterodera avenae* Woll. – Response of spring barley cultivars to *Heterodera avenae* Woll.

Odroda ¹	Počet bielych cýst <i>H. avenae</i> na 1 rastlinu ²					Náchylnosť ³	
						%	stupeň
Bonus	2	3	3	2	7	8	III
Galan	6	8	11	9	9	20	IV
Horal	27	15	13	3	14	33	V
Jarek	10	8	7	8	7	18	IV
Jaspis	16	17	6	12	10	28	IV
Korál	11	3	0	3	4	10	III
Krystal	6	4	9	13	5	17	IV
Malvaz	13	14	6	11	2	21	IV
Novum	1	7	6	10	20	20	IV
Opál	15	28	10	11	10	22	IV
Orbit	3	3	7	9	5	12	III
Perun	11	5	4	19	3	19	IV
Profit	4	11	8	7	11	26	IV
Rapid	8	11	7	11	11	22	IV
Rubín	6	8	5	5	2	12	III
Terno	6	21	25	22	13	40	V
Zefír	3	20	7	7	5	19	IV
Zenit	6	6	8	4	2	12	III

For 1–4 see Tab. I

 III. Reakcia odrôd ovsu k *Heterodera avenae* Woll. – Response of oat cultivars to *Heterodera avenae* Woll.

Odroda ¹	Počet bielych cýst <i>H. avenae</i> na 1 rastlinu ²					Náchylnosť ³	
						%	stupeň
Adam	2	2	2	1	2	4	II
Ardo	29	13	24	25	11	47	V
Auron	32	41	31	34	20	73	VII
David	24	9	26	20	24	47	V
Diadém	2	2	3	5	4	7	III
Felix	40	46	50	27	21	84	VII
+Gramena	23	35	34	15	28	62	VI
Hermes	8	11	12	8	9	22	IV
+Flamingsnova	4	30	17	18	33	47	V
Pan	39	40	45	20	43	86	VII
Veles	33	35	40	4	20	61	VI
Zlaťák	46	43	22	55	47	85	VII

+ pôvod SRN – German origin

For 1–4 see Tab. I

V porovnaní s výsledkami dosiahnutými pri testovaní zahraničných odrôd, ktoré predstavujú genetické zdroje pre šľachtenie obilnín v našich podmienkach (Valocká et al., 1993b), bol stupeň náchylnosti povolených domácich odrôd podstatne vyšší. Na plochách kontaminovaných *Heterodera avenae* Woll. sú tak ohrozené ich úrody. Odrody ozimnej pšenice ako najviac pestovanej obilniny môžu vysokou multiplikáciou cýst háďatka ovseného na svojich koreňoch zvýšiť populačnú hustotu parazita s rizikom pre následnú obilninu. Zaradením nehostiteľských rastlín (strukoviny, zemiaky, repka, ľan, lucerna) a rezistentných odrôd obilnín sa toto riziko eliminuje.

Podľa dlhodobých experimentov (Rivoal, Sarr, 1987) nižšie ako 50% zastúpenie obilnín v osevných postupoch (na ľahkých pôdach do 25%) môže udržať hustotu populácie háďatka ovseného v pôde pod prahom škodlivosti. Takéto ochranné opatrenia založené na striedaní obilnín a tráv s nehostiteľskými rastlinami a rezistentnými odrodami obilnín môžeme odporúčať aj pre oblasti SR a ČR s vysokou intenzitou výskytu *Heterodera avenae* Woll.

Práca vznikla za finančnej podpory Slovenskej grantovej agentúry pre vedu (projekt č. 2/2/92).

LITERATÚRA

- COOK, R. – EVANS, K.: Resistance and tolerance. In: BROWN, R. H. – KERRY, B. R. (eds): Principles and practice of Nematode control in crops. London, Acad. Press 1987: 179–231.
- DECKER, H. – FRITZSCHE, R.: Resistanz von Kulturpflanzen gegen Nematoden. Berlin, Akad. Verlag 1991: 340 s.
- RIVOAL, R. – COOK, R.: Nematode pests of cereals. In: EVANS, K. – TRUDGILL, D. L. – WEBSTER, J. M. (eds): Plant parasitic Nematodes in temperate agriculture. CAB Int. Wallingford Oxon Ox10 8DE, UK, 1993: 259–303.
- RIVOAL, R. – SARR, E.: Field experiments on *Heterodera avenae* in France and implication for winter wheat performance. *Nematologica*, 33, 1987: 460–479.
- SABOVÁ, M. – VALOCKÁ, B. – LIŠKOVÁ, M. – VARGOVÁ, V. – MAREK, J.: Výskyt a rozšírenie *Heterodera avenae* Woll., 1924 na území ČSR. *Ochr. Rostl.*, 25, 1989: 59–70.
- SABOVÁ, M. – LIŠKOVÁ, M. – VALOCKÁ, B. – VARGOVÁ, V.: Patotypy háďatka ovseného *Heterodera avenae* Woll. na území Československa. *Ochr. Rostl.*, 26, 1990: 291–299.
- VALOCKÁ, B. – SABOVÁ, M. – LIŠKOVÁ, M.: Reakcia vybraných odrôd obilnín k *Heterodera avenae*. In: Zbor. Ref. ved. Konf. Racionalizácia chemickej ochrany poľných a záhradných plodín, Nitra, 1992: 151–158.
- VALOCKÁ, B. – SABOVÁ, M. – LIŠKOVÁ, M.: Distribution of *Heterodera avenae* in Czecho-Slovakia. *Nematol. Med.*, 21, 1993a: 123–124.
- VALOCKÁ, B. – SABOVÁ, M. – LIŠKOVÁ, M.: Reakcia odrôd obilnín k *Heterodera avenae* Woll. patotypu Ha 12. *Ochr. Rostl.*, 29, 1993b (2): 139–145.

Došlo 14. 6. 1994

Kontaktná adresa:

Ing. Božena Valocká, CSc., Parazitologický ústav SAV, Hlinkova 3, 040 01 Košice, Slovenská republika, tel.: 095/314 11, fax: 095/314 14.

ŠTANDARDNÉ METÓDY ELEKTROFORETICKEJ SEPARÁCIE GLUTENÍNŔOV A GLIADÍNŔOV PŠENICE V SDS-PAGE A A-PAGE

THE STANDARD METHODS OF ELECTROPHORETIC SEPARATION OF GLUTENINS AND GLIADINS OF WHEAT BY SDS-PAGE AND A-PAGE

J. Kraic¹, E. Horváth², E. Gregová¹, I. Źák¹

¹Research Institute of Plant Production, Piešťany, Slovak Republic

²Central Institute for Control and Testing in Agriculture, Bratislava, Slovak Republic

ABSTRACT: Acidic polyacrylamide gel electrophoresis (A-PAGE) and SDS-PAGE were used for separation, detection and evaluation of gliadin and glutenin patterns in wheat (*Triticum aestivum* L.). All analytical methods used are tested or adopted, as a standard reference methods by ISTA or UPOV organizations, for identification and characterization of wheat varieties. ISTA A-PAGE method in our modification is very convenient for identification purposes of wheat varieties. The stained gels with gliadin profiles can be further evaluated for the presence of gliadin alleles and other genetic studies. There are only slight differences in concentration of soluble gels in ISTA and UPOV SDS-PAGE methods. Both methods are very simple, the separation of glutenin subunits detected in the gels with different concentration of acrylamide were reproducible and usable for variety distinguishing and recognition of an alleles corresponding to HMW glutenin subunits. Gliadin and glutenin banding patterns were obtained from several wheat varieties and protein polymorphism in gliadins and glutenins was presented in this paper. The electrophoretic spectra obtained by described methods can be evaluated subsequently by densitometry for preparation of digitalised electrophoretic spectra of cultivars.

wheat; gliadins; glutenins; electrophoresis; detection

ABSTRAKT: Elektroforetická separácia gliadínov a glutenínov pšenice bola overovaná modifikovanou štandardnou metódou ISTA A-PAGE a štandardnými a odporúčanými metódami ISTA a UPOV SDS-PAGE. Testované analytické postupy sú vhodné pre detekciu medzi- i vnútroodrodových rozdielov v spektrách gliadínov a glutenínov odrôd pšenice. Opísané metódy sú vhodné i pre detekciu homogenity vzoriek pšenice.

pšenice; gliadíny; gluteníny; elektroforéza; detekcia

ÚVOD

Pestovanie pšenice je rozšírené po celom svete a pšenica tvorí jednu zo základných potravinových surovín vo výžive ľudstva. Znamená to, že je i jedným z významných obchodných artiklov vo vnútroštátnom i medzinárodnom obchode. I preto je potrebné rozlišovanie a orientácia v obrovskom počte pestovaných odrôd i manipuláciach so zrnom akom osívom i surovinou.

Široké spektrum metód identifikácie odrôd pšenice využíva rôzne detekčné a vyhodnocovacie techniky od vizuálneho popisu odrody cez obrazovú analýzu semien, elektroforetickú a HPLC charakterizáciu zásobných bielkovín, imunochemické metódy až po DNA-profiling.

Elektroforetická separácia zásobných semenných bielkovín však patrí vo všeobecnosti medzi najprepracovanejšie metódy určené pre identifikáciu odrôd jed-

notlivých druhov obilnín a vzhľadom na relatívne vysoký polymorfizmus týchto znakov pri pšenici je i najpoužívanejšou analytickou metódou pri rozlišovaní a charakterizovaní odrôd pšenice. Komplex semenných bielkovín pšenice ponúka bohaté spektrum pre účely detekcie polymorfizmu. Týka sa to hlavne prolaminovej frakcie bielkovín rozpustných v alkohole – gliadínov a glutenínových polypeptidov, čo je frakcia redukovaných semenných bielkovín extrahovaná v prostredí detergentu (SDS) a silného redukčného činidla (merkaptoetanolu).

Elektroforetická separácia extrahovaných bielkovín prebieha v gélovom nosiči, ktorý prešiel tak isto svojím vývojom. Od klasických škrobových gélov sa prešlo k najviac v súčasnosti používanému syntetickému nosiču – polyakrylamidu. Jeho hlavnou prednosťou je homogenita a vysoká reprodukovateľnosť deliacich podmienok. Bielkoviny sa delia v natívnom alebo redukovanom stave, delenie prebieha v prostredí SDS

klasickým postupom (L a e m l i, 1970) alebo v kyslom prostredí (B u s h u k, Z i l l m a n, 1978). Používajú sa však i rôzne modifikácie extrakcie i elektroforetických podmienok separácie.

Tieto metódy identifikácie odrôd pšenice sú v súčasnosti už natoľko rozšírené, že bolo potrebné pracovné analytické postupy unifikovať, resp. štandardizovať (pri zabezpečení vysokej reprodukovateľnosti) medzi jednotlivými laboratóriami. Týmto smerom orientujú svoju činnosť i medzinárodné organizácie zaoberajúce sa semenárskym testovaním i ochranou odrôd (ISTA, UPOV, OECD), ktoré začleňujú tieto analytické postupy do svojich noriem a legislatívnych predpisov pre povoľovanie nových odrôd a ochranu autorských práv. Semenárske testovanie tak začína uplatňovať paralelne s klasickými testami aj analytické laboratórne metódy.

Cieľom tejto práce bolo zhodnotenie odporúčaných postupov ISTA a UPOV pre analýzu spektier glutenínov v rámci štandardizácie týchto metodických postupov pre použitie v semenárskej kontrole a odrodovom skúšobníctve, ako aj pre účely právnej ochrany odrôd pšenice. Hodnotenie metodických postupov prebiehalo formou porovnávacích analýz v laboratóriách VÚRV Piešťany a ÚKSÚP Bratislava.

MATERIÁL A METÓDA

V experimentoch boli použité niektoré odrody pšenice (*Triticum aestivum* L.) registrované v Listine povolených odrôd z roku 1994.

Štandardná referenčná metóda ISTA v kyslom prostredí A-PAGE (D r a p e r, 1987) v modifikácii (H o r v á t h, 1991, 1994a)

Extrakčný roztok: pyronín G alebo Methyl Green (0,05 %) v 2-chlóretanole (25 %).

Elektrodový tlmivý roztok: ľadová kyselina octová (4 ml), glycin (0,4 g) v 1 000 ml destilovanej vody, pH 3,2.

Gélový tlmivý roztok: ľadová kyselina octová (20 ml), glycin (1 g) v 1 000 ml destilovanej vody, pH 3,2.

Príprava extraktu gliadínov: jednotlivé zrná sa ručne rozdrví a prenesú do 1,5–2 ml túb. Pridá sa po 0,2 ml extrakčného roztoku, obsah sa dôkladne premieša a nechá extrahovať cez noc pri izbovej teplote. Pred nanesením 10–20 µl extraktu do gélu sa obsah túb centrifuguje.

Príprava 100 ml gélu:

- 60 ml gélového tlmivého roztoku
- 10 g akrylamidu
- 0,4 g N,N'-Metylénbisakrylamidu
- 0,1 g kyseliny askorbovej
- 0,005 g síranu železnatého
- 6 g močoviny
- doplniť gélovým tlmivým roztokom do 100 ml
- 0,2–0,3 ml 10% roztoku persíranu amónneho
- 0,3 ml TEMED

Elektroforéza prebiehala pri konštantnom napätí 500 V, počas trojnásobku behu markera (Methyl Green), pri teplote 15–20 °C. Táto metodika bola predložená v roku 1991 a úspešne oponovaná ako podklad pre revíziu noriem týkajúcich sa testovania obilnín, strukovín a olejnín a stanovenia odrodového zloženia a homogenity pšenice a jačmeňa (H o r v á t h, 1991).

Štandardná metóda ISTA v SDS-PAGE (W r i g l e y, 1992)

Príprava deliaceho gélu:

- 38,1 ml 1M Tris-HCl, pH 8,8
 - 58,27 ml roztoku AA-Bis (12,7 g akrylamidu + 0,168 g N,N'-Metylénbisakrylamidu v objeme 58,27 ml)
 - 1 ml 10% roztoku SDS
 - 2,53 ml 1% roztoku persíranu amónneho
 - 50 µl TEMED
- na 100 ml deliaceho gélu.

Príprava štartovacieho gélu (dlhý 1–2 cm):

- 2,47 ml 1M Tris-HCl, pH 6,8
 - 16,6 ml roztoku AA-Bis (1,21 g akrylamidu + 20,8 mg N,N'-Metylénbisakrylamidu)
 - 0,2 ml 10% roztoku SDS
 - 741 µl 1% roztoku persíranu amónneho
 - 20 µl TEMED
- na 20 ml štartovacieho gélu.

Zloženie elektródového roztoku: 14,1 g glycinu, 3 g Tris, 1 g SDS v objeme 1 000 ml.

Zloženie zásobného roztoku pre extrakciu glutenínov: 12,5 ml 1M Tris-HCl (pH 6,8), 20 ml glycerolu, 24,1 ml destilovanej vody, 4 g SDS, 20 mg Pyronín Y. Pred extrakciou bol pripravený vždy čerstvý extrakčný roztok zo zásobného roztoku takto: zásobný roztok pre extrakciu + 2-merkaptotanol + redestilovaná voda v pomere 17 : 3 : 40. Na 1 mg rozdrveného zrna bolo pridaných 8 µl extrakčného roztoku. Extrakcia prebiehala 1 h pri 25 °C za občasného premiešania vzorky. Pred nanesením do gélu boli vzorky zohriate na 10 min na 100 °C. Po ich ochladení a centrifugovaní boli nanesené do gélu v množstve 5–15 µl v závislosti od hrúbky použitého gélu. Elektroforetické delenie prebiehalo pri 30 mA 8–10 h pri konštantnej teplote 15 °C, až pokiaľ marker dosiahol spodný okraj gélu.

SDS-PAGE metóda pre analýzu glutenínov odporúčaná a navrhnutá do pre zaradenie do smerníc organizácie UPOV

Zloženie a príprava extrakčného roztoku je zhodná ako pri metóde ISTA SDS-PAGE.

Príprava 10% deliaceho gélu:

- 20 ml zásobného roztoku akrylamidu (40,02 g akrylamidu v 100 ml destilovanej vody)
- 26 ml zásobného roztoku N,N'-Metylénbisakrylamidu (0,5198 g v 130 ml destilovanej vody)
- 30 ml gélového zásobného roztoku (1M Tris-HCl, pH 8,8)

- 2 ml 1% roztoku persíranu amónneho
- 0,8 ml 10% roztoku SDS
- 40 µl TEMED

Príprava 7% deliaceho gélu:

- 14 ml zásobného roztoku akrylamidu
- 26 ml zásobného roztoku N,N'-Metylénbisakrylamidu
- 30 ml gélového zásobného roztoku (1M Tris-HCl, pH 8,8)
- 6 ml destilovanej vody
- 2 ml 1% persíranu amónneho
- 0,8 ml 10% SDS
- 40 µl TEMED

Príprava štartovacieho 3% gélu (dlhý 3-4 cm):

- 1,5 ml zásobného roztoku akrylamidu
- 2,15 ml zásobného roztoku N,N'-Metylénbisakrylamidu
- 2,5 ml gélového zásobného roztoku (1M Tris-HCl, pH 6,8)
- 0,75 ml 1% persíranu amónneho
- 0,2 ml 10% SDS
- 15 µl TEMED

Zloženie elektródového roztoku a priebeh elektroforetického delenia boli zhodné s ISTA SDS-PAGE metódou.

Pre elektroforetické delenia sme použili zariadenia Protean II (Bio-Rad) a VEA-40 (Instrument).

Farbenie bielkovín v géloch po všetkých typoch elektroforéz bolo robené v roztoku pripravenom zmiešaním 95 ml 10% kyseliny trichlóroctovej a 5 ml 0,5% roztoku Coomassie Brilliant Blue R250 v etanole. Odfarbenie pozadia z gélu sme robili vo vode.

Indexy identity HMV glutenínových alel porovnávaných 16 odrôd sme stanovovali podľa publikovanej metódy (Š a š e k et al., 1992).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Delenie glutenínov v SDS-PAGE podľa metodiky ISTA prebieha relatívne rýchlo a rozlišovacia schopnosť v géli je dobrá. V géli možno jednoducho detekovať prítomnosť HMW podjednotiek glutenínov a klasifikovať ich podľa uverejnenej práce (Payne, Lawrence, 1983). Na základe prítomnosti či neprítomnosti určitých špecifických HMW podjednotiek glutenínov možno potom charakterizovať odrodu ako takú, ale i niektoré vlastnosti odrody, napr. chlebopekárskú kvalitu odrody (Kolster, Vereijken, 1993; Manley et al., 1992; Ng, Bushuk, 1988). Na obr. 1 je znázornený evidentný polymorfizmus v HMW, ale i v LMW podjednotkách glutenínov, ktorý je použiteľný pre rozlišovanie odrôd navzájom (tab. I). Indexy identity porovnávaných 16 odrôd boli získané len na základe HMW podjednotiek glutenínov. Po komplexnom porovnávaní celého spektra separovaných bielkovín bude pravdepodobne možné rozlíšiť všetky odrody vzájomne.

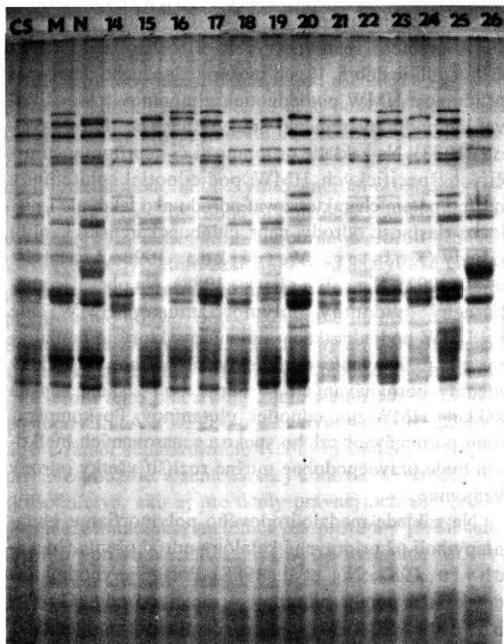
Na základe medziodrodového polymorfizmu glutenínov boli už pripravené katalogy odrôd pšeníc (Marchylo, 1987; Ng et al., 1988). Postup je vhodný i na detekciu a pomer biotypov v rámci odrody (Graybosch et al., 1994), teda na detekciu homogenity či heterogenity odrôd (obr. 2).

Hustotu polyakrylamidového deliaceho gélu je niekedy výhodné meniť v rozmedzí od 10 %, hlavne vtedy, keď chceme rozlíšiť prítomnosť alely 2 od 2* lokusu Glu-A1 a niektorých alel lokusov Glu-B1 a Glu-D1, do približne 20 %, ak chceme dosiahnuť lepšie rozdelenie a zaostrenie LMW glutenínových podjednotiek.

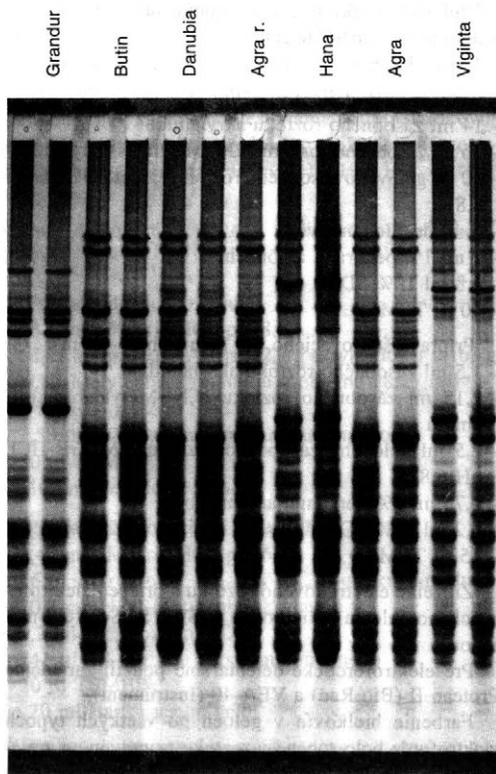
Postupy popísané v tejto práci pre extrakciu a elektroforetickú separáciu gliadínov a glutenínov sú vypra-

I. Hodnoty indexov identity súborov glutenínových alel hodnotených odrôd pšenice (označenie odrôd na obr. 1) - Identity index values of glutenin alleles of assessed wheat cultivars (designation of cultivars in Fig. 1)

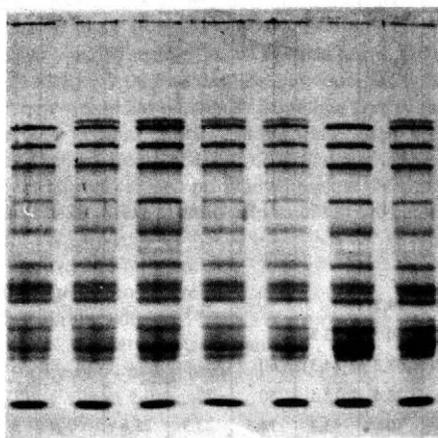
	CS	M	N	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
CS															
M	12,5														
N	14,3	66,7													
14	33,3	50	50												
15	16,6	28,6	28,6	33,3											
16	28,6	66,7	66,7	12,5	60										
17	12,5	100	42,9	28,6	28,6	80									
18	14,9	28,6	40	60	14,3	0	12,5								
19	14,9	28,6	40	60	14,3	0	12,5	100							
20	33,3	28,6	42,9	33,3	60	28,6	28,6	14,3	14,3						
21	33,3	66,7	60	100	33,3	12,5	28,6	60	60	33,3					
22	14,9	80	80	80	14,3	28,6	50	33,3	33,3	14,3	60				
23	12,5	100	66,7	50	12,5	42,9	80	28,6	28,6	12,5	50	80			
24	33,3	66,7	80	14,9	60	80	50	0	0	33,3	14,3	33,3	28,6		
25	12,5	100	46,6	28,6	28,6	66,7	100	12,5	12,5	28,6	28,6	50	66,7	50	
26	16,7	16,7	16,7	50	20	0	16,7	50	50	20	50	20	16,7	0	16,7



1. Glutenínové profily odrôd pšenice stanovené štandardnou ISTA SDS-PAGE metódou – Glutenin profiles of wheat cultivars detected by standard ISTA SDS-PAGE method (CS – Chinese Spring, M – Marquis, N – Neepawa, 14 – Samanta, 15 – Selektá, 16 – Senta, 17 – Saxana, 18 – Sofia, 19 – Sparta, 20 – Torysa, 21 – Vega, 22 – Viginta, 23 – Vlada, 24 – Zdar, 25 – Mironovská, 26 – Soldur)



3. Gliadínové spektrá odrôd pšenice stanovené modifikovanou metódou ISTA A-PAGE – Gliadin patterns of wheat cultivars by modified ISTA A-PAGE



2. Detekcia homogenity pšenice odrody Barbara v SDS-PAGE – Homogeneity detection of the wheat cultivar Barbara by SDS-PAGE

cované do štandardnej reprodukovateľnej formy, pričom samotné analytické postupy sú zhodné s postupmi ISTA a klasifikácia HMW podjednotiek s pripravovanou smernicou pre charakterizovanie odrôd pšenice podľa UPOV. Rozdiel medzi metodikou ISTA a UPOV je prakticky iba v koncentrácii použitého deliaceho gélu, pričom v oboch prípadoch je separácia glutenínov na takej úrovni, že klasifikácia HMW podjednotiek je jednoduchá a rýchla.

Modifikáciou metódy ISTA bola dosiahnutá vyššia pevnosť gélu a lepšie delenie, pričom poloha fázového rozhrania sa po ukončení separácie nachádzala pred najpohyblivejšími frakciami, takže nevytvárala falošnú zónu. Navyše toto rozhranie je možné využiť pre stanovenie reprodukovateľnosti elektroforetických delení. Príklad použitia A-PAGE metódy je uvedený na obr. 3. Gliadínové spektrá pozostávajú z 25–40 bielkovinových zón, čo by mohlo byť dostatočné pre rozlíšenie sortimentu pšeníc v rozsahu Listiny povolených odrôd. Z hľadiska potrieb genetickej interpretácie gliadínových spektier bola uskutočnená matematická transformácia gliadínových blokov definovaných v škrobových géloch – 1B1, 1B3, 1B4 a 1B5. Bolo zistené, že transformované alelické gliadínové bloky v A-PAGE

sa od blokov identifikovaných v škrobe líšia pohyblivosťou i počtom zón, čo je v súlade s inými autormi (Branlard et al., 1986; Hubík, 1992).

Použitelnosť opísaných metód pri rozlišovaní odrôd pšenice môže byť zvýšená paralelnou analýzou gliadínov a glutenínov, čím sa detekovaný polymorfizmus výrazne zvýši. Takto pripravené spektrá či už gliadínov alebo glutenínov je možné následne vyhodnotiť denzitometricky a pripraviť tak štandardné digitalizované spektrá jednotlivých odrôd, napr. pomocou programov DENSMER 1.0, SPECTRUM 1.0 a GENETIC 1.0 (Horváth, 1994b). Súčasťou takéhoto katalógu odrôd môže byť i popis jednotlivých alel alebo alelických blokov a ich vzťah k niektorým vlastnostiam. Celý postup je aplikovateľný na charakterizáciu povolených odrôd pšenice, novošľachtených línií, hybridov, ale i genetických zdrojov pšenice uchovávaných v génových bankách.

LITERATÚRA

- BRANLARD, G. – KOENIG, J. – PICARD, B.: Evaluation of the genetic diversity of wheat germplasm. In: Methods of biochemical evaluation of germplasm collections. Eucarpia Symp. Radzików, 1986: 39–50.
- BUSHUK, W. – ZILLMAN, R. R.: Wheat cultivar identification by gliadin electrophoregrams I. Apparatus, methods and nomenclature. *Can. J. Pl. Sci.*, 58, 1978: 505–511.
- DRAPER, S. R.: ISTA variety committee. Report of the working group for biochemical tests for cultivar identification 1983–1986. *Seed Sci. Technol.*, 15, 1987: 431–434.
- GRAYBOSCH, R. A. – PETERSON, C. J. – LEE, J. H. – SHELTON, D. R.: Effects of glutenin protein polymorphism on breadmaking quality of winter wheats. *Crop Sci.*, 34, 1994: 628–635.
- HORVÁTH, L.: Stanovenie odrodového zloženia a jednotnosti (homogenity) dodávok pšenice siatej a jačmeňa siateho. Podklad pre revíziu ČSN 46 0610 a ČSN 46 1011, Bratislava, ÚKSÚP 1991: 1–10.
- HORVÁTH, L.: Štandardná a referenčná metóda pre identifikáciu odrôd pšenice a jačmeňa. *Poľnohosp. Skúšob.*, 1994a (1): 34–36.
- HORVÁTH, L.: Automatizovaný systém pre popis a identifikáciu odrôd v ÚKSÚP. *Poľnohosp. Skúšob.*, 1994b (2–3): 5–7.
- HUBÍK, K.: Elektroforéza gliadinové frakcie zásobných bielkovín zrna pšenice v polyakrylamidovom gelu. *Rostl. Výr.*, 38, 1992: 765–772.
- KOLSTER, P. – VEREIJKEN, J. M.: Evaluating HMW glutenin subunits to improve bread-making quality of wheat. *Cereal Fd Wld*, 2, 1993: 76–83.
- LAEMLI, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 1970: 680–688.
- MANLEY, M. – RANDALL, P. G. – MC GILL, A. E. J.: The prediction of dough properties of South African wheat cultivars by SDS-PAGE analysis of HMW glutenin subunits. *J. Cereal Sci.*, 15, 1992: 39–47.
- MARCHYLO, B. A.: Identification of Canadian and American wheat cultivars by SDS gradient PAGE analysis of gliadin and glutenin subunits. *Can. J. Pl. Sci.*, 67, 1987: 945–952.
- NG, P. K. W. – BUSHUK, W.: Statistical relationship between high molecular weight subunits of glutenin and bread-making quality of Canadian-grown wheats. *Cereal Chem.*, 65, 1988: 408–413.
- NG, P. K. W. – SCANLON, M. G. – BUSHUK, W.: A catalogue of biochemical fingerprints of registered Canadian wheat cultivars by electrophoresis and high-performance liquid chromatography. *Winnipeg*, 1988: 1–83.
- PAYNE, P. I. – LAWRENCE, G. J.: Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, Glu-D1, which code for high molecular weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. *Cereal Res. Commun.*, 11, 1983: 29–35.
- ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – BRADOVÁ, J. – PAŘÍZEK, P.: Genetické hordeinové markery jarného ječmene. *Rostl. Výr.*, 38, 1992: 745–755.
- WRIGLEY, C. W.: Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins. In: LINSKENS, H. F. – JACKSON, J. F.: *Seed Analysis*. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag 1992: 17–41.

Došlo 17. 11. 1994

Kontaktná adresa:

RNDr. Ján Kraic, Výskumný ústav rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovenská republika, tel.: 0838/223 11, fax: 0838/263 06

Česká pedologická společnost

oznamuje, že dne 23. listopadu 1994 obnovila svou činnost. Na ustavující schůzi byly přijaty stanovy a krátkodobý plán práce do přípravy valné hromady.

Společnost bude především pečovat o všestranný rozvoj disciplín o půdě, bude podporovat uplatnění praktických aplikací pedologie v zemědělství, lesnictví, v územním plánování a bude se zabývat ochranou krajinného a životního prostředí. Svou prací hodlá přispívat k objektivnímu informování veřejnosti o stavu našich půd a o významu půdy jako neobnovitelného přírodního zdroje.

Společnost bude pořádat semináře a konference, vydávat metodické práce, spolupracovat s návaznými vědními obory a s Mezinárodní půdoznaleckou společností ve Vídni.

V současné době společnost sdružuje kolem 60 členů; jejím sídlem je Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. Předsedou byl zvolen ing. Jiří K u l h a v ý , CSc., vědecký pracovník Ústavu ekologie lesa Fakulty lesnické a dřevařské.

Zájemci o členství obdrží informace na adrese:

Ing. Eduard P o k o r n ý

Ústav půdoznalství a mikrobiologie

Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně

Zemědělská 1

613 00 Brno

ELEKTROFORETICKÁ SPEKTRA GLIADINŮ A PODJEDNOTEK GLUTENINŮ S VMH ODRŮD PŠENICE OBECNÉ RESTRINGOVANÝCH V LETECH 1982 AŽ 1993

ELECTROPHORETIC SPECTRA OF GLIADINS AND SUBUNITS OF GLUTENINS OF HMW OF WHEAT VARIETIES DELETED IN THE YEARS 1982 TO 1993

A. Šašek¹, J. Černý²

¹Research Institute of Crop Production, Praha-Ruzyně, Czech Republic

²Czech University of Agriculture, Praha, Czech Republic

ABSTRACT: Wheat varieties, deleted from the List of Certified Varieties in 1982 to 1993, may be used as donors of some requested properties in hybridization programmes. Certification and introduction into circulation of the seed of deleted variety is usually admitted one to several years after its deletion. The use of model electrophoretic spectra and sets of gliadin and glutenin allelic blocks of zones separated from them is a prerequisite of purposeful utilization of deleted wheat varieties as genetic sources, as well as identification of these varieties from seed sample. This study has been aimed at preparation of these model electrophoretic spectra of gliadins and glutenins of high molecular weight (HMW) of wheat varieties deleted in the years 1982 to 1993. In total 22 deleted winter wheat varieties and four deleted spring wheat were assessed. Bulk samples supplied from the State Institute for Agricultural Supervision and Testing – Division of Seeds and Planting Stock were used for electrophoretic analyses. To set up electrophoretic structure of gliadins each bulk sample containing 50 grains was electrophoretically analyzed. Electrophoretic structure of glutenin subunits of HMW was determined by assessment of five random seeds from each bulk sample. Electrophoretic spectra of gliadins were set up by modified method of vertical electrophoresis in columns of starch gel in Al-lactate buffer at pH 3.1 with 2 mol urea per 1 litre (Šašek, Sýkorová, 1989). Allelic gliadin blocks were separated from electrophoretic spectra of gliadins as reported by Sobko, Popelja (1986). Electrophoretic spectra of glutenins of HMW were determined by modified procedure of vertical discontinual electrophoresis in polyacrylamid gel under presence of sodium dodecyl sulfate after Laemmli (1970). Allelic blocks of zones or individual allelic zones of glutenin subunits of HMW were found according to the published catalogue (Payne et al., 1981). Based on the electrophoreograms obtained the degree of protein polymorphism of assessed varieties was tested. Homozygosity of all investigated loci Gld and Glu was confirmed. Relative frequency of gliadin heterogenous varieties is comparatively high, amounts to 62%. Varieties of maximum gliadin heterogeneity, i. e. Super Zlatna and Mironovská zlepšená, are at the same time heterogenous in the structure of glutenins of HMW, consisting of two glutenin lines. Through the allelic gliadin and glutenin blocks properties marked by them were evaluated, such as baking quality, frost hardiness and resistance to stem rust. From the set of assessed deleted varieties or lines having blocks GLD 1B1 and GLU 1A1 or GLU 1A2* and GLU 1B7+8 or GLU 1B7+9 and GLU 1D5+10 can be separated as sources of higher baking quality. Genetic source of frost hardiness are the varieties Branka, Jubilejní, Mironovská 808 and Mironovská zlepšená with both major markers of frost hardiness, i. e. blocks GLD 1D5 and GLD 6A3. Spring wheat Rena, containing a major marker of frost hardiness – block GLD 1D5 in gliadin spectra, or the Sylva variety with the second major marker of frost hardiness – block GLD 6A3, can be considered as donors of frost hardiness genes. Secaline block GLD 1B3, i. e. marker of bad baking quality, but at the same time a marker of resistance to stem rust of grain (Sozinov, 1985; Šašek et al., 1982, 1986), was identified in gliadin spectra of the varieties Amika – line B, Branka, Istra, Roxana, Sabina, Solaris and Butin.

wheat; gliadins; glutenins with HMW; electrophoresis; protein polymorphism; genetic structure; marking of properties; identification of varieties

ABSTRAKT: Předpokladem účelného využívání restringovaných odrůd pšenice obecně jako genetických zdrojů a jejich rychlé a objektivní identifikace ve vzorku semen je používání etalonových elektroforetických spekter gliadinů a gluteninů s VMH zmíněných odrůd. Práce představuje katalog zmíněných vzorových elektroforetických spekter odrůd pšenice obecně restringovaných v letech 1982 až 1993.

pšenice obecná; gliadiny; gluteniny s VMH; elektroforéza; bílkovinný polymorfismus; genetická struktura; markerování vlastností; identifikace odrůd

ÚVOD

Alelické bloky zón elektroforetických spekter gliadinů a podjednotek gluteninů s vysokou molekulovou hmotností (VMH) umožňují rychlé a objektivní stanovení odrůdové pravosti a čistoty dávek osiv a merkantilu pšenice. Markerují rovněž některé významné hospodářské vlastnosti pšenice jako pekařskou jakost, mrazuvzdornost a odolnost ke rzi travní. Znalost signálních gliadinových a gluteninových genů, které determinují zmíněné alelické bloky zón, je předpokladem získání žádaných rekombinací a transgresí v uvedených markerovaných vlastnostech.

Restringované odrůdy pšenice obecně, vyloučené z Listiny povolených odrůd v letech 1982 až 1993, se mohou využívat i nadále jako dárci některých žádaných vlastností v hybridizačních programech. Obvykle se připouští uznávání a uvádění do oběhu osiv restrin-

gované odrůdy jeden až několik let po její restrikci po vyloučení odrůdy z Listiny povolených odrůd.

Používání vzorových elektroforetických spekter a z nich vyčleněných souborů gliadinových a gluteninových alelických bloků zón je předpokladem účelného využívání restringovaných odrůd pšenice jako genetických zdrojů, právě tak jako identifikace těchto odrůd ve vzorku semen. Cílem práce je vypracování vzorových elektroforetických spekter gliadinů a gluteninů s VMH odrůd pšenice obecně restringovaných v letech 1982 až 1993.

MATERIÁL A METODA

Přehled hodnocených odrůd ozimé a jarní pšenice včetně jejich původu, roku povolení, označení ve SOP a roku restrikce je uveden v tab. I.

I. Přehled odrůd pšenice obecně restringovaných v letech 1982 až 1993 – Survey of wheat varieties deleted in the years 1982 to 1993

Název odrůdy ¹	Označení ve SOP ²	Rok ³		Původ ⁶ (kombinace rodičů ⁷)
		povolení ⁴	restrikce ⁵	
Ozimé odrůdy ⁸				
Amika	BU-10	1980	1986	Aurora x Mironovskaja 808
Baranjka	Jugoslavia	1981	1985	(Sanja x TP114/1965A) x ZG4730/66
Branka	BR-55	1988	1993	(Weihenstephaner 378/57 x Mironovskaja 808) x (BrIII55 x San Pastore)
Grana	Polsko	1975	1983	(Etoile de Choisy x Wysokolitowka Szywnosloma) x Dankowka Biala
Hela	HE-270	1979	1988	Moisson x Mironovskaja 808
Ijličovka	SSSR	1975	1985	Bezostaja 4 x Mironovskaja 808
Istra	SO-290/756	1979	1985	(Prodtuttore x Nebojska) x Aurora
Jubilejná	SSSR	1971	1986	Ljutescens 106 x Bezostaja 4
Juna	UH-141-56/72	1979	1985	Uh-141/62 x Jubilejnaja
Kormoran	SRN	1979	1982	(Capelle x Heine 2806) x Heine 646
Mara	UH-521	1984	1990	Moisson x Jubilejnaja
Mirela	SL-354/69	1979	1984	Mironovskaja 808 x Stella
Mironovská 808	SSSR	1966	1993	Výběr z Artěmovky
Mironovská zlepšená	SSSR	1979	1982	Bezostaja 4 x Mironovskaja 808
Odra	HE-527	1981	1989	Manella x Jubilejnaja
Roxana	BU-22	1985	1991	Solo x Kavkaz
Sabina	ST-907-77	1983	1988	Weihenstephaner 378/57 x Caribo
Slavia	ST-VŮŘ 37	1976	1991	(Bezostaja 1 x Mironovskaja 808)
Solaris	SO-1804	1976	1986	(Prodtuttore x Nebojska) x Kavkaz
Super Zlatna	Jugoslavia	1982	1985	Sanja x TP114/1965A) x ZG4730/66
Vala	HE-270/115	1980	1989	Moisson x Mironovskaja 808
(pouze export ¹⁰)				
Butin	BU-17	1988	1993	Siete Cerros x Kavkaz
Jarní odrůdy ⁹				
Famos	SRN	1980	1983	(Weihenstephaner Zuchtstamm x Opal) x Solo
Rena	UH-205	1978	1987	Nadadores 63 x Kolibri
Sylva	HE-406	1992	1982	Praga x Siete Cerros
Turbo	SRN	1982	1986	(MPA x Erli) x WW511/51 x ELS

BR = Branišovice; BU = Bučany; HE = Hrubčice; SL = Slapy u Tábora; SO = Solary; ST = Stupice; ST-VŮŘ = Stupice + VŮŘ Semčice; UH = Uhřetice

¹ name of variety, ² denotation in the state variety trial, ³ year, ⁴ certification, ⁵ deletion, ⁶ origin, ⁷ combination of parents, ⁸ winter varieties, ⁹ spring varieties, ¹⁰ only for export



1. Elektroforeogramy gliadinů hodnocených odrůd pšenice obecné – Electrophoreograms of gliadins of assessed wheat varieties

K elektroforetickým analýzám bylo použito ramšových vzorků osiva poskytnutých SKZÚZ – odborem osiv a sadby. Ke stanovení elektroforetické skladby gliadinů bylo elektroforetické analyzováno z každého ramšového vzorku jednotlivě po 50 zrnech. Elektroforetická skladba podjednotek gluteninů s VMH byla zjišťována hodnocením po pěti náhodně odebraných semenech z každého ramšového vzorku.

Elektroforetická spektra gliadinů byla stanovena modifikovaným způsobem vertikální elektroforézy ve sloupcích škrobového gelu v Al-laktátovém pufru při pH 3,1 se 2 mol močoviny na 1 l (Šašek, Sýkora, 1989). Alelické gliadinové bloky byly vyčleněny z elektroforetických spekter gliadinů podle publikované metody (Sobko, Popelija, 1986).

Elektroforetická spektra gluteninů s VMH byla stanovena modifikovaným postupem vertikální diskontinuální elektroforézy v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsírany sodného (Laemmli, 1970). Alelické bloky zón či jednotlivé alelické zóny podjednotek gluteninů s VMH byly zjišťovány podle publikovaného katalogu (Payne et al., 1981).

Zjištěné bílkovinné linie jsou označeny písmeny velké abecedy (gliadinové linie), resp. písmeny malé abecedy (gluteninové linie). Charakteristiky vyčleněných alelických bloků zón či alelických zón (a) gliadinů a (b) podjednotek gluteninů s VMH jsou uvedeny v tab. II.

K posouzení genetické determinace pekařské jakosti restringovaných odrůd byly použity publikované bodové hodnoty predikce pekařské jakosti jednotlivých gliadinových a gluteninových alelických bloků – markerů pekařské jakosti (Payne et al., 1987, 1988; Lukow et al., 1989; Černý et al., 1992; Hammer et al., 1992).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Polymorfismus v elektroforetické skladbě gliadinů a gluteninů s VMH

Vzhledem k dlouhodobému udržovacímu šlechtění hodnocených odrůd lze předpokládat maximální stupeň

II. Elektroforetická spektra gliadinů a podjednotek gluteninů s VMH hodnocených restringovaných odrůd pšenice obecné, vyjádřená v podobě souborů alelických bloků zón či alelických zón – Electrophoretic spectra of gliadins and subunits of glutenins of HMW of assessed deleted wheat varieties, expressed in the form of sets of allelic blocks of zones or allelic zones

Název odrůdy ¹	GLD linie ²	GLD alely na chromozomu ³							GLU linie	GLU alely na chromozomu			Třída pekařské jakosti ⁴
Ozimé odrůdy ⁵													
Amika	A	3	0	1	5	1	1	2/2	a	1	7 + 9	5 + 10	9
	B	3	0	3	5	1	1	2/2	a	1	7 + 9	5 + 10	5
Baranjka	A	4	3	4	3	2	1	1/6	a	1	6 + 8	2 + 12	7
	B	4	3	4	3	2	1	2/4	a	1	6 + 8	2 + 12	7
Branka	A	2	0	3	5	3	1	1/6	a	0	7 + 9	2 + 12	5
Grana	A	9	2	4	2	2	1	1/1	a	0	7 + 8	2 + 12	5
	B	2	0	4	2	2	1	1/1	a	0	7 + 8	2 + 12	6
Hela	A	2	0	1	5	2	1	N1	a	0	7 + 9	2 + 12	7
	B	2	0	4	5	2	1	N1	a	0	7 + 9	2 + 12	7
Pljičovka	A	3	3	1	1	1	1	2/2	a	1	7 + 9	5 + 10	8,5
Istra	A	(5)	3	3	1	1	1	1/6	a	1	7	5 + 10	5
Jubilejná	A	4	1	1	5	3	1	2/2	a	2 ^x	7	5 + 10	9
	B	12	1	1	5	3	1	2/2	a	2 ^x	7	5 + 10	9
Juna	A	16	1	1	1	1	1	1/1	a	0	7	5 + 10	7
Kormoran	A	2	0	1	1	N1	1	2/4	a	0	7	5 + 10	8
	B	2	0	1	1	2	1	2/4	a	0	7	5 + 10	8
Mara	A	2	1	4	1	2	1	N1	a	2 ^x	7 + 9	5 + 10	7,5
	B	2	3	4	1	2	1	N1	a	2 ^x	7 + 9	5 + 10	7,5
Mirela	A	3	3	4	N1	2	1	2/2	a	1	6 + 8	2 + 12	3
	B	3	3	4	N1	3	1	2/2	a	1	6 + 8	2 + 12	4
Mironovská 808	A	3	(3)	1	5	3	1	2/4	a	1	7 + 9	5 + 10	9
Mironovská zlepšená	A	3	3	1	5	3	1	2/2	b	2 ^x	7 + 9	5 + 10	9
	B	3	3	1	1	1	1	2/2	a	1	7 + 9	5 + 10	8
	C	3	3	1	1	3	1	2/2	a	1	7 + 9	5 + 10	9
	D	3	3	1	5	1	1	2/2	a	1	7 + 9	5 + 10	8
Odra	A	3	0	1	5	2	1	2/2	a	1	7	5 + 10	7
	B	10	0	1	5	2	1	2/2	a	1	7	5 + 10	7
Roxana	A	10	1	3	2	3	1	1/5	a	0	7 + 9	5 + 10	3
Sabina	A	9	1	3	1	N1	1	1/1	a	0	6 + 8	2 + 12	3
	B	2	1	3	1	N1	1	1/1	a	0	6 + 8	2 + 12	3
Slavia	A	2	0	4	1	2	1	N1	a	0	7 + 8	2 + 12	5
Solaris	A	4	3	3	2	1	1	2/3	a	1	7 + 9	5 + 10	5
	B	4	3	3	2	1	1	1/1	a	1	7 + 9	5 + 10	5
Super Zlatna	A	4	(3)	4	3	2	1	1/6	a	1	6 + 8	2 + 12	6
	B	4	(3)	4	3	2	1	2/2	a	1	6 + 8	2 + 12	7
	C	2	0	1	7	2	1	2/4	b	0	7 + 9	2 + 12	7
Vaľa	A	2	0	1	5	2	1	2/2	a	0	7	2 + 12	5
(pouze export ⁷)													
Butin	A	4	0	3	2	1	1	1/6	a	0	7 + 8	2 + 12	4
Jarní odrůdy ⁶													
Famos	A	3	2 + 3	4	N	2	1	1/6	a	1	7 + 9	5 + 10	5
Rena	A	(5)	2	1	5	2	1	1/6	a	1	7 + 9	2 + 12	5
Sylva	A	10	3	4	1	3	1	1/5	a	0	17 + 18	2 + 12	3
	B	10	3	4	1	1	1	1/5	a	0	17 + 18	2 + 12	3
Turbo	A	5	2	4	7	2	1	1/6	a	1	7 + 9	5 + 10	7

N – dosud nekatalogizovaný GLD alelický blok – so far not-catalogized GLD allelic block

/ – rodina GLD alelických bloků / alela v rámci rodiny – GLD family of allelic blocks / allele within family

() – modifikovaný alelický blok – modified allelic block

+ – současný výskyt různých alelických bloků – current incidence of various allelic blocks

¹name of variety, ²GLD lines, ³GLD on allele on chromosome, ⁴baking quality grade, ⁵winter varieties, ⁶spring varieties, ⁷only for export

III. Charakteristiky vyčleněných alelických bloků zón či jednotlivých zón gliadinů a gluteninů s VMH – Characteristics of separated allelic blocks of zones or individual zones of gliadins and glutenins of HMW

Alelický blok ¹		Počet zón, jejich REM a stupeň zbarvení ⁴ ()
Chromozom ²	alela ³	
GLD 1-1A	2	27,0 (3)–30,0 (1)–33,0 (3)–36,5 (3)–39,5 (1)–60,5 (3)
	3	27,0 (3)–28,5 (1)–31,5 (2)–57,0 (4)
	4	59,5 (4)–76,0 (1)
	5	55,5 (2)–58,0 (2)
	9	57,0 (4)–77,5 (3)
	10	56,5 (4)
	12	27,0 (3)–28,5 (1)–31,5 (2)–59,5 (4)
2-1A	16	17,5 (2)–23,0 (4)–61,0 (5)
	0	–
	1	33,0 (4)
	2	31,5 (4)
	3	36,0 (4)
1B	2 + 3	31,5 (4)–36,0 (4)
	1	36,0 (4)–54,0 (5)–76,5 (2)–79,5 (1)
1B	3	30,5 (1)–34,5 (5)–37,5 (3)–42,0 (5)–45,0 (1)–48,5 (3)–62,5 (3)–66,0 (3)
	4	33,5 (3)–44,0 (2)–54,0 (5)–76,0 (1)
	1	13,5 (2)–17,5 (4)–21,0 (3)–55,0 (5)–61,5 (2)
1D	2	17,5 (4)–21,0 (4)–55,0 (5)–61,5 (2)
	3	17,5 (5)–21,0 (4)–26,5 (1)–38,0 (1)–55,0 (5)–61,5 (3)
	5	12,5 (3)–16,5 (3)–19,0 (3)–23,5 (3)–26,5 (1)–38,0 (1)–55,0 (5)–61,5 (2)
	7	12,5 (3)–16,5 (3)–19,0 (3)–23,5 (3)–55,0 (5)–61,5 (2)
	N	13,5 (2)–17,5 (4)–21,0 (3)–55,0 (5)–62,5 (5)
	1	76,5 (1)–81,5 (2)–85,0 (2)–88,5 (2)
6A	2	81,5 (2)–85,0 (5)–88,5 (2)
	3	76,5 (2)–81,5 (1)–87,0 (3)–91,0 (4)–96,0 (3)
	N1	76,5 (1)–86,0 (3)–91,0 (4)–96,0 (3)
6B	1	56,5 (1)–69,0 (5)–70,5 (2)–73,5 (3)
6D	1/1	63,5 (3)–68,0 (4)–74,0 (4)–82,0 (3)–85,0 (2)–87,5 (4)
	1/5	64,0 (3)–68,0 (4)–72,5 (4)–82,0 (3)–85,0 (2)–87,5 (4)
	1/6	63,5 (3)–68,0 (4)–73,0 (4)–82,0 (3)–85,0 (2)–87,5 (4)
	2/2	63,5 (3)–68,0 (4)–74,0 (4)–82,0 (2)–85,0 (2)–90,5 (3)
	2/3	64,5 (3)–68,0 (4)–74,0 (4)–82,0 (3)–85,0 (2)–90,5 (3)
	2/4	63,5 (3)–68,0 (4)–72,5 (4)–82,0 (3)–85,0 (2)–90,5 (3)
GLU 1A	1	75,0 (4)
	2 ^x	85,5 (3)
1B	7	100,0 (5)
	7 + 8	100,0 (5)–113,0 (3)
	7 + 9	100,0 (5)–116,0 (2)
	6 + 8	95,0 (3)–113,0 (3)
1D	2 + 12	85,0 (4)–124,0 (4)
	5 + 10	88,0 (5)–120,0 (4)

¹allelic block, ²chromosome, ³allele, ⁴number of zones, their REM and shade of coloration

homozygotnosti. Pokud jejich celkovou homozygotnost posuzujeme pomocí signálních gliadinových a gluteninových genů, je zmíněný předpoklad potvrzen.

Z celkového počtu 21 odrůd, hodnocených podle elektroforetické skladby gliadinů a gluteninů s VMH, nevykázala žádná odrůda heterozygotnost kteréhokoliv sledovaného gliadinového či gluteninového genu.

Zmíněné starší odrůdy pšenice představují buď zá-
měrně, nebo nezáměrně zkonstruované populace, slož-
né obvykle ze sesterských linií. Zmíněnou skutečnost
potvrzuje zjištěný gliadinový a gluteninový polymor-
fismus hodnocených odrůd. Z 21 odrůd analyzovaných
paralelně ve skladbě obou bílkovinných markerů se
11 odrůd skládá ze dvou gliadinových linií, jedna od-

IV. Markerovací, bodové hodnoty predikce pekařské jakosti jednotlivých alelických bloků zón gliadinového spektra a spektra gluteninů s VMH – Markering, point values of prediction of baking quality of individual allelic blocks of zones of gliadin spectra and glutenin spectra of HMW

Alelické bloky ¹	Gen ²	Alela ³	Bodová hodnota ⁴
GLD	1-1A	2	3,5
		3	2,0
		4	4,0
		5	3,0
		9	3,0
		10	2,0
		12	2,0
	2-1A	0	0,0
		1	0,0
		2	0,0
		3	0,0
		2 + 3	0,0
	1B	1	8,0
		3	0,0
		4	5,5
	1D	1	2,0
		2	1,0
		3	1,0
		5	2,5
		7	2,0
		N	0,0
		6A	1
	2		2,0
	3		3,5
	N1		3,0
	6B	1	1,5
		1/1	1,5
	6D	1/5	1,0
1/6		1,0	
2/2		3,0	
2/3		2,5	
2/4		2,5	
GLU		1A	1
	2*		3,0
	1B	7	1,0
		7 + 8	3,0
		7 + 9	2,0
		6 + 8	1,0
	1D	2 + 12	2,0
		5 + 10	4,0

¹allelic blocks, ²gene, ³allele, ⁴point value

růda (Super Zlatna) ze tří gliadinových linií a další odrůda (Mironovská zlepšená) dokonce ze čtyř gliadinových linií. Relativní četnost gliadinově heterogenních odrůd je poměrně vysoká (62 %).

Odrůdy s maximální gliadinovou heterogenitou, tj. Super Zlatna a Mironovská zlepšená, jsou současně heterogenní i ve skladbě gluteninů s VMH, resp. skládají se ze dvou gluteninových linií.

Znalost bílkovinného polymorfismu hodnocených restringovaných odrůd je důležité pro jejich využití jako genových zdrojů, resp. rodičovských forem v hybridizačních programech. Sesterské linie se totiž mohou lišit v markerovaných agronomicky významných vlastnostech. Např. gliadinová linie A odrůdy Amika má blok GLD 1B1, tj. marker vysoké pekařské jakosti, zatímco linie B této odrůdy nese alelický blok GLD 1B3, tj. marker špatné pekařské jakosti, avšak současně i marker odolnosti ke rzi travní.

Podobně u odrůdy Mironovská zlepšená se projevují rozdíly mezi komponentami v mrazuvzdornosti. Gliadinová linie A této odrůdy je vybavena geny mrazuvzdornosti, markerovanými alelickými gliadinovými bloky GLD 1D5 a GLD 6A3. Linie B však zmíněné markery mrazuvzdornosti postrádá.

Rovněž v semenářské kontrole a v kontrole odrůdové pravosti a čistoty merkantilních dávek je pro identifikaci, resp. verifikaci restringovaných odrůd nutná znalost jejich bílkovinného polymorfismu, resp. relativního zastoupení jednotlivých bílkovinných linií v odrůdě.

Markerování pekařské jakosti

Pekařská jakost hodnocených restringovaných odrůd pšenice je vyjádřena v tab. II třídou pekařské jakosti. K předpovědi kladné transgrese v pekařské jakosti při použití restringovaných odrůd jako rodičovských forem je však nezbytná znalost genetické determinace pekařské jakosti zmíněných odrůd. Tab. IV uvádí bodové hodnoty jednotlivých alelických gliadinových a gluteninových bloků – markerů pekařské jakosti. Vzhledem ke známým aditivním a inhibičním účinkům gliadinových a gluteninových signálních genů (Š a š e k et al., 1986, 1989a, b) je možné vybrat pro křížení odrůdy, resp. linie s navzájem se doplňujícími, odlišnými gliadinovými a gluteninovými geny lepší pekařské jakosti a dosáhnout tak kladné transgrese v této vlastnosti v hybridních liniích (Č e r n ý et al., 1991).

Jako zdroje vyšší pekařské jakosti lze vyčlenit z hodnoceného souboru restringovaných odrůd odrůdy či linie vybavené bloky GLD 1B1 a GLU 1A1 či GLU 1A2* a GLU 1B7+8 či GLU 1B7+9 a GLU 1D5+10.

Markerování mrazuvzdornosti

Signální geny Gld 1D5 a Gld 6A3 markerují přítomnost aditivně působících genů mrazuvzdornosti, lokalizovaných v chromozomech 1D a 6A. Gliadinové alelické bloky GLD 1A1, GLD 1A2 a GLD 6D2 představují vedlejší markery mrazuvzdornosti, značující přítomnost méně účinných genů mrazuvzdornosti, nacházejí-

cích se v chromozomech 1A a 6D (Šašek et al., 1984; Černý et al., 1990).

Genetický zdroj mrazuvzdornosti představují odrůdy Branka, Jubilejní, Mironovská 808 a Mironovská zlepšená – linie A, s oběma hlavními markery mrazuvzdornosti, tj. bloky GLD 1D5 a GLD 6A3.

Jako dárce genů mrazuvzdornosti lze uvažovat i jarní pšenici Rena, obsahující v gliadinovém spektru hlavní marker mrazuvzdornosti – blok GLD 1D5 či odrůdu Sylva s druhým hlavním markerem mrazuvzdornosti – blokem GLD 6A3.

Markerování odolnosti ke rzi travní

Sekalinový blok GLD 1B3, tj. marker špatné pekařské jakosti, avšak současně marker odolnosti ke rzi travní (Sozinov, 1985; Šašek et al., 1982), byl zjištěn v gliadinovém spektru odrůd Amika – linie B, Branka, Istra, Roxana, Sabina, Solaris a Butin.

LITERATURA

ČERNÝ, J. – PRÁŠIL, I. – ŠAŠEK, A.: Values of gliadin markers of frost hardiness in common wheat: correlation with frost hardiness tests. *Genet. a šlecht.*, 26, 1990: 83–89.

ČERNÝ, J. – ŠAŠEK, A. – MALÝ, J.: Ověření metody bílkovinných markerů pekařské jakosti pšenice obecné pomocí nových genotypů zkoušených ve státních odrůdových zkouškách v roce 1991. *Genet. a šlecht.*, 28, 1992: 271–283.

ČERNÝ, J. – ŠAŠEK, A. – SÝKOROVÁ, S.: Study of recombination transgression variability of gliadin genes in common wheat. *Scientia Agric. bohemoslov.*, 23, 1991: 107–118.

HAMMER, R. J. – WEEGELS, P. L. – MAESEILLE, J. P.: Prediction of the breadmaking quality of wheat: The use of HMW use glutenin A subunit – based quality scoring systems. *J. Cereal Sci.*, 15, 1992: 91–102.

LAEMMLI, V. K.: Cleavage of structural proteins during assembly of the heat bacteriophage T4. *Nature*, 227, 1970: 680–685.

LUKOW, O. M. – PAYNE, P. I. – TKACHUK, R.: The HMW glutenin subunit composition of Canadian wheat cultivars and their association with bread-making quality. *J. Sci. Fd Agric.*, 1989: 451–460.

PAYNE, P. I. – HOLT, L. M. – KRATIMER, G. F. – CARRILLO, J. M.: Relationship between quality characteristics and HMW glutenin subunit composition determined using wheats grown in Spain. *J. Cereal Sci.*, 7, 1988: 224–235.

PAYNE, P. I. – HOLT, L. M. – LAW, C. M.: Structural and genetical studies of the HMW subunits of wheat glutenin. I. Allelic variation in subunits varieties of wheat (*T. aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.*, 60, 1981: 229–236.

PAYNE, P. I. – NIGHTINGALE, M. A. – KRATIGER, A. F. – HOLT, T. M.: The relationship HMW glutenin subunit composition and the bread-making quality of British-grown wheat varieties. *J. Sci. Fd Agric.*, 40, 1987: 51–65.

SOBKO, T. – POPERELJA, F. A.: Častota z jakuju zustričasjustja aleli gliadinkodirujučich lokusiv u sortiv mjakoi ozimoi pšenici. *Vins. sef.-gosid. Nauki*, 5, 1986: 84–87.

SOZINOV, A. A.: Polemorfizm belkov i jeho značenie v genetike selekcii. Moskva, Nauka 1985.

ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – HANIŠOVÁ, A.: Využití gliadinových signálních genů ve šlechtění pšenice. *Genet. a šlecht.*, 18, 1982: 241–256.

ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – HANIŠOVÁ, A.: Gliadinové bloky – markery mrazuvzdornosti u pšenice obecné. *Genet. a šlecht.*, 20, 1984: 199–206.

ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – SÝKOROVÁ, S.: An innovated catalogue of gliadin markers of Czechoslovak common wheat varieties. *Scientia Agric. bohemoslov.*, 21, 1989a: 257–266.

ŠAŠEK, A. – ČERNÝ, J. – SÝKOROVÁ, S. – KUBÁNEK, J.: Construction of wheat genotypes with higher baking quality by electrophoresis of gliadins and HMW subunits of glutenins. *Scientia Agric. bohemoslov.*, 21, 1989b: 171–176.

ŠAŠEK, A. – KUBÁNEK, J. – ČERNÝ, J. – MALÝ, J. – PLOCEK, J.: Parallel effects of gliadin and glutenin markers during evaluation of baking quality in common wheat. *Scientia Agric. bohemoslov.*, 2, 1986: 87–95.

ŠAŠEK, A. – SÝKOROVÁ, S.: Standardization of vertical electrophoresis in starch gel columns and characterization of gliadin allelic blocks. *Scientia Agric. bohemoslov.*, 21, 1989: 99–108.

Došlo 31. 8. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Antonín Šašek, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/36 08 51, fax: 02/36 52 28

Za doc. ing. dr. Bohumírem Novákem, DrSc.

Dne 1. února 1995 nás navždy opustil doc. ing. dr. Bohumír Novák, DrSc. Zanechal po sobě zarmoucené příbuzné a spolupracovníky z VÚRV Praha-Ruzyně, ale také nesmazatelnou stopu své celoživotní vědecké práce.

Doc. ing. dr. Bohumír Novák, DrSc., se narodil 7. listopadu 1924. Svou dráhu vědeckého pracovníka začal v Laktologickém ústavu v roce 1947, kde získal první doktorát technických věd na základě práce o bakteriofázích streptokoků mléčného kvašení. Od roku 1951 věnoval v oddělení mikrobiologie VÚRV Praha-Ruzyně velké úsilí studiu fyziologie a ekologie azotobaktera a dalších fixátorů vzdušného dusíku a posléze řešil úkoly a otázky spojené s ošetřováním organických hnojiv za pomoci jím vyvinutých mikrobiologicko-biochemických metod. Studium přeměny organických látek v půdě přivedlo doc. ing. dr. Bohumíra Nováka, DrSc., k jeho největšímu úspěchu, a sice k formulaci teorie humifikačních procesů, založené na objevení souvztažnosti mezi látkovým a energetickým metabolismem půdní mikroflóry. Jeho vědecké přístupy a nové metody překročily rámec pracoviště VÚRV Praha-Ruzyně a staly se součástí mezinárodní vědní disciplíny.

Kromě vlastní vědecké práce se doc. ing. dr. Bohumír Novák, DrSc., věnoval také rozsáhlé spolupráci

s mezinárodními organizacemi, jako je např. FAO, Animal Waste Utilization, WHO, IIASA a další. Byl jedním ze zakladatelů dlouhé tradice konání mezinárodních symposií Humus et Planta a dále i jejich organizátorem. Zmíněná symposia umožňovala setkání našich pracovníků s odborníky z celého světa v podmínkách, kdy výměna zkušeností našich vědeckých pracovníků se zahraničními byla silně omezena.

Bohatá vědecká i odborná publikační aktivita doc. ing. dr. Bohumíra Nováka, DrSc., jeho přednášková činnost i působení v odborných komisích byly přínosem v oblasti výživy rostlin, hygieny půdy, biotechnologií a v dalších oborech. Jeho rozhled a znalost cizích jazyků byly určujícími faktory pro jeho jmenování zástupcem šéfredaktora renomovaného vědeckého časopisu Zentralblatt für Mikrobiologie se sídlem v Jeně.

Uznání zasluhuje však nejen přínos doc. ing. dr. Bohumíra Nováka, DrSc., pro naši zemědělskou vědu. Jeho nejbližší spolupracovníci vždy oceňovali vzájemné pracovní vztahy i jeho ochotu kdykoli pomoci. Výsledky práce doc. ing. dr. Bohumíra Nováka, DrSc., jsou samy o sobě svědectvím, jak mnoho s jeho odchodem ztrácíme.

Ing. Roman Apfelthaler, CSc.

VARIABILITA A VZTAHY MEZI BARVITELNOSTÍ PYLU A SEMENÁŘSKÝMI CHARAKTERISTIKAMI HYBRIDŮ *LOLIUM MULTIFLORUM* LAM. x *FESTUCA ARUNDINACEA* SCHREB. V GENERACI F₃

VARIABILITY AND RELATIONSHIPS BETWEEN STAINING ABILITY OF POLLEN AND SEED-BREEDING CHARACTERISTICS OF HYBRIDS *LOLIUM MULTIFLORUM* LAM. x *FESTUCA ARUNDINACEA* SCHREB. IN F₃ GENERATION

A. Drozdová, J. Janeček

Research Institute of Fodder Crops, Troubsko, Research Station of Grass Crops, Rožnov,
Zubří, Czech Republic

ABSTRACT: In a set of hybrid plants of F₃ generation from five combinations of crossing of Italian rye-grass (*Lolium multiflorum* Lam.) and tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) and cultivation of hybrid embryos in *in vitro* conditions the following indicators were assessed: staining ability of pollen grains, number of inflorescences per plant, germinating capacity of caryopses, weight of 1,000 caryopses weight, number of germinative caryopses per inflorescence and weight of germinative caryopses per plant. Staining ability of pollen was determined as indirect fertility via acetocarmine method. The results were assessed by the method of multivariate selection of genotypes (Tab. I) and tightness of relationships expressed by variation coefficients (Tab. II). It follows from Tab. I that individuals of high fertility (staining ability) of pollen and simultaneously high weight of germinative caryopses per plant were rather exceptional. In four hybrid plants only the weight of caryopses exceeded 50% of value of an ideal individual. Within the set an average staining ability of pollen was 76.2%, germinating capacity of caryopses ranged from 4.3% (420/3 in plant) to 97% (417/2), weight of 1,000 caryopses from 1.56 g to 4.15 g and number of germinative caryopses per inflorescence amounted to 0.3% up to 27.8%. It follows from a free relationship between staining ability of pollen and number of germinative caryopses per inflorescence and weight of germinative caryopses per plant ($r = 0.14$ and 0.21) that staining ability of pollen is a little suitable indicator of prediction of seed formation in hybrids *Lolium multiflorum* x *Festuca arundinacea*. Based on the highly positive correlation found out between pollen fertility and germinating capacity of caryopses ($r = 0.46^{xx}$) it can be presupposed that in hybrid plants of high degree of staining ability of pollen grains, caryopses of high germinating capacity will be produced. A weak dependence between staining ability of pollen grains and caryopsis formation was confirmed in investigated hybrids as reported by Kaiser (1988) and other authors in hybrids *Lolium multiflorum* x *Festuca pratensis*. A wide range of variability recorded almost in all studied traits allows further selection.

hybrids of *Festulolium*; staining ability of pollen; germinating capacity of caryopses; weight of 1,000 caryopses

ABSTRAKT: U hybridních rostlin F₃ generace pocházejících z pěti kombinací křížení jílku mnohokvětého (*Lolium multiflorum* Lam.) a kostřavy rákosovité (*Festuca arundinacea* Schreb.) byly hodnoceny vztahy mezi barvitelností pylových zrn a několika znaky semenářské produktivity. Jedinci s vysokou fertilitou (barvitelností) pylu a zároveň s vysokou hmotností klíčivých obilek na rostlinu se vyskytovali jen zřídka. Barvitelnost pylových zrn byla v průkazné, pozitivní korelaci s klíčivostí zralých obilek a počtem květenství na rostlinu a v negativní, avšak neprůkazné korelaci s hmotností 1 000 obilek. U zkoumaných hybridů se potvrdila slabá závislost mezi barvitelností pylových zrn a nasazením obilek. Široký rozsah variability zaznamenaný téměř u všech sledovaných znaků umožňuje další selekci.

hybridy *Festulolium*; barvitelnost pylu; klíčivost obilek; hmotnost 1 000 obilek

ÚVOD

Jedním z nejzávažnějších úskalí, které musí šlechtitel překonat při využití produktů mezirodové hybridizace,

je nízká fertilita. U hybridů *Lolium* x *Festuca* se touto otázkou zabývala řada autorů. Výsledky podrobnějších analýz fertility u hybridů *Lolium multiflorum* x *Festuca pratensis* uvádějí Werner (1983a, b)

a Wacker, Netzband (1980), u hybridů *Lolium multiflorum* x *Festuca arundinacea* Fojtík, Světlík (1979) a Zwierzykowski (1980). Hybridní formy různých druhů rodu *Lolium* x *Festuca pratensis* hodnotili z hlediska fertility a nasazení semen Netzband, Wacker (1977), Matzk, Seyfert (1981), Cremades, Bean (1975) a další. Shrnutí této problematiky u mezirodových a mezidruhových hybridů travních druhů uvádí Janeček (1984).

Cílem naší studie bylo ověření vztahů mezi barvitelností pylových zrn a užitnou hodnotou nasazených obilek i dalšími semenářskými znaky u vybraných perspektivních jedinců F_3 generace mezirodových hybridů *Lolium multiflorum* x *Festuca arundinacea*.

MATERIÁL A METODA

Objektem studia byly rostliny vybrané z potomstev F_3 generace hybridů jílku mnohokvětého (*Lolium multiflorum* Lam.) a kostřavy rákosovité (*Festuca arundinacea* Schreb.), které byly vytvořeny na Výzkumné stanici v Zubří metodou dopěstování hybridních embryí v podmínkách *in vitro*. Výběrová školka byla založena v roce 1991 formou individuální výsadby a sběr pylu byl proveden v prvním užitkovém roce. Rostliny pocházely z křížení těchto komponentů:

Mateřskou komponentou pro všechny varianty byl *Lolium multiflorum* (Lm):

- var. 417 – Lm, var. *italicum*, cv. Lolita (CS), $4n = 28$
- var. 420 – Lm, var. *italicum*, cv. Hitachiaoba (J), $4n = 28$
- var. 408 – Lm, var. *italicum*, cv. Adret (F), $2n = 14$
- var. 406 – Lm, var. *italicum*, cv. Romul (CS), $2n = 14$
- var. 419 – Lm, var. *westerw.*, cv. Merwester (B), $2n = 14$

Otcovskou komponentou byla *Festuca arundinacea* (Fa), $2n = 42$:

- var. 417, 408, 406, 420 – Fa, cv. Lekora (CS) a Brudzyńska (PL)
- var. 419 – Fa, cv. Lekora (CS) a Hokuryo (J)

[() stát původu, tj. CS = Československo, PL = Polsko, F = Francie, J = Japonsko, B = Belgie].

Předmětem hodnocení bylo šest ukazatelů: barvitelnost pylových zrn, počet květenství na rostlinu, klíčivost obilek, hmotnost 1 000 obilek, počet klíčivých obilek na květenství, hmotnost klíčivých obilek na rostlinu.

Barvitelnost pylu byla určována jako nepřímá fertilita acetokarmínovou barvicí metodou. U každé rostliny bylo prohlíženo nejméně 500 pylových zrn. Za fertilitu byla považována zrna úplně vybarvená, kulatá; za sterilní pylová zrna průhledná, různě deformovaného tvaru. Počet květenství na rostlinu (doplňkový znak) byl určován prostým sečtením po sklizni. Klíčivost obilek byla stanovena na Jacobsenově klíčidle běžnou metodou, podobně jako hmotnost 1 000 obilek.

Údaj o počtu klíčivých obilek na květenství byl získán přepočtem z celkové hmotnosti obilek na květenství, hodnot klíčivosti a hmotnosti 1 000 obilek. Uka-

zatel hmotnost klíčivých obilek na rostlinu byl přepočten z celkové hmotnosti obilek získaných z jedné rostliny v době zralosti a hodnot klíčivosti.

Ke zhodnocení výsledků bylo užito metody vícerozměrného výběru genotypů programu FTAB (1988). Variabilita jednotlivých znaků výběrového souboru i uvnitř hybridních kombinací byla vyjádřena variačními koeficienty (v. k.), těsnost vztahů mezi znaky udávají korelační koeficienty (R o d, 1966).

VÝSLEDKY

Výsledky hodnocení jednotlivých ukazatelů jsou uvedeny v tab. I a II. Z tab. I vyplývá, že hybridy s vysokou fertilitou pylu a zároveň vysokou hmotností klíčivých obilek na rostlinu byly spíše výjimkou. Pouze u prvních čtyř genotypů hmotnost obilek přesahovala 50 % hodnoty ideálního jedince.

Průměrná barvitelnost pylových zrn byla u sledovaného souboru F_3 hybridů (tab. II) 76,2 % a hodnota variačního koeficientu 18,3 %. Nejnížší průměrnou barvitelnost mělo potomstvo kombinace 408, avšak jednotlivé genotypy uvnitř kombinace měly velmi rozdílné hodnoty tohoto znaku, od 49,5 % u rostliny 408/16 do 98,1 % u rostliny 408/1. Nejvyšší průměrná barvitelnost pylových zrn (o 10,8 % vyšší než průměr souboru) byla zaznamenána u potomstva kombinace 419, které však bylo zastoupeno pouze třemi genotypy.

Variační rozpětí hodnot znaku počet květenství na rostlinu bylo velmi široké (od 79 do 625 kusů). Průměr souboru 300,7 byl téměř dvojnásobně vyšší oproti kontrolním odrůdám Bečva a Rožnovský. Vysoká variabilita (57 %) byla zaznamenána zejména u potomstva kombinace 417.

Klíčivost obilek v rámci souboru kolísala od 4,3 % (u rostliny 420/3) do 97,2 % (417/2), což je téměř požadovaná hodnota klíčivosti u kvalitního osiva povolených odrůd. Průměrná klíčivost hybridního souboru byla 68,6 %. Variační koeficient 80,2 % pro potomstva kombinace 420 vyjadřuje neobvykle rozdílnou úroveň tohoto znaku.

Hmotnost 1 000 obilek kolísala v souboru od 1,56 g do 4,15 g. Potomstvo kombinace 420 bylo charakteristické nejnížší průměrnou hodnotou znaku (2,06 g) i nejnížší variabilitou (11,7 %) ze všech sledovaných kombinací. Variační koeficienty pro ostatní kombinace i celý soubor dosahovaly zhruba 30 %. Podle očekávání, resp. na základě vysoké variability pozorované u znaku klíčivost byly zaznamenány i velmi variabilní hodnoty počtu klíčivých obilek na květenství. Uvnitř souboru kolísalo množství od 0,3 % (u rostliny 408/16) do 27,8 % (406/2). Průměrný počet klíčivých obilek za celý soubor (5,6) byl poměrně nízký. U tohoto znaku byla zjištěna nejvyšší variabilita ze všech sledovaných ukazatelů (100,7 %).

V pořadí druhá nejvyšší variabilita (82,2 %) byla zaznamenána u nejdůležitějšího semenářského znaku – hmotnost klíčivých obilek na rostlinu, která v rámci

I. Zhodnocení barvitelnosti pylu a znaků semenářské produktivnosti F₃ generace hybridů *Lm x Fa* metodou vícerozměrné analýzy – Evaluation of staining ability of pollen and traits of seed-breeding productiveness of F₃ generation of hybrids *Lm x Fa* via the method of multivariate analysis

Označení hybridních kombinací a genotypu ¹	Barvitelnost pylových zrn ² (%)	Počet květenství/ /rostlina ³	Klíčivost obilek ⁴ (%)	Hmotnost 1 000 obilek ⁵ (g)	Počet klíčivých obilek/květenství ⁶	Hmotnost klíčivých obilek/rostlina ⁷ (g)	Hodnota výběru ⁸
W	8	5	8	2	3	9	
I	100	400	100	3	20	15	9,00
406/1	92,3	331	83,0	2,83	13,3	12,5	7,54
408/7	77,6	220	85,5	3,77	15,5	12,8	6,48
406/2	82,0	178	93,0	2,26	27,8	11,2	6,30
419/3	78,9	290	81,0	3,68	7,6	8,1	5,85
408/2	81,7	422	78,5	3,44	4,3	6,3	5,58
417/3	76,8	259	87,7	3,71	7,3	7,0	5,51
408/4	80,9	452	84,8	2,00	6,6	5,9	5,50
408/6	81,0	237	75,8	1,73	14,7	6,0	5,31
408/5	81,1	284	76,3	4,01	5,3	6,0	5,29
408/1	98,1	545	77,0	1,56	5,4	4,6	5,15
406/3	82,3	222	79,3	4,15	6,0	5,5	5,10
419/2	84,1	421	91,0	3,65	2,4	3,7	4,98
417/1	92,5	414	95,7	1,64	2,8	1,9	4,59
420/1	91,3	452	67,3	1,79	3,3	2,7	4,58
408/3	81,4	241	65,5	3,81	4,3	3,9	4,58
420/2	87,0	625	90,0	2,25	1,5	2,1	4,23
417/2	90,3	211	97,2	2,24	2,0	1,0	4,11
406/4	73,1	172	54,3	3,42	6,5	3,8	4,01
408/11	61,0	272	60,8	3,04	5,1	4,3	3,92
408/10	67,2	237	58,0	3,02	4,9	3,5	3,91
408/9	70,9	241	67,2	3,35	2,5	2,0	3,81
419/1	98,6	419	52,3	1,78	0,7	0,5	3,79
408/15	50,4	303	79,5	3,94	4,7	5,6	3,74
408/8	75,1	128	89,5	3,02	2,3	0,9	3,55
417/5	72,5	500	35,8	1,94	2,2	2,2	3,44
408/13	51,5	168	62,0	3,57	8,3	5,0	3,35
417/4	75,8	79	50,0	2,28	2,8	0,5	2,94
408/12	54,1	190	77,7	1,53	2,7	0,8	2,73
420/3	76,3	202	4,3	2,13	0,4	0,2	2,19
408/14	50,1	298	22,7	2,08	0,7	0,5	1,91
408/16	49,5	308	4,5	2,16	0,3	0,2	1,43

W – váha znaku – weight of trait

I – hodnoty ideálního jedince – values of ideal individual

¹marking of hybrid combinations and genotype, ²staining ability of pollen grains, ³number of inflorescences/plant, ⁴germination of caryopses, ⁵weight of 1,000 caryopses, ⁶number of germinative caryopses/inflorescence, ⁷weight of germinative caryopses/plant, ⁸value of selection

souboru kolísala od 0,17 g do 12,45 g. Nejnižší průměrná hodnota tohoto ukazatele (1,8 g) u potomstva kombinace 420 byla ovlivněna nízkou hmotností 1 000 obilek.

Analýza vzájemných vztahů mezi znaky hybridního souboru ukázala, že barvitelnost pylových zrn byla v pozitivní, vysoce průkazné korelaci ($r = 0,46^{**}$) s klíčivostí zralých obilek a v pozitivní, průkazné korelaci ($r = 0,41^{*}$) s počtem květenství na rostlinu. Míra vztahu mezi barvitelností pylu a počtem klíčivých obilek na květenství i hmotností klíčivých obilek na rostlinu

měla sice kladnou, ale neprůkaznou hodnotu ($r = 0,14$; 0,21). V negativní, neprůkazné korelaci vůči barvitelnosti pylu byla hmotnost 1 000 obilek ($r = -0,18$). U jedinců s vyšším počtem květenství na rostlinu se zpravidla vytvářely obilky o menší hmotnosti ($r = -0,32^{*}$).

DISKUSE

Počet analyzovaných pylových zrn na rostlinu (539 až 2 754) lze považovat za dostačující, použitá metoda

	Označení ¹		Barvitelnost pylových zrn ² (%)	Počet květenství/rostlina ³	Klíčivost obilek ⁴ (%)	Hmotnost 1 000 obilek ⁵ (g)	Počet klíčivých obilek/ květenství ⁶	Hmotnost klíčivých obilek/rostlina ⁷ (g)
Hybridní soubor ⁸	(n = 31)	\bar{O}	76,2	300,7	68,6	2,8	5,6	4,2
		v. k.	18,3	42,8	35,6	31,3	100,7	82,2
Potomstva hybridních kombinací ⁹	417 (n = 5)	\bar{O}	81,7	292,6	74,7	2,4	3,4	2,4
		v. k.	11,1	57,0	38,1	33,9	63,9	109,4
	408 (n = 16)	\bar{O}	69,5	284,1	64,3	2,9	5,5	4,3
		v. k.	21,6	38,1	35,6	31,3	78,2	73,9
	406 (n = 4)	\bar{O}	82,4	225,7	78,7	3,2	13,4	8,2
		v. k.	9,5	32,6	18,7	25,6	75,9	51,3
	420 (n = 3)	\bar{O}	84,7	426,3	49,2	2,1	1,7	1,8
		v. k.	9,2	49,9	80,2	11,7	85,5	64,0
	419 (n = 3)	\bar{O}	87,2	376,7	74,2	3,0	3,6	4,1
		v. k.	11,7	19,9	24,3	35,9	101,1	93,2

¹marking, for 2–7 see Tab. I, ⁸hybrid set, ⁹progeny of hybrid combinations

barvení pylu acetokarmínem patří k nejběžněji používaným. Jak ukazují výsledky, barvitelnost pylu jako ukazatel nepřímé fertility byla u hybridů F_3 generace *Lolium multiflorum* x *Festuca arundinacea* poměrně vysoká (76,2 %). Vzhledem k tomu, že F_3 generace hybridů není ještě stabilizovanou generací, byla i variabilita tohoto znaku vysoká a je výrazem poruch vlastní meiózy a celé mikrosporogeneze.

Nízká klíčivost obilek u většiny zkoumaných hybridů nebyla pravděpodobně způsobena nedostatečně vyvinutým endospermem, jak uvádí Werner (1983a, b) u hybridů jílků mnohokvětého (*Lolium multiflorum* Lam.) a kostřavy luční (*Festuca pratensis* L.). Nasazené obilky byly u většiny rostlin plně vyvinuty s výjimkou 419/1 a 417/5, u nichž téměř polovina obilek vykazovala neúplnost vývoje endospermu, což mělo vliv na nízkou hmotnost 1 000 obilek a zřejmě i na klíčivost. Přitom u první z těchto dvou rostlin byla zaznamenána vysoká barvitelnost pylu (98 %). U genotypu 420/3 s fertilitou pylu 76 % a genotypu 408/16, u kterých se fertilita pylu pohybovala kolem 49 %, byla klíčivost obilek výrazně nižší (4,3 % a 4,5 %) než u ostatních genotypů. Mohlo to být způsobeno jak poruchami v megasporogenezi, tak inkompatibilitou. Rovněž nelze vyloučit u těchto genotypů aneuploidní počet chromozomů. Potvrzení této domněnky je však podmíněno cytologickými analýzami, které byly již u vybraných hybridních genotypů započaty.

U zkoumaných hybridů se potvrdila slabá závislost mezi barvitelností pylových zrn a nasazením obilek, kterou zaznamenal Kaiser (1988) u hybridů *Lolium multiflorum* x *Festuca pratensis*. Rovněž Netzbänd, Wacker (1977) a Gröber et al. (1977) uvádějí, že u jednotlivých rostlin neexistuje dostatečně úzká korelace mezi barvitelností pylu a nasazením obilek. Z toho vyplývá, že u hybridů *Festulolium* je bar-

vitelnost pylových zrn málo vhodný ukazatel predikce nasazení semen. Na základě zjištěné vysoce pozitivní korelace mezi fertilitou pylu a klíčivostí obilek lze předpokládat, že u hybridních rostlin s vysokým stupněm barvitelnosti pylových zrn se budou vytvářet obilky s vysokou klíčivostí. Široký rozsah variability zaznamenaný téměř pro všechny sledované znaky hybridního souboru, zejména pro počet klíčivých obilek na květenství a hmotnost klíčivých obilek na rostlinu, umožňuje další selekci. Případně významnější rozdíly mezi potomstvy jednotlivých kombinací, tj. vliv rodičovských komponent, by mohl být prokázán až analýzou početnějších skupin rostlin v rámci kombinace.

Poděkování

Autoři děkují za výbornou technickou spolupráci paní V. Konečné.

LITERATURA

- CREMADES, P. – BEAN, E. W.: Inflorescence development and seed production in *Lolium* ssp. x *Festuca pratensis* tetraploid hybrids. J. Agric. Sci. Camb., 85, 1975: 301–307.
- FOJTÍK, A. – SVĚTLÍK, V.: Meziodrůdová hybridizace *Lolium multiflorum* Lam. x *Festuca arundinacea* Schreb. Genet. a Šlecht., 2, 1979: 119–126.
- GRÖBER, K. – MATZK, F. – ZACHARIAS, M.: Hybriddefekt und Fertilität von Art- und Gattungsbastarden bei Futtergräsern in der F_1 -Generation. In: Sektionsvorträge 13. Int. Grassl. Congr. Leipzig, Sek. 1–2, 1977: 316–321.
- JANEČEK, J.: Uplatnění kultur *in vitro* při mezidruhové a meziodrůdové hybridizaci trav rodů *Festuca* a *Lolium*. [Kandidátská dizertace.] Praha, 1984. 133 s. – ÚEB ČSAV.

- KAISER, T.: Beziehungen morphologischer und cytologischer Merkmale zum Samenansatz bei *Festulolium braunii* A. Camus (*Festuca pratensis* Huds. x *Lolium multiflorum* Lam.). Arch.-Zücht. Forsch., 18, 1988 (3): 175–184.
- MATZK, F. – SEYFERT, U.: Untersuchungen zur züchterischen Nutzung verschiedener Art- und Gattungsbastarde von *Festuca* und *Lolium*. Arch. Zücht.-Forsch., 11, 1981 (1): 75–85.
- NETZBAND, K. – WACKER, G.: Ergebnisse von Art- und Gattungsbastardierungen von *Lolium* und *Festuca*. 13. Int. Grassl. Congr. Leipzig, 1977: 322–328.
- ROD, J.: Statistika. Základy biometriky. Praha, SNP 1966: 29–31.
- WACKER, G. – NETZBAND, K.: Verbesserung der Leistungseigenschaften des Welschen Weidelgrasses (*Lolium multiflorum* Lam.) durch Kreuzung mit Wiesenschwingel (*Festuca pratensis* Huds.). Arch. Zücht.-Forsch., 10, 1980: 307–313.
- WERNER, M.: Morphological characters, fertility and meiosis course in the intergeneric hybrid of *Lolium multiflorum* Lam. ($2n = 14$) x *Festuca pratensis* Huds. ($2n = 14$). Genet. Pol., 24, 1983a (2): 139–149.
- WERNER, M.: Induced allopolyploid derivatives of intergeneric *Lolium multiflorum* Lam. ($2n = 14$) x *Festuca pratensis* Huds. ($2n = 14$). I. Morphological features, fertility and somatic chromosome number of allopolyploid C_0 plants and their first C_1 generative generation. Genet. Pol., 24, 1983b (2): 151–162.
- ZWIERZYKOWSKI, Z.: Hybrid *Lolium multiflorum* Lam. ($2n = 14$) x *Festuca arundinacea* Schreb. ($2n = 42$) and its allopolyploid derivatives. I. Morphology, fertility and chromosome number of F_1 hybrids and C_0 and C_1 allopolyploid derivatives. Genet. Pol., 21, 1980 (3): 259–273.
- FTAB: The advanced spreadseed for the breeder and agronomist. Schwarzbach Plant Breeding Service, Austria, 1988.

Došlo 16. 5. 1994

Kontaktní adresa:

Ing. Anežka Drozdová, CSc., Výzkumný ústav pícninářský, Troubsko, Výzkumná stanice travinářská, Rožnov, 756 54 Zubří, Česká republika, tel.: 0651/58 31 95, fax: 0651/58 31 97

T I T U S



Výsledek stojí za to.

Klasické technologie ošetřování kukuřice proti plevelům před vzejtím jsou do značné míry závislé na počasí, a proto často nespolehlivé. **TITUS**, systémický herbicid určený k hubení dominantních plevelů v kukuřici, nabízí účinnější řešení - cílenou postemergentní aplikaci. Tím se stává ošetření proti plevelům ekonomicky výhodné a vysoce ekologické. **TITUS** spolehlivě hubí většinu vytrvalých a jednoletých trav i dvouděložných plevelů v kukuřici. Herbicidem **TITUS** lze rovněž ošetřovat brambory. Má krátké reziduální působení v půdě a je bezpečný pro člověka i ostatní živočichy. **TITUS** je výrobek, který Vám poskytne jistotu. Má všechny přednosti přípravků firmy DuPont.



HERBICIDNÍ ÚČINEK

Přípravek hubí většinu vytrvalých a jednoletých trav v kukuřici, především pýr plazivý, čirok halepský, ježatku kuří nohu, rosičky, prosa, béry a dvouděložné plevele - např. šťovíky, šachor, laskavce, svízel přítulu, heřmánkovité, ptačinec žabinec, hořčici rolní, pefour malolobrný, ředkev ohnič, výdrol řepky a slunečnice, mléč rolní. Méně citlivé jsou merlíky, rdesna a lílek černý.



® Reg. ochranná známka firmy
E. I. DuPont de Nemours and Co. (Inc.)

DuPont Conoco CS, spol. s r.o., 5. května 65, 140 09 Praha 4, tel.: 02/422 642, fax: 02/61 21 15 55, tlx: 121 834 dupo c
DuPont Conoco CS, spol. s r.o., Stěchovice 1320, 767 11 Kroměříž, tel.: 0634/201 48, fax: 0634/242 61
DuPont Conoco CS, spol. s r.o., Českoskalická 1836, 547 01 Náchod, tel.: 0441/20 748, fax: 0441/20617

TOXICITA HLINÍKU V ROSTLINÁCH

TOXICITY OF ALUMINIUM IN PLANTS

V. Horák, J. Dolejšková, A. Hejtmánková

Czech University of Agriculture, Praha, Czech Republic

ABSTRACT: The effect of high level of aluminium in cultural medium of plants gets a special importance regarding occurrence of acid rains. By their action increased levels of aluminium are released from soil complex and increased incorporation of this element into plants appears together with all consequences following from it. The study presented here gives a brief survey of publications concerning with the problems of toxicity of aluminium in plants. It is a selection of works solving the effect of various forms of aluminium on health condition of plants, uptake and distribution of nutrients and activity of some selected plant enzymes. With regard to a great number of publications devoted to the effect of aluminium on plants, all communications available in literature are not discussed herein. An attention was drawn only to some of principal works, perspective for further research.

soil; aluminium; toxicity; health condition of plants; nutrient uptake; plant enzymes

ABSTRAKT: Vliv vysokých hladin hliníku v živném prostředí rostlin nabývá zvláštního významu vzhledem k výskytu kyselých dešťů. Jejich působením dochází ke zvýšenému uvolňování hliníku z půdního komplexu a ke zvýšené inkorporaci tohoto prvku do rostlin se všemi z toho vyplývajícími důsledky. Předložená práce uvádí stručný přehled publikací, zabývajících se problematikou toxicity hliníku v rostlinách. Je výběrem prací řešících vliv různých forem hliníku na zdravotní stav rostlin, na příjem a distribuci živin a na aktivitu některých vybraných rostlinných enzymů. Vzhledem k velkému počtu publikací, věnovaných vlivu hliníku na rostliny, nejsou diskutována všechna v literatuře dostupná sdělení. Pozornost byla soustředěna jen na některé zásadní práce, perspektivní pro další výzkum.

půda; hliník; toxicita; zdravotní stav rostlin; příjem živin; rostlinné enzymy

ÚVOD

Hliník je jedním z nejrozšířenějších prvků na Zemi. Je součástí hornin a přirozenou součástí půd. Ve vyšších hladinách působí toxicky jak na živočichy, tak na rostliny (Valenta, 1989).

Půdy obsahují v průměru 8 % hliníku. Tento prvek se nachází v silikátech, anorganických oxidech, polymerních hydroxidech, nerozpuštěných fosfátech i vázaný komplexně v huminových sloučeninách.

V silně kyselých půdách (pH < 4,0) jsou převládající formou hliníku ionty $\{\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6\}^{3+}$. Při zvyšování pH klesá podíl těchto iontů a vzrůstá podíl hydroxohlinitých iontů, které se skládají z jednotlivých monomerních iontů obecného typu $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_{6-N}(\text{OH})_{N-3}^{3-N}$ a z polynukleárních typů různých rozměrů a stupňů bazicity, případně z jejich směsí. Při dostatečně vysokém pH se hliník sráží jako hydroxid $\text{Al}(\text{OH})_3$, při dalším zvyšování pH přechází na formu hlinitanového aniontu $\text{Al}(\text{OH})_4^-$.

Formy monomerních a polymerních hydroxohlinitých sloučenin v půdě jsou velice různorodé. U polymerních

hydroxohlinitých sloučenin jsou jimi jednoduché dimery se sdílenou OH-skupinou typu $\text{Al}_2(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{O})_8^{4+}$, případně vyšší polymery jako např. $\text{AlO}_4\text{Al}_{12}(\text{OH})_{24}(\text{H}_2\text{O})_{12}^{7+}$. Oba uvedené typy většinou koexistují včetně celé škály dalších intermediárních sloučenin (Bersillon et al., 1980).

Co se týká vlivu hliníku na rostliny, je stěžejní otázkou relativní fytotoxicita různých forem hliníku přítomných v bezprostředním okolí kořenového systému. Obecně se předpokládá, že hlavní toxickou formou je kation Al^{3+} (Hue et al., 1986). Blamey et al. (1983) poukázali na srovnatelný efekt iontů $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, což koresponduje s dřívějšími údaji (Kerridge, 1969). Citovaný autor připisoval inhibici kořenového růstu spíše hydrolytickým produktům hliníku než iontům Al^{3+} . Jak uvádějí Parker et al. (1988), lze očekávat ještě vyšší fytotoxicitu u vícejaderných hydroxohlinitých komplexů, jejichž přítomnost v půdě však neprokázali.

Také Alva et al. (1986) prokázali značnou fytotoxicitu iontů $\text{Al}(\text{OH})_2^+$, resp. $\text{Al}(\text{OH})_3^+$, se kterými jsou ionty Al^{3+} v půdním roztoku v rovnováze. Kinraide, Parker (1987) se věnovali toxicitě iontů AlSO_4^+ . Na základě svých experimentů došli k závěru, že příspěvek zmíněných iontů

k celkové fytotoxicitě hliníku je zanedbatelný. Toxicita polymerních hydroxohlinitých komplexů se obecně pokládá za nevýznamnou (Wagatsuma, Ezo, 1985).

Je zřejmé, že zvláště vzhledem k rovnováhám mezi jednotlivými typy sloučenin hliníku v půdním roztoku je nutné uvažovat o jejich toxicitě jako o komplexu toxických efektů s dominantním podílem iontů Al^{3+} a iontů hydroxohlinitých.

Symptomy toxicity hliníku

Symptomy toxicity hliníku v rostlinách nejsou vždy snadno identifikovatelné (Foy et al., 1978; Clark, 1982a, b; Foy, 1983). U některých rostlin jsou příznaky podobné těm, které se objevují při nedostatku fosforu, u jiných rostlin se podobají deficienci vápníku. Příznaky toxicity se projevují na celkovém habitu rostlin. Toxický efekt je nejprve pozorovatelný na kořenech. Dochází k redukci kořenového růstu, tloušťce kořenů a k odumírání kořenových špiček. Nově vzniklé kořeny jsou krátké, tuhé a křehké, často ztrácejí geotropismus, nemají schopnost absorbovat živiny a vodu. Proto rostliny rostoucí na půdách se zvýšeným obsahem hliníku a se silně kyselou reakcí podpovrchových vrstev často trpí suchem, způsobeným neschopností kořenů dosáhnout úrovně spodní vody. Hliník však může omezovat příjem vody i tehdy, když jsou kořeny vlhké. Negativní vliv hliníku na rostliny může být umocněn zvýšenou teplotou.

Příznaky toxicity hliníku se manifestují i výraznými změnami na nadzemních částech rostlin. Zpomalování vývoje rostliny bývá spojeno se vznikem malých a tmavě zelených listů, s fialověním listů a stonků, se žloutnutím a odumíráním pupenů a s opožděným zráním. Toxicita se může projevovat též kadeřením nebo svinováním mladých listů, rostoucích vrcholů nebo řapíků, nekrotizací, někdy i ztrátou apikální dominance (Foy, 1983; Lin, Myhre, 1991). Obecně platí, že mladší rostliny jsou mnohem vnímavější vůči toxicitě hliníku než rostliny starší.

Biochemické a fyziologické vlivy hliníku

Přijem hliníku rostlinou probíhá především v lepidé části kolem kořenových špiček a ve stěnách epidermálních a kořenových buněk. Část hliníku se dostává do protoplazmy, kde se váže především na nukleové kyseliny a ve formě fosfátů. Vazba tohoto prvku na fosfátové skupiny dvojitroubovice DNA negativně ovlivňuje průběh replikace při buněčném dělení (Matsumoto, 1980; Ryan et al., 1986). Hliník fixuje fosfor v půdě a na povrchu kořenů v málo dostupných formách snižuje respiraci kořenů. Interferuje s enzymy podílejícími se na fosforylaci cukru a na ukládání polysacharidů v buněčných stěnách, interferuje též s příjmem, transportem a využitím esenciálních prvků, jako je vápník, hořčík, draslík, fosfor a železo. Zhao, Suckoff (1987) uvádějí, že příjem vápníku (případně hořčíku) rostlinami souvisí se změnami architektury membránových lipidů vyvolaných hliníkovými ionty. Zvýšená hladina hliníku zvyšuje též rigiditu buněčné stěny díky zesílovaným pektinům (Foy, Fleming, 1978; Ulmer, 1979; Foy, 1983).

Bylo zjištěno, že vazba hliníku na negativních místech membránových fosfolipidů vede k výrazným změnám permeability membrán i jejich dalších fyzikálních vlastností (Deleers, 1985; Suhyda, Haug, 1986; Zhao, Suckoff, 1987). Rovněž interakce hliníku s membránovými proteiny, kterými mohou být jak enzymy, tak přenašeče, a také vazby hliníku s membránovými lipoproteiny jsou příčinami poškození membránových funkcí (Haug, Caldwell, 1985; Tsu, Brouillette, 1987).

McLean (1979) zjistil, že hliník zasahuje do distribuce ribozomů na endoplazmatické retikulum kořenových buněk ječmene, což může negativně působit na syntézu proteinů.

Zvýšení stability a snížení rozpustnosti některých proteinových frakcí pozorovali Schmandke et al. (1979) u rostlin bobu. Autoři vyslovili předpoklad, že hliník tvoří koordinační komplex s karboxylovými a thiolovými skupinami těchto bílkovin, což vede k jejich zestěnění.

Hliník má také vliv na příjem vody rostlinou. Tak např. Horton, Edwards (1976) zjistili, že zvýšení koncentrace hliníku v živných roztocích zvyšuje difúzní odpor v sazenicích hrachu. Kaufman, Gardner (1978) pozorovali, že vodní potenciál rostlin pšenice se zvětšoval, jestliže byl redukován růst kořenů vlivem kyselosti půdy. Autoři vyslovili domněnku, že tento fenomén je způsoben vzrůstem koncentrace hliníku dostupného rostlině.

Hliník a jeho vztah k iontům kovů

Intoxikace hliníkem bývá provázena změnami hladin některých monovalentních, především však bivalentních iontů. Nadbytek hliníku může redukovat nebo naopak zvyšovat příjem některých esenciálních prvků. Duncan (1981) zjistil, že snížení výnosů prosa na půdě s pH 4,4 (ve srovnání s pH 5,5) bylo spojeno s nižšími koncentracemi mědi, zinku, hořčíku a vápníku a s vyššími koncentracemi hliníku, železa, manganu a fosforu ve vrcholcích rostlin. Toxicita hliníku byla zčásti eliminována (Ali, 1973) zvýšením koncentrací vápníku, hořčíku, draslíku nebo sodíku buď individuálním přidavkem uvedených prvků v živných roztocích, nebo přidavkem komplexním. Pozitivní vliv zvýšených koncentrací těchto elementů působil pravděpodobně kompetitivně v interakci kořeny–hliník spíše než jako eliminace jejich deficiencie.

Bylo zjištěno, že hliník je za normálních podmínek absorbován stěnami kořenových buněk v místech určených pro příjem vápníku. V přítomnosti některých metabolických inhibitorů vzrůstá značně příjem tohoto prvku kořeny rostlin. Příčinu je třeba hledat v ireverzibilním poškození buněčných membrán, které jsou považovány za bariéru vůči pasivnímu příjmu hliníku. Udržování normální fyziologické funkce kořenů a zlepšení jejich výživy představuje proto jednu z cest k minimalizaci hliníkové toxicity (Wagatsuma, 1983).

Vliv hliníku na příjem vápníku, nikoliv však na jeho transport u rostlin, byl předmětem studia řady autorů (např. Edwards, Horton, 1977; Simpson et al., 1977). Tolerance vůči hliníku u některých odrůd pšenice, ječmene a sójových bobů byla spojena se schopností odolávat hliníkem vyvolané deficienci vápníku (Foy et al., 1978).

Baumgartner et al. (1976) zjistili, že Al-tolerantní odrůda rajčete měla nižší požadavky na příjem vápníku než méně tolerantní odrůda. Zajímavé bylo v tomto směru zjištění (Sartain, 1974), že Al-tolerantní odrůdy sójového bobu hromadily ve vrcholcích více vápníku, fosforu a hořčičku. Soutěži mezi hladinou hliníku a příjmem vápníku nasvědčuje zjištění, že hladina vápníku $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v živném roztoku je dostačující k úplnému potlačení škodlivého vlivu hliníku na výnosy zelí a salátu (Huett, Menary, 1979). Lze konstatovat, že hliník ovlivňuje příjem vápníku více než příjem fosforu.

Významným fyziologickým efektem, způsobeným vyšším příjmem hliníku, je redukce příjmu kationtů vzhledem ke kompetici o aktivní místa na membránových proteinech a intracelulárních proteinových přenašečích, jako je kalmodulin. Haug, Weis (1986) studovali interakci hliníkových iontů s molekulami kalmodulinu, proteinu participujícího na konformačních změnách řady cylových enzymů. Vycházeli z předpokladu, že ionty hliníku mohou působit striktně vůči přenašečové aktivitě zmíněného regulačního proteinu, majícího vysokou afinitu k iontům vápníku. Vyslovili v této souvislosti dnes již potvrzenou hypotézu, že kalmodulin je klíčem k vysvětlení široce definovaného syndromu aluminiové toxicity. Zvýšené hladiny vápníku nebo hořčičku může mít důležitou úlohu při snižování úrovně toxicity hliníkem (Munns, 1965; Rhue, Grogan, 1977; Huett, Menary, 1980; Kinraide et al., 1985). Mechanismus tohoto působení lze vysvětlit kompeticí o aktivní centra kalmodulinu, případně membránových přenašečů zodpovědných za vazbu zmíněných prvků.

Rengel (1992) uvádí toxický efekt hliníku do přímé souvislosti s narušením homeostáze vápenatých iontů v buňkách, a to ovlivněním toku těchto iontů buněčnou membránou. Takto se sekundárně přes alteraci hladin vápníku v buňce manifestuje negativní vliv hliníku na mitózu. Vliv kalmodulinu by byl v tomto mechanismu pouze nepřímý. Předpokládá se, že hliník má vliv na vazbu Ca^{2+} – kalmodulin, která vede k částečné aktivaci kalmodulinu či k jeho úplné dezaktivaci.

Moustakas et al. (1992) zjistili, že kromě retardace kořenového růstu snižovala přítomnost hliníku u Al-tolerantní i Al-senzitivní odrůdy pšenice hladiny vápníku, hořčičku, draslíku a železa v kořenech i listech. Zatímco snížení hladiny vápníku bylo u obou odrůd stejné, Al-tolerantní odrůda zadržovala větší množství hořčičku i železa ve srovnání s odrůdou Al-senzitivní i s kontrolou, pěstovanou na médiích bez přídavku hliníku.

Studium odrůd rýže, lišících se tolerancí vůči hliníku, přineslo důkazy o tom, že Al-tolerantní odrůdy obsahovaly vyšší hladiny přijatých iontů vápníku, draslíku, hořčičku, manganu, fosforu a železa než odrůdy Al-senzitivní (Balakumar et al., 1992).

Interakce hliníku a železa jsou často v literatuře diskutovány. Např. Alam, Adams (1980) zjistili, že hliník indukuje deficienci železa u ovsu. Jako důvod uvádějí interferenci hliníku při redukci trojmocného železa na dvojmocné, což je základní proces v metabolismu železa u rostlin.

Také senzitivita některých odrůd pšenice a ječmene vůči kyselosti půdy (vyšším hladinám hliníku) je spojena s defi-

ciencí železa indukovanou při pH 4,1 hliníkem (Otsuka, 1969). Brown, Jones (1977) zjistili, že linie prosa, které špatně rostly a u kterých se vyvinula chloróza a fialová pigmentace jako důsledek toxicity hliníku při pH 4,3, obsahovaly výrazně sníženou hladinu železa a fosforu proti zeleným rostlinám. U rostlin postižených chlorózou byly hladiny hliníku vyšší než u rostlin zelených, nepřevyšily však $127 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Tolerance vůči hliníku byla spojena s vyšším příjmem draslíku a hořčičku u odrůd rajčete a s vyšším příjmem hořčičku u linií kukuřice. Určité Al-tolerantní odrůdy rýže hromadily vyšší hladiny křemíku v epidermálních buňkách listů než odrůdy Al-senzitivní. Je známo, že křemík redukuje toxicitu manganu v listech ječmene a může hrát i podobnou roli při detoxikaci hliníku (Foy et al., 1978).

Hliník a příjem fosforu

Hliník se často hromadí ve spojení s fosforem na kořenech i uvnitř kořenů rostlin pěstovaných na médiích s vysokými hladinami hliníku, zatímco ve vrcholcích k jeho akumulaci nedochází. I když je poškození rostlin dáváno do souvislosti se vzrůstem koncentrace hliníku ve vrcholcích rostlin, nemusí toto zvýšení hladiny hliníku vést k poškození vegetativní tkáně (Alam, Adams, 1979; Duncan, 1981).

Toxicita hliníku u rostlin je spojena s příjmem fosforu. Santana, Braga (1977) zjistili, že koncentrace fosforu, vápníku a hořčičku ve výhoncích rýže se snižovaly s nasycením půdy hliníkem. Helyar (1978) dospěl k závěrům, že toxicita hliníku souvisí velice úzce s interferencí hliníku v metabolismu fosforu a s vazbou hliníku na pektiny stěn kořenových buněk, které zamežují prodlužovacímu růstu kořenů.

Četné rostlinné druhy mají toleranci vůči hliníku úzce spojenou s efektivním využitím fosforu. Tolerance vůči hliníku je spojena s tolerancí vůči nízkým hladinám fosforu v živých roztocích jak v přítomnosti, tak v nepřítomnosti hliníku (Foy, 1983). Baumgartner et al. (1976) zjistili, že Al-tolerantní odrůda rajčete měla nižší požadavky na fosfor než odrůda s nižší tolerancí. Také Klimashevskii et al. (1979) se domnívají, že tolerance vůči hliníku u odrůd hrachu úzce souvisí se schopností absorbovat a využívat fosfor v přítomnosti hliníku. Jak uvádí Sartain (1974), absorbovaly Al-tolerantní odrůdy sójového bobu více fosforu než odrůdy Al-senzitivní. V soulase s výsledky, které publikovali Garcia, Leon (1978), jsou rozdílné tolerance hybridů kakaovníku důsledkem odlišné schopnosti uvolňování fosforu v přítomnosti hliníku.

Cambrai, Calbo (1980) zjistili v experimentech s Al-tolerantními a Al-intolerantními odrůdami prosa, že zvýšená nabídka hliníku snížila u Al-senzitivních rostlin příjem fosforu kořeny až o 42 %. Zároveň zjistili u obou odrůd snížení aktivity ATP-ázy, což rovněž přičítali přítomnosti vyšší hladiny hliníku.

Vzhledem k redukci koncentrace kationtů ve vrcholcích i kořenech a vzhledem k vlastnostem ATP-ázy, hrající důležitou roli při aktivním transportu kationtů, vyslovili Cambrai, Calbo (1980) předpoklad, že hliník působí inhibičně

na iontové přenašeče. Z řady experimentů vyplynulo, že hliník výrazně snižuje hladinu anorganického fosfátu, hladinu fosforu vázaného u lipidů, nukleových kyselinách a proteinů rostlin. Toto snížení obsahu fosforu se výrazněji projevuje u Al-senzitivních odrůd. Některé odrůdy sójového bobu, lišící se tolerancí vůči hliníku, měly podobné hladiny intermediárních metabolitů jako referenční rostliny, pěstované bez přítomnosti hliníku. Za hliníkového stresu se však u Al-tolerantních linií významně zvýšily hladiny pyruvátu a ATP, zatímco u linií Al-senzitivních se tento fenomén neprojevil (Hanson, Kamprath, 1979). Oproti předchozím tvrzením zjistil Brauner (1979), že tolerance vůči hliníku u odrůd pšenice nemá vztah k obsahu fosforu, vápníku nebo hořčičku ve vrcholcích sledovaných rostlin.

Hliník a příjem dusíku

Přítomnost větších množství hliníku má vliv i na příjem dusíku. Přítomnost mikroorganismů, podlejších se na příjmu atmosférického dusíku rostlinou, je výrazně modifikována vyšší hladinou hliníku v živném prostředí. Rhizobia některých druhů leguminóz jsou mnohem citlivější vůči hliníku než jejich hostitelské rostliny. Carvalho et al. (1981) zjistili, že toxicita hliníku snižovala růst druhů rodu *Stylosanthes* mnohem výrazněji, když byly rostliny závislé na symbioticky vázaném dusíku, než byl-li dusík aplikován ve formě hnojiva. Tolerance šesti druhů rodu *Stylosanthes* vůči hliníku je pravděpodobně závislá jak na schopnosti nodulace a vývoji účinné symbiózy v přítomnosti hliníku, tak na vlastní citlivosti hostitelské rostliny vůči tomuto prvku. Proces symbiotické fixace atmosférického dusíku je sám o sobě zjevně méně citlivý na přítomnost hliníku, než je proces tvorby nodulů. Carvalho et al. (1982) uvádějí, že 10- až 20denní expozice koncentracím hliníku až do 2,7 mg.kg⁻¹ nepůsobí v živném roztoku na fixaci elementárního dusíku dobře nodulovaných rostlin *Stylosanthes hamata*, *Stylosanthes humilis* a *Stylosanthes scabra*.

Mengel, Kamprath (1978) dospěli k závěru, že zvyšující se hodnota pH koresponduje se stoupajícím počtem nodulů, hmotností, obsahem a příjmem dusíku. Kritická hodnota pH pro růst výhonků, kořenů a nodulů byla mezi 4,6 a 4,8. Růstová odpověď na vápnění byla přičítána snížení výměnné schopnosti ve vodě rozpustného hliníku, zvýšení vodorozpustnosti vápníku a přizpůsobením příznivého pH pro rhizobia. Keyser, Munns (1979) zjistili, že toxicita hliníku a půdní acidita byla sama od sebe mnohem důležitější než toxicita manganu či nedostatek vápníku při limitovaném růstu rhizobia sóje. Citovaní autoři uvádějí, že vyšší hladina hliníku v živném roztoku mnohem více poškozuje rhizobia než nízká hodnota pH (4,5) nebo nízký obsah fosforu.

V silně kyselých půdách je inhibována nitrifikace a amonné ionty se stávají důležitým zdrojem dusíku pro rostliny (Raven, Smith, 1976). Mnoho rostlin adaptovaných na takovéto půdy (a proto tolerantních vůči hliníku) tolerují též vyšší hladiny NH₄⁺, které jsou pro Al-senzitivní rostliny toxické. V některých případech dokonce preferují jako zdroj dusíku amonné ionty před ionty nitrátovými (Presad, 1976; Rorison, 1975). Poměr NO₃ k NH₄⁺ determinuje

v živných roztocích rychlost a směr rostlinou indukovaných změn pH v přítomnosti či nepřítomnosti hliníku. Nejvyšší tolerance vůči hliníku je u určitých odrůd pšenice charakterizována jejich schopností využívat efektivně NO₃⁻ v přítomnosti NH₄⁺ ke zvýšení pH růstového média (Foy, Fleming, 1978).

Cambrai et al. (1989) zjistili, že u Al-senzitivních i Al-nesenzitivních odrůd prosa byl v přítomnosti hliníku silně omezen příjem dusíku. Tato retardace příjmu dusíku byla zvláště výrazná u Al-senzitivního typu. Hliník se v tomto případě uplatňoval nejen omezením příjmu dusíku, ale i přímým vlivem na redukci přijímaných nitrátů.

Hliník a aktivita některých rostlinných enzymů

Vliv hliníku na metabolismus rostlin se projevuje výraznou modifikací některých enzymů. Např. NAD-kináza vykazuje u Al-tolerantního typu pšenice dvakrát vyšší aktivitu než u Al-senzitivního odrůdy. Indukce enzymu způsobená hliníkem zahrnovala u senzitivní formy jak kalmodulin-dependentní, tak kalmodulin-independentní enzymy. U Al-tolerantního genotypu byla indukována pouze kalmodulin-independentní forma, aktivita kalmodulin-dependentního enzymu byla nepatrná. Lze předpokládat, že mechanismus tolerance vůči hliníku je umožněn změnou poměru obou forem NAD-kinázy a také schopností nahradit kalmodulin-dependentní formu enzymu formou druhou v Al-tolerantním genotypu za podmínky hliníkového stresu (Slaski, 1988). Podobný vztah mezi aktivitou NAD-kinázy a rozdílnou tolerancí vůči hliníku zjistil Slaski (1990) i u jiných cereálií.

Modifikaci enzymové aktivity vykazuje i proteinkináza. Moustakas et al. (1992) zjistili, že aktivita tohoto enzymu u Al-tolerantní odrůdy pšenice klesala se vzrůstajícím koncentrací hliníku až do okamžiku, kdy hladina hliníku dosáhla 74,1 μmol. S dalším zvyšováním obsahu hliníku v kultivačním médiu aktivita proteinkinázy rosla, nikdy však nedosáhla úrovně aktivity enzymu rostlin pěstovaných bez přidavku tohoto prvku.

Významná je i inhibice nitrátreduktázy způsobená přítomností hliníku. Tato negativní modifikace nitrátreduktázy byla sledována u Al-tolerantních a Al-senzitivních genotypů prosa mnohými autory (Keltjens, Ulden, 1987; Galvez, 1989; Cambrai et al., 1989). Ve všech případech autoři prokázali inhibiční vliv hliníku na aktivitu tohoto enzymu. Stejně tak Balakumar et al. (1992) popsali výraznou inhibici nitrátreduktázy u Al-senzitivních odrůd rýže pěstovaných na živných roztocích a vystavených po 10 dnech růstu třítydenní expozici rozdílným koncentracím hliníku.

Signifikantní modifikaci aktivit vykazovaly i některé enzymy sójového bobu, pěstovaného při pH 4,1 na médiích obsahujících hliník. Zatímco aktivita katalázy byla vlivem hliníku snížena, aktivita superoxidodismutázy a peroxidázy byly zvýšeny. Rozdíly v aktivitách jmenovaných enzymů byly pouze v reakci na dobu expozice a hladinu přítomných linitých iontů (Carmak, Horst, 1991).

Přítomnost hliníku vyvolala také výraznou inhibici ATP-syntetázy, jejíž aktivita je modifikována prostřednictvím konformačních změn kalmodulinu. Enzym byl sledován

v chloroplastech listů rýže (Li u, H a o, 1990) a v kořenech hrachu (M a t s u m o t o, Y a m a y a, 1986). U enzymu z rýže snímaly vápenaté ionty inhibiči hliníkem, u enzymu z hrachu byla aktivita enzymu silně závislá na přítomnosti hořečnatých iontů, zatímco vápenaté ionty se v tomto směru neuplatňovaly.

U rostlin prosa, pěstovaných na živných roztocích s hliníkem, vykazovaly enzymy glutaminyntetáza, glutamát-syntáza a glutamátdehydrogenáza vzrůst aktivit v kořenech, nikoliv však v listech. V listech nebyly ovlivňovány ani glutamát-syntáza, ani glutamátdehydrogenáza, zatímco glutaminyntetáza byla inhibována. Podle výsledků, které uveřejnili P i m e n t et al. (1989), lze předpokládat, že vliv hliníku na tyto enzymy je nepřímý. Souvisí pravděpodobně se změnami v hladinách metabolitů, které se účastní regulace aktivit těchto enzymů.

Realizované studie naznačují, že změny aktivit jsou způsobeny převážně konformačními změnami proteinových složek enzymů. K podobným závěrům došli při studiu vlivu hliníku *in vitro* C h o, J o s h i (1989) u glukózo-6-fosfátdehydrogenázy kvasinek.

Obranné mechanismy rostlin vůči toxicitě hliníku

Rostliny disponují relativně účinnými obrannými mechanismy vůči toxickému působení hliníku. Jsou jimi např. některé typy polypeptidů schopné vázat hlinité ionty, a tím snižovat inhibiční vliv tohoto prvku na aktivitu enzymů stimulovaných kalmodulem. Tato detoxikační schopnost některých polypeptidů byla experimentálně potvrzena interakcí kyselých polypeptidů typu polyasparagové a polyglutamové kyseliny a transferinu s hlinitými ionty, zatímco metallothionein se v tomto směru ukázal jako neúčinný (P u t t e r i l l, G a r d n e r, 1988).

Rostliny tolerantní vůči vysokým koncentracím hliníku se tzv. brání jeho negativnímu vlivu tvorbou většího množství malátu a citrátů, které převádějí tento prvek do pevných organických komplexů (O j i m a, O h i r a, 1988). Další obrannou reakcí je zvýšení hodnot pH v okolí kořenů, což má za následek precipitaci nebo polymeraci hliníku (G a l v e z, 1989; S t a m, 1989).

Na schopnost citrátů chránit konformaci kalmodulem před negativními změnami způsobenými hliníkem, a tím příznivě ovlivňovat toleranci rostlin vůči tomuto prvku, ukázali S u h a y d a, H a u g (1985) na základě experimentů s pšeničkou, kukuřicí a sójou.

V pokusech s odrůdami červeného bobu bylo prokázáno, že Al-tolerantní typ vylučoval do rhizosféry až 70krát více citrátů než typ intolerantní (M i y i a s a k a et al., 1991). Podle citovaných autorů, kromě již zmíněných chelatačních vlastností citrátů, se tato sloučenina uplatňuje i při usnadňování dostupnosti fosforu z jeho nerozpustných forem, především z fosforečnanu hlinitého.

Snížením obsahu hliníku v půdním výluhu výrazně ovlivňuje i přítomnost ligninu a polyfenolických látek v půdě. Na snížení hladiny vyměnitelného hliníku měl podobný vliv i vyšší obsah vyměnitelných bivalentních iontů vápníku a hořčíku (D a v e l o n i s, 1990).

Také A n i o l (1983) zjistil, že bivalentní ionty, zvláště ionty vápníku, chrání rostliny před toxicitou hliníku. Rozdílnost vlivu zmíněných iontů souvisí pravděpodobně s jejich odlišnými vazebnými místy. Vápník je pevně vázán spíše na buněčnou stěnu, zatímco např. hořčík je převážně spojen s protoplazmatickou frakcí. Přítomnost větších množství draslíku nemá vliv ani na snížení toxicity, ani na vyšší hladiny hliníku v kořenech (A l i, 1975).

LITERATURA

- ALAM, S. M. – ADAMS, W. A.: Effects of aluminum upon the growth and nutrient composition of oats. *Pakist. J. Sci. Ind. Res.*, 23, 1980: 130–135.
- ALI, S. M. E.: Influence of cations on aluminum toxicity in wheat (*Triticum aestivum* Vill Host). [Dizertace.] Corvallis, Oregon, 1973. 102 s. Oregon St. Univ.
- ALI, S. M. E.: Influence of cations on aluminum toxicity in wheat. Oregon St. Univ., Ph. D. Thesis 1975.
- ALVA, A. K. – EDWARDS, D. G. – ASHER, C. J. – BLAMEY, F. P. C.: Relationships between root length of soybean and calculated activities of aluminum monomers in nutrient solution. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 50, 1986: 959–962.
- ANIOL, A.: Aluminum uptake by roots of two winter wheat varieties of different tolerance to aluminum. *Biochem. u. Physiol. Pfl.*, 178, 1983: 11–20.
- BALAKUMAR, T. – SIVAGURU, M. – JAMES, M. R. – ANBUDURAI, P. R.: Impact of aluminum toxicity on growth and efficiency of nutrient metabolism in some tropical rice cultivars. *Trop. Agric.*, 69, 1992 (3): 211–216.
- BAUMGARTNER, J. G. – HAAG, H. P. – OLIVEIRA, G. D. – PERECIN, D.: Tolerance of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) cultivars to aluminum and manganese. *Anais Esc. Sup. Agric. Luis de Quieroz*, 33, 1976: 513–541.
- BERSILLON, J. L. – HSU, P. H. – FIESSINGER, F.: Characterization of hydroxy-aluminum solutions. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 44, 1980: 630–634.
- BLAMEY, F. P. C. – EDWARDS, D. G. – ASHER, C. J.: Effects of aluminum, OH:Al and P:Al molar ratios, and ionic strength on soybean root elongation in solution culture. *Soil Sci.*, 136, 1983: 197–207.
- BRAUNER, J. L.: Tolerancia de cultivares de trigo (*Triticum aestivum*) ao aluminio e ao manganeso: Sua determinacao, influencia na concentracao de nutrientes e absorcao de calcio e fosforo. [Dizertace.] Brasilia, 1979. Univ. Sao Paulo
- BROWN, J. C. – JONES, W. E.: Manganese and iron toxicities dependent on soybean variety. *Commun. Soil. Sci. Pl. Anal.*, 8, 1977: 1–15.
- CARMAK, I. – HORST, W. J.: Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). *Physiol. Plant.*, 83, 1991 (3): 463–468.
- CAMBRAI, J. – CALBO, A. G.: Efeito do alumino sobre a absorcao e sobreo transporte de forforo em dois cultivares de sorgho (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Revta Ceres*, 27, 1980 (154): 615–625.
- CAMBRAI, J. – PIMENTA, J. A. – ESTEVAO, M. M. – SANTANNA, R.: Aluminum effects on nitrate uptake and reduction in sorghum. *J. Pl. Nutr.*, 12, 1989: 1435–1445.

- CARVALHO, M. M. – ASHER, C. J. – EDWARDS, D. G. – ANDREW, S. C.: Aluminum toxicity, nodulation and growth of *Stylosanthes* species. *Agron. J.*, 73, 1981: 261–265.
- CARVALHO, M. M. – ASHER, C. J. – EDWARDS, D. G. – ANDREW, C. S.: Lack of effect of toxic aluminum concentrations on nitrogen fixation by nodulated *Stylosanthes* species. *Pl. Soil*, 66, 1982: 225–231.
- CHO, S. V. – JOSHI, J. G.: Inactivation of bakers yeast glucose-6-phosphate dehydrogenase by aluminum. *Biochemistry*, 28, 1989: 3613–3618.
- CLARK, R. B.: Plant response to mineral element toxicity and deficiency. In: CHRISTIANSEN, M. N. – LEWIS, C. F. (eds): *Breeding plants for less favorable environments*. New York, John Wiley 1982a: 71–142.
- CLARK, R. B.: Iron deficiency in plants grown in the Great Plains of the U.S. *J. Pl. Nutr.*, 5, 1982b (4-7): 251–268.
- DELEERS, M.: Cationic atmosphere and cation competition binding at negatively charged membranes: pathological implications of aluminum. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 49, 1985: 277–294.
- DUNCAN, R. R.: Variability among sorghum genotypes for uptake of elements under acid soil field conditions. *J. Pl. Nutr.*, 4, 1981: 21–32.
- EDWARDS, J. H. – HORTON, B. D.: Aluminum induced calcium deficiency in peach seedlings. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 102, 1977: 459–461.
- FOY, C. D.: The physiology of plant adaptation to mineral stress. *Iowa St. J. Res.*, 57, 1983 (4).
- FOY, C. D. – CHANEY, R. L. – WHITE, M. C.: The physiology of metal toxicity in plants. *Ann. Rev. Pl. Physiol.*, 29, 1978: 511–566.
- FOY, C. D. – FLEMING, A. L.: The physiology of plant tolerance to excess available aluminum and manganese in acid soils. In: JUNG, G. A.: *Crop tolerance to suboptimal land conditions*. Amer. Soc. Agron. Spec. Publ. (Madison, Wisconsin), 32, 1978.
- GALVEZ, L.: Ph. D. Thesis, Univ. Nebraska, Lincoln, 1989, Order Number DA 9019567.
- GARCIA, O. A. – LEON, S. A.: Reaction of five cocoa hybrids (*Theobroma cacao*) to toxicity produced by aluminum in nutrient solution and on the plains of Colombia. *Rev. Inst. Colomb. Agropec.*, 13, 1978: 219–228.
- HANSON, W. D. – KAMPRATH, E. J.: Selection for aluminum tolerances in soybeans based on seedling root growth. *Agron. J.*, 71, 1979: 581–586.
- HAUG, A. – CALDWELL, C. R.: Aluminum toxicity in plants: The role of the root plasma membrane and calmodulin. In: JB St. John, Berlin, PC Jackson (eds): *Beltsville Symp. Agric. Res. IX. Frontiers of Membrane Research in Agriculture*, Totowa, New York, Rowman and Allenheld, 1985: 359–381.
- HAUG, A. – WEIS, C.: NATO advanced science institutes series. *Ser. A. Life Sci.*, 104, 1986: 19–25.
- HELYAR, K. R.: Effects of aluminum and manganese toxicity on legume growth. In: ANDREW, C. S. – KAMPRATH, E. J.: *Mineral nutrition of legumes in tropical and subtropical soils*. Melbourne, Australia, 1978: 207–231.
- HORTON, B. D. – EDWARDS, J. H.: Diffusive resistance rates and stomatal apertures of peach seedlings as affected by Al concentrations. *Hort. Sci.*, 11, 1976: 591–593.
- HUE, N. V. – CRADDOCK, G. R. – ADAMS, F.: Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 50, 1986: 28–34.
- HUETT, D. O. – MENARY, R. C.: Aluminum uptake by excised roots of cabbage, lettuce and kikuyu grass. *Austral. J. Pl. Physiol.*, 6, 1979: 643–653.
- HUETT, D. O. – MENARY, R. C.: Effect of aluminum on growth and nutrient uptake of cabbage, lettuce and kikuyu grass in nutrient solution. *Austral. J. Agric. Res.*, 31, 1980: 749–762.
- KAUFMAN, M. D. – GARDNER, E. H.: Segmental liming of soil and its effect on the growth of wheat. *Agron. J.*, 70, 1978: 331–336.
- KELTJENS, W. G. – ULDEN, P. S. R. VAN: Effects of aluminum on nitrogen (NH_4^+ and NO_3^-) uptake, nitrate reductase activity and proton release in two sorghum cultivars differing in Al tolerance. *Pl. and Soil*, 104, 1987: 227–234.
- KERRIDGE, P. C.: Aluminum toxicity in wheat (*Triticum aestivum* Vill. Host). [Dizertace.] Ph. D. Thesis, Abstr. B29: 3159. 1969. Oregon St. Univ.
- KEYSER, H. H. – MUNNS, D. N.: Effect of calcium, manganese and aluminum on growth of rhizobia in acid media. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 43, 1979: 500–503.
- KINRAIDE, T. B. – ARNOLD, R. C. – BALIGAR, V. C.: A rapid assay of aluminum phytotoxicity at submicromolar concentrations. *Physiol. Plant.*, 65, 1985: 245–250.
- KINRAIDE, T. B. – PARKER, D. R.: Non-phytotoxicity of the aluminum sulfate ion, AlSO_4^- . *Physiol. Plant.*, 71, 1987: 207–212.
- KLIMASHEVSKI, E. L. – MARKOVA, I. A. – LEBEDEVA, T. S.: Interaction of aluminum and phosphorus on root surfaces and cell walls. *Sov. Agric. Sci.*, 3, 1979: 6–9.
- LIN, Z. – MYHRE, D. L.: Differential response of citrus rootstocks to aluminum levels in nutrient solutions. I. *Plant growth. J. Pl. Nutr.*, 14, 1991 (11): 1223–1238.
- LIU, H. T. – HAO, L. N.: Effects of aluminum on calcium-dependent ATP-ase activity in rice. *Acta Bot. Sin.*, 32, 1990 (7): 528–532.
- MATSUMOTO, H.: Repressed template activity of chromatin of pea roots treated by aluminum. *Pl. Cell Physiol.*, 21, 1980: 951–959.
- MATSUMOTO, H. – YAMAYA, T.: Inhibition of potassium uptake and regulation of membrane-associated Mg^{2+} -ATPase activity of pea roots by aluminium. *Soil Sci. Pl. Nutr.*, 32, 1986 (2): 179–188.
- MC LEAN, I. B.: The toxic aluminum reaction in corn and barley roots: An ultrastructural and morphological study. *Master Abstr.*, 18, 1979 (4): 259.
- MENGEL, D. B. – KAMPRATH, E. J.: Effect of soil pH and limiting on growth and nodulation of soybeans in Histosols. *Agron. J.*, 70, 1978: 959–963.
- MIYASAKA, S. C. – BUTA, J. G. – HOWELL, R. K. – FOY, C. D.: Mechanism of aluminum tolerance in snap beans. Root exudation of citric acid. *Pl. Physiol.*, 96, 1991 (3): 737–743.
- MOUSTAKAS, M. – YUPSANIS, T. – SYMEONIDIS, L. – KARATAGLIS, S.: Aluminum toxicity effects on durum wheat cultivars. *J. Pl. Nutr.*, 15, 1992 (5): 627–638.
- MUNNS, D. N.: Soil acidity and growth of a legume. II. Reactions of aluminum and phosphate in solution and effects

- of aluminum, phosphate, calcium and pH on *Medicago sativa* L. and *Trifolium subterraneum* L. in solution culture. Austral. J. Agric. Res., 16, 1965: 743-755.
- OJIMA, K. – OHIRA, K.: Aluminum tolerance and citric acid release from a stress-selected cell line of carrot. Commun. Soil Sci. Pl. Anal., 19, 1988 (7-12): 1229-1236.
- OTSUKA, K.: Aluminum induced Fe chlorosis. Aluminum and manganese toxicities for plants. (Part 4.) J. Sci. Soil Manure Jap., 40, 1969: 177-220.
- PARKER, D. R. – KINRAIDE, T. B. – ZELAZNY, L. W.: Aluminum speciation and phytotoxicity in dilute hydroxy-aluminum solutions. Soil Sci. Soc. Amer. J., 52, 1988: 438-444.
- PIMENTA, J. A. – CAMBRAI, J. – SANTANNA, R. – ESTEVAO, M. M.: The effect of aluminium on the activity of some enzymes linked to the assimilation of nitrogen in sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench). Revta Brasil. Fisiol. Veg., 1, 1989 (2): 169-175.
- PRESAD, M.: Nitrogen nutrition and yield of sugarcane as affected by N-serve. Agron. J., 68, 1976: 343-346.
- PUTTERILL, J. J. – GARDNER, R. C.: Proteins with the potential to protect plants from Al³⁺ toxicity. Biochim. Biophys. Acta, 2, 1988 (964): 137-145.
- RAVEN, J. A. – SMITH, F. A.: Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation. New. Phytol., 76, 1976: 415-431.
- RENGEL, Z.: Disturbance of cell Ca²⁺ homeostasis as a primary trigger of Al toxicity syndrome. Pl. Cell Envir., 15, 1992 (8): 931-938.
- RHUE, D. R. – GROGAN, C. O.: Screening corn for Al tolerance using different Ca and Mg concentrations. Agron. J., 69, 1977: 755-760.
- RORISON, I. H.: Nitrogen source and metal toxicity. J. Sci. Fd Agric., 26, 1975: 1426.
- RYAN, P. J. – GESSEL, S. P. – ZASOSKI, R. J.: Acid tolerance of pacific northwest conifers in solution culture. II. Effect of varying aluminum concentration at constant pH. Pl. Soil, 96, 1986: 259-272.
- SANTANA, M. B. – BRAGA, J. M.: Aluminum-phosphorus interactions in acidic soils in southern Bahia. Revta Ceres, 24, 1977: 200-211.
- SARTAIN, J. B.: Differential effects of aluminum on top and root growth, nutrient, accumulation and nodulation of several soybean varieties. [Dizertace.] Raleigh, North Carolina, Ph. D. Thesis, Abstr. 35102. 1974. N. C. St. Univ.
- SCHMANDKE, H. G. – MUSCHIOLOIK, M. – SCHULTZ, M. – SCHMIDT, G. – QUADE, H. D.: The effect of aluminum ions on chemical and functional properties of spun protein fibers. Nahrung, 23, 1979: 229-235.
- SIMPSON, J. R. – PINKERTON, A. – LAZDOVOKIS, J.: Effects of subsoils calcium on the root growth of some lucerne genotypes (*Medicago sativa* L.). Austral. J. Agric. Res., 29, 1977: 629-638.
- SLASKI, J. J.: Effect of aluminum on calmodulin-dependent and calmodulin-independent NAD kinase activity in wheat (*Triticum aestivum* L.) root tips. J. Pl. Physiol., 133, 1988 (6): 696-701.
- SLASKI, J. J.: Response of calmodulin-dependent and calmodulin-independent NAD kinase to aluminum in root tips from various cultivated plants. J. Pl. Physiol., 136, 1990 (1): 40-44.
- STAM, A. CH.: Effects of acidic precipitation on the soil chemistry and bioavailability of aluminum, manganese and copper. Tennessee, Univ. 1989.
- SUHAYDA, C. G. – HAUG, A.: Citrate chelation as a potential mechanism against aluminum toxicity in cells: the role of calmodulin. Can. J. Biochem. Cell Biol., 11, 1985: 1167-1175.
- SUHAYDA, C. G. – HAUG, A.: Organic acids reduce aluminum toxicity in maize root membranes. Physiol. Plant., 68, 1986: 189-195.
- TSU, S. I. – BROUILLETTE, J. N.: Metal ion inhibition of corn root plasma membrane ATPase. Phytochemistry, 26, 1987: 65-69.
- ULMER, S. E.: Aluminum toxicity and root DNA synthesis in wheat. [Dizertace.] Ames, Iowa, Ph. D. Thesis, Abstr. 2933-B. 1979. Iowa St. Univ.
- VALENTA, V.: Toxické kovy a my. Nika, 9, 1989 (10): 210-211.
- WAGATSUMA, T.: Effect of non-metabolic conditions on the uptake of aluminum by plant roots. Soil Sci. Pl. Nutr., 29, 1983: 323-333.
- WAGATSUMA, T. – EZOE, Y.: Effect of pH on ionic species of aluminum in medium and on aluminum toxicity under solution culture. Soil Sci. Pl. Nutr., 31, 1985: 547-561.
- ZHAO, X. J. – SUCOFF, E.: Al³⁺ a Ca²⁺ alteration of membrane permeability of *Quercus rubra* root cortical cells. Pl. Physiol., 83, 1987: 159-162.

Došlo 30. 3. 1994

Kontakní adresa:

Doc. ing. Vladimír H o r á k, CSc., Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6-Suchdol, Česká republika, tel.: 02/338 26 48, fax: 02/34 44 18

RESPONSE OF SOYBEANS TO POTASSIUM FERTILIZATION ON A HIGH POTASSIUM FIXING SOIL

REAKCE SÓJE NA DRASELNÉ HNOJENÍ NA PŮDĚ S VYSOKÝM OBSAHEM VÁZANÉHO DRASLÍKU

V. Kovačević, D. Grgić

University of J. J. Strossmayer, Osijek, Croatia

ABSTRACT: Field trial consisting of seven steps of K fertilization, rate of 2 670 kg K₂O/ha, was conducted on K-fixing gleysol in autumn of 1986. For the growing seasons of 1988 and 1989, the uniform rates of potash fertilizer (150 kg K₂O/ha) were applied, while for the season of 1990 K fertilization was restored, except of two highest rates. A response of soybeans (season of 1990) was shown in this study. Using 1 000 kg K₂O/ha the grain yield increased to 1.07 t/ha or 59%, compared to the control, while trifoliolate-leaf composition (in dry matter at the onset of anthesis) was as follows: 0.90% K (symptoms of K deficiency) and 1.67% K as well as 1.94% Mg and 1.27% Mg for the control and 1 000 kg K₂O/ha application, respectively. However, an application of the highest K rate in the spring of 1990 resulted in toxic effects on soybeans at the emergence stage (plant density reduction). For this reason, the grain yield increased only by 30% compared to the control. In addition, subsequent effects of K fertilization in the autumn of 1986 (2 670 kg K₂O/ha) were found out in the growing season of 1990: the grain yield increased by 49%.

soybeans; potassium fertilization; soil; grain yield

ABSTRACT: Na podzim roku 1986 jsme na glejové půdě se schopností fixovat K uskutečnili polní pokus s draselným hnojením rozděleným do sedmi stupňů. Ve vegetačních obdobích let 1988 a 1989 jsme použili jednotnou dávku draselného hnojiva (150 kg K₂O/ha), v roce 1990 bylo draselné hnojení znovu aplikováno s výjimkou dvou největších dávek. Byla sledována reakce sóje v roce 1990. Aplikace dávky 1 000 kg K₂O/ha zvýšila výnos zrna o 1,07 t/ha, tj. o 59 % ve srovnání s kontrolou. Bylo stanoveno toto složení trojčetných listů (v sušině na začátku kvetení): 0,90 % K (příznaky nedostatku K), resp. 1,67 % K a dále 1,94 % Mg, resp. 1,27 % Mg, a to pro kontrolu a aplikační dávku 1 000 kg K₂O/ha. Aplikace nejvyšší dávky na jaře 1990 však měla na sóju v období vzházení toxické účinky (pokles hustoty porostu), proto ve srovnání s kontrolou stoupl výnos zrna pouze o 30 %. Ve vegetačním období 1990 byl také pozorován následný vliv draselného hnojení realizovaného na podzim 1986 (2 670 kg K₂O/ha), a sice výnos zrna se zvýšil o 49 %.

sója; draselné hnojení; půda; výnos zrna

INTRODUCTION

The strong K fixation and extremely high levels of plant-available Mg-supply are main reasons of K deficiency symptoms' appearance on the corn and soybean plants growing on gleysols of eastern Croatia (Kovačević, Vukadinović, 1992; Kovačević, 1994).

MATERIAL AND METHODS

The field trial was conducted on recently-drained silty clay loam gleysol developed on calcareous loess:

pH (KCl) = 7.30; exchangeable cations (mg/100 g soil) = 7.0 (K), 145.0 (Mg) and 1 506.0 (Ca); clay fraction (contribution 35.2%) composition: vermiculit/chlorite (30%), smectite (30%), illite (15%), kaolinite (5%), other fractions (20%). This trial included seven levels of K fertilizer (KCl), containing 60% K₂O laid out in a randomized block pattern with four replications (Tab. I). The results of three-year investigations were reported by Kovačević, Vukadinović (1992).

Soybean cultivar Aura was sown on April 13, 1990 (sowing rate of 500 000 seeds/ha). It was harvested on September 28, 1990. Grain yields were calculated on 14% moisture basis.

The uppermost full-developed trifoliolate leaf (50 leaves per an average sample) was taken at the onset of anthesis (July 9). Plant samples were wet-digested by concentrated sulphuric acid (Holz, 1971) and nutrient status (K, Ca and Mg) was determined by atomic absorption.

The growing season of 1990 (April–September) was characterized by the moderate rainfall quantities (227 mm) and a little higher air temperatures (19.5 °C) in comparison with long-term averages (1957–1989): 328 mm and 18.5 °C, respectively. Under these environmental conditions, yields of spring crops were below the normal.

RESULTS AND DISCUSSION

Growth retardation, chlorosis and low grain yield of soybean was found out after ordinary K fertilization. An application of 1 000 kg K₂O/ha soybean gave about 60% higher yields compared to the control, while the use of the highest K rate (2 350 kg K₂O/ha) resulted in the higher grain yield of 30% only (Tab. I). This phenomenon is associated with toxic effects of maximal fertilizer rate (chloride ion) on soybean plants at emergence stage.

Subsequent effects of enormous K rates added four years ago (1 900 and 2 670 kg K₂O/ha, respectively) were also found out in the season of 1990, because yields increased approximately to 20% and 50%, respectively. However, considering the prices of KCl and soybean grain on the Croatian market, to apply even the highest K rate was profitable in the first year (Kovačević, Vukadinović, 1992).

The higher Mg concentration on soybean leaves were in connection with lower K concentrations (Tab. I): the negative correlation ($r = -0.80^{**}$) was found out. At the same time, a low correlation was

ascertained between K and Ca ($r = 0.36$), as well as between Ca and Mg ($r = 0.01$). Moreover, the yield of soybean was in close correlation to K ($r = 0.67^{**}$) and Mg ($r = -0.67^{**}$) status in soybean leaves. Depending on K fertilization, the ratio between K and Mg (miliequivalent) ranged from 0.144 to 0.409 and it was in close correlation to the grain yield (Tab. I).

As reported Bergmann (1992), an adequate nutritional status of soybean leaves, fully developed leaves at the top of plant at the end of blossom are as follows (% in dry matter): from 2.50 to 3.70% K, from 0.30 to 0.70 Mg and from 0.60 to 1.50% Ca. Our investigations showed low K and high Mg and Ca concentrations in soybean leaves.

The field trial was replicated on the same plot of maize and soybean rotations and the results of three-year testing were elaborated by Kovačević, Vukadinović (1992): by the use of the highest K rate in the autumn of 1986, soybean grain yield increased by 1.27 t/ha (the season of 1987), 0.94 t/ha (1988) and 1.75 t/ha (1989) compared to the ordinary fertilization or for 99%, 52% and 224%, respectively. At the same time, response of corn was much closer to soybean: grain yields increased five times (the season of 1987), over two times (1988) and over seven times (1989) in comparison to the ordinary fertilization.

CONCLUSION

Growth retardation, chlorosis, and low grain yield of soybean on some gleysols of Croatia are associated with K deficiency. We recommend to apply higher rates of K fertilizer (for example KCl) close before sowing (for example 300 kg K₂O/ha) and additional band fertilization with granulated KCl in amount of about 120 kg K₂O/ha. Our experience confirmed that expenses for increased K fertilization are profitable.

I. Response of soybeans to K fertilization on the high K-fixing gleysol (the growing season of 1990)

Fertilization in the growing season (kg K ₂ O/ha)				Soybean: growing season of 1990*						
1987	1988	1989	1990	grain		trifoliolate leaf (July 9, 1990)			K : Mg	
				yield (t/ha)	moisture (%)	% in dry matter				
						K	Mg	Ca		
150	150	150	150	1.82	23.4	0.90	1.94	2.13	0.144	
330	150	150	330	1.99	21.6	1.33	1.66	2.16	0.212	
550	150	150	550	2.59	20.1	1.36	1.35	2.22	0.313	
780	150	150	780	2.36	19.1	1.62	1.38	2.22	0.365	
1 000	150	150	1 000	2.89	19.5	1.67	1.27	2.20	0.409	
330	150	150	1 900	2.55	19.0	1.67	1.40	2.40	0.371	
550	150	150	2 350	2.36	18.7	1.62	1.40	2.40	0.360	
1 900	150	150	150	2.17	20.9	1.09	1.73	2.23	0.196	
2 670	150	150	150	2.72	20.0	1.47	1.32	2.11	0.346	
				LSD _{0.05}	0.37	1.50	0.09	0.20	0.34	
				LSD _{0.01}	0.49	2.00	0.12	0.26	0.46	

* K : Mg values were calculated in terms of chemical equivalents (conversion factors from source data in % to meq/100 g of dry matter = 82.24 for magnesium and 49.90 for calcium)

Acknowledgements

These investigations were supported by Agricultural Enterprise Glavnik, Stari Mikanovci, Croatia.

REFERENCES

BERGMANN, W.: Nutrition disorders of plants development, visual and analytical diagnosis. Jena, Stuttgart, New York, Gustav Fischer Verlag 1992.

HOLZ, J.: Die automatische Bestimmung des Stickstoffs als Indophenolgrun in Boden und Pflanzen. *Landwirtsch. Forsch.*, 26, 1971: 177-192.

KOVAČEVIĆ, V.: Excess of magnesium as factor of potassium deficiency in maize (*Zea mays* L.) plants. In: *Magnesium 1993. Proc. 4th Eur. Congr. Magnesium* (Giessen, Germany, Spet. 1992). London, John Libbey Ltd. 1994: 87-95.

KOVAČEVIĆ, V. – VUKADINOVIĆ, V.: Potassium requirements of maize and soybeans on high K-fixing soil. *S. Afr. J. Pl. and Soil*, 9, 1992 (1): 10-13.

Received on May 5, 1994

Contact Address:

Prof. dr. Vlado K o v a č e v i ć, University of J. J. Strossmayer, Faculty of Agriculture, P. O. Box 117, 540000 Osijek, Croatia, tel.: 385 54 24 483, fax: 385 54 24 744

POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být přiloženo prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce.

Rozsah vědeckých prací nemá přesáhnout 10 stran psaných na stroji včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

Vlastní úprava rukopisu má odpovídat státní normě ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery). Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů. Je nutné vyvarovat se v něm obecných názvů. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

Krátký souhrn (Abstrakt) je informačním výběrem obsahu a závěru článku, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě. Je uveřejňován a měl by být dodán ve stejném jazyce jako vědecká práce.

Rozšířený souhrn (Abstract) je uveřejňován v angličtině, měl by v něm být v rozsahu cca 2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je nutné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce realizována a velmi stručnou formou má být popsán stav studované otázky.

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému. Doporučuje se co nejnižší počet citovaných autorů.

Metoda se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál.

Výsledky – při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostatcích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

Literatura musí odpovídat státní normě ČSN 01 0197. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu.

Pokud autor používá v práci zkratky jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short and a longer summary.

The author is fully responsible for the originality of his paper, for its subject and formal correctness. The author shall make a written declaration that his paper has not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

The paper extent shall not exceed ten typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript layout shall correspond to the State Standard ČSN 88 0220 (quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript). Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

The **title** of the paper shall not exceed 85 strokes. It is necessary to avoid in the title the usage of common expressions. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract is an information selection of the contents and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes, and comprise base numerical data including statistical data. It should be submitted in English and if possible also in Czech or Slovak.

Introduction has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

Review of literature should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem. It is recommended to cite the lowest possible number of authors.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

Discussion contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

The citations are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code.

OBSAH – CONTENTS

Kummerová M., Hladilová M., Brandejsová R.: Aktivita kyselé fosfatázy jarního ječmene v závislosti na fosfátové výživě – Acid phosphatase activity of spring barley in dependence on phosphatase nutrition	197
Budzyński W., Ojczyk T.: The influence of triapentenol used in autumn on wintering, lodging and yielding of winter rape – Vliv podzimní aplikace triapentenolu na přezimování, poléhání a výnosy ozimé řepky	201
Barančíková G., Matušková L., Petrová Z.: Distribúcia PCB látok v systéme pôda-rastlina – Distribution of PCB substances in the system soil-plant	207
Hasan H. A. H.: The effect of fungicides on the viability of faba seedlings – Vliv fungicidů na vitalitu klíčnicích rostlin bobu obecného	211
Valocká B., Sabová M., Lišková M.: Reakcia vybraných odrůd obilnín na háďatko ovsené (<i>Heterodera avenae</i> Woll.) patotyp Ha 12 – Response of selected cereal cultivars to <i>Heterodera avenae</i> Woll. pathotype Ha 12	215
Kraic J., Horváth L., Gregová E., Žák I.: Štandardné metódy elektroforetickej separácie glutenínov a gliadínov pšenice v SDS-PAGE a A-PAGE – The standard methods of electrophoretic separation of glutenins and gliadins of wheat by SDS-PAGE and A-PAGE	219
Šašek A., Černý J.: Elektroforetická spektra gliadínů a podjednotek gluteninů s VMH odrůd pšenice obecné restringovaných v letech 1982 až 1993 – Electrophoretic spectra of gliadins and subunits of glutenins of HMW of wheat varieties deleted in the years 1982 to 1993	225
Drozdová A., Janeček J.: Variabilita a vztahy mezi barvitelností pylu a semenářskými charakteristikami hybridů <i>Lolium multiflorum</i> Lam. x <i>Festuca arundinacea</i> Schreb. v generaci F ₃ – Variability and relationships between staining ability of pollen and seed-breeding characteristics of hybrids <i>Lolium multiflorum</i> Lam. x <i>Festuca arundinacea</i> Schreb. in F ₃ generation	233
INFORMACE – STUDIE – SDĚLENÍ – INFORMATION – STUDY – REPORT	
Horák V., Dolejšková J., Hejtmánková A.: Toxicita hliníku v rostlinách – Toxicity of aluminium in plants	239
Kovačević V., Grgić D.: Response of soybeans to potassium fertilization on a high potassium fixing soil – Reakce sóje na draselné hnojení na půdě s vysokým obsahem vázaného draslíku	246
Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA – FROM THE SPHERE OF SCIENCE	
Apfelthaler R.: Za doc. ing. dr. Bohumírem Novákem, DrSc.	232