

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

ROSTLINNÁ VÝROBA

Plant Production

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

10

VOLUME 45
PRAHA
ŘÍJEN 1999
ISSN 0370-663X

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gescí České akademie zemědělských věd

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture and under the direction of the Czech Academy of Agricultural Sciences

Redakční rada – Editorial Board

Předseda – Chairman

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

Členové – Members

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

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

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

Prof. Dr. Günter Kahnt (Institut für Pflanzenbau und Grünland, Universität Hohenheim, Stuttgart, BRD)

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

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

Ing. Timotej Mištin, CSc. (Výzkumný ústav rostlinné výroby, Piešťany, SR)

Doc. Ing. Jan Moudrý, CSc. (Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, České Budějovice, ČR)

Prof. RNDr. Lubomír Nátr, DrSc. (Karlova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Praha, ČR)

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

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)

Prof. Dr. Heinrich W. Scherer (Agrikulturchemisches Institut der Rheinischen Friedrich Wilhelms-Universität, Bonn, BRD)

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

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

Ing. Marie Vaňová, 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, studie a analýzy z oblasti rostlinné výroby, především pěstování rostlin, tvorby výnosů plodin, kvality jejich produktů, semenářství, fyziologie rostlin, agrochemie, pedologie, mikrobiologie, meliorací a agroekologie. 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 45 vychází v roce 1999.

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, Česká republika, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@uzpi.cz. 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 1999 je 816 Kč.

Aims and scope: Original scientific papers, results of research, review studies and analyses from the crop production sector, particularly care of crops, crop yield formation, quality of plant products, seed production, plant physiology, agrochemistry, soil science, microbiology and agri-ecology are published in this periodical.

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 45 appearing in 1999.

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, Czech Republic, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@uzpi.cz. 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 1999 is 195 USD (Europe), 214 USD (overseas).

VARIABILITY OF POTENTIAL AND WATER-LIMITED SUGAR BEET AND SPRING WHEAT YIELDS SIMULATED WITH WOFOST MODEL

VARIABILITA POTENCIÁLNÍCH A VODOU LIMITOVANÝCH VÝNOSŮ CUKROVKY A JARNÍ PŠENICE SIMULOVANÝCH MODELEM WOFOST

J. Haberle¹, C. A. van Diepen²

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

²DLO-Winand Staring Centre, Wageningen, The Netherlands

ABSTRACT: Potential and water-limited yields of spring wheat and sugar beet in the period 1961 to 1993 were simulated with crop growth model WOFOST 6.0. Monthly averages of weather data and daily precipitation were used as driving variables. The study was aimed at the estimation of combined effects of the accumulated soil moisture reserves at emergence date (water available capacity – WAC) and of the precipitation during the growing season on interannual yield variability. The results were compared with the variability of potential yields and with average national yields in the period 1961 to 1993. The interannual variability (as coefficient of variability) of simulated beet yields in the years 1961 to 1993 was lowest under non-limiting condition (9.3%). Decreasing water supply at emergence from 20 cm of water available capacity (20 WAC) to 10 cm (10 WAC) increased yield variability from 15.3% to 30.5%. Simulated potential beet yields reached 16.0 t/ha and they dropped to 12.0 t/ha with a decreasing water supply. Yield variability in wheat increased from 5.8% under potential, non-limiting conditions, to 13.0% and 32.3% at 20 WAC and 10 WAC, resp. Average yields decreased from 8.4 t/ha to 6.2 t/ha.

Keywords: WOFOST model; potential yield; variability; water-limited; spring wheat; sugar beet; national yields

ABSTRAKT: Pomocí modelu WOFOST 6.0 byly simulovány potenciální a vodou limitované výnosy jarní pšenice a cukrovky v letech 1961 až 1993. Pro simulaci byly použity měsíční průměry povětrnostních údajů a denní údaje o srážkách v Praze-Ruzyni. Cílem práce byl odhad vlivu různé modelové zásoby přístupné vláhy ve 100 cm půdního profilu v době vzházení (hodnoty 10 cm, 15 cm a 20 cm WAC) spolu se skutečným množstvím srážek v průběhu vegetační sezony na meziroční variabilitu výnosů. Výsledky byly porovnány s variabilitou potenciálních výnosů, které nejsou limitovány jinými vnějšími faktory než radiací a teplotou. Pro srovnání jsou uvedeny průměrné výnosy a variabilita výnosů obou plodin v ČR v letech 1961 až 1993. Míra meziroční variability simulovaných výnosů cukrovky v období 1961 až 1993, vyjádřená koeficientem variability, byla nejnižší u potenciálních výnosů (9,3 %). Variabilita výnosů se zvyšovala s klesající zásobou vody v půdě z 15,3 % při 20 cm WAC na 30,5 % při 10 cm WAC. Průměrný simulovaný výnos bulev cukrovky za nelimitovaných podmínek dosáhl 16,0 t/ha a s klesající zásobou vody se snižoval až na 12,0 t/ha (v sušině). Meziroční variabilita simulovaných výnosů jarní pšenice a vliv klesající zásoby přístupné vody na jaře byly podobné jako u cukrovky. Všechny výnosy jsou vyjádřeny v sušině. Variabilita se zvýšila z 5,8 % u potenciálních výnosů na 13,0 % při zásobě vody 20 cm WAC a 32,3 % při 10 cm WAC. Průměrný výnos se snížil z 8,4 t/ha na 6,2 t/ha (v sušině). Meziroční variabilita průměrných výnosů jarní pšenice v ČR v letech 1961 až 1993 byla 21,6 % a 14,1 % u cukrovky. Průměrný nárůst výnosů za rok činil v daném období u cukrovky 58 kg/ha a u jarní pšenice 43 kg/ha. Simulované, vodou limitované výnosy jarní pšenice a cukrovky korelovaly pozitivně ($r = +0,57$ a $+0,41$) s průměrnými výnosy v ČR upravenými o trend nárůstu.

Klíčová slova: model WOFOST; potenciální výnos; variabilita; limitovaný vodou; jarní pšenice; cukrovka; republikové výnosy

INTRODUCTION

Crop models have many current and potential uses for answering questions in research, crop management, and policy, as recently summarized by Boote et al. (1996). Among others, crop modelling has been used for estimating the effect of limiting factors on yield as compared to potential yields (e.g. Aggarwal, Kalra,

1994). The potential yields assume conditions of ample supply of nutrients and water, under pest-, disease- and weed-free conditions. Yield predictions and interannual yield variability reflecting fluctuations of weather conditions are of interest to government agencies, commodity firms, and producers (Koning, Diepen, 1992; Koning et al., 1993; Boote et al., 1996; Supit, 1997; Chipanshi et al., 1997).

In modern agriculture water supply presents one of the main constraints. Water consumption for growth has increased as yields have increased in the last decades due to higher inputs and improved genotypes. It brought greater vulnerability to fluctuations in precipitation in rain-fed agriculture. The yield depression is the most severe in a year with a combination of a relatively dry inter-season (autumn and winter), and a dry spring, as it was the case in 1998. It should be mentioned, that the proportion of irrigated wheat and beet in Czech Republic is negligible.

We used the crop growth simulation model WOFOST 6.0 (Hijmans et al., 1994; Supit et al., 1994) to calculate the yield variability of spring wheat and sugar beet under potential (only radiation and temperature-limited) and water-limited conditions in the period 1961 to 1993. The aim of the work was to estimate the combined effect of the accumulated soil moisture reserves at sowing date and of the precipitation during the growing season on interannual yield variability.

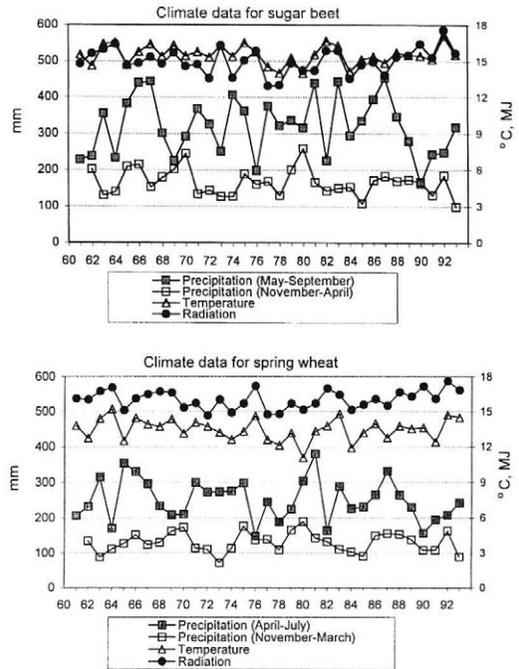
MATERIAL AND METHODS

Crop model and theoretical yield levels

WOFOST 6.0, acronym for World Food Studies, is a generic crop growth model (Diepen et al., 1989; Hijmans et al., 1994; Supit et al., 1994). The suppliers of WOFOST 6.0 are the DLO Winand Staring Centre and the DLO Research Institute for Agrobiology and Soil Fertility in Wageningen, The Netherlands. WOFOST is a process-based model that simulates phenological development and growth of a defined annual field crop in response to meteorological factors. The model describes the potential, water-limited and nutrient-limited production of crops determined by crop species, soil type, hydrologic conditions and weather during the growing season. Potential yields are limited by the temperature and solar radiation regime, and indicate the production ceiling for farming non-limited by water or nutrient shortage neither by other abiotic and biotic stresses. For the simulation of the water-limited yields the soil water balance is taken into account to quantify the possible effect of drought stress on growth. In years without drought stress the water-limited yield equals the potential yield. Crop growth and soil water balance are described with a time resolution of one day in the model.

Model inputs

Time series of monthly mean values for minimum and maximum temperature, sunshine hours, wind speed, and humidity, and daily rain data were available for the period 1961 to 1993 from the meteorological station at Prague airport, near the Research Institute for Crop Production at Prague-Ruzyně (RICP), radiation from Prague-Karlov. Radiation for the period 1961 to



1. The average data on temperature, radiation, sum of precipitation for the period from April to July (spring wheat) and May to September (sugar beet) and inter-season precipitation in the years 1961 to 1993

1993 was calculated from sunhours. We used regression of radiation on sunhours for the period 1984 to 1993 when both sunhours and radiation were observed. These meteorological data were used as driving variables for the simulations (Fig. 1).

We specified water available capacity (WAC = actual water content minus water content at wilting point) at emergence equal to 20 cm, 15 cm and 10 cm water in 100 cm of soil profile (20 WAC, 15 WAC, and 10 WAC, resp.). The amount of water supplied during the growth by precipitation was left unchanged, i.e. as observed. Soil data from experimental fields with long-term spring wheat and sugar beet experiments in RICP (Orthic Luvisol) were supplied. Simulations were performed with a fixed day of sowing (day 90 in a year for spring wheat and day 110 for sugar beet), representing approximately the average sowing days in field experiments. The end day of simulation was determined as a fixed day of beet harvest (day 290) while for spring wheat the end day is a result of the simulation and is determined as date of maturity. We simulated potential and water-limited yields of spring wheat grain and sugar beets in the period from 1961 to 1993. The water-limited yield was simulated for all three WAC values. The coefficient of variation was calculated as the measure of variability of simulated yields and of selected meteorological factors.

From the national agriculture statistics a time series of national average crop yields for wheat and sugar beet were collected for the same period of 33 years. The trends in weather conditions, in simulated yields and in national yields were analyzed, and the correlation between simulated yields (for Prague) and national average yields were studied using linear regression.

RESULTS

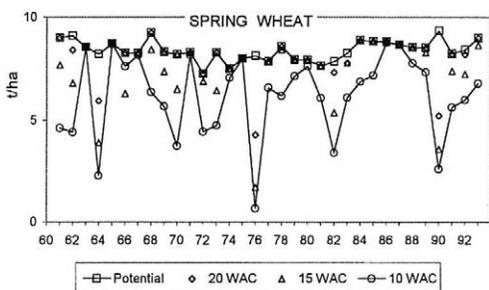
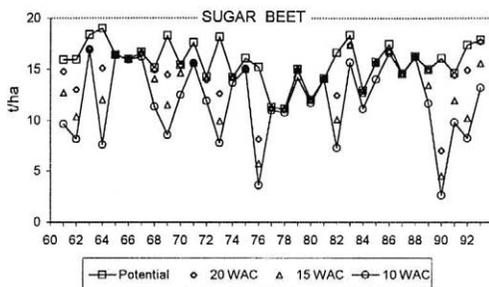
Meteorological factors

The course and fluctuations of sum of precipitation, average temperature and radiation for the period from May to September, the main growing period of sugar beet, in the years from 1961 to 1993 are shown in Fig. 1. Average precipitation was 321 mm, with the range from 163 mm to 454 mm, inter-year variability was 24.8%. Average daily temperature and sum of radiation from May to September were 15.5 °C and 15.0 MJ, resp. The corresponding inter-year variability reached 4.5% and 6.9%, resp.

The climatic data for spring wheat's main growing period (from April to July) are shown in Fig. 1. Average sum of precipitation reached 251 mm, and it ranged from 149 mm to 380 mm, with the inter-year variability 22.7%. Average daily temperature and sum of radiation were 13.5 °C and 16.0 MJ, resp. The corresponding inter-year variability reached 6.8% and 7.7%, resp. The sum of precipitation from November to March (April), as the estimation of soil water supply at spring, had a variability of 22% (22%), with the range between 72 mm and 190 mm (98 mm and 259 mm).

Sugar beet

Simulated non-limited potential sugar beet yields averaged 16.0 t/ha (in dry matter). There was a period of lower simulated potential yields during the seventies. There was a decreasing linear trend in simulated potential yields in beet (-34 kg/ha per year) in the 33 years



2. Simulated potential and water-limited spring wheat and sugar beet dry matter yields (t/ha) in Praha-Ruzyně (WAC = initial available soil moisture in 100 cm soil profile at emergence)

period (Fig. 3). Under water-limited conditions, the simulated yields decreased from 14.4 t/ha at 20 cm available water capacity at emergence (20 WAC) to 12.0 t/ha at 10 WAC (Fig. 2 and Tab. I). Decreasing water supply at spring from 20 WAC to 10 WAC increased yield variability from 15.3% to 30.5%. The greatest depressions in yields (under 30% of non-limited potential ones), were simulated in the years 1964, 1976 and 1990 with only 233, 198 and 163 mm of rain from April to July, resp., which is low in comparison with the average of 321 mm in 1961 to 1993 (Figs. 1, 2).

Average national yields (in dry matter) of sugar beet in Czech Republic (Švec, 1998) are shown in Fig. 3.

I. The summary of average simulated and national sugar beet and spring wheat yields (in dry matter, t/ha) and their variability (CV - coefficient of variation, %) during the years 1961 to 1993

Simulated		Potential	Water-limited		
			20 WAC	15 WAC	10 WAC
Beet	average yield	16.0	14.4	13.4	12.0
	CV (%)	9.3	15.3	21.9	30.5
Wheat	average yield	8.4	8.0	7.4	6.2
	CV (%)	5.8	13.0	22.0	32.3
National yields		wheat	beet	wheat	beet
Average yield		2.9	7.8	2.0	7.1
CV (%)		21.6	14.1	14.8	14.4

* national yields were recalculated as that there was no increasing trend

The variability of national yields was 14.1% in beet (Tab. I). The calculated linear increase during the period 1961 to 1993 was 43 kg/ha per year. However, unlike wheat it was less regular in beet ($r = +0.27$). The relationships between water-limited (15 WAC) and national yields in beet were positive in the whole period ($r = +0.41$). Simulated potential beet yields were negatively correlated with national yields ($r = -0.22$).

Spring wheat

Average simulated potential yields in spring wheat reached 8.4 t/ha. As in sugar beets, there was a period of lower simulated potential yields during the seventies. Unlike beet, there was a slight increasing trend in simulated potential wheat yields, +3.9 kg/ha per year in the 33 years period.

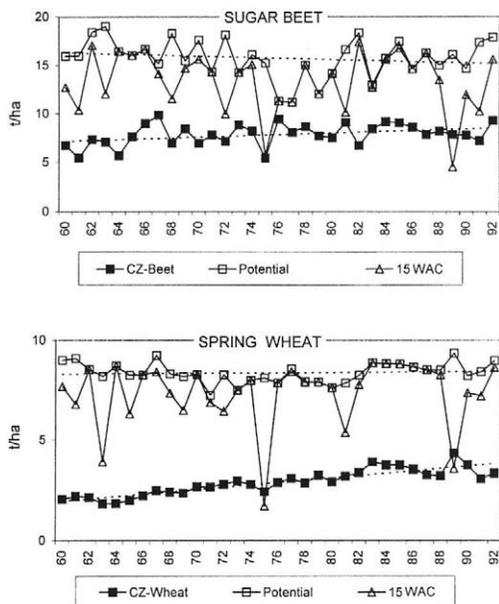
Average water-limited yields decreased from 8.0 t/ha to 6.2 t/ha from 20 WAC to 10 WAC, resp. The yield variability and the effect of decreased water supply at spring were similar to those of sugar beet (Fig. 2 and Tab. I). Yield variability increased from 5.8% at potential yields to 32.3% at 10 WAC.

Average national yields (in dry matter) of spring wheat in Czech Republic (Švec, 1998) are shown in Fig. 3. The calculated linear increasing trends of wheat during the period 1961 to 1993 were 58 kg/ha per year, almost doubling the yield level at the start of the period. The year to year trend of national yields was near linear in wheat ($r = +0.88$), but the variability of yields was 21.6%, higher than in beet, due to great absolute increase of yield level during the period. However, when yields were corrected for the linear trend, the variability was almost the same in both crops (Fig. 3 and Tab. I). The potential and water-limited simulated wheat yields (corrected for long-term trends) in Prague-Ruzyně correlated positively with average national yields ($r = +0.29$ and $+0.57$, resp.) only when the last five years were omitted.

DISCUSSION

We used the WOFOST model to estimate the combined effects of the accumulated soil moisture reserves at spring and of the precipitation during the growing season on interannual yield variability in sugar beet and spring wheat during the period 1961 to 1993.

As expected, the decreasing soil water supply at spring increased vulnerability of both crops to water shortage during the growth period. It decreased water-limited yields and increased greatly yield variability in both crops. Decreasing water supply had similar effect on the variability in both crops. Decreasing the water reserve at spring by 50 l/m² (from 20 WAC to 15 WAC), that represents about 20% or 15% of average sum of rain during growth of spring wheat and sugar beet, resp., caused the 9% or 7% increase in yield variability



3. The comparison of national average yields of spring wheat and sugar beet (t/ha) in Czech Republic (CZ) and simulated yields in Praha-Ruzyně; linear trends of national and potential simulated yields are shown as dotted lines

during the 33 experimental years. Precipitation had the highest variability of basic climatic data. The range of the sum of precipitation was over 100% in the period 1961 to 1993, both in inter-season and during growth period. It suggests that the variability of precipitation, both during vegetation period and in inter-season, will be an important factor affecting the year to year fluctuations of yields.

The water reserves of 15 cm or 20 cm of available water in 100 cm profile (15 or 20 WAC) are realistic estimations of spring soil reserve under soil and climatic conditions prevailing in the main production regions of Czech Republic. The water reserve of 10 cm (10 WAC) could be observed only in extremely dry inter-season periods or on soils with a low water-holding capacity. However, 14 out of 33 years had precipitation lower than 12 cm between November to March. Even under generally low winter evaporation this precipitation could be insufficient in the case of a previous dry autumn and following dry spring. Fortunately for farmers, the coincidence of a dry autumn, a dry inter-season and a low precipitation during the following growth period is not frequent (years 1964, 1982, 1990, Fig. 1).

We observed a slightly increasing trend of simulated potential yields in wheat but a decreasing one in beet over the 33-year period. The reason is probably the favourable weather with higher levels of radiation and temperature during the sixties and the first half of the

seventies bringing several high simulated yields in beet. In wheat, distinctly higher potential yields could be noted during the eighties and the start of nineties, causing an upward trend. The higher yields are related to a higher radiation in the growing period of wheat (April to July). The increase of average radiation during the growing period of beet (May to September) in the end of eighties was less pronounced.

Potential yields of wheat (simulated with weather data from Prague) were about four times greater than the level of national average at the start of the sixties. The gap decreased due to a steady increase of yield level. Average national yields of beet were nearer to potential yields level. National yields of both crops had the same interannual yield variability after they were corrected for the trend (detrended) and they were near the simulated variability for water-limited (20 WAC) yields.

We found a positive correlation of national yields with simulated yields at 15 and 20 WAC rather than with 10 WAC or potential yields. The positive correlations between simulated and average national suggest there are general trends in the effect of weather on yields along the whole country. Weather data come from Prague, situated approximately in the center of Czech Republic with climate conditions near those of main spring wheat and sugar beet growing areas. However, there is a need to take into consideration possible manipulations with statistic (census) data by the government in last decades. Changes in harvest technology, especially in beet, cultivars, etc., during 33 years, adverse abiotic and biotic factors in some years (Moulin, Beckie, 1993; Toure et al., 1994; Donatelli et al., 1997) could distort both the observed and statistical data on national yields. Also, changes in technology and cultivars may increase not only yield but also (absolute or relative) yield stability (Slafer, Kernich, 1996). Many parameters needed to run the complex model could not be supplied for old long-term yield data, farm or regional data.

Besides the progress in modelling during last decades, there are still possibilities of improving the reliability of simulation (e.g. Smit, Struik, 1995). Moulin, Beckie (1993) used two simulation models to predict spring wheat grain yield from long-term experiments (1960 to 1989). Both models predicted annual yields poorly ($R^2 = 0.16$), but long-term mean yield was predicted better. The same result described Toure et al. (1994) who found great differences among five simulation models used for spring wheat from 1912 to 1992 ($R^2 > 0.25$) and similarly to Moulin, Beckie (1993) the models underestimated yields in high-yielding environments and overestimated in low-yielding ones. It should be stressed that in the most of above simulations some parameters defining a general level of observed yield were inputted in the simulation. In our simulation no such forehead calibration was attempted.

Presented results of simulations showed that combined effects of the different levels of accumulated soil

moisture reserves at emergence date and of the precipitation during the growing season strongly affected interannual yield variability during the period 1961 to 1993. The variability was lowest under non-limiting condition, 9.3% and 5.8% in beet and wheat, resp., and it increased from 15.3% and 13.0% under 20 cm water available capacity to 30.5% and 32.3% in beet and wheat, resp., under 10 cm WAC.

Acknowledgements

This work was partially supported by the grant NA AR EP 096000 6466 from the Czech National Agency for Agricultural Research (NAZV).

REFERENCES

- Aggarwal P. K., Kalra N. (1994): Analyzing the limitations set by climatic factors, genotype and water and nitrogen availability on productivity of wheat: Climatically potential yields and management strategies. *Field Crops Res.*, 38: 93–103.
- Boote K. J., Jones J. W., Pickering N. B. (1996): Potential uses and limitations of crop models. *Agron. J.*, 88: 704–716.
- Chipanishi A. C., Ripley E. A., Lawford R. G. (1997): Early prediction of spring wheat yields in Saskatchewan from current and historical weather data using the CERES-wheat model. *Agric. For. Meteorol.*, 84: 223–232.
- Diepen C. A. van, Wolf J., Keulen H. van, Rappoldt C. (1989): WOFOST: A simulation model of crop production. *Soil Use Mgmt.*, 5: 16–24.
- Donatelli M., Stockle C., Ceotto E., Rinaldi M. (1977): Evaluation of CropSyst for cropping systems at two locations of northern and southern Italy. *Eur. J. Agron.*, 6: 35–40.
- Hijmans R. J., Guiking-Lens I. M., Diepen C. A. van (1994): WOFOST 6.0. User's guide for the WOFOST 6.0 crop growth simulation model. Technical Document 12. Wageningen, SC-DLO; 140 pp.
- Koning G. H. J. de, Diepen C. A. van (1992): Crop production potential of the rural areas within the European Community. IV: Potential, water-limited and actual crop production. Technical working document W68. Netherl. Sci. Coun. Gov. Pol. The Hague: 83 pp.
- Koning G. H. J. de, Jansen M. J. W., Boons-Prins E. R., Diepen C. A. van, Penning de Vries F. W. T. (1993): Crop growth simulation and statistical validation for regional yield forecasting across the European Community. Simul. Rep. CABO-TT. No. 31. Wageningen, CABO-DLO, SCODLO. 122 pp.
- Moulin A. P., Beckie H. J. (1993): Evaluation of the CERES and EPIC models for predicting spring wheat grain yield over time. *Can. J. Pl. Sci.*, 73: 713–719.
- Slafer G. A., Kernich G. C. (1996): Have changes in yield (1900–1992) been accompanied by a decreased yield stability in Australian cereal production? *Austral. J. Agric. Res.*, 47: 323–334.

- Smit A. B., Struik P. C. (1995): The first step towards a decision-support system for sugar-beet growing: Selection of a basic growth model. *J. Agron. Crop Sci.*, 175: 213–220.
- Supit I. (1997): Predicting national wheat yields using a crop simulation and trend models. *Agric. For. Meteorol.*, 88: 199–214.
- Supit I., Hooijer A. A., Diepen C. A. van (eds.) (1994): System description of the WOFOST 6.0 crop simulation model implemented in CGMS. *Jt. Res. Cent. Comm. Eur. Commun. Luxembourg*. 146 pp.
- Švec J. (1998): Long-term series of yield of crops in Czech Republic. *Statist. Inform. Čes. Statist. Úř.*: 40 pp. (In Czech)
- Touré A., Major D. J., Lindwall C. W. (1994): Comparison of five wheat simulation models in southern Alberta. *Can. J. Pl. Sci.*, 75: 61–68.

Received on February 23, 1999

Contact Address:

Ing. Jan Haberle, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha-Ruzyně, Česká republika, tel.: 02/33 02 22 54, fax: 02/33 31 06 36, e-mail: haberle@hb.vurv.cz

POROVNÁNÍ VYBRANÝCH EXTRAČNÍCH POSTUPŮ PRO STANOVENÍ SÍRY V PŮDÁCH ČR

COMPARISON OF SOME EXTRACTION METHODS FOR DETERMINATION OF SULPHUR IN SOILS OF THE CZECH REPUBLIC

J. Zbírál

Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture, Brno, Czech Republic

ABSTRACT: Input of sulphur in soils from atmospheric depositions has been substantially reduced during the last decade. On the other hand the area of crops with high demand of this element has risen. That is the reason why sulphur is becoming the element of interest for plant nutrition in the Czech Republic. The study was focused on the incorporation of the determination of sulphur into the regular soil testing scheme which is based on Mehlich III extraction method. Extraction of finely ground soil (particles < 0.250 mm) with water according to ISO 11048 was the method used for the determination of sulphur most frequently. The influence of soil particle size for water extraction and Mehlich III extraction, the relationship between sulphate sulphur and total sulphur in water soil extracts and relationships between water, Mehlich III and aqua regia soil extracts were studied. 147 soil samples collected from the soil monitoring plots were used for the evaluation of the relationships between the extraction methods (water extraction, Mehlich III and aqua regia) and between sulphate sulphur and total extracted sulphur. 29 topsoil and 29 subsoil samples from the South-Moravian region were used for evaluation of the influence of soil particle size on extraction of sulphur. The increase of sulphur extraction for finely ground samples (< 0.250 mm) for water and Mehlich III extracts was only 4 to 6% ($R^2 = 0.98$) compared to ordinary prepared soil samples (< 2 mm). Linear relationship ($R^2 = 0.91$) between the sulphate sulphur and the total sulphur extracted by water was found. Extracted sulphate sulphur was determined by capillary zone electrophoresis and total extracted sulphur by ICP-AES. Approximately 70% of the total extracted sulphur was present as sulphate sulphur. Between water extraction and Mehlich III extraction a statistically highly significant linear relationship was found ($R^2 = 0.62$). Conversion equations may be used for recalculation of criteria but field and pot experiments will be necessary to establish a more precise relationship between determination of sulphur in Mehlich III soil extracts and the plant uptake. Between content of sulphur in aqua regia extracts and the other studied extraction methods no relationship was found.

Keywords: soil extraction; sulphur; Mehlich III

ABSTRAKT: Soubor vzorků půd odebraných v rámci bazálního monitoringu půd ČR byl použit k porovnání některých extrakčních postupů pro stanovení síry. Srovnávána byla extrakce vodou podle ČSN ISO 11048, extrakce podle Mehlicha III a extrakce lučavkou královskou. Ve vodných extraktech byl kromě celkového obsahu síry (stanoveného metodou atomové emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu) stanoven i obsah síranové síry (metodou kapilární zonální elektroforézy). Kromě porovnání extrakčních postupů byla zjišťována i závislost extrakce na jemnosti mletí půdních vzorků a vztah mezi celkovou a síranovou sírou ve vodných extraktech. Bylo zjištěno, že úprava velikosti částic na < 0,25 mm ovlivní výsledky jen velmi málo (zvýšení asi o 6 ± 4 %). Mezi celkovým obsahem síry a obsahem síranů ve vodných extraktech byl zjištěn statisticky vysoce průkazný vztah, který naznačuje možnost rovnováhy mezi obsahem síranů v půdním roztoku a obsahem síry v jejich ostatních rozpustných sloučeninách. Mezi metodou Mehlich III a extrakcí vodou byl zjištěn statisticky vysoce průkazný vztah ($R^2 = 0,62$), který je možné použít pro orientační přepočítání kritérií. Podle očekávání nebyla zjištěna žádná závislost mezi celkovým obsahem síry v extraktu lučavkou královskou a vodou, resp. podle Mehlicha III.

Klíčová slova: extrakce půd; síra; Mehlich III

ÚVOD

Příslus síry do půdy ve formě atmosférických spadů byl až donedávna více než dostatečný. Zájem o síru v ČR narůstá úměrně se snižováním obsahu síry v at-

mosférických spadech a s rozšiřováním pěstování plodin náročných na síru (Richter, Hřivna, 1998).

Síra se v půdách nachází v organické i anorganické formě. V anorganické formě se síra nejčastěji vyskytuje jako síran, v anareobních podmínkách pak i ve formě

sulfidů. Obsah organicky vázané síry indikuje dlouhodobou zásobu tohoto prvku v půdě (Watkinson, Kear, 1996b). Změny obsahu síranů v půdě závisejí na mikrobiální aktivitě půdy, sorpci, srážkách, povrchovém odtoku, průsaku a vstupu z imisí a hnojiv (Mengel, Kirkby, 1987; David et al., 1991; Anderson et al., 1992; Richter, Hřivna, 1998). Watkinson, Kear (1996a) zjistili, že na trvalých travních porostech je možné definovat rovnováhu mezi labilní organicky vázanou sírou a sírou anorganickou.

Pro extrakci rostlinám přístupné síry z půdy se využívá celá řada různých postupů. Některé z nich umožňují rozlišit organicky a anorganicky vázanou síru. Pro stanovení organicky vázané síry se využívá často extrakce za horka (především roztokem 0,25 M KCl) a dále extrakce roztokem hydroxidu sodného a hydrogenuhlíčitanu sodného při pH 8,5 (Anderson et al., 1992). Podrobný pracovní postup extrakce půd pro vybrané extrakční postupy uvádějí Lisle et al. (1994). Watkinson, Kear (1996b) doporučují pro stanovení rostlinám přístupné síry extrakci roztokem dihydrogenfosforečnanu draselného, který na rozdíl od dihydrogenfosforečnanu vápenatého extrahuje i část organicky vázané síry a lépe odráží její přístupnost. Stanovení síranové síry v extraktu vodou v poměru 1 : 2 a v poměru 1 : 5 a v extraktu zředěnou kyselinou chlorovodíkovou je součástí ČSN ISO 11048 (1997). Norma předpokládá úpravu vzorků půdy na částice < 0,250 mm.

Metodu Mehlich III testovali pro určení rostlinám přístupné síry Rao, Sharma (1997). Porovnávali extrakční činidlo Mehlich III (Mehlich, 1984) s extrakcí hydrogenfosforečnanem vápenatým bez úpravy pH i po okyselení kyselinou octovou, s extrakcí roztokem chloridu vápenatého a extrakčním roztokem podle Morgana (octan amonný, kyselina octová). Nalezli korelaci mezi použitými extrakčními činidly, a to jak pro ornici, tak i pro podorničí. V případě metody Mehlich III bylo 83 až 87 % variability vysvětleno vodorozpustnou a adsorbovanou síranovou frakcí. Pouze síra extrahovaná z ornice metodou Mehlich III korelovala signifikantně s příjmem síry testovanými rostlinami.

Pro stanovení síry se využívá celá řada analytických postupů. Je možné je rozdělit na postupy stanovující v extraktu buď celkový obsah síry, nebo pouze síraný. Nejčastěji se obsah síranů v extraktu stanovuje po vysrážení jako síran barnatý turbidimetricky, zpravidla při 470 nm (Verma et al., 1977; David et al., 1989; Menzies, Kamení, 1996). Pro stanovení síranů spolu s dalšími anionty je vhodné využití iontové chromatografie (Dick, Tabatabai, 1979) nebo kapilární zonální elektroforézy (Zbírál, 1998).

Pro stanovení celkového obsahu síry v extraktech půd je velmi výhodné použití atomové emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu (Prietzel et al., 1997; Hatilainen, Tummavuori, 1996).

V této práci byl sledován vliv velikosti částic půdních vzorků na stanovení síry. Dále bylo porovnáno stanovení extrakcí vodou, podle Mehlicha III a lučavkou královskou. Cílem práce bylo zjistit nutnost spe-

ciální úpravy vzorků před extrakcí vodou, odvodit vztah mezi metodou Mehlich III a extrakcí vodou, případně vztahy mezi dalšími postupy a jejich variantami a dále posoudit možnosti uplatnění metody Mehlich III, která je v ČR využívána pro stanovení přijatelného fosforu, draslíku, hořčíku a vápníku (Zbírál, Němec, 1999) i síry. Pro stanovení celkového obsahu síry v extraktech byla použita metoda atomové emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu (ICP-AES) a pro stanovení síranové formy síry ve vodných extraktech metoda kapilární zonální elektroforézy (CZE).

MATERIÁL A METODA

Přístroje a zařízení. Pro měření byl používán přístroj ICP-AES JY-138 ULTRACE firmy Jobin-Yvon (Francie) s koncentrickým zmlžovačem (Meinhard) a pro CZE přístroj CES-1 (Dionex Corp., USA) s křemennou kapilárou o průměru 50 μ m a délce 50 cm (45 cm k detektoru) s nepřímou spektrofotometrickou detekcí při vlnové délce 250 nm. Vysoce čistá voda byla připravena pomocí zařízení MilliQ (Millipore Corp., USA). Extrakce probíhala na rotační třepačce pro 100 vzorků (ÚKZÚZ Brno), pro úpravu vzorků na prosev < 2 mm byla použita půdní prosévačka (ÚKZÚZ Brno), pro úpravu vzorků na velikost částic < 0,250 mm achátová třecí miska a dále běžné vybavení laboratoře.

Chemikálie a roztoky. Všechny chemikálie byly čisté p. a. (Lachema, Brno; Merck, Darmstadt; Fluka, Buchs). Pro přípravu roztoků byla používána vysoce čistá voda. Kalibrační standardní roztoky byly připraveny ředěním certifikovaných základních standardních roztoků (Analytika Praha). Extrakční roztoky byly připravovány vždy čerstvě.

Vzorky. V pokusech byly použity vzorky z bodů bazálního monitoringu půd (Sáňka et al., 1998). Analyzovány byly pouze vzorky z bodů na orné půdě, a to z orníční vrstvy (celkem 147 vzorků). Pro body jihomoravského regionu (29 vzorků) byly realizovány i analýzy podorničí a proběhlo v celém rozsahu i měření vzorků upravených na zrnitost < 0,250 mm. Obsah síry v extraktu lučavkou královskou byl stanoven analýzou archivu mineralizátů z jednotlivých ploch. Popisná statistika souboru vzorků z hlediska obsahu síry v jednotlivých extraktech je uvedena v tab. I.

Extrakce. Extrakce vodou byla prováděna podle normy ČSN ISO 11048 (1997) (10 g půdy, 50 ml vody). Extrakty byly odstřeďovány 30 min při 4000 ot/min. Vzorky byly analyzovány ještě tentýž den. Před stanovením kapilární zonální elektroforézou byly vzorky znovu filtrovány přes filtr o velikosti pórů < 0,45 μ m. Obsah síry v extraktu podle Mehlicha III byl stanoven podle JPP ÚKZÚZ (Zbírál, 1995). V každém postupu (s výjimkou stanovení v extraktech lučavkou královskou) byl vždy vzorek analyzován ve dvou paralelních stanoveních. Extrakce lučavkou královskou proběhla podle JPP ÚKZÚZ (Zbírál, 1996).

I. Popisná statistika souboru (obsah síry v $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) – Descriptive statistics (sulphur content in $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

		WCZE	WICP	MIII	AR
Aritmetický průměr ¹		8,67	11,8	15,6	226
Medián ² (M)		7,61	10,4	14,9	213
Kvartil ³ (F)	L	6,09	8,32	11,1	182
	U	9,52	13,1	18,3	258
Oktil ⁴ (E)	L	4,90	7,39	9,68	160
	U	12,5	16,5	21,6	298
Sedecil ⁵ (D)	L	4,30	6,45	8,50	144
	U	15,4	22,1	24,3	332
Min		2,95	4,90	7,51	77,5
Max		45,1	54,5	57,7	553

L = dolní mez – lower limit, U = horní mez – upper limit

¹arithmetic mean, ²median, ³quartile, ⁴octile, ⁵sedecile

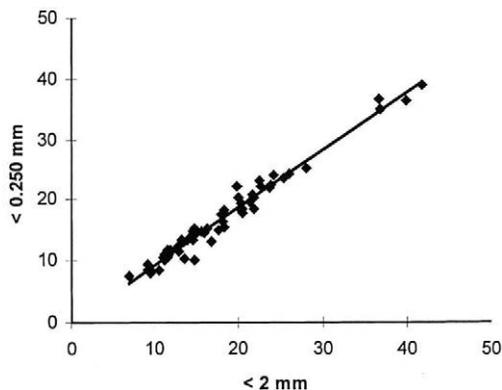
Měření. Měření metodou ICP-AES bylo realizováno při vlnové délce 181,978 nm s odečtem pozadí při $-0,0768$ nm. Výkon generátoru činil 1 kW, další nastavení podle doporučení výrobce. Měření bylo prováděno metodou kalibrační křivky. Ve všech případech bylo složení matrice kalibračních standardních roztoků a extraktů shodné. Kalibrační křivky byly vždy lineární v celém rozsahu měření. Pro měření metodou CZE byl používán pufr TEMED (Zbiral, 1998) za podmínek popsaných v citované práci. Kalibrační křivka byla lineární v celém rozsahu měření.

Statistické zpracování. Pro statistické zpracování výsledků byly využity programy Excel 97 (Microsoft, Redmont, USA), Axum 5.0 (MathCad, UK) a Adstat 2.0 (Trilobyte, Pardubice). Testování odlehých a extrémních bodů proběhlo počtem testem reziduí a dále za pomoci grafů identifikace vlivných bodů (Meloun, Militký, 1994). Všechny statistické výpočty byly realizovány (pokud není uvedeno jinak) na 95% hladině významnosti ($\alpha = 0,05$).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Vliv velikosti částic na extrakci síry

Norma ČSN ISO 11048 (1997) požaduje, aby vzorek pro stanovení síry byl pro extrakci upraven na velikost částic $< 0,250$ mm. Běžná úprava vzorků půd pro analýzu je na velikost částic < 2 mm. Pro zjištění vlivu velikosti částic byl podsoubor vzorků, který reprezentoval odběrová místa jihomoravského regionu (29 odběrových míst, odebrány vzorky ornice i podorničí), analyzován v extraktu vodou (pro obě metody koncového měření) a podle Mehlicha III pro obě zkoumané velikosti částic. Byly analyzovány vzorky ornice i podorničí a statisticky byl vždy zpracován celý soubor i samostatné podsoubory ornice a podorničí. Vyhodnocení proběhlo pomocí lineární regrese. Pro všechny sledované metody a pro vzorky ornice i podorničí byl vliv ve-



1. Vliv jemnosti mletí na stanovení síry (extrakty podle Mehlicha III, stanovení metodou ICP-AES) ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) – Influence of particle size on the sulphur determination (Mehlich III extracts, ICP-AES determination) ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)

likosti částic statisticky významný. Výsledky regresní analýzy jsou pro různé způsoby extrakce uvedeny v tab. II. Regresní závislost je znázorněna graficky na obr. 1. Z výsledků vyplývá, že vliv velikosti částic je shodný pro ornici i podorničí. Pro vodné extrakty půd jsou hodnoty změřené metodou ICP-AES v extraktech půd o velikosti částic $< 0,25$ mm asi o $6\% \pm 4\%$ vyšší než v extraktech půd o velikosti částic < 2 mm. Vodné extrakty půd měřené metodou CZE vykazují obdobnou závislost. Extrakty podle Mehlicha III vykazují obdobný vliv jako vodné extrakty měřené metodou ICP-AES. Pro velikost částic < 2 mm se extrahovalo asi o $5\% \pm 4\%$ méně síry.

Porovnání výsledků naměřených ve vodných extraktech metodami CZE a ICP-AES (velikost částic < 2 mm)

Metoda ICP-AES stanovuje celkové množství síry v roztoku, metoda CZE pouze obsah síranů v roztoku. Byla vypočítána regresní závislost mezi oběma metodami. Výsledky lineární regrese jsou uvedeny v tab. III, regresní závislost pro všechny vzorky na obr. 2. Z výsledků vyplývá, že mezi hodnotami zjištěnými oběma metodami je statisticky vysoce průkazná lineární závislost. Absolutní člen regresních rovnic byl ve všech případech statisticky nevýznamně odlišný od nuly. Z hodnot směrnice regresní přímky je zřejmé, že hodnoty zjištěné metodou ICP-AES byly asi o 30% vyšší než metodou CZE. To znamená, že asi 30% síry extrahované vodou bylo v jiné formě než síranové. Poměr obsahů síry naměřených metodami ICP-AES a CZE (WICP/WCZE) se pohyboval v rozmezí $0,92$ až $2,8$.

Porovnání extrakce vodou a podle Mehlicha III

Výsledky byly vyhodnoceny pomocí lineární regrese. Hodnoty získané extrakcí vodou a podle Mehlicha III

II. Vliv jemnosti mletí (lineární regrese) – Influence of soil particle size (linear regression)

Metoda ¹	Regrese ²	Parametr ³	Výpočet ⁴	IS (±)	R ²	Vyloučené body ⁵
WICP	A	B0	0,444	0,507	0,984	1
		B1	0,941	0,032		
	T	B0	0,434	0,563	0,988	2
		B1	0,935	0,041		
	S	B0	0,503	0,771	0,987	1
		B1	0,940	0,043		
WCZE	A	B0	1,198	0,523	0,965	3
		B1	0,839	0,044		
	T	B0	2,059	1,133	0,796	4
		B1	0,707	0,158		
	S	B0	1,450	1,012	0,944	3
		B1	0,820	0,084		
MIII	A	B0	-0,150	0,717	0,981	3
		B1	0,946	0,036		
	T	B0	0,722	0,832	0,981	1
		B1	0,881	0,051		
	S	B0	-0,378	1,270	0,981	2
		B1	0,962	0,056		

$$Y = B0 + B1X, Y < 2 \text{ mm}, X < 0,250 \text{ mm}$$

Vysvětlivky k tab. II až V – Explanations to Tabs. II to V:

A = všechny vzorky – all samples (n = 58)

T = ornice – topsoil (n = 29)

S = podorničí – subsoil (n = 29)

IS (±) = interval spolehlivosti parametru B0, resp. B1 – confidence interval of parameter B0, B1 resp.

¹method, ²regression, ³parameter, ⁴results, ⁵number of outliers

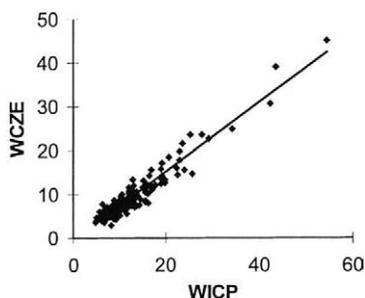
III. Vztah mezi síranovou a celkovou sírou ve vodném extraktu – Relationship between sulphate and total sulphur in water extracts

Regrese ²	Parametr ³	Výpočet ⁴	IS (±)	R ²	Vyloučené body ⁵
A	B0	-0,299	0,498	0,909	3
	B1	0,765	0,037		
T	B0	0,014	0,210	0,823	3
	B1	0,728	0,056		
S	B0	0,759	1,309	0,921	2
	B1	0,727	0,088		

$$Y = B0 + B1X, Y = \text{CZE (sulphate S)}, X = \text{ICP-AES (total S)}$$

For 2–5 see Tab. II

jsou statisticky významně odlišné. Výsledky regresní analýzy jsou pro různé způsoby extrakce uvedeny v tab. IV. Významnost navrženého regresního modelu byla testována Fisher-Snedecorovým testem významnosti regrese na hladinách významnosti $\alpha = 0,01$, resp. $\alpha = 0,05$. Ve všech případech byl navržený model vysoce statisticky významný. Poměry obsahu síry naměřené v extraktu podle Mehlicha III a vodou (MIII/WICP) se pohybovaly v rozmezí 0,6 až 3,5. Vztah mezi celkovým obsahem síry ve extraktu vodou a podle Mehlicha III je těsnější než vztah mezi obsahem síranů ve vodném extraktu a obsahem celkové síry v extraktu podle Mehlicha III. Rovnice



2. Vztah mezi síranovou (WCZE) a celkovou (WICP), vodou extrahovanou sírou z půd (mg.kg⁻¹) – Relationship between sulphate (WCZE) and total extractable sulphur (WICP) for water extracts (mg.kg⁻¹)

uvedené v tab. IV je možné použít pro orientační přepočítání kritérií mezi oběma metodami. Na obr. 3 je uveden graf regresní přímky pro celý soubor vzorků.

Porovnání obsahu síry v extraktech lučavkou královskou, vodou a podle Mehlicha III

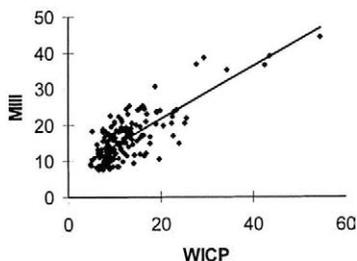
Mezi obsahem síry extrahovaným vodou nebo podle Mehlicha III, resp. lučavkou královskou nebyla prokáz-

IV. Vztah mezi extrakcí vodou a podle Mehlicha III – Relationship between water and Mehlich III extraction

Metoda ¹	Regrese ²	Parametr ³	Výpočet ⁴	IS (±)	R ²	Vyloučené body ⁵
WCZE	A	B0	8,36	0,81	0,553	2
		B1	0,829	0,057		
	T	B0	8,19	0,86	0,353	2
		B1	0,831	0,094		
WICP	A	B0	6,94	0,62	0,622	2
		B1	0,742	0,044		
	T	B0	7,07	0,73	0,519	3
		B1	0,701	0,057		

$Y = B_0 + B_1X$, $Y =$ Mehlich III (ICP-AES), $X =$ water extracts

For 1–5 see Tab. II



3. Vztah mezi extrakcí vodou (WICP) a podle Mehlicha III (MIII) (mg.kg⁻¹) – Relationship between water (WICP) and Mehlich III (MIII) extraction (mg.kg⁻¹)

zána žádná závislost. Vypočtené koeficienty determinace po vyloučení odlehklých bodů byly: WCZE/AR = 0,068, WICP/AR = 0,090 a MIII/AR = 0,17. Zjištěné poměry AR/WICP se pohybovaly v rozmezí 5,3 až 44 a poměry AR/MIII v rozmezí 6,6 až 33.

Použité zkratky – Abbreviations used

- CZE = kapilární zonální elektroforéza – capillary zone electrophoresis
- ICP-AES = atomová emisní spektroskopie v indukčně vázaném plazmatu – atomic emission spectroscopy in inductively coupled plasma
- WCZE = vodný extrakt půd, měřeno CZE – water soil extracts, determination by CZE
- WICP = vodný extrakt půd, měřeno ICP-AES – water soil extracts, determination by ICP-AES
- MIII = extrakt půd podle Mehlicha III – soil extraction according to Mehlich III method
- AR = extrakt lučavkou královskou – aqua regia extraction

LITERATURA

Anderson G., Lefroy R., Chinoim N., Blair G. (1992): Soil sulphur testing. Sulphur Agric., 16: 6–14.

David M. B., Fasth W. J., Vance G. F. (1991): Forest soil response to acid and salt additions of sulfate. I. Sulfur constituents and net retention. Soil Sci., 151 (2): 136–145.

David M. B., Mitchell M. J., Aldcorn D., Harrison R. B. (1989): Analysis of sulfur in soil, plant and sediment and use of an automated analyser. Soil Biol. Biochem., 21 (1): 119–123.

Dick W. A., Tabatabai M. A. (1979): Ion chromatographic determination of sulfate and nitrate in soils. Soil Sci. Soc. Amer. J., 43: 899–904.

Hatilainen R., Tummavuori J. (1996): Determination of sulfur in fertilizers by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry: Spectral and interelemental effects at various wavelengths. J. AOAC Int., 79 (5): 1026–1035.

Lisle L., Lefroy R., Anderson G., Blair G. (1994): Methods for the measurement of sulphur in plants and soil. Sulphur Agric., 18: 45–54.

Mehlich A. (1984): Mehlich No 3 extractant: A modification of Mehlich No 2 extractant. Commun. Soil Sci. Pl. Anal., 15 (12): 1409–1416.

Meloun M., Militký J. (1994): Statistické zpracování experimentálních dat. Plus Praha.

Mengel K., Kirgby E. A. (1987): Principles of plant nutrition. 4th ed. Int. Potash Inst. Basel, Switzerland.

Menzies N. W., Kamení R. (1996): Use of dialysis to limit interferences in the turbidimetric determination of sulfate. Commun. Soil Sci. Pl. Anal., 27 (9–10): 2159–2169.

Prietzel J., Cronauer H., Strehl C. (1997): Determination of dissolved total sulfur in aqueous extracts and seepage water of forest soils. J. Envir. Anal. Chem., 64 (3): 193–203.

Rao T. N., Sharma P. K. (1997): Evaluation of Mehlich III as an extractant for available soil sulfur. Commun. Soil Sci. Pl. Anal., 28 (13–14): 1033–1046.

Richter R., Hřivna L. (1998): Úloha síry při pěstování ozimé řepky. Úroda, 9: 16–17.

Sáňka M., Chvátal V., Němec P. (1998): Bazální monitoring zemědělských půd a monitoring atmosférické depozice. Metodické postupy. Brno, ÚKZÚZ.

- Verma B. C., Swaminathan K., Sud K. C. (1977): An improved turbidimetric procedure for the determination of sulfate in plant and soils. *Talanta*, 24: 49–50.
- Watkinson D. H., Kear M. J. (1996a): Sulfate and mineralizable organic sulfur in pastoral soils of New Zealand. 1. A quasi equilibrium between sulfate and mineralizable organic sulfur. *Austral. J. Soil Res.*, 34 (3): 353–403.
- Watkinson D. H., Kear M. J. (1996b): Sulfate and mineralizable organic sulfur in pastoral soils of New Zealand. 2. A soil test for mineralizable organic sulfur. *Austral. J. Soil Res.*, 34 (3): 405–412.
- Zbírál J. (1995): Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ. Analýza půd I. Brno, ÚKZÚZ. 175 s.
- Zbírál J. (1996): Jednotné pracovní postupy ÚKZÚZ. Analýza půd II. Brno, ÚKZÚZ. 200 s.
- Zbírál J. (1998): Determination of some inorganic anions in soil extracts and atmospheric deposition using capillary electrophoresis. *Commun. Soil Sci. Pl. Anal.*, 29 (11–14): 1585–1592.
- Zbírál J., Němec P. (1999): Porovnání extrakčních postupů podle Mehlicha II a Mehlicha III pro stanovení přístupného fosforu, draslíku, hořčíku a vápníku v půdách ČR. *Rostl. Vyr.*, 45 (1): 1–7.
- ČSN ISO 11048 (1997): Kvalita půdy. Stanovení síranů rozpustných ve vodě a síranů rozpustných v kyselině. Praha.

Došlo 25. 3. 1999

Kontakní adresa:

RNDr. Jiří Zbírál, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Hroznová 2, 656 06 Brno, Česká republika, tel.: 05/43 54 82 89, fax: 05/43 21 73 25, e-mail: zbiral@lo.zeus.cz

ANALÝZA KONKURENČNÍCH VZTAHŮ MEZI OZIMOU PŠENICÍ A JEDNOLETÝMI PLEVELNÝMI DRUHY

ANALYSIS OF COMPETITION BETWEEN WINTER WHEAT AND ANNUAL WEED SPECIES

K. Klem, M. Váňová

Agricultural Research Institute, s. r. o., Kroměříž, Czech Republic

ABSTRACT: In 1995 to 1997 the development of weed dry weight and the so-called crop equivalent were studied in natural weed infestation to assess competitive effects of annual weed species. The crop equivalent is the ratio between weed dry weight per plant and winter wheat dry weight per plant. The aim was to find reliable conversion factors, which allow transformation mixed weed infestation into weed units. This approach is necessary to predict the economic benefit from weed management and to determine economic threshold values. In early spring the competitive ability of most weeds against winter wheat is low. The crop equivalents range in this period from 0.1 to 0.3. As the most competitive species in early spring were discovered *Galium aparine* and *Stellaria media*. The most important period with regard to weed competition is the time after wheat heading when weight of some weeds increases to a level close to wheat dry weight per plant or exceeds it. In the second half of the growing seasons, there is also considerable differentiation between individual weed species. A weed species of high competitiveness in second half of the growing season are *Galium aparine* and *Papaver rhoeas*. Values of crop equivalents could be related to state and competitiveness of winter wheat as were found out in different crop rotation. To recalculate weed infestation in mixed populations into weed units are most reliable crop equivalents from period after wheat heading. The relationship between weed units and yield has linear course and is in most cases highly significant.

Keywords: weed competition; winter wheat; crop equivalents; yield; crop rotation

ABSTRAKT: V letech 1995 až 1997 byl pro stanovení konkurenčního vlivu jednoletých plevelných druhů v podmínkách přirozeného zaplevelení sledován vývoj hmotnosti sušiny plevelů a tzv. plodínový ekvivalent, daný poměrem hmotnosti sušiny jedné rostliny plevelů k hmotnosti sušiny jedné rostliny ozimé pšenice. Cílem bylo nalezení vhodných konverzních faktorů, umožňujících přepočít smíšeného zaplevelení v porostech ozimé pšenice na plevelné jednotky, který je nezbytný pro predikci ekonomické efektivity ochrany a pro stanovení prahových hodnot. V časném jarním období je konkurenční schopnost většiny plevelných druhů vůči ozimé pšenici nízká. V tomto období se hodnoty plodínových ekvivalentů pohybují v průměru na úrovni 0,1 až 0,3. Nejvyšší konkurenční efekt v časném jarním období mají *Galium aparine* a *Stellaria media*. Nejvýznamnějším úsekem z hlediska konkurence plevelů je období po vyetání pšenice, kdy se hmotnost některých plevelů zvyšuje až na úroveň blízkou hmotnosti jedné rostliny pšenice nebo ji překračuje. Ve druhé polovině vegetace dochází také k výrazné diferenciaci mezi jednotlivými plevelnými druhy. Nejvyššího konkurenčního efektu je ve druhé polovině vegetace dosahováno u plevelných druhů *Galium aparine* a *Papaver rhoeas*. Úroveň plodínových ekvivalentů může být ovlivňována stavem a konkurenční schopností pšenice, což bylo prokázáno na porostech po odlišných předplodinách. Pro přepočít smíšeného zaplevelení ozimé pšenice na plevelné jednotky jsou nejvhodnější průměrné plodínové ekvivalenty z období po vyetání ozimé pšenice. Závislost mezi zaplevelením v přepočtených plevelných jednotkách a výnosem zrna má lineární charakter a je ve většině případů vysoce průkazná.

Klíčová slova: konkurence plevelů; ozimá pšenice; plodínové ekvivalenty; výnos; osevní sled

ÚVOD

V polních podmínkách existuje vysoká variabilita zaplevelení jak mezi pozemky, tak v rámci jednoho pozemku. V řadě případů má pak ochrana proti plevelům minimální vliv na výnos. V současné době je nezbytná změna rozhodovacího přístupu, vzhledem ke snižující se ziskovosti pěstování obilnin a silícím tlakům na omezení spotřeby pesticidů. Spíše než na úplnou eliminaci plevelné vegetace je pozornost zaměřována na regulaci

plevelných společenstev na úrovni ekonomicky přípustného zaplevelení. K dosažení tohoto cíle může být použito dvou přístupů: systému ekonomických prahových hodnot zaplevelení (Pannel, 1990; Black, Dyson, 1993) a metody ekonomicky optimálních dávek herbicidů (Christensen, Rasmussen, 1997). Jedním z hlavních problémů pro uplatnění obou přístupů ekonomicky efektivní ochrany proti plevelům je determinace konkurenční schopnosti plevelné populace, tvořené několika plevelnými druhy, pro predikci výnosové reakce na ochranu,

kteřá je ovlivňována řadou okolností, k nimž patří rychlost vzházení plevelů, mortalita plevelných rostlin a relativní konkurenční schopnost jednotlivých plevelných druhů ve vztahu k danému stanovišti a ročníku. Je proto nezbytné nalézt jednoduchý systém, umožňující integraci konkurence z vícedruhových společenstev pro predikci výnosové ztráty. Ačkoliv je známa řada experimentů, sledujících konkurenci mezi plodinou a pleveli především s ohledem na vliv hustoty, jenom zřídka je porovnávána konkurenční schopnost různých plevelných druhů (Zimdahl, 1980). V případě, že je známa závislost výnosové ztráty na hustotě pro každý plevelný druh, je možné předpovídat výnosový pokles transformací hustoty na tzv. ekvivalenty hustoty (Berti, Zanin, 1994). Jiný model přepočtu vyvinul Wilson (1986). Jde o metodu přepočtu hustoty plevelů s použitím tzv. plodinových ekvivalentů, vyjadřujících poměr hmotnosti sušiny mezi jednou plevelnou rostlinou a jednou rostlinou plodiny. Znalost růstové dynamiky plevelných druhů je důležitá pro predikci škodlivosti v jednotlivých fázích růstu (Gustavsson, 1986) a pro stanovení kritického termínu aplikace (Oliver, 1998).

V předložené práci byly v různých podmínkách sledovány konkurenční vztahy mezi pleveli a ozimou pšenicí tak, aby byl nalezen nejvhodnější systém pro kvantifikaci plevelné populace a predikci výnosové ztráty.

MATERIÁL A METODA

V letech 1994 až 1997 byly v podmínkách přirozeného zaplevelení založeny pokusy pro sledování a kvantifikaci konkurenčního efektu jednotlivých plevelných druhů. Metodika řešení byla rozdělena na dvě části. První spočívala v sledování dynamiky vývoje hmotnosti sušiny plevelů a pšenice. Druhá část představovala stanovení konverzních faktorů pro přepočet zaplevelení na plevelné jednotky a sledování závislosti výnosu na zaplevelení.

Sledování dynamiky vývoje hmotnosti sušiny nadzemní biomasy plevelů a pšenice. Pokusy byly založeny na několika lokalitách lišících se půdními podmínkami a předplodinou. Odběry vzorků plevelné populace byly prováděny z plochy 4 x 0,25 m² ve tří- až čtyřtýdenních intervalech z odběrových parcel neošetřovaných proti plevelům. První odběry proběhly v termínu od 19. 3. do 22. 4. v závislosti na začátku vegetace. Pro každý plevelný druh a ozimou pšenici byla stanovena průměrná hmotnost sušiny na jednu rostlinu. Na základě zjištěných hmotností sušiny byly pro každý termín odběru vzorků stanoveny plodinové ekvivalenty jako poměr hmotnosti sušiny jedné rostliny plevelného druhu a jedné rostliny pšenice (Wilson, 1986):

$$CE_i = \frac{W_w}{W_c}$$

kde: CE_i – plodinový ekvivalent pro plevelný druh i
 W_w – hmotnost sušiny jedné rostliny plevelného druhu i
 W_c – hmotnost sušiny jedné rostliny ozimé pšenice

Stanovení konverzních faktorů pro přepočet zaplevelení na plevelné jednotky a sledování závislosti výnosu na zaplevelení. Pokusy, v nichž byla sledována závislost výnosové reakce na zaplevelení, byly zařazeny vždy v rámci pokusů založených ke sledování růstové dynamiky. Široké spektrum zaplevelení bylo docíleno použitím nejrozličnějších variant chemické ochrany (dávky herbicidů, kombinace). Každá varianta proběhla ve čtyřech opakováních, při velikosti parcel 10 m². Na každé parcele byl proveden odpočet hustoty plevelů z plochy 1 m² v době po vymetání pšenice. Hustota plevelů byla přepočtena na plevelné jednotky, přičemž jako konverzních faktorů bylo použito plodinových ekvivalentů:

$$W_{jk} = \sum (CE_i \cdot D_{ijk})$$

kde: W_{jk} – počet plevelných jednotek pro pokus k a variantu j
 CE_i – konverzní faktor pro plevelný druh i
 D_{ijk} – hustota plevelného druhu i u varianty j (počet.m⁻²)

K přepočtu bylo použito plodinových ekvivalentů, zjištěných v různých termínech odběru vzorků tak, aby mohl být vybrán nejvhodnější konverzní faktor.

Pro přepočtu hustoty plevelů na tzv. plevelné jednotky byla stanovena závislost mezi výnosem a zaplevelením. Bylo přitom použito jednoduché lineární regrese, která nejvíce vyhovovala rozložení dat (Black, Dyson, 1993):

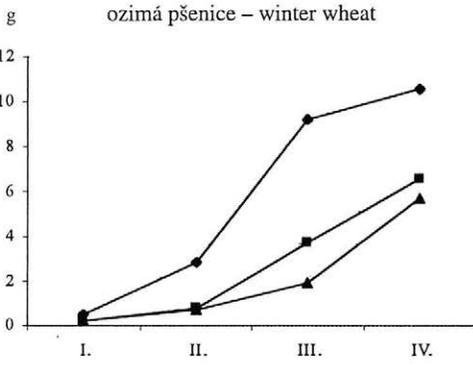
$$Y_{jk} = Y_k - b_k \cdot W_{jk}$$

kde: Y_{jk} – výnos při zaplevelení W_{jk}
 Y_k – výnos odpovídající podmínkám bez plevelů
 b_k – regresní koeficient pro příslušný pokus

VÝSLEDKY

Dynamika nárůstu hmotnosti sušiny sledovaných plevelných druhů i ozimé pšenice se v jednotlivých letech lišila (obr. 1). Nejvyšších přírůstků hmotnosti sušiny na jednu rostlinu bylo dosaženo v roce 1995. Ročníky 1996 a 1997 pak byly z pohledu růstových křivek pro sledované plevelné druhy i pšenici srovnatelné. Ročníkové rozdíly ve vývoji hmotnosti sušiny jsou pouze v absolutních hodnotách, přičemž jsou shodně ovlivněny jak jednotlivé plevelné druhy, tak i pšenice. Zatímco rozdíly v hmotnosti sušiny byly mezi ročníky vyšší a v několika případech rovněž průkazné, plodinové ekvivalenty (poměr hmotnosti sušiny jedné rostliny plevelu k hmotnosti sušiny jedné rostliny plodiny) se měnily mezi ročníky minimálně (tab. I).

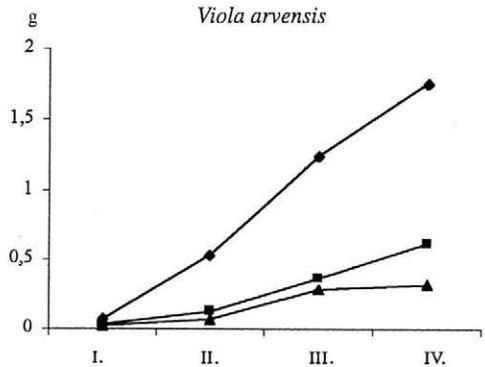
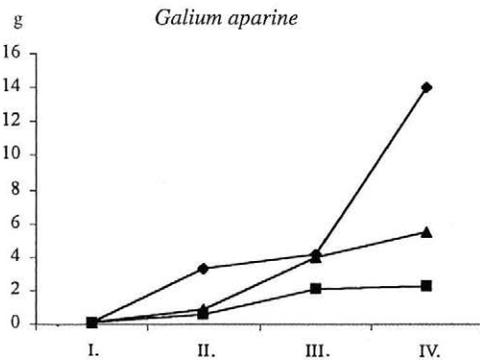
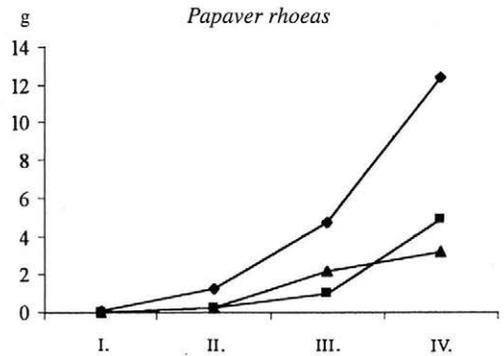
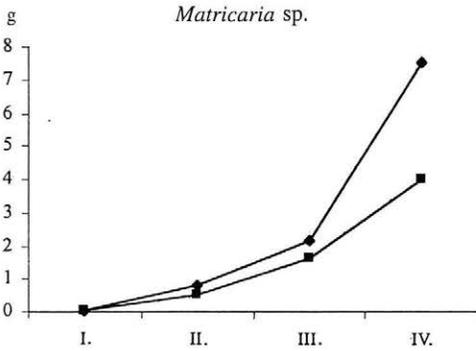
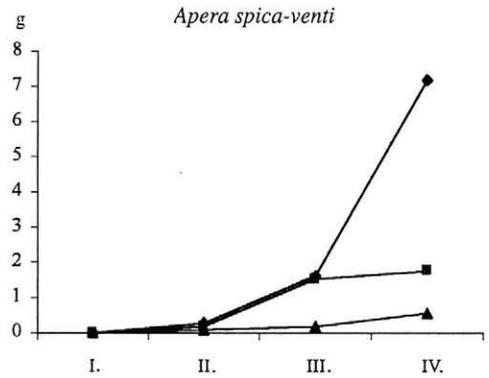
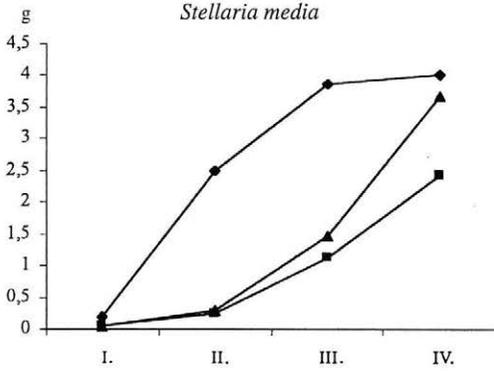
Křivka vývoje hmotnosti ukazuje růstovou charakteristiku plevelných druhů v průběhu vegetace, přičemž růstová charakteristika byla zřetelně především v roce 1995, kdy bylo dosaženo nejvyšších přírůstků hmotnosti sušiny. Většina plevelných druhů má pozvolný nárůst hmotnosti sušiny se strmou růstovou křivkou ke konci vegetace. K druhům s rovnoměrným nárůstem hmotnosti sušiny, popřípadě intenzivnějším růstem v počátečních fázích patří především *Stellaria media*, *Viola arvensis* a *Galium aparine*. Sigmoidní charakter růstu je patrný především u ozimé pšenice.



1. Vývoj hmotnosti sušiny ozimé pšenice a plevelů v jednotlivých letech – Winter wheat and weed dry weight development in individual years

osa x: termín hodnocení – x axis: term of assessment
osa y: hmotnost sušiny rostliny – y axis: dry weight per plant

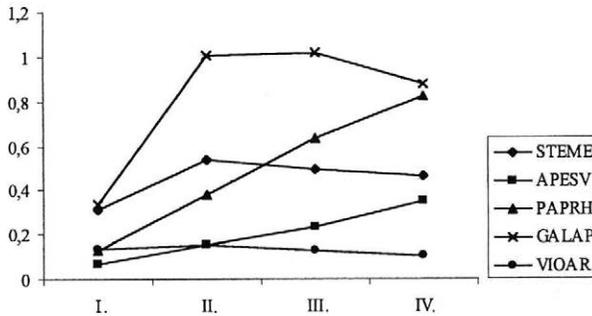
◆ 1995
■ 1996
▲ 1997



I. Průměrné hodnoty plodninových ekvivalentů pro sledované plevelné druhy v jednotlivých ročnících – Average crop equivalent values for selected weed species in individual years

Plevelný druh ¹	Ročník ²	Termín odběru ³				\bar{x}
		I.	II.	III.	IV.	
<i>Stellaria media</i>	1995	0,416	0,878	0,421	0,378	0,400
	1996	0,246	0,306	0,305	0,371	0,338
	1997	0,262	0,419	0,752	0,640	0,696
	\bar{x}	0,308	0,534	0,493	0,463	0,478
<i>Apera spica-venti</i>	1995	0,028	0,107	0,178	0,679	0,428
	1996	0,101	0,229	0,417	0,268	0,342
	1997	0,073	0,127	0,093	0,100	0,096
	\bar{x}	0,068	0,154	0,229	0,349	0,289
<i>Matricaria sp.</i>	1995	0,101	0,289	0,236	0,708	0,472
	1996	0,164	0,657	0,436	0,609	0,523
	\bar{x}	0,133	0,473	0,336	0,659	0,497
<i>Papaver rhoeas</i>	1995	0,176	0,454	0,513	1,170	0,841
	1996	0,060	0,337	0,264	0,750	0,507
	1997	0,141	0,337	1,130	0,552	0,841
	\bar{x}	0,126	0,376	0,636	0,824	0,730
<i>Galium aparine</i>	1995	0,156	1,164	0,455	1,321	0,888
	1996	0,389	0,713	0,569	0,354	0,461
	1997	0,461	1,136	2,037	0,956	1,497
	\bar{x}	0,335	1,004	1,020	0,877	0,949
<i>Viola arvensis</i>	1995	0,128	0,188	0,136	0,166	0,151
	1996	0,173	0,160	0,099	0,094	0,096
	1997	0,110	0,102	0,145	0,055	0,100
	\bar{x}	0,137	0,150	0,126	0,105	0,116

¹weed species, ²year, ³term of assessment



2. Vývoj průměrných plodninových ekvivalentů – Development of average crop equivalents

osa x: termín hodnocení – x axis: term of assessment

Je zřejmé, že v podzimním až časně jarním období je konkurenční schopnost většiny plevelů vůči ozimé pšenici nízká. S výjimkou *Galium aparine* a *Stellaria media* se hmotnost jedné rostliny většiny plevelných druhů pohybuje v časném jarním období mezi desetinou až čtvrtinou hmotnosti sušiny jedné rostliny ozimé pšenice. Vývoj hmotnosti plevelů zaostává za vývojem hmotnosti pšenice. Až do poloviny sloupkování není mezi jednotlivými druhy plevelů při stejném početním stavu významnější rozdíl.

Přehledněji lze pozorovat růstovou dynamiku plevelů, vztaženou relativně k dynamice růstu ozimé pšenice, na vývoji plodninových ekvivalentů (obr. 2). Nejrychlejšího počátečního nárůstu plodninového ekvivalentu bylo dosaženo u *Galium aparine* a *Stellaria media*. *Stellaria media* však následně ztrácí v konkurenci s pšenicí podstatnější význam a dochází k poklesu relativní hmotnosti sušiny vzhledem k pšenici. Rovněž poměr hmotnosti sušiny jedné rostliny *Galium aparine* k pšenici se v následujícím období v důsledku rychlejšího nárůstu

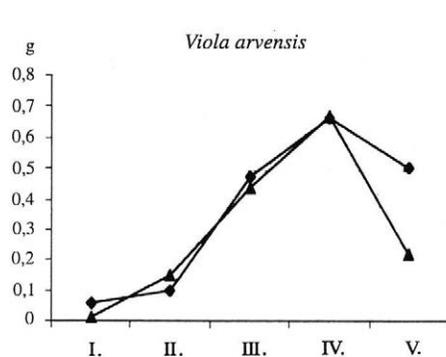
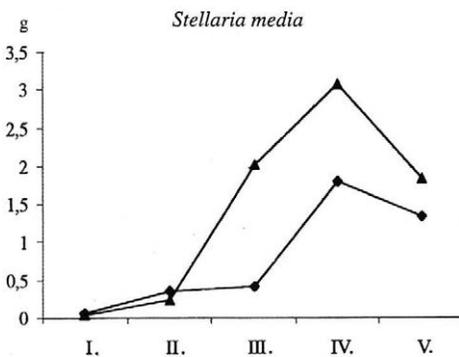
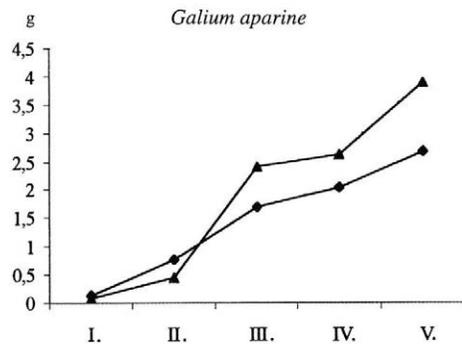
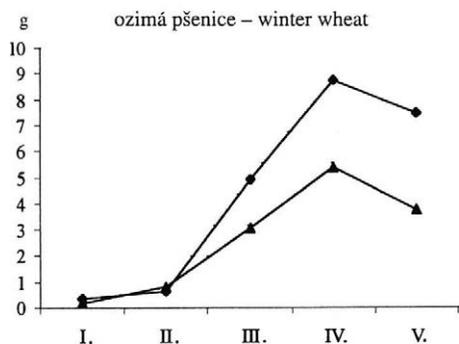
biomasy pšenice udržuje na stejné úrovni, popřípadě dochází i k poklesu. Přesto bylo v porovnání s ostatními druhy dosaženo u *Galium aparine* nejvyšších hodnot plodinových ekvivalentů. Trvalého vzestupu hodnot plodinových ekvivalentů po celé vegetační období je dosahováno u *Papaver rhoeas* a *Apera spica-venti*. *Viola arvensis* udržuje po celé období vegetace stálý poměr hmotnosti sušiny k ozimé pšenici s jen malým poklesem hodnot plodinových ekvivalentů.

Nejvýznamnějším úsekem z hlediska konkurence plevelů je období po vymetání pšenice, kdy se hmotnost některých plevelů zvyšuje až na úroveň blízkou hmotnosti sušiny jedné rostliny pšenice, popřípadě ji v některých případech překračuje (*Galium aparine*, *Matricaria* sp., *Papaver rhoeas*). V druhé polovině vegetace (od fáze BBCH 30 až do fáze BBCH 71) dochází také k výrazné diferenciaci mezi jednotlivými plevelnými druhy.

Vyšší konkurenční schopnost pšenice relativně k plevelům je provázána poklesem plodinových ekvivalentů. Proto bylo v roce 1996 zjištěny rozdíly v růstové dynamice plevelů a pšenice mezi předplodinami hrachem a obilninou, které ovlivnily konkurenční schopnost pšenice a následně i hodnoty plodinových ekvivalentů (obr. 3). Zatímco po zlepšující předplodině hrachu bylo dosaže-

no vyšší produkce sušiny na jednu rostlinu pšenice zejména v závěru vegetace, po obilnině byla hmotnost sušiny jedné rostliny v závěru vegetace jen na úrovni 50 až 60 %. To se projevilo i v konkurenčním působení na plevele, a tak téměř u všech plevelných druhů byla hmotnost sušiny na jednu rostlinu vyšší, přičemž u *Galium aparine* ve výši 130 až 145 % a u *Stellaria media* 136 až 170 %. Výjimku tvořila pouze *Viola arvensis*, jejíž růstová dynamika nebyla předplodinou prakticky ovlivněna. *Stellaria media*, který má rychlou dynamiku růstu v počátečních růstových fázích, velmi dobře využívá nízké konkurence pšenice právě v těchto časných růstových fázích, přičemž rozdíly v hmotnosti sušiny jedné rostliny činily mezi předplodinami téměř 500 %.

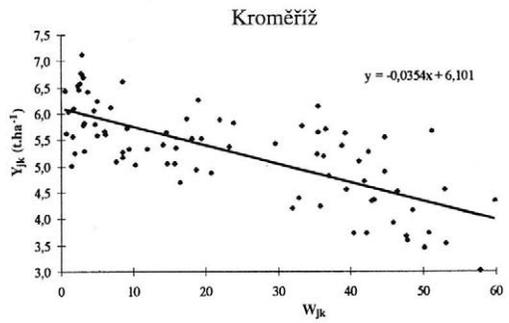
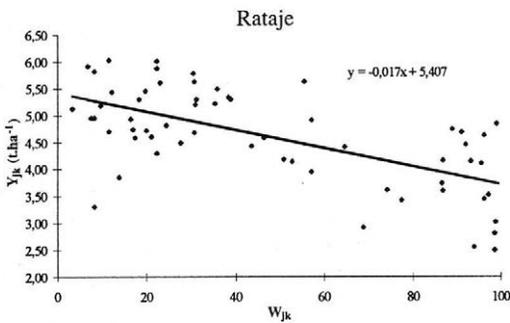
Po přepočtu hustoty plevelů v každé variantě na plevelné jednotky, s použitím plodinových ekvivalentů jako konverzních faktorů, byla stanovena závislost mezi zaplevelením a výnosem. Nejlepšího proložení dat bylo dosaženo použitím lineární regrese (obr. 4). Pro konverzi bylo využito průměrných hodnot plodinových ekvivalentů z různých termínů. Těsnost závislosti při použití různých konverzních faktorů byla porovnána korelační analýzou (tab. II). Rozdíly v závislosti jsou malé, přičemž nebyla ovlivněna průkaznost.



3. Vývoj hmotnosti sušiny ozimé pšenice a plevelů po předplodinách hrách a obilnina – Winter wheat and weed dry weight development after forecrops peas and cereals

osa x: termín hodnocení – x axis: term of assessment
osa y: hmotnost sušiny rostliny – y axis: dry weight per plant

● hrách – peas
▲ obilnina – cereals



4. Závislost mezi zaplevelením v plevelných jednotkách a výnosem na dvou lokalitách – Relationship between weed infestation in weed units and yield in two locations

osa x: zaplevelení v plevelných jednotkách – x axis: weed infestation in weed units
osa y: výnos – y axis: yield

II. Korelační koeficienty pro závislost výnosu ozimé pšenice na zaplevelení v přepočtených plevelných jednotkách v roce 1997 – Correlation coefficients for relationship between winter wheat yield and weed infestation in weed units in 1997

Termín stanovení plodinových ekvivalentů ¹	Pokusná lokalita ²		
	Kroměříž	Rataje	Postoupyky
5. 3.	-0,707**	-0,669**	-0,525**
4. 4.	-0,694**	-0,665**	-0,464**
21. 4.	-0,694**	-0,667**	-0,526**
12. 5.	-0,726**	-0,665**	-0,492**
4. 6.	-0,735**	-0,667**	-0,497**
Průměr ³ 12. 5.–4. 6.	-0,731**	-0,666**	-0,496**
Počet variant pokusu ⁴	84	63	80
r_{tab} ($\alpha = 0,05$)	-0,212	-0,245	-0,217

¹term of crop equivalents assessment, ²experimental locality, ³mean, ⁴number of experimental variants

DISKUSE

Řada autorů uvádí sice značné druhové rozdíly v konkurenční schopnosti (Gustavsson, 1986; Keiser, Wahm-hoff, 1986), při tvorbě modelů prahových hodnot jim však nebyl přikládán velký význam. Prahové hodnoty, získané na základě modelových pokusů s jedním plevelným druhem, jsou v praxi jen obtížně využitelné, poněvadž plevelné populace tvořené pouze jedním plevelným druhem jsou vzácností. Přitom je nutné uvažovat i konkurenci mezi jednotlivými plevelnými druhy navzájem, ke které dochází při vyšší úrovni zaplevelení. Aby bylo rozhodnutí skutečně cílené, musí model prahových hodnot zahrnovat skutečnou konkurenční schopnost jednotlivých druhů a adaptabilitu k faktorům prostředí. Black, Dyson (1993) používají pro vyjádření konkurenční schopnosti celé plevelné populace konverzních faktorů stanovených subjektivně, přičemž plevelnému druhu s nejvyšší konkurenční schopností byl přiřazen konverzní faktor 1. Objektivnější metodu trans-

formace hustoty uvádějí Berti, Zanin (1994). Jde o tzv. ekvivalentní hustoty, který představuje hustotu daného druhu ekvivalentní k hustotě referenčního druhu z pohledu výše výnosové ztráty. Tento model však vyžaduje samostatné výnosové pokusy pro každý plevelný druh, mimoto je výsledný odhad výnosové ztráty nadhodnocován v důsledku zanedbání interspecifické konkurence mezi plevelnými druhy navzájem (Berti, Zanin, 1994). Jak uvádí Petry et al. (1993), má plevelná populace tvořená více druhy nižší konkurenční schopnost k jarní pšenici než populace tvořená pouze jedním druhem. Holzner (1973) zjistil, že v porostech s bohatým druhovým zastoupením se projevuje interferenční rovnováha, vytvořená ovlivněním konkurenceschopných plevelů plevelnými druhy s nižší konkurenční schopností. Pro praktické účely je proto vhodnější integrace zaplevelení několika plevelnými druhy použitím tzv. plodinových ekvivalentů (Wilson, 1986), které představují poměr průměrné hmotnosti sušiny daného plevelného druhu a plodiny a vycházejí již z přirozených vícedruhových populací. I tento model však může být citlivý na faktory působící nesymetricky na jednotlivé plevelné druhy nebo plodinu. Jsou proto nezbytné studie charakterizující konkurenční chování jednotlivých druhů po celé vegetační období.

Každý plevelný druh má určitou růstovou charakteristiku, která je modifikována podmínkami prostředí. Z růstové dynamiky plevelných druhů a pšenice sledované v letech 1995 až 1997 je patrné, že ročníkové vlivy působí stejným směrem na všechny plevelné druhy i na ozimou pšenici, což se projevilo zejména v roce 1995, kdy bylo obecně dosaženo nejvyšší hmotnosti sušiny plevelů i ozimé pšenice. Odlišnosti byly zjištěny ale v růstových fázích, kdy bylo dosaženo nejvyšších rozdílů mezi ročníky. U *Stellaria media*, který je charakteristický intenzivním růstem v časném jarním období, dochází v příznivém ročníku k urychlení růstové dynamiky a zvýraznění rozdílů v produkci sušiny právě v časných obdobích růstu. Je tak dosaženo rychleji růstového maxima, které se však výrazně neliší od maxima

dosazeného v jiných letech. U ostatních plevelných druhů se rozdíl mezi ročníky projevují zejména ve druhé polovině vegetace a výrazně se liší výsledná růstová maxima. Shodná reakce na ročníkové podmínky může být vysvětlena tím, že sledované druhy jsou velmi dobře adaptovány na podmínky mírného pásma a existují minimální druhové rozdíly v požadavcích na faktory, určující ročníkovou charakteristiku (teplota a srážky). Vegetace roku 1995 byla charakteristická tím, že předcházela mírná zima s průměrnými měsíčními teplotami 1 až 5 °C nad teplotním normálem. Naopak v letech 1996 a 1997 byla chladnější zima s průměrnými měsíčními teplotami vždy pod dlouhodobým normálem. Tento průběh počasí byl zpravidla charakteristický i pro časné jarní období. Mírnější průběh zimy a časného jara se pak pravděpodobně projevil v rychlejším počátečním růstu pšenice i jednotlivých plevelných druhů a ve vyšším růstovém maximu. Jak uvádějí Ball et al. (1995), je rychlost růstu jednoletých trávovitých plevelů lineárně závislá na kumulativních denních teplotách od data výsevu. Vyšší teploty v průběhu zimního období tak mohou představovat určitý předstih v růstu plevelů i ozimé pšenice, takže rostliny pak lépe využívají podmínek vlastního vegetačního období.

Vzhledem k tomu, že směr změn v růstové dynamice je shodný jak pro plevelné druhy, tak pro pšenici, zdá se, že plodinové ekvivalenty představují velmi stabilní faktor pro posouzení konkurenční schopnosti plevelné populace. Vedle toho plodinové ekvivalenty umožňují přepočít hustoty plevelů na relativní hmotnost sušiny, protože biomasa plevelů podstatně lépe koreluje s výnosem plodiny než hustota plevelů (Lutman, 1992). Rovněž Hakansson (1990) potvrzuje, že predikce výnosové ztráty založená na pokryvnosti plevelů, listové ploše nebo biomase je mnohem spolehlivější než predikce založená na počtu plevelů.

Každý plevelný druh se vyznačuje specifickou růstovou dynamikou. Ball et al. (1995) uvádějí, že velikost vzházejících rostlin je větší u druhů s velkými semeny. Druhy s menšími semeny se však vyznačují vyšší relativní rychlostí růstu v čase. Podobná charakteristika růstové dynamiky mohla být v našich pokusech zaznamenána pro *Apera spica-venti* a *Papaver rhoeas*. Obecně jsou však rozdíly v růstové dynamice mezi plevelnými druhy málo výrazné.

Konkurenčně velmi silným plevelným druhem je *Galium aparine*, který dosahuje v druhé polovině vegetace nejvyšších hodnot plodinových ekvivalentů, přičemž jejich průměr se blíží hodnotě 1. Vysoká konkurenční schopnost je dána i vysokou růstovou rychlostí již v počátku vegetačního období, která umožňuje rychlý vzestup plodinových ekvivalentů z hodnot kolem 0,3 na úroveň blízkou 1. Hodnota jeho plodinových ekvivalentů je do značné míry závislá na hustotě plodiny a na přístupnosti dusíku. Rooney et al. (1990) uvádějí, že při vyšší úrovni hnojení dusíkem produkuje *Galium aparine* na jednotku dusíku více sušiny než pšenice, ale vytváří méně sušiny, pokud je dostupnost dusíku nižší.

Redukce hmotnosti plevelů v důsledku zvyšující se hustoty plodiny je proporcionálně výraznější při nižší hustotě plevelů (Hakansson, 1986). Podobný efekt mohou mít i jiné plevelné druhy, protože plevelné populace tvořené více druhy mají tendenci k nižší konkurenční schopnosti než populace tvořené pouze jedním druhem (Petry et al., 1993). Rovněž v našich pokusech u variant, v nichž byl ponechán jen *Galium aparine* (ostatní plevele byly odstraněny), bylo umožněno konkurenční působení *Galium aparine* a silný pokles výnosu. Samotný *Galium aparine* tak měl vyšší konkurenční efekt vůči ozimé pšenice než ve společenství ostatních plevelů.

Ačkoliv v případě *Apera spica-venti* dochází v závěru vegetace k rychlému nárůstu sušiny, bylo zjištěno, že její konkurenční působení je dáno spíše četností rostlin na sledovanou plochu než převahou v nárůstu biomasy srovnatelného počtu rostlin, protože průměrné hodnoty plodinových ekvivalentů *Apera spica-venti* v závěru vegetace dosahují hodnot okolo 0,3. *Apera spica-venti* se však vyznačuje velmi rychlou populační dynamikou, což může znamenat, že při sledu ozimé pšenice po pšenici se hodnota potenciálního zaplevelení v nadcházející roce zvýší proti počáteční hodnotě téměř 40krát (Landa, 1993).

Papaver rhoeas je plevelný druh s rozhodujícím nárůstem sušiny ve druhé polovině vegetace. Průměrné hodnoty plodinových ekvivalentů v závěru vegetace se pohybují kolem 0,75, což svědčí o vysoké konkurenční schopnosti tohoto druhu. V případě s nižší hustotou porostu mohou plodinové ekvivalenty přesáhnout hodnotu 1. *Papaver rhoeas* patří rovněž k plevelným druhům s velmi rychlou populační dynamikou. V řadě porostů může být *Papaver rhoeas* dominujícím plevellem. V tomto případě může ovlivňovat biomasu plodiny výrazněji než např. *Galium aparine* (Wright et al., 1997), ačkoliv *Galium aparine* je obecně znám jako plevelný druh s vyšší konkurenční schopností než *Papaver rhoeas*.

Matricaria sp. (převažující *Matricaria perforata* Mérat syn. *Matricaria inodora*, *Tripleurospermum maritimum*) představuje plevele s velmi rychlou růstovou dynamikou ve druhé polovině vegetace. Průměrné hodnoty plodinových ekvivalentů se ve druhé polovině vegetace pohybují okolo 0,5, přičemž v samotném závěru mohou dosahovat až hodnot kolem 0,7. Rovněž Blackshaw, Harker (1997) uvádějí, že *Matricaria perforata* zvyšuje v počátečních růstových fázích listovou plochu pomalu, přičemž po šesti týdnech dochází k výraznému zvýšení růstové rychlosti. *Matricaria perforata* rovněž produkuje větší množství biomasy v oblastech s intenzivnějšími srážkami.

Stellaria media je plevelným druhem s rozhodujícím konkurenčním efektem v první polovině vegetace, kdy je dosahováno hodnot plodinových ekvivalentů okolo 0,5. Prakticky však i v dalším průběhu vegetace dochází pouze k jejich malému poklesu. Takže konkurenční schopnost zůstává ve vztahu k ozimé pšenici na stále úrovni. Vysoká konkurenční schopnost *Stellaria media* je podmíněna intenzivní tvorbou biomasy při vysokém

příjmu živin a dobré zásobenosti vodou (Keiser, Wahmhoff, 1986). Jornsgard et al. (1996) uvádějí, že *Stellaria media* využívá více zvýšené dostupnosti dusíku, než je potlačen zvýšenou biomasou plodiny. Při vysokých dávkách dusíku je však průměrná biomasa *Stellaria media* redukována, což je pravděpodobně důsledek nepřímého efektu dusíku zvýšenou biomasou plodiny.

Viola arvensis patří ve sledovaném souboru k plevelným druhům s nejnižší konkurenční schopností. Průměrná úroveň plodinného ekvivalentu se po celé vegetační období mění jen minimálně a pohybuje se kolem 0,1. V posledních desetiletích však zejména v oblastech s intenzivním pěstováním obilnin a řepky dosáhla úroveň zaplevelení, která ji řadí k ekonomicky nevýznamnějším plevelům. Keiser, Wahmhoff (1986) uvádějí, že výnosové znaky ozimé pšenice jsou ovlivňovány více *Stellaria media* než *Viola arvensis*, přičemž redukce tvorby biomasy způsobená *Viola arvensis* je vyšší v suchých podmínkách. Stupňované dávky dusíku neovlivňují relativní konkurenční schopnost *Viola arvensis*, což znamená, že dusík je rovnoměrně rozdělen mezi plodinu a plevel (Holzmann, Niemann, 1986).

Efekt zlepšující předplodiny (hrách), což se týká vyšší konkurenční schopnosti pšenice, lze vysvětlit lepším využíváním příznivějších podmínek ozimou pšenicí než plevelnými druhy. V tomto případě mohou být příznivější podmínky dány především zlepšenou strukturou půdy a zvýšenou nabídkou dusíku. Z průběhu růstové dynamiky plevelů je patrné, že po zlepšující předplodině mají *Galium aparine* i *Stellaria media* v počátku vegetace částečný předstih. Ozimá pšenice však v následujícím období lépe využívá dobrých podmínek a z tohoto důvodu působí konkurenčně na plevele, které dosahují nižší hmotnosti sušiny než po obilní předplodině, u níž je konkurenční efekt pšenice nižší. *Viola arvensis* je v růstové dynamice ovlivněna jen minimálně, protože na zlepšené podmínky, především zvýšenou nabídkou dusíku, reaguje stejně jako ozimá pšenice (Holzmann, Niemann, 1986).

Z grafů závislosti mezi zaplevelením, přepočteným na plodinné ekvivalenty, a výnosem je patrný lineární charakter. Tento typ závislosti mezi výnosem a hmotností sušiny plevelů byl zjištěn již v dřívějších studiích (Wilson, Peters, 1982). Podobný charakter závislosti zaznamenal Black, Dyson (1993). Rozdíl proti jiným pokusům, ve kterých byl zjištěn nelineární charakter závislosti (Cousens, 1985), je vysvětlován oslabujícím vlivem herbicidů na přežívající plevele. Určitou roli může sehrát i konkurence mezi plevelem navzájem, přičemž při postemergentní aplikaci herbicidů jsou přežívající plevele již touto předchozí konkurencí oslabeny a růstovou ztrátou vzhledem k pšenici nedostihnou. Zjištěný lineární charakter závislosti nejlépe odpovídá podmínkám při nízkých hustotách plevelů (Wilson, 1986), které však z pohledu prahových hodnot mají největší význam.

Zjištěné rozdíly v těsnosti závislosti mezi výnosem ozimé pšenice a zaplevelením v plevelných jednotkách, při použití plodinných ekvivalentů z různých termínů jako konverzních faktorů, byly velmi malé a neovlivnily

průkaznost. Přesto se nejhodnějším konverzním faktorem zdají být plodinné ekvivalenty z druhé poloviny vegetace (květen až červen), které výrazněji rozlišují mezi jednotlivými plevelnými druhy. Ve druhé polovině vegetace dosahují rozhodující plevelné druhy maximum tvorby biomasy a s výjimkou některých druhů s nižšími plodinnými ekvivalenty toto maximum odpovídá i maximálním hodnotám plodinných ekvivalentů. Podobných výsledků dosáhl i Wilson (1986), který zaznamenal nejvyšší hodnoty plodinných ekvivalentů v červenci.

Systém plodinných ekvivalentů může představovat vhodný nástroj pro predikci vlivu plevelných populací, tvořených několika plevelnými druhy. Tento model však počítá s určitými předpoklady, které platí jen pro určité situace (Wilson, 1986):

- Závislost výnosové redukce způsobené plevelem na hmotnosti sušiny plevelů je lineární. Tento předpoklad platí při nižších hustotách plevelů, avšak pro širší škálu hustoty má charakter pravoúhlé hyperboly (Cousens, 1985). Při vyšších hustotách plevelů totiž dochází ke konkurenci mezi plevelnými rostlinami navzájem a škodlivost jedné plevelné rostliny se snižuje. Tuto skutečnost lze ovšem respektovat korekcí výnosové ztráty připadající na plevelnou jednotku (Klem, Váňová, 1997).
- Konkurenční schopnost různých plevelných druhů lze vyjádřit poměrem hmotnosti sušiny plevelné rostliny k hmotnosti sušiny plodiny. Tento předpoklad je splněn, pokud plevelné druhy i plodina reagují na rozdílné podmínky pěstování shodně.
- Plevele vcházejí ve stejném období jako plodina. Zpožděním nebo předčasným vcházením plevelů může docházet k výraznému ovlivnění jejich konkurenční schopnosti (Hakansson, 1986).

LITERATURA

- Ball D. A., Klepper B., Rydrych D. J. (1995): Comparative above-ground development rates for several annual grass weeds and cereal grains. *Weed Sci.*, 43: 410–416.
- Berti A., Zanin G. (1994): Density equivalent: a method for forecasting yield loss caused by mixed weed populations. *Weed Res.*, 34: 327–332.
- Black I. D., Dyson C. B. (1993): An economic threshold model for spraying herbicides in cereals. *Weed Res.*, 33: 279–290.
- Blackshaw E., Harker K. N. (1997): Scentless chamomile (*Matricaria perforata*) growth, development, and seed production. *Weed Sci.*, 45: 701–705.
- Cousens R. D. (1985): A simple model relating yield loss to weed density. *Ann. Appl. Biol.*, 107: 239–252.
- Gustavsson D. A. M. (1986): Relative growth rate and competitive ability of annual weed. *Proc. EWRS Symp. Economic weed control*: 105–112.
- Hakansson S. (1986): Competition between crops and weeds – influencing factors, experimental methods and research needs. *Proc. EWRS Symp. Economic weed control*: 46–60.

- Hakansson S. (1990): Need for weed control – assessments in young plant stands. Proc. 31 Swed. Crop Protec. Conf. Weeds and weed control: 31–44.
- Holzmann A., Niemann P. (1986): Einfluss einer Konkurrenz durch *Viola arvensis* auf die Ertragsbestimmenden Faktoren von Sommerweizen. Proc. EWRS Symp. Economic weed control: 91–98.
- Holzner W. (1973): Forschungsergebnisse der modernen Ökologie in ihrer Bedeutung für Biologie und Bekämpfung der Unkräuter. Bodenkultur, 24: 61–74.
- Christensen S., Rasmussen G. (1997): Crop weed competition, herbicide performance and decision makings in cereals. Proc. 10th EWRS Symp. Poznań. 50 s.
- Jornsgard B., Rasmussen K., Hill J., Christiansen J. L. (1996): Influence of nitrogen on competition between cereals and their natural weed populations. Weed Res., 36: 461–470.
- Klem K., Váňová M. (1997): An economic threshold model for weed control in winter wheat. Proc. 10th EWRS Symp. Poznań. 75 s.
- Keiser F., Wahmhoff W. (1986): Untersuchungen zur Konkurrenz zwischen Winterweizen und ausgewählten Unkrautarten im Gefassversuch. Proc. EWRS Symp. Economic weed control: 99–104.
- Landa I. (1993): Model populace chundelky metlice [*Apera spica-venti* (L.) P. B.] a jeho využití v praxi. Rostl. Výr., 39 (3): 263–276.
- Lutman P. J. W. (1992): Prediction of the competitive effects of weeds on the yields of several spring-sown arable crops. Proc. 9th Int. Symp. Biology of Weeds, Dijon, ANPP: 337–345.
- Oliver L. R. (1998): Principles of weed threshold research. Weed Technol., 2: 398–403.
- Pannell D. J. (1990): An economic response model of herbicide application for weed control. Austral. J. Agric. Econ., 34 (3): 223–241.
- Petry W., Wirth H., Kuhbauch W. (1993): Modellversuch zur Beschreibung von Konkurrenzvorgängen zwischen Sommerweizen und einer aus *Capsella bursa-pastoris* L., *Stellaria media* L. und *Alopecurus myosuroides* Huds. bestehenden Mischverunkrautung. J. Agron. Crop Sci., 170: 32–38.
- Rooney J. M., Clarkson D. T., Highnett M., Hoar J. J., Purves J. V. (1990): Growth of *Galium aparine* L. (cleavers) and competition with *Triticum aestivum* L. (wheat) for nitrogen. Proc. EWRS Symp. Integrated weed management in cereals: 271–280.
- Wilson B. J. (1986): Yield responses of winter cereals to the control of broad-leaved weeds. Proc. EWRS Symp. Economic weed control: 75–82.
- Wilson B. J., Peters N. C. B. (1982): The yield response of winter cereals to autumn or spring control of broad-leaved weeds. Asp. Appl. Biol., 1: 53–61.
- Wright K. J., Seavers G. P., Wilson B. J. (1997): Competitive effects of multiple weed species on weed biomass and wheat yield. Proc. Brighton Crop Protec. Conf. Weeds: 497–502.
- Zimdahl R. L. (1980): Weed-crop competition. Corvallis, Int. Pl. Protec. Cent. Oregon St. Univ. 196 s.

Došlo 20. 5. 1999

Kontaktní adresa:

Ing. Karel Klem, Zemědělský výzkumný ústav, s. r. o., Havlíčkova 2787, 767 41 Kroměříž, Česká republika, tel.: 0634/31 71 11, fax: 0634/227 25, e-mail: klem@vukrom.cz

Upozornění pro autory vědeckých časopisů

Z důvodu rychlejšího a kvalitnějšího zpracování grafických příloh (grafů, schémat apod.) příspěvků zasílaných do redakce Vás žádáme o jejich dodání kromě tištěné formy i na disketách.

Pérovky mohou být zpracovány jako předloha pro skenování nebo mohou být dodány též jako bitmapa ve formátu ***.TIF** (600 DPI). Pro skenování by grafy neměly obsahovat šedivé plochy. Místo šedi se mohou použít různé typy černobílého šrafování.

Jestliže jsou **grafy vytvořeny v programu EXCEL**, je potřeba je dodat uložené v tomto programu (nestačí grafy naimportované do programu WORD).

Obrázky **nezasílejte** ve formátu **Harvard Graphics**, nýbrž vyexportované do některého z výše uvedených formátů.

PROPERTIES OF HUMIC ACIDS PRODUCED DURING DECOMPOSITION OF PLANT RESIDUES IN SOIL

VLASTNOSTI HUMINOVÝCH KYSELIN VZNIKAJÍCÍCH BĚHEM ROZKLADU ROSTLINNÝCH ZBYTKŮ V PŮDĚ

S. S. Gonet, B. Debska

University of Technology and Agriculture, Department of Environmental Chemistry, Bydgoszcz, Poland

ABSTRACT: The aim of the laboratory experiment was to determine properties of humic acids developed during decomposition of post-harvest residues of wheat, lucerne and corn in soil. Humic acids were extracted prior, and after 30 and 360 days of incubation according to the IHSS method. It was found that application of post-harvest plant residues to soil significantly modified properties of humic acids. These findings have indicated the necessity of considering crop rotation scheme in determining properties of soil humic substances.

Keywords: humic acids; post-harvest residues; elemental composition; spectrometric parameters

ABSTRAKT: Cílem laboratorního pokusu bylo určení vlastností huminových kyselin, které vznikají během rozkladu posklizňových zbytků pšenice, vjetěšky a kukuřice v půdě. Huminové kyseliny byly extrahovány metodou IHSS před inkubací a po 30, resp. 360 dnech inkubace. Zjistili jsme, že aplikace posklizňových rostlinných zbytků významně měnila vlastnosti huminových kyselin. Tyto poznatky naznačily potřebu vzít při určování vlastností půdních humusových látek v úvahu osevní postup.

Klíčová slova: huminové kyseliny; posklizňové zbytky; základní složení; spektrometrické ukazatele

INTRODUCTION

The content and quality of soil humus is a fundamental parameter of soil fertility. Many processes of humus substances decomposition and input of fresh organic matter affect the humus content. Under the conditions of conventional agricultural production a continuous input of post-harvest residues is an important component of the balance of soil organic matter (Zaujec, 1980; Gonet et al., 1992; Mazur, 1995; Jurcova, Bielek, 1996). That is why a proper system of crop rotation can secure an optimum humus status or even cause a balance surplus of organic matter, improving soil fertility in this way. However, it is necessary to remember that agricultural and ecological roles of humus substances result not only from their presence in soils, but they also affect their physico-chemical properties. Therefore, a rational use of post-harvest residues requires both determination of their amount left behind in soil, and assaying their chemical composition. The latter factor is one of the most important parameters determining the course of development of humus substances and their physico-chemical properties.

General characteristic of humic substances is often done by determining their elemental composition and

spectrometric properties. Among others, elemental composition is useful for evaluation of the degree of aromaticity and oxidation, and combustion heat of humic substances, concluding on this basis about their maturity (Orlov, 1975; Gonet, 1989).

One of the main criteria characterising humic substances of various kinds is their absorbance at the wavelength 465 nm, and the value of the $E_{4/6}$ ratio (Orlov, 1975; Kumada, 1987; Gonet, 1989). These parameters are used also for characterisation of newly formed humic substances. It was found that absorbance of humate solutions in the UV-VIS range increases with the carbon content in the humic acids molecules (Kumada, 1987). The $E_{4/6}$ ratio value is positively correlated with the one of the H : C ratio (calculated from elemental composition), and negatively with that of the O : H ratio (Kumada, 1987). It is also commonly accepted that the smaller is the $E_{4/6}$ ratio value, the higher is molecular weight of humic acids. Kumada (1975) has determined maturity of humic acids on the basis of the $\Delta \log K$ parameter value. The author classified humic acids (HA) into three basic categories according to their spectra in the UV-VIS range, i.e. type A, includes HAs of very high humification degree, having $\Delta \log K$ values up to 0.6; type B, HAs of $\Delta \log K$ within the range 0.6 to

I. Chemical composition of post-harvest residues (g/kg)

Post-harvest residues	Saccharides	Proteins	Hemicellulose and starch	Cellulose	Lignin	C : N
Lucerne	43.6	164.4	148.5	322.5	296.0	14.5
Maize	67.2	47.5	426.1	232.9	182.7	52.9
Wheat	46.8	43.1	233.0	421.2	230.0	57.0

0.8; and type R_p , comprising of HAs having the $\Delta \log K$ parameter ranging 0.8 to 1.1. Moreover, Kumada (1987) obtained negative correlation coefficients between the values of the $\Delta \log K$ parameter and carbon content, and the O : H ratio. He also found a positive correlation between $\Delta \log K$ and the H : C ratio.

The objective of this study was to determine elemental composition and spectrometric properties of humic acids developed during decomposition of post-harvest residues of corn, alfalfa, and wheat in soil. Statistical relations between the parameters under study were also assessed.

MATERIAL AND METHODS

The studies were carried out as a pot experiment. Post-harvest residues of maize, lucerne and wheat were used as a source of organic matter. Chemical composition of the examined plant material residues is given in Tab. I. The samples were incubated at 25 °C and constant humidity of 60% for periods of 1 to 360 days. Incubation of a sample taken from arable layer of brown soil was the control. The soil was incubated with plant post-harvest residues at a ratio 10 : 1. The residue material was composed of straw and roots mixed at a specific ratio. The experiment was realised in plastic pots according to the following scheme:

Variant (symbol)	Incubated material
S	soil (control)
SMa	soil + maize (mixture of straw and roots in 2 : 1 w/w ratio)
SLu	soil + lucerne (mixture of hay and roots in 1 : 1.5 w/w ratio)
SWh	soil + wheat (mixture of straw and roots in 4 : 1 w/w ratio)

Humic acids were extracted from incubated materials according to the IHSS standard method. The extracted humic acids were analysed for elemental composition (Perkin Elmer 2400 CHN analyser). On the basis of elemental composition the values of atomic ratios: H : C, O : C, O : H, N : C and ω – internal oxidation degree were calculated according to the formula:

$$\omega = (2O + 3N - H) : C$$

where: O, N, H, C – content in atomic percentage

The spectra in the UV-VIS range were recorded for 0.2% HA solutions in 0.1 M NaOH (Hewlett Packard – UV-VIS spectrometer). Absorbance measured at the wavelengths 280 nm (A_{280}), 400 nm (A_{400}), 464 nm

(A_{464}), 600 nm (A_{600}) and 664 nm (A_{664}) were used for calculation of coefficient values:

$$A_{2/4} - 280 \text{ nm and } 464 \text{ nm absorbances ratio}$$

$$A_{2/6} - 280 \text{ nm and } 664 \text{ nm absorbances ratio}$$

$$A_{4/6} - 464 \text{ nm and } 664 \text{ nm absorbances ratio}$$

$$\Delta \log K = \log A_{400} - \log A_{600}$$

The results were evaluated statistically with variation analysis with the use of the Tukey *t*-test at significance level of $\alpha = 0.01$. Additionally, orthogonal contrast method with the Scheffe test was used to analyse the differences between the properties of humic acids isolated from soil samples without amendments with those of humic acids of soil incubated with post-harvest residues.

RESULTS AND DISCUSSION

The results of elemental composition of humic acids separated from soil samples before incubation (0) and incubated for 30 and 360 days with post-harvest residues demonstrated a modification effect of these plant materials (Tab. II). Humic acids isolated from the variants SMA-0, SLu-0 and SWh-0 had a lower content of carbon and oxygen, and higher hydrogen content than the acids of the soil without amendments. Nitrogen content was determined by its occurrence in the initial material, therefore the highest amount of nitrogen was found for HAs of the variant SLu-0, while the smallest for the acids isolated from the samples with wheat plant material. Results from the studies of other authors (Gomah et al., 1978; Aleksandrova, 1980) show that the process of post-harvest residue decomposition is connected with an increase of carbon and oxygen contents, and a decrease of hydrogen content. This is in part in discrepancy with our findings, because no significant changes in carbon content in HAs samples were found during the incubation process. A decrease of hydrogen content was observed in the samples of the variants SLu and SMA, while in case of oxygen content the opposite tendency was noted only for soil samples incubated with post-harvest lucerne residues. Nitrogen content in HA samples on the variant SLu decreased significantly, while it increased in samples of SWh. This corroborated the observations reported by Aleksandrova (1980), who has demonstrated that in the humification of plant residues rich in nitrogen its content in humic acid molecules diminished, while the corresponding nitrogen concentration was higher after decomposition of residues poor in this element. The obtained results of ele-

II. Elemental composition of humic acids

Sample	Weight percentage				Atomic percentage			
	C	H	N	O	C	H	N	O
S-0	55.9	4.7	4.0	35.4	39.2	39.8	2.4	18.6
S-360	54.7	4.8	4.1	36.4	40.4	38.8	2.6	18.2
SMA-0	56.9	6.3	4.7	32.1	35.3	47.2	2.5*	15.0
SMA-30	55.9	6.2	3.6	34.3	35.2	46.6	2.0	16.2
SMA-360	57.1	6.0	4.7	32.2	36.3	45.7	2.6*	15.4
SLu-0	56.1	6.5	6.5	30.9	34.5	47.8	3.5	14.2
SLu-30	54.7	6.2	5.6	33.5	34.5	46.6	3.0	15.9
SLu-360	51.8	5.4	4.7	38.1	34.8	43.2	2.7*	19.2
SWh-0	58.2	5.9	2.9	32.9	37.3	45.3	1.6	15.8
SWh-30	57.9	6.0	2.7	33.4	36.9	45.7	1.5	15.9
SWh-360	57.2	5.7	4.4	32.7	37.0	44.7	2.4*	15.9
Means for kind of residues (factor I)								
SMA	56.6	6.2	4.3	32.9	35.6	46.5	2.4	15.5
SLu	54.2	6.0	5.6	34.2	34.6	45.9	3.1	16.4
SWh	57.8	5.9	3.3	33.0	37.1	45.2	1.8	15.9
Means for analysis time (factor II)								
X-0	57.1	6.2	4.7	32.0	35.7	46.8	2.5	15.0
X-30	56.2	6.1	4.0	33.7	35.5	46.3	2.2	16.0
X-360	55.4	5.7	4.6	34.3	36.0	44.5	2.6	16.8
LSD at $\alpha = 0.01$								
Factor I	0.77	0.27	0.08	0.72	0.72	0.08	0.61	
Factor II	0.77	0.27	0.08	0.72	ns	0.72	0.08	0.61
I x II	1.33	0.47	0.13	1.16	ns	1.25	0.15	1.06
II x I	1.33	0.47	0.13	1.16	ns	1.25	0.15	1.06

* no significant differences with soil humic acids (analysis of orthogonal contrasts)

mental composition allowed to speculate that the content of specific elements and changes in their concentration occurring during the humification process depended on the kind of post-harvest residues introduced into soil, as well as on the conditions of this process (Gonet, Debska, 1998).

Changes in elemental composition are usually accompanied by corresponding changes in atomic ratio values. This ratio assessed for humic acids isolated from samples containing plant material was significantly higher than that determined for HAs of soil without additives (Tab. III). Therefore, introduction of post-harvest residues into soil caused an increase of the aliphatic structures content in humic acids molecules. Process of maize and lucerne post-harvest residues decomposition was connected with a decrease of the H : C ratio. No such relationship was found for the SWh variant. Two other ratios O : H and O : C were also almost unchanged in case of the same SWh and SMA variants, whereas both kinds of values were significantly higher in soil samples incubated with lucerne post-harvest residues. The higher values of the O : H ratio were connected with humification degree of humic acids molecules (Gomah et al., 1978). The O : C ratio is an indicator of HAs oxidation

III. Atomic ratios and their degree of internal oxidation of humic acids

Sample	H : C	O : H	O : C	N : C	ω
S-0	1.01	0.47	0.47	0.061	0.117
S-360	0.96	0.47	0.45	0.064	0.134
SMA-0	1.34	0.32	0.42	0.071	-0.275
SMA-30	1.32	0.35	0.46*	0.057	-0.233
SMA-360	1.26	0.34	0.42*	0.072	-0.196
SLu-0	1.39	0.30	0.41*	0.101	-0.223
SLu-30	1.35	0.34	0.46*	0.087	-0.168
SLu-360	1.24	0.44*	0.55	0.078	0.095
SWh-0	1.21	0.35	0.42*	0.043	-0.239
SWh-30	1.24	0.35	0.43*	0.041	-0.255
SWh-360	1.21	0.36	0.43*	0.065*	-0.154
Means for kind of residues (factor I)					
SMA	1.31	0.34	0.43	0.067	-0.235
SLu	1.33	0.36	0.47	0.089	-0.099
SWh	1.22	0.35	0.43	0.049	-0.216
Means for analysis time (factor II)					
X-0	1.31	0.32	0.42	0.072	-0.246
X-30	1.30	0.35	0.45	0.062	-0.218
X-360	1.24	0.38	0.47	0.072	-0.085
LSD at $\alpha = 0.01$					
Factor I	0.034	ns	0.026	0.003	0.027
Factor II	0.034	0.027	0.026	0.003	0.027
I x II	0.059	0.046	0.045	0.006	0.047
II x I	0.059	0.046	0.045	0.006	0.047

* no significant differences with soil humic acids (analysis of orthogonal contrasts)

degree (Orlov, 1975). Introduction of plant residues into soil caused a decrease of the O : H ratio, while it did not affect the O : C value. In the process of humification of maize and wheat plant residues in soil no increase of the O : H and O : C ratios was noted. Therefore it can be assumed that decomposition process of maize and wheat plant residues was not linked with an increase of humification degree of humic acids molecules. However, the O : C ratio assayed for HAs separated from soil samples mixed with lucerne plant residues after 360 days of incubation indicated that the obtained humic acids had a higher oxidation degree than the acids of brown soil. That is why the hypothesis worked out by Orlov (1975) that the ω value calculated from the Zdanov (1965) equation is a more objective measure of internal oxidation degree of humic acids molecules. The equation takes into consideration not only bonds of carbon with oxygen, but also with hydrogen and nitrogen. Introduction of post-harvest residues into soil caused a significant decrease of internal oxidation degree. The process of post-harvest residue decomposition was related to an increase of the ω parameter. What is more important, after 360 days of incubation only humic acids of the SLu variant (soil + lucerne post-harvest residues), similarly to HAs of soil without

additives, had a positive value of internal oxidation degree.

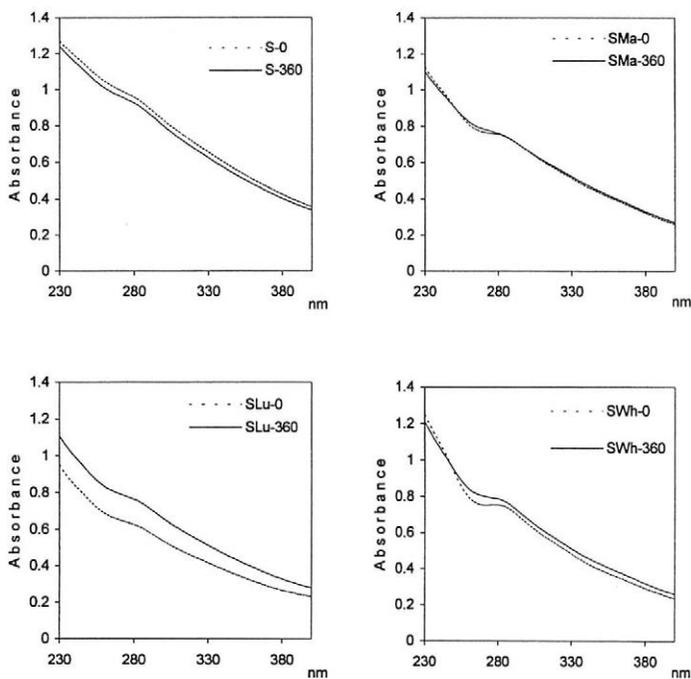
Although elemental composition is considered one of the basic features of humic substances, useful for identification and concluding on their structure, identification of young humic acids with help of elemental composition should be done with a lot of caution. They can contain large amounts of lignin and cellulose, the compounds of elemental composition very similar to typical humic acids (Flaig et al., 1975). Therefore the opinion expressed by Zigunov, Simakov (1977) that determination of newly formed humic acids only by elemental composition can result quite often in wrong conclusions. Instead, calculation of internal oxidation degree from elemental composition seems a good idea because it can be an indication of the extend of the plant materials decomposition processes. The obtained values of internal oxidation degree showed that humification processes were the fastest in case of lucerne post-harvest residues. This finding seems logical with the assumption that the plant residues decomposition process is determined by the C : N ratio value. A plant material containing a high percentage of proteins, therefore having a low C : N value, decomposes most easily.

The occurrence of lignin and cellulose structures in humic acid molecules was confirmed by UV-VIS analysis. It is well known that no maximum can be observed on a UV-VIS spectrum of typical humic acids, it looks like a steadily decreasing line. Humic acids separated from soil samples incubated with post-harvest residues had a clear band with a maximum of about 280 nm (Fig. 1). The highest intensity of this band was noted

for HAs of soil samples amended with the material of the highest total content of lignin and cellulose (wheat post-harvest residues, Tab. I). It is very important that the intensity of this band decreased with the course of humification process. The smallest drop of the band intensity was observed for the SWh variant, what pointed out a very slow decomposition of wheat post-harvest residues.

The absorbance values obtained for humates of soil samples incubated with post-harvest residues were significantly lower than humates of soil without them (Tab. IV), while the corresponding absorbance coefficients ($A_{2/4}$, $A_{2/6}$, and $\Delta \log K$) were significantly higher. The process of plant materials decomposition resulted in a decrease of these coefficients. Their highest values were recorded for humates after 360 days of soil incubation with wheat post-harvest residues, while the lowest absorbance coefficients were observed for the SLu variant extract. The values of the $A_{4/6}$ ratio assessed for the SMa and SWh samples, like the other coefficients, were significantly higher as compared with humates of soil without additives. No significant differences were found between the values calculated for the S and SLu variants. What is also important, in general the changes noted for the $A_{4/6}$ ratio during decomposition of plant materials were negligible. The results showed that spectrometric parameters (absorbances and absorbance coefficients) were related to the kind of post-harvest residues introduced into soil, therefore also to their chemical composition.

Some interesting information were collected from the correlation analysis of spectrometric parameters and



1. UV-VIS spectra of humic acids

elemental composition of the humic acids studied (Tab. V). It was found that not all the relationships between humic acids qualitative parameters are reliable for humic acids isolated from soil supplemented with fresh plant material. No significant relationship was found between absorbance values within the VIS range and carbon content. The only exception was absorbance at 280 nm (A_{280}) correlated positively with carbon content. A negative re-

lationship was noted for this absorbance value and the H : C and N : C ratios. However, no significant (positive) correlation was found between absorbance coefficients ($A_{2/4}$, $A_{2/6}$, and $\Delta \log K$) and the H : C ratio. Nevertheless, these coefficients were significantly negatively correlated with the N : C ratio. A special attention should be given to correlation observed for internal oxidation degree. The values of the ω parameter were significantly related positively to absorbance values within the VIS range and negatively with $\Delta \log K$ the coefficient values.

IV. Spectrometric parameters of humic acids alkali solutions

Sample	A_{280}	A_{400}	A_{464}	$A_{2/4}$	$A_{2/6}$	$A_{4/6}$	$\Delta \log K$
S-0	5.75	2.16	1.38	4.17	15.9	3.81	0.577
S-360	5.56	2.05	1.30	4.28	16.3	3.80	0.577
SMA-0	4.53	1.57	0.841	5.39	22.7	4.21	0.693
SMA-30	4.39	1.54	0.817	5.37	23.0	4.28	0.692
SMA-360	4.57	1.65	0.934	4.89	20.4	4.17	0.661
SLu-0	3.76	1.41	0.770	4.88	18.4	3.77*	0.664
SLu-30	3.91	1.46	0.782	5.00	20.5	4.09	0.694
SLu-360	4.58	1.75	1.02	4.49*	17.8	3.95*	0.637
SWh-0	4.53	1.41	0.695	6.52	30.0	4.60	0.764
SWh-30	4.67	1.47	0.713	6.55	30.9	4.72	0.771
SWh-360	4.73	1.61	0.870	5.44	24.3	4.46	0.696
Means for kind of residues (factor I)							
SMA	4.50	1.58	0.864	5.22	22.0	4.22	0.682
SLu	4.08	1.54	0.857	4.79	18.9	3.94	0.665
SWh	4.64	1.50	0.759	6.17	28.4	4.59	0.744
Means for analysis time (factor II)							
X-0	4.27	1.46	0.769	5.60	23.7	4.19	0.707
X-30	4.32	1.49	0.771	5.64	24.8	4.36	0.719
X-360	4.63	1.67	0.941	4.94	20.8	4.19	0.665
LSD at $\alpha = 0.01$							
Factor I	0.119	ns	0.013	0.229	1.11	0.112	0.012
Factor II	0.119	0.122	0.013	0.229	1.11	0.112	0.012
I x II	0.206	ns	0.023	0.397	1.93	ns	0.021
II x I	0.206	ns	0.023	0.397	1.93	ns	0.021

* no significant differences with soil humic acids (analysis of orthogonal contrasts)

V. Correlation between elemental composition and spectrometric properties of humic acids separated from soil samples incubated with plant residues

	C	H	O	H : C	N : C	O : C	O : H	ω
A_{280}	0.725*	-0.647	0.392	-0.838**	-0.671*	0.117	0.485	0.193
A_{400}	-0.081	-0.657	0.668*	-0.353	0.208	0.627	0.700*	0.733*
A_{464}	-0.420	-0.485	0.571	-0.033	0.634	0.648	0.583	0.791*
A_{664}	-0.566	-0.332	0.486	0.144	0.727*	0.617	0.473	0.723*
$A_{2/4}$	0.755**	0.038	-0.252	-0.439	-0.889**	-0.470	-0.210	-0.547
$A_{2/6}$	0.811**	-0.070	-0.167	-0.539	-0.930**	-0.409	-0.115	-0.470
$A_{4/6}$	0.871**	-0.232	-0.037	-0.676*	-0.958**	-0.309	0.029	-0.339
$\Delta \log K$	0.682*	0.084	-0.263	-0.367	-0.839**	-0.454	-0.237	-0.667*

* significance at $\alpha = 0.05$

** significance at $\alpha = 0.01$

The obtained results of correlation analysis indicated a necessity for a very careful interpretation of the data collected in the humic acid studies. It is particularly important because it is generally accepted to evaluate properties of newly formed humic acids with the help of commonly accepted qualitative parameters used in relation to soil humic substances. Their interpretation is being done also on relationships found for this group of compounds. However, as shown here, such an approach can result in very wrong conclusions. This was additionally confirmed by the studies carried on with humic acids developed during decomposition of pure post-harvest residues (under non-soil conditions), for which correlation analysis disclosed a reverse tendencies as compared with typical humic acids (Gonet, Debska, 1998). Introduction of post-harvest residues into soil modifies properties of humic acids to a great extent, and that is why this must be taken into consideration during their characterisation.

CONCLUSIONS

Humic acids isolated from soil samples incubated with plant post-harvest residues had a lower content of carbon and oxygen, a higher content of hydrogen (nitrogen content depended on its concentration in the studied material), lower absorption values in the UV-VIS range, and higher values of absorbance coefficients: $\Delta \log K$, $A_{2/4}$, and $A_{2/6}$ than those from soils without additives.

It can be concluded that the process of decomposition of plant materials is connected with an increase of the internal oxidation degree of humic acids molecules and a decrease of $\Delta \log K$, $A_{2/4}$, and $A_{2/6}$ absorbance coefficients.

The humification rate depends most of all on the C : N ratio, therefore the residues rich in nitrogen decompose most rapidly on the other hand, the process is related to the content of compounds providing carbon easily accessible to microorganisms.

The results of the study have indicated that properties of humic acids, obtained in the process of plant material decomposition in soil, differ distinctly from those of soil humic substances. These findings must be considered while interpreting results obtained by various generally accepted physico-chemical research methods concerning soil humic substances.

REFERENCES

- Aleksandrova L. N. (1980): Soil organic compounds and their transformation processes. Leningrad, Nauka: 1-50. (In Russian)
- Flaig W., Beutelspacher H., Rietz E. (1975): Chemical composition and physical properties on humic substances. In: Gieseking J. E.: Soil components. New York, Springer-Verlag.
- Gomah A. M., El-Halafawi M. H., El-Essawi T. M. (1978): Some chemical characteristics of humic acids isolated from different sources. *Alex. J. Agric. Res.*, 26 (3): 747-754.
- Gonet S. S. (1989): Properties of humic acids from soil under various fertilizing treatments. *ATR Bydgoszcz, Rozprawy*, 33: 3-58. (In Polish)
- Gonet S. S., Debska B. (1998): Properties of humic acids developed during humification process of post-harvest residues. *Envir. Int.*, 24 (5/6): 603-608.
- Gonet S. S., Zaujec A., Debska B. (1992): Chemical characteristics of decomposition products of plant residues in soil. *Naw. Organ. PAN, AR Szczecin*, 1: 306-313.
- Jurcova O., Bielek P. (1996): Non-deficit management of soil organic matter. In: *Zbor. VŠP, Nitra, Sekc. C*: 203-207. (In Slovak)
- Kumada K. (1975): The chemistry of soil organic matter. *Fd Fertil. Technol. Cent.*, 22: 10-36.
- Kumada K. (1987): Chemistry of soil organic matter. *Develop. Soil Sci.* 17. Tokyo, Jap. Sci. Soc. Press, Amsterdam, Elsevier.
- Mazur T. (1995): The condition and the perspective of the organic matter balance of the cultivated soils. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.*, 421a: 267-276. (In Polish)
- Orlov D. S. (1975): Humic acids of soil. Moskva, IMU.
- Zaujec A. (1980): Chemical and physical characteristics of partially decomposed plant residues of corn, lucerne and wheat. Nitra, VŠP.
- Zdanov J. A. (1965): Average carbon oxidation degree and amino acids. *Biochimija*, 30: 1257-1259.
- Zigunov A. V., Simakov V. H. (1977): The composition and properties of humic acids from decomposing post-harvest residues. *Počvovedenije*, 12: 59-65. (In Russian)

Received on January 29, 1999

Contact Address:

Dr. Bożena Debska, University of Technology and Agriculture, Department of Environmental Chemistry, Bernardynska 6, PL-85-029 Bydgoszcz, Poland, e-mail: chem@rol.atr.bydgoszcz.pl

TESTOVÁNÍ JÍLKU A KOSTŘAVY NA REZISTENCI VŮČI *DRECHSLERA* SPP. METODOU DVOUVRSTEVNÉHO MÉDIA

TESTING OF RYEGRASS AND MEADOW FESCUE FOR RESISTANCE TO *DRECHSLERA* SPP. WITH METHOD OF DOUBLE-LAYER MEDIUM

A. Drozdová

OSEVA PRO, s. r. o., Grassland Research Station, Rožnov-Zubří, Czech Republic

ABSTRACT: Selected varieties of perennial ryegrass and meadow fescue have been checked for resistance to *Drechslera* spp. *in vitro* conditions. Extirpated embryos of matured caryopses were the source of calluses. Pathogen cultures were obtained from fresh leaves collected in the locality of Zubří (North Moravia). The modified method of double-layer medium by Lepoivre et al. (1986) was used to test resistance against toxic metabolites of the pathogen. On the basis of weight gains of treated and control calluses no influence of toxins *Drechslera dictyoides* in meadow fescue was proved when a two weeks old pathogen culture on PCA (potato carrot agar) and the half volume medium (20 ml) of upper layer was used. Neither changes of colours, nor consistence of calluses was observed. The biochemical substance of the toxins of this pathogen is still not well known. Engström et al. (1993) refer only that *D. dictyoides* produces catenarin. One possible reason could be a low membrane permeability of calluses cells for the toxin of this fungi, as follows from the results of a study by Plazek, Filek (1998). The effect of toxins of *D. siccans* on calluses of meadow fescue was pronounced under conditions of higher age (six weeks) of pathogen culture on PDA with half volume (20 ml) of upper layer of medium. These conditions initiated necrosis in all 120 treated calluses of four origins (Tab. I). Three unaffected sectors (Tab. II) on two calluses were selected from 160 treated calluses of four varieties of perennial ryegrass under similar conditions (four weeks age of pathogen). Only one of them continued growing and created some roots on regeneration medium. None of them reached the stage of a mature plant. Pure cultures of both pathogens were statistically significantly different after investigation in growth speed (Tab. III) and exhibited different characteristics of mycelium. It was difficult to obtain a colony with smooth surfaces in *D. dictyoides*, which is necessary for ensuring conformable conditions for all tested calluses. It creates pile-like shape of mycelium exceeding the surface area which makes the application of small volumes of upper layer of the medium impossible. Assuming the use of image analysis to determine the size of calli, it is possible to consider the method of double-layer culture as a suitable one for *D. siccans*. Regulation of the upper layer of medium and age of culture are practicable as well. Perhaps partially purified culture filtrate in *D. dictyoides* would be preferable for testing.

Keywords: perennial ryegrass; meadow fescue; *Drechslera siccans*; *Drechslera dictyoides*; *in vitro* tests

ABSTRAKT: Byla ověřována možnost testování vybraných odrůd jílku vytrvalého a kostřavy luční na odolnost vůči *Drechslera* spp. v podmínkách *in vitro* modifikovanou metodou dvouvrstevného média (Lepoivre et al., 1986). Zdrojem kalusů byla embrya ze zralých obilí. Na základě srovnání přírůstků hmotnosti testovaných a kontrolních kalusů nebyl prokázán vliv toxinů *Drechslera dictyoides* u kostřavy luční. Nebyla zaznamenána ani změna barvy a konzistence kalusů. U *D. siccans* byla působnost toxinů na kalusy kostřavy luční velmi výrazná za podmínek vyššího stáří kultury patogena na bramborovo-dextro-zovém agaru (PDA), při polovičním objemu (20 ml) horní vrstvy média. Tyto podmínky vyvolaly nekrotizaci všech 120 testovaných kalusů čtyř původů. U jílku vytrvalého byly ze 160 kalusů od čtyř odrůd vyselektovány tři nezasazené sektory, pouze jeden z nich pokračoval na regeneračním médiu v růstu. Pro *D. siccans* lze metodu dvouvrstevného média považovat za vhodnou. Regulace objemu horní vrstvy média a stáří kultury je reálná. U *D. dictyoides* bude pro testování pravděpodobně vhodnější užití např. částečně čištěného filtrátu.

Klíčová slova: jílek vytrvalý; kostřava luční; *Drechslera siccans*; *Drechslera dictyoides*; testy *in vitro*

ÚVOD

Jílek vytrvalý (*Lolium perenne* L.) je víceletá tráva ozimého charakteru. V rámci druhu existují odrůdy vyšlechtěné jak pro pícninářské využití, tak pro technické trávníky. Kostřava luční (*Festuca pratensis* Huds.) je

víceletý druh zařazovaný téměř do všech typů lučních a pastevních směsí, domácí i světový sortiment odrůd je velmi úzký. Oba druhy patří v podmínkách Rožnovska (severní Morava) mezi trávy s nejsilnějším výskytem listové skvrnitosti. Helmintosporiová skvrnitost je způsobena houbovými parazity *Drechslera* spp. Pato-

gen způsobuje skvrny na listových čepelích, někdy i stéblech. U pastevních a lučních porostů má negativní vliv na výnos a kvalitu píce (Burhenne, 1992; Jönsson, Engqvist, 1996). Na trávníkových plochách snižuje skvrnitost jejich estetickou hodnotu. Plochy extenzivně využívané jsou v případě napadení patogenem přinejmenším rezervoárem inokula pro ostatní porosty.

Účinná ochrana chemickými přípravky vůči *Drechslera* spp. na travách není příliš známa (Cagaš, 1998). Úsilí šlechtitelů je zaměřeno na získávání materiálů se zvýšenou odolností. Možnosti využití biotechnologických metod ve šlechtění na rezistenci shrnul Lebeda (1995). Rozsáhlý přehled rostlin se zvýšenou rezistencí vůči virovým, houbovým i bakteriálním chorobám, získaných od různých plodin metodou *in vitro*, uvádí Bulk (1991). Pouze v několika málo případech však byla zkoumána genetická podstata rezistence těchto materiálů. Posselt (1991) a Posselt, Altpeter (1994) vyseletovali v kalusové kultuře genotypy jílku vytrvalého se zvýšenou rezistencí vůči *Microdochium nivale*. Podobně Msikita, Wilkinson (1994) informují o formách lipnice luční odolných vůči *Erysiphe graminis*, získaných v podmínkách *in vitro*. V obou případech bylo prokázáno, že u převážné části materiálů byla tato vlastnost dědičná. Cristaldo et al. (1997) zjistili, že mladé kalusy pšenice jsou vhodnější pro testování na rezistenci vůči *Helminthosporium sativum*, poněvadž nejsou průkazně ovlivněny somaklonální variabilitou.

Cílem práce bylo ověření metody dvouvrstevného média pro testování rezistence vůči toxickým metabolitům *Drechslera* spp. v kalusové kultuře jílku vytrvalého a kostřavy luční.

MATERIÁL A METODA

Kalusová kultura byla získána z embryí vypreparovaných ze zralých obiliek. Metodický postup pro jílek vytrvalý publikovali Drozdová, Cagaš (1997). U kostřavy luční bylo použito stejného postupu, pouze embrya byla nasazována na médium, které popsali Gyulai et al. (1992). Byla použita varianta F, doplněná o 5 mg/l 2,4-D (kyselina 2,4-dichlorfenoxycetová), přičemž sacharóza byla nahrazena maltózou.

Kultury *Drechslera* spp. byly získávány z čerstvých listů z lokality Zubří. Postup vyvolání sporulace: Části napadených listů byly po povrchové sterilizaci 2% chlóranem sodným po dobu 3 min a propláchnutí v destilované vodě umístěny do Petriho misek na 1,5% vodní agar s přísávkem glukózy. Inkubace probíhala při teplotě 20 °C a střídání NUV světla a temna 12 h/12 h. Po 5 až 12 dnech byly ze sporulujících lézí zakládány čisté kultury na bramborovo-mrkvovém (PCA) nebo bramborovo-dextrozovém agaru (PDA).

K testování na odolnost vůči toxickým metabolitům patogena byla použita modifikovaná metoda dvouvrstevného média (Lepoivre et al., 1986). Spodní vrstvu v misce o průměru 9 mm tvořila kultura patogena. Po aplikaci druhé vrstvy média s přísávkem fungicidu (Tilt)

byl zastaven růst mycelia, přičemž toxické metabolity pronikly do této vrstvy, kde ovlivňovaly kalusové buňky. Kultivace probíhala v termostatu při teplotě 25 ± 1 °C po dobu dvou týdnů. Kultura *D. siccans* byla zakládána tak, že disk mycelia o průměru 5 mm byl položen na povrch média, zatímco u *D. dictyoides* byl disk vložen na dno mísky a zalit médiem.

Způsobem rozdělení kalusů (o vyšší hmotnosti), tj. polovina kalusu byla po zvážení kladena na testovací médium (stáří kultury patogena dva týdny) a druhá polovina na médium kontrolní, byly založeny dva pokusy, které byly vyhodnoceny po dvou týdnech kultivace vážením a zaznamenáním stavu kalusové tkáně:

Pokus I. Objekt: jílek vytrvalý – odrůda Jakub (šest genotypů, tři opakování) a Barlatra (šest genotypů, pět opakování). Patogen: *D. siccans*. Médium PCA (poloviční koncentrace). Objem horní vrstvy média stejný jako spodní, tj. 40 ml.

Pokus II. Objekt: kostřava luční – nšl. BuRž86, odrůda Rožnovská a dva rozpracované materiály z mutačního šlechtění – MUII44 a MUII40 (každá pět genotypů, tři opakování). Patogen: *D. dictyoides*. Médium PCA. Objem horní vrstvy média poloviční, tj. 20 ml.

Způsobem testování celých kalusů všech hmotnostních kategorií s vyloučením pouze ojediněle se vyskytujících vodnatých kalusů byly založeny pokusy III a IV.

Pokus III. Objekt: kostřava luční – BuRž86 (pět genotypů, pět opakování), Rožnovská (pět genotypů, osm opakování), MUII44 (pět genotypů, šest opakování) a MUII40 (pět genotypů, pět opakování). Patogen: *D. siccans*, stáří kultury šest týdnů. Médium PDA. Objem horní vrstvy média poloviční, tj. 20 ml.

Pokus IV. Objekt: jílek vytrvalý – Ahoj (35 genotypů), Algol (25 genotypů), Jakub (50 genotypů), Sport (30 genotypů). Patogen: *D. siccans*, stáří kultury čtyři týdny. Médium PDA. Objem horní vrstvy média poloviční, tj. 20 ml.

U izolátů *D. siccans* a *D. dictyoides* byla zjišťována dynamika růstu a charakter kolonie na médiu PCA, při teplotě 20 °C pod NUV světlem na Petriho misce o průměru 90 mm.

Výsledky pokusu I a II (rozdíly přírůstků testovaných a kontrolních kalusů) byly zpracovány analýzou variance. Těsnost vztahu mezi přírůstkem kontrolních a testovaných kalusů pro odrůdu vyjadřují korelační koeficienty. O průkaznosti rozdílů růstu kolonie mezi oběma izoláty vypovídají konfidenční intervaly průměrů.

VÝSLEDKY

Pokus I a II. Na základě zjištěného úbytku hmotnosti kalusů vystavených působení toxických látek ve srovnání s kontrolou nebyl v našich pokusech prokázán jejich vliv ani u jílku vytrvalého, ani u kostřavy luční. Vztah mezi přírůstkem kontrolních a testovaných kalusů vyjadřují korelační koeficienty. Jejich nízká kladná

hodnota, nevýznamná na 1% hladině pravděpodobnosti u kostřavy luční (BuRž86 $r = 0,37$, Rožnovská $r = 0,13$, MUII44 $r = 0,12$, MUII40 $r = 0,24$) a jílku vytrvalého (Barlatra $r = 0,37$, Jakub $r = 0,16$), naznačuje, že odchylky hmotnosti v obou směrech se vyskytovaly u kontrolních i testovaných kalusů. Nebyla pozorována ani změna barvy nebo konzistence kalusů.

Pokus III. Už po týdnu působení zcela nekrotizovaly kalusy o nejnižší hmotnosti a během dvou týdnů i všechny ostatní. Nebyl vyselektován žádný kalus s nezasaženým sektorem (tab. I).

Pokus IV. Byly vyselektovány tři nezasažené sektory na dvou kalusech, žádný z nich se však nepodařilo dopěstovat v rostlinu (tab. II). Jeden u odrůdy Jakub (málobuněčný) byl umístěn na horní straně kalusu. Na regeneračním médiu do dvou týdnů rovněž nekrotizoval. Z jednoho kalusu odrůdy Ahoj byly odděleny dva poměrně velké (nevážno) sektory po stranách kalusu, zatímco střední část byla již v pokročilém stadiu nekrotizace. Na jednom z nich byla na regeneračním médiu asi po třech týdnech zaznamenána slabá tvorba kořínků, u druhého se nevytvorily ani kořínky, ani prýty.

Variabilita jednotlivých genotypů v rámci populace ve stupni kalogeneze je patrná z tab. I a II. Z tab. II dále vyplývá, že pro testování použitou metodou je opodstatněné užití kalusů všech hmotnostních kategorií, včetně těch o nižší hmotnosti.

Čisté kultury *D. siccans* a *D. dictyoides* se statisticky významně lišily v dynamice růstu a vykazovaly odlišný charakter mycelia. Průměrné hodnoty velikosti kolonie a jejich konfidence udává tab. III. Na médiu PCA při teplotě 20 °C byl zaznamenán mnohem pomalejší růst mycelia *D. dictyoides*. Vzdušné mycelium olivově zelené barvy v rovnoměrné vrstvě na celé ploše vytvářela *D. siccans*; u *D. dictyoides* bylo vzdušné mycelium bílé, později tmavě šedé barvy, ve tvaru kupek vyvýšených nad povrhu.

DISKUSE

Po technické stránce je extirpace embryí snadnější u jílku vytrvalého než u kostřavy luční. Embrya u kostřavy luční byla celkově slaběji vyvinuta. Zdá se, že

I. Testování kalusů kostřavy luční na metabolitech *D. siccans* (stáří kultury šest týdnů) – Calluses of meadow fescue tested on metabolites of *D. siccans* (age of culture six weeks)

Odrůda ¹	Počet genotypů ²	Váhová kategorie ³ (mg)				Počet sektorů ⁴
		> 200	20–400	401–600	< 600	
relativní četnosti ⁵ (%)						
BuRž86	25	36	24	28	12	0
Rožnovská	40	18	15	47	20	0
MUII44	30	17	37	33	13	0
MUII40	25	16	56	20	8	0

¹cultivar, ²number of genotypes, ³weight category, ⁴number of sectors, ⁵relative frequency

II. Testování kalusů jílku vytrvalého na metabolitech *D. siccans* (stáří kultury čtyři týdny) – Calluses of perennial ryegrass tested on metabolites of *D. siccans* (age of culture four weeks)

Odrůda ¹	Počet genotypů ²	Váhová kategorie ³ (mg)				Počet sektorů ⁴
		> 200	20–400	401–600	< 600	
relativní četnosti ⁵ (%)						
Ahoj	35	17*	32	34	17	1
Algol	25	12	32	48	8	0
Jakub	50	8	38*	36	18	2
Sport	30	27	23	37	13	0

* váhová kategorie, z níž byly vyselektovány kalusy s nezasaženými sektory – weight category from which unaffected sectors were selected

For 1–5 see Tab. I

III. Dynamika růstu izolátů *Drechslera* spp. (průměry kolonií v mm, měřeno ve třídních intervalech; průměrné hodnoty a jejich konfidenční intervaly) – Growth rate of *Drechslera* spp. isolates (diameter of colony in mm, measured in three day intervals; mean values and their confidence interval) ($\bar{x} \pm t_{0,05} \cdot s_x$)

Dny ¹	3	6	9	12	15
<i>D. siccans</i>	30,9 ± 1,55	60,8 ± 2,07	89,2 ± 0,77		
<i>D. dictyoides</i>	19,1 ± 0,81	38,8 ± 2,23	60,2 ± 1,17	73,8 ± 0,99	88,9 ± 0,65

¹days

hlavní příčinou kontaminace po všech procedurách povrchové sterilizace obilky je samotné embryo (vnitřní infekce obilky). Prokázání této domněnky však přesahovalo rámec této práce. Podobně zjištění, s čím souvisí a zda je genetického původu ojedinělý výskyt kalusů o několikanásobně vyšší (sedmkrát) hmotnosti, než je průměr, by bylo přinejmenším zajímavé.

Pro založení čistých kultur *D. siccans* a *D. dictyoides* byly použity čerstvé listy s lézemi, sebrané na lokalitě Zubří. Kromě obou druhů patogena byl v průběhu let 1997 a 1998 zaznamenán na listových čepelích jílku vytrvalého (Drozdová, 1998) a kostřavy luční ještě slabší výskyt *Bipolaris sorokiniana*. Nejčteněji zastoupeným parazitem na kostřavě i jílku byla *D. siccans*.

Dvouvrstevné kultury jsou jednoduchou metodou získávání širokého spektra metabolitů vytvářených patogenem, na rozdíl od čistých toxinů, při jejichž filtraci může docházet k destrukci některých proteinových složek (Plazek, 1997). Pro vysvětlení neúspěšného testování kalusů kostřavy luční na metabolitech *D. dictyoides* se nabízí několik možností: Buď byly toxiny produkovány v nízké koncentraci a nedocházelo k jejich difuzi přes vrstvu média k embryím, nebo může být příčinou nízký koeficient propustnosti membrán kalusových buněk pro toxiny této houby (Plazek, Filek, 1998). Pravděpodobnost, že všechny užití materiály byly rezistentní, je malá. Dosud nebyla jednoznačně prokázána podstata toxinů u tohoto druhu patogena. Pouze Engström et al. (1993) uvádějí, že *D. dictyoides* produkuje katenarin (anthraquinone katenarin). Horodecká (1994) popsala izoláty *D. dictyoides*, jež vytvořily velké množství červeného pigmentu, který se na rozdíl od toxinů produkováných *B. sorokiniana* nepodařilo blíže určit. Nevýhoda tohoto patogena pro uvedený způsob testování spočívá také v růstových charakteristikách. Na médiu bohatém na živiny vytváří snadno vzdušné mycelium a nelze dosáhnout rovného povrchu média, nezbytného pro zajištění stejných podmínek pro všechny testované kalusy, a zabránit tak chybným výběrům. Zároveň je znemožněna aplikace malých objemů horní vrstvy média. Na médiu o nízké koncentraci živin kultura neprodukuje dostatečné množství toxinů.

U *D. siccans* byla působnost toxinů v našich pokusech velmi výrazná za podmínek vyššího stáří kultury vypěstované na médiu bohatém na živiny a aplikace horní vrstvy média o polovičním objemu. Při použití stejného objemu spodní a horní vrstvy média v mladé kultuře patogena se u jílku vytrvalého účinek po dvou týdnech neprojevil, zatímco kultura o stáří čtyř týdnů a při polovičním objemu horní vrstvy média vyvolala nekrotizaci. Plazek (1993) pozorovala u kostřavy luční výrazné rozdíly přírůstků kontrolních a testovaných kalusů, ale zároveň u vyselektovaných kalusů zaznamenala totální inhibici procesu embryogeneze. Výsledky našich pokusů naznačují, že intenzita působení toxinů *D. siccans* je v pozitivní korelaci se stářím kultury patogena a růstové charakteristiky izolátů umožňují aplikaci menších objemů horní vrstvy média. U *D. siccans* jsou dosud známy dvě toxické látky: de-o-methylidia-

porthin a siccantin (Burhenne, 1992). Třetí, dosud neznámý a blíže neidentifikovaný termostabilní toxický metabolit vyzoloval Burhenne (1992).

Metoda hodnocení růstu kalusů nedestruktivní metodou, kterou použili Nyange et al. (1995) pro selekci kalusů *in vitro* na rezistenci vůči *Colletotrichum*, by umožnila vyhodnotit rozsáhlejší soubory genotypů a zároveň získat vyšší pravděpodobnost vyselektování rezistentních jedinců.

Za předpokladu hodnocení přírůstků kalusů nedestruktivním způsobem lze metodu považovat pro *D. siccans* za vhodnou. Regulace objemu horní vrstvy média a stáří kultury je reálná. U *D. dictyoides* bude pro testování pravděpodobně vhodnější užití například částečně čištěných filtrátů.

Poděkování

Výzkum byl podpořen grantovým projektem GA ČR, č. 522/96/0989.

Autorka dále děkuje dr. A. Plazek z oddělení fyziologie AR v Krakově za konzultace problému testování, Ing. V. Minaříkové ze ZVÚ v Kroměříži za předání metodických poznatků o kultivaci patogena a rovněž dr. Marvanové z ČSM v Brně za metodickou pomoc.

LITERATURA

- Bulk R. W. van den (1991): Application of cell and tissue culture and *in vitro* selection for disease resistance breeding – a review. *Euphytica*, 56: 269–285.
- Burhenne S. (1992): Zur Charakterisierung und zur Biochemie der Blattfleckenreger *Drechslera siccans* (Drechsler) Shoem. and *D. andersenii* (Scharif) Lam im Hinblick auf die Krankheitsresistenz von *Lolium perenne*. [Dizertace.] Univ. GH-Paderborn. 279 s.
- Cagaš B. (1998): Choroby a škůdci pěstovaných trav. Č. Budějovice, Orin. 59 s.
- Cristaló M., Carvalho F. I. F., Barbieri R. L., Kohli M. M., Dornelles A. L. C., Handel C. L., Bered F. (1997): Response of different subcultures of wheat callus to toxic filtrates of *Helminthosporium sativum*. *J. Genet. Breed.*, 51: 39–43.
- Drozdová A. (1998): Incidence of *Drechslera* species on perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). XV. Eucarpia Gen. Congr. Genetics and breeding for crop quality and resistance, Abstr. Bk. Viterbo. 30 s.
- Drozdová A., Cagaš B. (1997): Embryo culture of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). *Zesz. Nauk. AR Kraków*, 50: 269–272.
- Engström K., Brishmar S., Svensson Ch., Bengtsson M., Andersson R. (1993): Anthraquinones from some *Drechslera* species and *Bipolaris sorokiniana*. *Mycol. Res.*, 97 (3): 381–384.
- Gyulai G., Janovszky J., Kiss E., Lelik L., Sillag A., Heszky L. E. (1992): Callus initiation and plant regeneration from inflorescence primordia of the intergeneric hybrid *Agropy-*

- ron repens* (L.) Beauv. x *Bromus inermis* Leyss cv. *nanus* on a modified nutritive medium. Pl. Cell Rep., 11: 266–269.
- Horodecka M. (1994): Mikotoxiny wytwarzane przez izolaty *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera dictyoides* w warunkach *in vitro*. Genet. Pol., 35A: 95–100.
- Jönsson A., Engqvist G. (1996): Resistance to *Drechslera* diseases in meadow fescue. Nord. Jordbr.-Forsk., 78 (3): 6.
- Lebeda A. (1995): Perspektivní směry ve výzkumu a šlechtění rostlin na rezistenci k chorobám. Genet. a Šlecht., 31: 63–75.
- Lepoivre P., Viseur J., Duhem K., Carels N. (1986): Double-layer culture technique as a tool for the selection of calluses resistant to toxic material from plant pathogenic fungi. In: Semal J. (ed.): Somaclonal variation and crop improvement. Martinus Nijhoff Publ.: 45–53.
- Msikita W., Wilkinson H. T. (1994): Powdery mildew resistance in Kentucky bluegrass genotypes regenerated from excised seed pieces. Euphytica, 78 (3): 199–205.
- Nyange N. E., Williamson B., McNicol R. J., Lyon G. D., Hackett Ch. A. (1995): *In vitro* selection of *Coffea arabica* callus for resistance to partially purified phytotoxic culture filtrates from *Colletotrichum kahawae*. Ann. Appl. Biol., 127: 425–439.
- Plazek A. (1993): Ocena odporności kalusa kostrzewy lakowej (*Festuca pratensis* Huds.) na metabolity grzybów z rodzaju *Drechslera* sp. Biul. IHAR, 188: 43–50.
- Plazek A. (1997): Selekcja kostrzewy lakowej na metabolitach *Bipolaris sorokiniana* i *Drechslera dictyoides* oraz poszukiwanie fizjologicznych wskaźników odporności na te patogeny. [Doktorská dizertace.] Kraków, AR. 106 s.
- Plazek A., Filek M. (1998): The influence of *Bipolaris sorokiniana* and *Drechslera dictyoides* metabolites on cell membrane permeability of *Festuca pratensis* callus. Acta Physiol. Plant., 3: 251–256.
- Posselt U. K. (1991): *In vitro* selection in forage crops. In: Proc. 16th Eucarpia Fodder Crops Sect. Meet. Fodder crops breeding: Achievements, novel strategies and biotechnology, Wageningen, Pudoc: 117–121.
- Posselt U. K., Altpeter F. (1994): Improvement of snow mould resistance by conventional and *in vitro* techniques. Euphytica, 77 (3): 251–255.

Došlo 9. 3. 1999

Kontaktní adresa:

Ing. Anežka Drozdová, CSc., OSEVA PRO, s. r. o., o. z. Výzkumná stanice travinářská Rožnov-Zubří, 756 54 Zubří, Česká republika, tel.: 0651/65 81 95, fax: 0651/65 81 97, e-mail: vstroz@ostrava.cesnet.cz

INZERCE

Redakce časopisu nabízí tuzemským i zahraničním firmám možnost inzerce na stránkách časopisu ROSTLINNÁ VÝROBA. Prostřednictvím inzerátů uveřejňovaných v našem časopise budou o vašich výrobcích informováni pracovníci z výzkumu a provozu u nás i v zahraničí.

Bližší informace získáte na adrese:

Redakce časopisu ROSTLINNÁ VÝROBA
RNDr. E. Stříbrná
Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7
120 56 P r a h a 2

ADVERTISEMENT

The Editors of the journal offer to the Czech as well as foreign firms the possibility of advertising on pages of the ROSTLINNÁ VÝROBA (Plant Production) journal. Through your adverts published in our journal, the specialists both from the field of research and production will be informed about your products.

For more detailed information, please contact:

ROSTLINNÁ VÝROBA
RNDr. E. Stříbrná
Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7
120 56 P r a h a 2

HYBRID MAIZE SEED YIELD IN CORRELATION WITH DISTANCE OF MOTHER AND FATHER PARENT COMPONENTS

VÝNOS ZRNA HYBRIDNÍ KUKUŘICE V KORELACI SE VZDÁLENOSTÍ MATEŘSKÝCH A OTCOVSKÝCH KOMPONENT

V. Guberac, J. Martinčić, S. Marić, Đ. Banaj

University of J. J. Strossmayer, Faculty of Agriculture, Osijek, Croatia

ABSTRACT: Experimental work conducted during 1996 and 1997 in the field trial of Agricultural Institute in Osijek showed connection between some yield components of single cross maize hybrids with distance between mother and father components during pollination. The investigations were conducted with three different hybrids in the first, second and third row of mother components distant from father components. Results of investigation showed that years of investigation (A) had statistically high significant influence ($P < 0.01$) on the number of seed per row of ear in hybrid OSSK 247, and statistically significant influence ($P < 0.05$) in hybrids OSSK 382 and OSSK 553. In all three hybrids in the second year of investigation greater number of seed per ear row than in the first year was achieved. Years of investigation (A) had statistically high significant influence ($P < 0.01$) on seed yield per ear in all examined hybrids. In the second year of investigation average seed yield per ear was greater than in the first year for 1.3 to 3.0 g of seed per ear. Distance between mother and father components (B) had statistically high significant influence ($P < 0.01$) on number of seed per row in all examined hybrids. Number of seed in ear row was the highest in the first mother's row, closest to father component (24.75 seeds in hybrid OSSK 247, 30.90 seeds in hybrid OSSK 382 and 30.97 seeds in hybrid OSSK 553). The lowest number of seeds had mother's row that had greatest distance from father component (10.14 seeds in hybrid OSSK 247, 10.65 seeds in hybrid OSSK 382 and 15.45 seeds in hybrid OSSK 553). Distance between mother and father component (B) influenced the seed yield per ear. The greatest yield per ear had mothers row closest to father (105.43 g of seed in hybrid OSSK 247, 107.01 g of seed in hybrid OSSK 553 and 111.31 g of seed in hybrid OSSK 382). The lowest seed yield per ear had mothers row that had greatest distance from father component (34.58 g of seed in hybrid OSSK 247, 45.07 g of seed in hybrid OSSK 382, and 57.27 g of seed in hybrid OSSK 553). Differences in seed yield per ear between mothers rows in all three hybrids was statistically high significant ($P < 0.01$).

Keywords: maize (*Zea mays* L.); seed production; single cross; distance; ear; yield components; yield

ABSTRAKT: V letech 1996 a 1997 proběhl v Zemědělském ústavu v Osijeku polní pokus, jehož výsledky naznačily souvislost mezi některými výnosovými prvky kukuřičných hybridů z jednoduchého křížení a vzdáleností mezi mateřskými a otcovskými komponentami během opylení. Byly sledovány tři rozdílné hybridy v prvním, druhém a třetím řádku mateřských komponent různě vzdálených od otcovských. Výsledky pokusu ukázaly, že jednotlivé ročníky (A) měly u hybridu OSSK 247 statisticky vysoce významný vliv ($P < 0,01$) na počet zrn v řádce klasů, u hybridů OSSK 382 a OSSK 553 byl tento vliv statisticky významný ($P < 0,05$). Ve druhém pokusném roce bylo u všech tří hybridů dosaženo vyššího počtu zrn z řádku klasů než v prvním roce. U všech sledovaných hybridů byl zjištěn statisticky vysoce významný vliv ($P < 0,01$) ročníků (A) na výnos zrna z klasu. V druhém roce byl průměrný výnos zrna z klasu vyšší o 1,3 až 3,0 g zrna na klas ve srovnání s prvním rokem. Vzdálenost mezi mateřskými a otcovskými komponentami (B) měla u všech sledovaných hybridů statisticky vysoce významný vliv ($P < 0,01$) na počet zrn z řádku. Počet zrn z řádku klasů byl nejvyšší v prvním mateřském řádku nejbližší otcovské komponenty (24,75 zrn u hybridu OSSK 247, 30,90 zrn u hybridu OSSK 382 a 30,97 zrn u hybridu OSSK 553). Nejnižší počet zrn jsme zjistili v mateřském řádku nejvíce vzdáleném od otcovské komponenty (10,14 zrn u hybridu OSSK 247, 10,65 zrn u hybridu OSSK 382 a 15,45 zrn u hybridu OSSK 553). Vzdálenost mezi mateřskou a otcovskou komponentou (B) měla vliv na výnos zrna z jednoho klasu. Nejvyšší výnos z klasu měly mateřské řádky, které se nacházely nejbližší otcovským (105,43 g zrna u hybridu OSSK 247, 107,01 g zrna u hybridu OSSK 553 a 111,31 g zrna u hybridu OSSK 382). Nejnižší výnos zrna na klas měly mateřské řádky nejvíce vzdálené od otcovské komponenty (34,58 g zrna u hybridu OSSK 247, 45,07 g zrna u hybridu OSSK 382 a 57,27 g zrna u hybridu OSSK 553). Rozdíly ve výnosu zrna mezi mateřskými řádky byly u všech tří hybridů statisticky vysoce významné ($P < 0,01$).

Klíčová slova: kukuřice (*Zea mays* L.); produkce zrna; jednoduché křížení; vzdálenost; klas; výnosové složky; výnos

INTRODUCTION

Achieving higher yield of hybrid seed per unit, we need to prepare the best possible variation of mother and father rows for every hybrid. The latest research shows that during production single cross, where nearly always the amount of pollen from the fathers line is not big, rows from mother parents rarely are bigger than two middle row spacing (1.4 m) apart from the rows of father parent (Pucarić, 1992). Therefore the most common sowing rate between mother and father rows are 4 : 2, 2 : 1, 3 : 1 very few 6 : 2 or 4 : 1. Distance from the mothers to fathers parent determine the presence of different amounts of pollen needed for fertilization of the mother parent.

A moderate feeling on a wide space between seedling yield minified single cross Bc 468 has been shown during research which undertook Pucarić et al. (1988). At the same mass which processed mothers component in the seedling yield (66.6%) wider distance between rows 6 : 2 because of lower fertility by middle and inside rows it gave a significantly smaller yield of seed than the narrower spacing of rows 3 : 1. Because of these reasons increase in the yield of seed per unit, in the recent times we begin to use the so-called modified method of sowing; decreasing the fathers component on the row space of 70 cm, or so that the rows of the fathers component are sown in the middle between the mothers row, this should be applied in every second or third interval (Pucarić, 1992). Benefits of modified sowing have been shown by the research which undertook Pucarić (1977) on a seedling yield single cross Bc 66-25. Three years' research has shown that space between rows 4 : 2 gives an increase in the yield by 21.4% from the standard relation of 6 : 2, which was recommended for the production of this hybrid (Pucarić, 1977). Similar results on the benefits of the modern way of sowing have been gathered by Curtis (1978). Therefore the goals of our research are to uncover whether there is any and how to determine what significance the distance mother component from the pollinator has on the yield of seed hybrid, to be more exact on the three seed hybrids with different length of vegetation (different FAO groups). Then on the basis of gathered results uncover the best combination of rows best suited for sowing our three hybrids with the goal to achieve more unit per unit.

MATERIAL AND METHODS

Experiments were performed with three seedling crop of maize hybrids type single cross during 1996 and 1997 in the localities of Osijek (Eastern Croatia). Hybrids belong to a well known producer, the Agricultural Institute in Osijek, their major characteristics are as follows:

- hybrid OSSK 247, belongs to FAO group 300; formed by crossing father line OS 77-9 (average pollinator with height of plants from 130 to 150 cm) and mother line OS 138-9 (height of plants from 110 to 130 cm); optimum plant density 71 000 plants/ha
- hybrid OSSK 382, belongs to FAO group 400; formed by crossing father line OS 84-24 (good pollinator with height of plants from 120 to 140 cm) and mother line OS 87-24 (height of plants from 120 to 150 cm); optimum plant density 60 000 plants/ha
- hybrid OSSK 553, belongs to FAO group 500; formed by crossing father line OS 1-44 (weak pollinator with height of plants from 190 to 210 cm) and mother line OS 36-16 (height of plants from 170 to 200 cm); optimum plant density 60 000 plants/ha

The field trial was conducted during 1996 and 1997 years on euteric cambisol with a normal degree of soil fertility. Standard agricultural applications were used for the seed production of corn in the eastern parts of Croatia (400 kg/ha N-P-K, 10 : 20 : 30 in the autumn preparation, 400 kg/ha N-P-K, 15 : 15 : 15 as fertilization before sowing and in fertilization 200 kg/ha 27% KAN). Standard (identical) fertilization was undertaken for all the three hybrids as well as care for the crop, in all investigated years.

Sowing for the production of seed for all three hybrids was done in a space of 70 cm, in the relation of rows mother and father component 6 : 2. Direction of the row was west-north to south-east. For hybrid OSSK 247 the sowing of mothers component was completed on the 24th of April, and the sowing of the fathers line was completed on the 1st of May in the first sowing date, and on the 8th of May in the second sowing date. For hybrid OSSK 382 sowing of mothers line concluded on the 18th of April and the fathers line was completed on the 2nd of May. For hybrid OSSK 553 sowing of the fathers component was completed on the 15th of April for the first, and on the 22nd of April in the second sowing date, together for the mothers line. Sowing deadlines are identical for both years of research. Beginning of pollination varied according to the hybrid. Because of this hybrid OSSK 247 began pollinating on the 30th of June, hybrid OSSK 382 on the 4th of July and hybrid OSSK 553 on the 6th of July.

In the first, second and third mother row away from the father component there were harvested 20 ears, in five replications (space between overlapping around 80 cm). There were 100 ears analyzed for each row of a certain hybrid. On the harvested ear an analysis of the number of seeds in a row and the mass of the seed were determined. After this was performed, on the basis of optimum texture for every hybrid, the yields of seed per hectare were determined, on the basis of adopted relation of rows 6 : 2 and after that on the basis of rows 4 : 2. Gathered results were statistically refined with analysis of variance and with the *LSD*-test.

RESULTS AND DISCUSSION

Number of seeds in a row

Experimental results on the effect of years research (A) on the number of seeds in a row are shown in Tab. I. From already mentioned table it can be seen that a large number of seeds in a row has been reported in the second year of research, for all three hybrids. Differences in the amount of seeds on average went from 0.2 to 0.5 seeds, more significant in the second year of research were there is statistically high significance ($P < 0.01$).

Distance of the mothers rows from the fathers had a statistically high significant influence ($P < 0.01$) on the number of seeds in a row (Tab. I). The largest number of seeds in a row was uncovered in the first row of the mothers parent (row closest to pollinator). These results appeared for all three research hybrids so that the number of seeds in a row for the first mothers row in the first year was somewhere from 24.46 for OSSK 247 to 30.66 for hybrid OSSK 553. First mothers row in the second year had 25.04 seeds for hybrid OSSK 247 and the largest number of seeds (31.28) for hybrid OSSK 553.

The second mothers row from the father had a smaller number of seeds per row in response to the first mothers row, for all three hybrids. An average result in the first year ranged from 16.08 hybrid OSSK 247, 23.12 for OSSK 553. In the second year of research again the smallest number of seeds had hybrid OSSK 247 (16.58 seeds in a row) and the biggest had hybrid OSSK 553 (23.32 seeds in a row).

The least number of seeds in a row had the third mothers row, which is furthest away from the father component. In the first year of research from 9.74 seeds for hybrid OSSK 247 to 15.22 seeds in a row for hybrid OSSK 553. In the second year of research again the lowest value was uncovered for hybrid OSSK 247 (10.54 seeds in a row), the most had the hybrid OSSK 553

(15.68 seeds in a row). On the basis of statistical refining of the gathered results expressed differences in the number of seeds found at different hybrids, statistically of high significance ($P < 0.01$).

Yield of seed per ear

Research results on the effect of years of research (A) on the yield of seed per ear are shown in Tab. II. From already mentioned table it can be seen that the biggest yield of seed per ear was achieved on the first row of mother parent (row closest to the fathers component). These results are shown to be for all three research hybrids so that the yield of seed per ear in the first mothers row (in the first year of research moved from 103.56 g for hybrid OSSK 247 to 110.60 g for hybrid OSSK 382). In the second year, the smallest yield had the hybrid OSSK 247 (107.30 g of seed per ear) and the biggest one hybrid OSSK 382 (112.02 g of seed per ear).

The second mothers row from the father had a smaller yield of seed per ear in response to the first mothers row, for all three hybrids (average yield of seed in the first year of research moved from 66.10 g for hybrid OSSK 247 to 84.40 g for hybrid OSSK 553). In the second year the lowest yield once again was recorded for hybrid OSSK 247 (68.73 g of seed per ear), the highest yield had hybrid OSSK 553 (85.60 g of seed per ear).

As we may foresee in the second year in the third mothers row hybrid OSSK 247 had the lowest yield (35.96 g of seed per ear), the highest OSSK 553 (57.94 g of seed per ear). On the basis of statistical analyses gathered results expressed differences in the yield of seed per ear were formed as a result in the differences in distances between mother and father rows (B), for all three hybrids have shown to be of high statistical significance ($P < 0.01$).

I. Influence of distance between mother and father component on seed number per row

Hybrid	Seed number per row					
	1st seed row (B)		2nd seed row (B)		3rd seed row (B)	
	1st year (A)	2nd year (A)	1st year (A)	2nd year (A)	1st year (A)	2nd year (A)
OSSK 247	24.46 (100%)	25.04 (100%)	16.08 (65.74%)	16.58 (66.21%)	9.74 (39.82%)	10.54 (42.09%)
Years (A)	$LSD_{0.05} = 0.2331$ $LSD_{0.01} = 0.3866$					
Rows (B)	$LSD_{0.05} = 1.1271$ $LSD_{0.01} = 1.5529$					
OSSK 382	30.60 (100%)	31.20 (100%)	22.36 (73.07%)	22.62 (72.50%)	10.06 (32.88%)	11.24 (36.03%)
Years (A)	$LSD_{0.05} = 0.8178$ $LSD_{0.01} = 1.3563$					
Rows (B)	$LSD_{0.05} = 1.7229$ $LSD_{0.01} = 2.3738$					
OSSK 553	30.66 (100%)	31.28 (100%)	23.12 (75.21%)	23.32 (74.55%)	15.22 (49.64%)	15.68 (48.66%)
Years (A)	$LSD_{0.05} = 0.2648$ $LSD_{0.01} = 0.4391$					
Rows (B)	$LSD_{0.05} = 1.3861$ $LSD_{0.01} = 1.9097$					

II. Influence of distance between mother and father component on seed yield per ear

Hybrid	Seed number per row					
	1st seed row (B)		2nd seed row (B)		3rd seed row (B)	
	1st year (A)	2nd year (A)	1st year (A)	2nd year (A)	1st year (A)	2nd year (A)
OSSK 247	103.56 (100%)	107.30 (100%)	66.10 (63.83%)	68.73 (64.05%)	33.20 (32.06%)	35.96 (33.51%)
Years (A)	$LSD_{0.05} = 1.4026$ $LSD_{0.01} = 2.3262$					
Rows (B)	$LSD_{0.05} = 6.6465$ $LSD_{0.01} = 9.1577$					
OSSK 382	110.60 (100%)	112.02 (100%)	8.90 (73.15%)	81.74 (72.97%)	44.30 (40.05%)	45.84 (40.92%)
Years (A)	$LSD_{0.05} = 0.2399$ $LSD_{0.01} = 0.3978$					
Rows (B)	$LSD_{0.05} = 5.6708$ $LSD_{0.01} = 7.8134$					
OSSK 553	106.20 (100%)	107.82 (100%)	84.40 (79.47%)	85.60 (79.39%)	56.60 (53.30%)	57.94 (53.74%)
Years (A)	$LSD_{0.05} = 0.2017$ $LSD_{0.01} = 0.3345$					
Rows (B)	$LSD_{0.05} = 9.3689$ $LSD_{0.01} = 12.9088$					

III. Average temperature, rainfall and wind speed in July decades during pollination

Period	Temperature (°C)	Rainfalls (mm)	Wind speed (m/s)
1st decade of July, 1996	19.7	21.2	2.1
1st decade of July, 1997	18.3	20.2	2.4
2nd decade of July, 1996	19.4	12.9	1.9
2nd decade of July, 1997	19.1	14.1	2.5
3rd decade of July, 1996	20.6	60.8	2.2
3rd decade of July, 1997	21.0	54.1	2.4

Yield of seed of maize is a complex quantitative characteristic which is determined by the number of genes. Besides genetic basis on the yield a considerable role plays the environment (temperature, water, vegetation and fertilization) this confirms the results of the experiments which were performed by a large number of authors for example (Brogila, Brunori, 1994; Ogivara et al., 1994, 1995; Pinter et al., 1994; Singletary et al., 1994; Stockbury, Michaels, 1994; Cheikh, Jones, 1995; Roy et al., 1995; Azanza et al., 1996; Guberac et al., 1996; Palagyi, Nemeth, 1996; Vasilas, Taylor, 1996; Martinčić et al., 1997).

Well aware of the effect the environmental factors play during flowering, pollination and fertilization and analysis of temperature, rainfall and wind speed (Tab. III) were performed during the first, second and the third decade of July. During this time fertilization went on, in other words conception of the seeds on the ear and the formation of the oncoming yield. According to the data shown in Tab. III all the recorded values did not negatively influence fertilization whatever the distance the rows of the mother component was from the father which serves as the pollinator.

Considering that the wind is a very important factor in the spreading of pollen, in our case it affected our

fertilization, wind speed of 2.1 m/s which is considered as a mild wind, contributed in the spreading of pollen to greater distances from the first row. In the second year of research wind speed was somewhat quicker (for about 0.2 to 0.6 m/s) this more likely resulted in a bigger fertilization percentage in the second year of research. More likely the result brought by the fertilization resulted in a bigger number of seeds in a row and a higher yield of seeds per ear. Because of this we have regarded our theory that the distance of the mother component from the pollinator is one of the major contributors in the fertilization and the conception of the maize seeds.

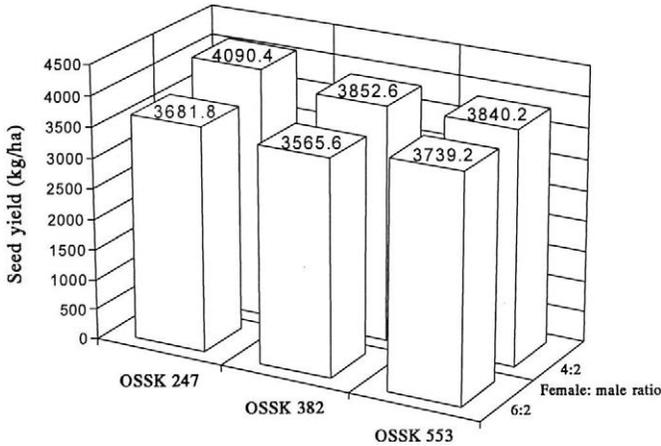
Next to already mentioned the genetic principal lines can have a negative effect on the fertilization, especially in two cases; when the plants from the mothers are higher than those of the fathers and when the fathers line does not pollinate or pollinates at a lesser rate. In the first case for all three tested hybrids the mothers components are lower than those of the father components and like these do not propose a problem during fertilization. In the second case there are present variations in the strength of the pollinator from the fathers component of the tested hybrids. According to the data derived from the Agricultural Institute of Osijek, hybrid OSSK 247 has a line of the fathers component which is an average pollinator, hybrid OSSK 533 is a weak pollinator and hybrid OSSK 382 is a good pollinator. Because of this on the research parameters (number of seeds in a row, yield of seed per ear) an important role played the genotype in other words every tested hybrid for itself, this was expressed by the differences shown in Tabs. I and II.

Yield of seeds per unit of surface mass

The yield of seed is calculated on the unit of surface each individual row of the mothers component showed similar laws as the yield of seed per ear (Tab. IV, Fig. 1).

IV. Calculated seed yield of three maize single crosses in 4 : 2 and 6 : 2 female : male row ratio

Hybrid	Plant density (number of plants/ha)	Yield in row ratio female : male (kg/ha)			
		4 : 2		6 : 2	
		1st year	2nd year	1st year	2nd year
OSSK 247	71 000	4 015.27	4 165.53	3 600.77	3 762.83
OSSK 382	60 000	3 830.00	3 875.20	3 537.10	3 594.00
OSSK 553	60 000	3 812.00	3 868.40	3 708.40	3 770.40



1. Influence of parent distance on seed yield of three single-cross maize hybrids (two-year average)

The highest yield per hectare was achieved on the first row from the father and the lowest by the third mother row. However the sowing of the mothers and fathers parents in a relation of 4 : 2 would have achieved a higher yield of seed per unit of surface mass in response to the sowed relation of 6 : 2, never mind that by sowing 6 : 2 we can achieve a higher number of the mother plants per unit of surface mass (Tab. IV). These results confirm research undertaken by Pucarić et al. (1988), where they recorded that all the surface which was occupied by the mothers component in the seedling crop (66.6%), a wider relation between rows 6 : 2 because of a lesser fertilization of the middle and the inner rows gave a significantly lower yield of seed than a narrower relation of rows 3 : 1. Because of this it would be appreciated that the line of pollinators of rows would need to be moved in the interest of the pollinator (Pucarić, 1992).

CONCLUSION

Research results gathered during two years on the effect of distance of mother line from the line of pollinator in the production of seeds, three single cross hybrids of maize have shown to be statistically highly significant ($P < 0.01$) on the research parameters. Years of research (A) has had a statistically high significant influence ($P < 0.01$) on the number of seeds in a row,

yield per ear and yield of seed per hectare. Thanks to a better than average climatic conditions in the second year of research (bigger wind speed) an increase in yield of seed was recorded comparing with the first year.

Number of seeds in a row and on the ear decreased with statistically high significance ($P < 0.01$) as the distance of the mother line rows increased from the rows of the pollinator (B), for all three research hybrids. A decrease totaling 7 to 8 seeds or 25 to 34% in the second and 15 to 21 seeds or 50 to 67% in the third row in response to the first mothers row.

Yield of seed per ear was also statistically significant ($P < 0.01$) with the distance of mother component increasing from the pollinator. This way the biggest yield of seed per ear was gathered on the ears which was in the first mothers row away from the father, the smallest yield was recorded on the third mothers row. Decrease in the yield of seed per ear in the third mothers row totalled 50 to 50 g or 47 to 68% in response to the first row. Working out the yield of seed per unit showed that all three researched hybrids when sowed in a relation of rows 4 : 2 gave a higher yield in the second year.

Acknowledgements

We would like to thank dr. Sc. Ivan Brkić from the Department for Maize Breeding and Genetics at the Agricultural Institute in Osijek (Croatia) for the help he provided during the above-mentioned research.

REFERENCES

- Azanza F., Barzur A., Juvik J. A. (1996): Variation in sweet corn kernel characteristics associated with stand establishment and eating quality. *Euphytica*, 87 (1): 7–18.
- Brogliola M., Brunori A. (1994): Synergistic effect of low temperature and high sucrose concentration on maize pollen viability in aqueous medium. *Crop Sci.*, 34 (2): 528–529.
- Cheikh N., Jones R. J. (1995): Heat stress effects on sink activity of developing maize kernels grown *in vitro*. *Physiol. Plant.*, 95 (1): 59–66.
- Curtis D. L. (1978): Some aspects of *Zea mays* L. (corn) seed production in USA. Seed production. Proc. 28th East. Sch. Agric. Sci. Univ. Nottingham, Butterworths, London.
- Guberac V. et al. (1996): Seed yield analyses of maize hybrid OSSK 247 mother component in seed production. *Poljoprivreda*, 2 (1–2): 23–28.
- Martinčić J., Guberac V., Marić S. (1997): Corn hybrids seed yield in correlation with distance between father and mother components. *Poljopriv. Znanst. Smot.*, 62 (3–4): 275–280.
- Ogiwara I., Shimura I., Ishihara K. (1994): Factors controlling caryopsis development at the ear tip of sweet corn. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.*, 63 (2): 363–369.
- Ogiwara I., Shimura I., Ishihara K. (1995): Effects of hand pollination on grain filling and partitioning of dry matter in the sweet corn ear. *J. Jap. Soc. Hort. Sci.*, 64 (2): 321–328.
- Palagyi A., Nemeth J. (1996): Maize hybrid seed production by the mutual random malting of the parental components. *Cereal Res. Commun.*, 24 (3): 307–316.
- Pinter L., Burucs Z., Paldi E. (1994): What may be the basic reason(s) for genotype-dependent responses to plant density. *Növénytermelés*, 43 (3): 263–271.
- Pucarić A. (1977): Influence of distance between mother and father component on seed yield in maize production. *Croat. Simp. Sjeme i sjemenska proizvodnja kukuruza*, Osijek: 131–138.
- Pucarić A. (1992): Maize hybrids seed production. *Zagreb. Croat. Inst. Oplemen. i Proizvod. Bilja*. 98 pp.
- Pucarić A., Ćirović M., Đurkić I., Vidojković M. (1988): Maize seed production and processing in Yugoslavia. *Proc. Wkshp maize breeding and maize production*. Maize Res. Inst. Belgrade: 155–175.
- Roy S. K., Rahaman S. M. L., Salahuddin A. B. M. (1995): Pollination control in relation to seed yield and effect of temperature on pollen viability of maize (*Zea mays*). *Ind. J. Agric. Sci.*, 65 (11): 785–788.
- Singletary G. W., Banisadr R., Keeling P. L. (1994): Heat stress during grain filling in maize – effects on carbohydrate storage and metabolism. *Austral. J. Pl. Physiol.*, 21 (6): 829–841.
- Stockbury D. E., Michaels P. J. (1994): Climate change and large-area corn yield in the southeastern United States. *Agron. J.*, 86 (3): 564–569.
- Vasilas B. L., Taylor R. W. (1996): Corn pollination and drought stress. *Agron. Fact*. 250 pp.

Received on February 22, 1999

Contact Address:

Doc. Dr. Sc. Vlado Guberac, University of J. J. Strossmayer, Faculty of Agriculture, Trg. Sv. Trojstva 3, 31 000 Osijek, Croatia

INTRASPECIFIC TOLERANCE OF SOME HERBS TO THE COPPER EFFECT

VNÚTRODRUHOVÁ TOLERANCIA NIEKTORÝCH BYLÍN NA VPLYV MEDI

E. Masarovičová, M. Holubová

Comenius University, Faculty of Natural Sciences, Bratislava

ABSTRACT: The intraspecific tolerance of some herbs to the effect of different copper concentrations was studied. Seeds of the *Agrostis stolonifera* L., *Melandrium rubrum* L. and *Rumex acetosela* L. were collected from the region with contaminated (tolerant population) and not-contaminated (sensitive population) soils. Seedlings of the above-mentioned herbs were treated with different Cu concentrations and cultivated under laboratory conditions. Genotype frequency was estimated on the basis of the index of tolerance. Using this methodical approach a survey of the frequency of individuals in different stage of tolerance was determined. In the plants of tolerant population the genotype frequency of the individuals with the high values of the index of tolerance showed that the genetical structure was changed in favour of this population. The use of the seeds of F₁ generation confirmed that tolerance is not only a dominant but also an inheritable feature for the further generation. Therefore it could be concluded that the seeds from the studied plants of the tolerant population are suitable for phytoremediation as an effective application in the decontamination of metal-polluted soils.

Keywords: copper; genotype frequency; herbs; intraspecific tolerance; tolerant and sensitive populations

ABSTRAKT: Intenzívny a dlhotrvajúci selekčný tlak vysokého obsahu medi v haldovom substráte (lokalita Piesky pri Starých horách, kraj Banská Bystrica, Slovensko) umožnil získať vysoký stupeň tolerancie vyskytujúcich sa druhov *Agrostis stolonifera* L., *Melandrium rubrum* L. a *Rumex acetosela* L. Hodnoty indexu tolerancie (IT) u druhov rastúcich na haldovom substráte boli vyššie ako u druhov populácie z nekontaminovanej oblasti, čo potvrdilo existenciu ich vnútrodruhovej tolerancie. Vyhodnotením údajov IT sa stanovila genotypová frekvencia, ktorá sa v prípade všetkých troch druhov menila v prospech jedincov tolerantnej populácie. Ukázalo sa, že tolerancia je dedičná a geneticky determinuje adaptačné zmeny biochemických a fyziologických procesov. Na základe získaných výsledkov možno konštatovať, že semená adaptovaných populácií so získanou toleranciou k ťažkým kovom sú vhodné pre fytoremediáciu, ako perspektívny a efektívny spôsob genetickej rekultivácie kontaminovaných a degradovaných pôd.

Kľúčové slová: meď; genotypová frekvencia; byliny; vnútrodruhová tolerancia; tolerantné a citlivé populácie

INTRODUCTION

There were developed the specific mechanisms at the plants to enable them to grow and reproduced under contaminated conditions. The ability of plant population to tolerate intoxicated substrate depends on their biochemical and physiological adaptation to the environmental conditions (in detail Masarovičová et al., 1998). The basis of this adaptation is avoidance (barrier against ion uptake) or tolerance (accumulation and immobilization of uptaken ions). According to the theory of tolerance, it is the ability of some species to absorb and then to immobilize uptaken ions by specific proteins (metallothioneins) and stress-proteins (e.g. Guy, 1990; Punz, Sieghardt, 1993). Plants can concentrate metals in their roots and shoots to levels far exceeding those present in either soil or water. The value of metal-accumulating plants for environmental remediation is now being realized with phytoremediation (Ensley, 1995). This is a new and

promising approach to the difficult problem of remediating heavy or toxic metal-polluted soils. Fundamental to the environmental and economic success of phytoremediation is the existence of plants which hyperaccumulate metals. These are so-called metal hyperaccumulators or hyperaccumulator plants, of which about 400 taxa have been described so far from 35 families of angiosperms (Baker, 1995). In general, extensive biotransformation of pollutants by plants is known to occur, which includes methylation, conjugation, reduction/oxidation, and degradation. The fate of the biotransformation products ranges from incorporation into cellular components, deposition into specialized organs, to excretion and volatilization (Fan, Higashi, 1995).

In our earlier paper (Masarovičová, Holubová, 1998) the effect of different concentration of copper on growth and leaf chlorophyll content of three wild herbs (*Agrostis stolonifera* L., *Melandrium rubrum* L. and *Rumex acetosela* L.) originating from tolerant and sensitive popu-

lations was studied. In this paper the intraspecific tolerance of the above-mentioned herbs to the effect of copper was investigated.

MATERIAL AND METHODS

Herb species *Agrostis stolonifera* L., *Melandrium rubrum* L. and *Rumex acetosela* L. were investigated. Seeds were sampled from the following localities:

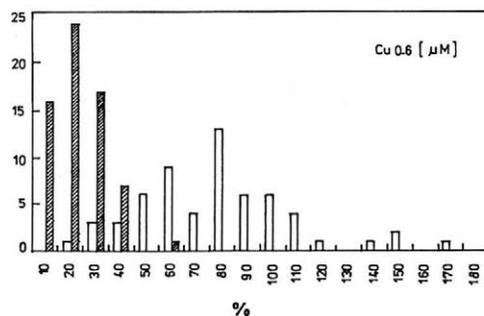
- Piesky pri Starých horách (region Banská Bystrica, Central Slovakia, tolerant population), piles with heavy metals contaminated soils,
- Staré hory and Borinka (Little Carpathians, SW Slovakia, sensitive population), region with not-contaminated soils.

Plant cultivation and root test

Seeds of the plants sampled from contaminated locality were disinfected with 10% H₂O₂ and germinated in Petri dishes (cotton wool and filter paper with solution of 0.5 g Ca(NO₃)₂·1⁻¹ water) in growth chamber under standard conditions: 25 °C, 80% relative air humidity and 125 μmol·m⁻²·s⁻¹ photosynthetic photon flux density. Seeds of both variants (contaminated and not-contaminated) were treated with four increasing concentrations of CuSO₄·5 H₂O: 0.6, 4.0, 8.0 and 12.0 μM, resp. As a control variant the seeds germinated in Petri dishes with Ca(NO₃)₂ solution were used. After 10 days of cultivation, 90 seedlings of all variants were picked up and 14 days cultivated in paper rolls under the same conditions. Thereafter the root length was estimated.

Index of tolerance (IT expressed in %) was calculated as follows (Symeonidis et al., 1985):

$$IT = \frac{\text{root length of the plants treated with Cu}}{\text{root length of the plants without Cu}} \cdot 100$$



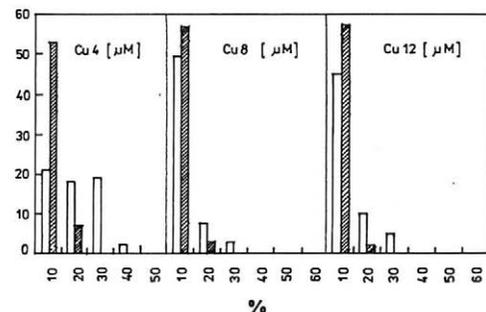
Genotype frequency estimation

Genotype frequency was estimated on the basis of the found IT values (Masarovičová, Holubová, 1998), which were filed to the defined intervals (1–10, 11–20, 21–30, ..., 91–100). The number of individuals with the same IT values in correspondent interval was found. Using this methodical approach (Symeonidis et al., 1985), a survey of the frequency of individuals in different stage of tolerance (genotype frequency) was determined.

RESULTS AND DISCUSSION

The ability of plant population to tolerate intoxicated substrate depends on its physiological and biochemical adaptation to the present ecological conditions. The basis of this adaptation is avoidance (barrier against ion uptake) or tolerance (accumulation and immobilization of uptaken ions) (e.g. Baker, 1987; Punz, Sieghardt, 1993). Both our earlier (Masarovičová, Holubová, 1998) and presented results confirmed the tolerance as the principle for plant adaptation. Tolerance of the plants to heavy metals is either genetically fixed or developed through adaptation processes. Species of genus *Agrostis*, *Deschampsia* or *Silene* have produced ecotypes with the tolerance to higher concentration of metals in substrate, mainly copper, lead and zinc (e.g. Banášová, 1976; Banášová et al., 1987).

In our earlier paper (Masarovičová, Holubová, 1998) the effect of different Cu concentration on the growth and chlorophyll content in three herb species (*Agrostis stolonifera* L., *Melandrium rubrum* L., and *Rumex acetosela* L.) of the tolerant and resistant populations was studied. The plants (hyperaccumulators) of both tolerant and sensitive populations accumulated higher Cu content in the leaves and roots. However, higher Cu content was in the roots than in the leaves as well as in the seedlings of tolerant than sensitive populations. Growth of the roots and shoots was reduced, but the

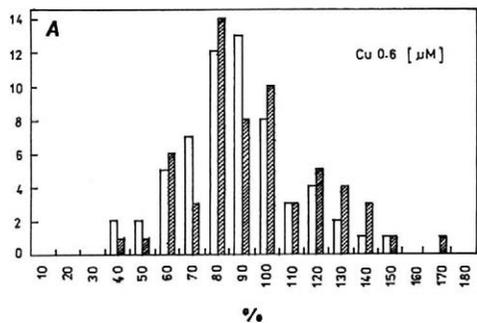


1. Genotype frequency of the *Agrostis stolonifera* plants of sensitive (filled) or tolerant (unfilled) populations cultivated under different Cu concentration

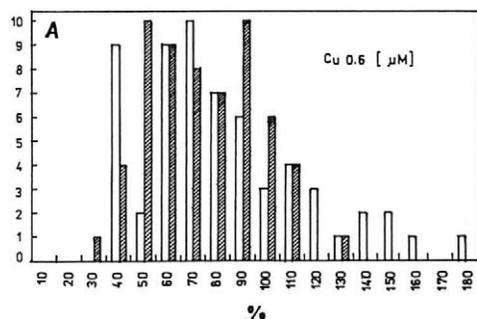
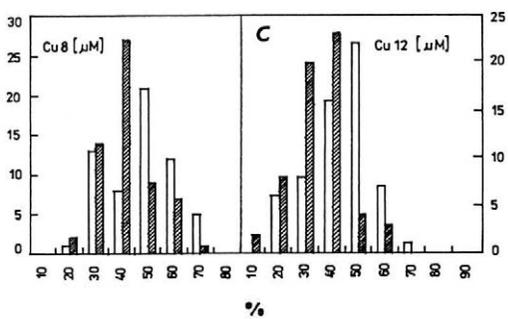
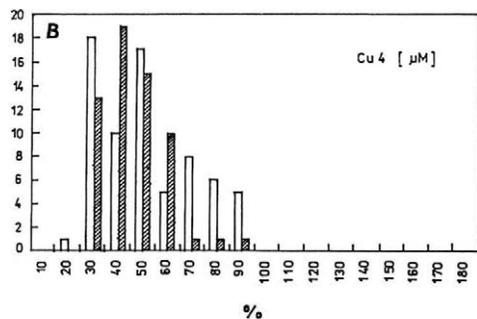
Explanations to Figs. 1 to 3:

x axis: index of tolerance

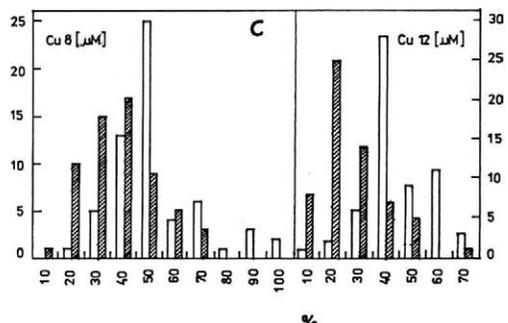
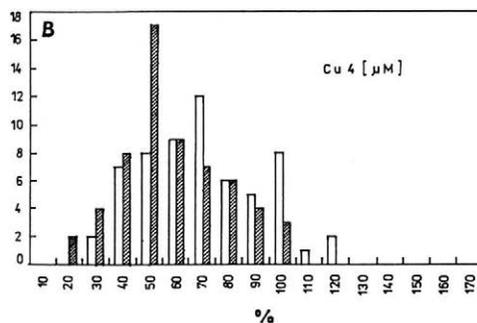
y axis: genotype frequency



2. Genotype frequency of the *Rumex acetosela* plants of sensitive (filled) or tolerant (unfilled) populations cultivated under different Cu concentration



3. Genotype frequency of the *Melandrium rubrum* plants of sensitive (filled) or tolerant (unfilled) populations cultivated under different Cu concentration



first one was reduced faster. The IT values were higher for the plants of tolerant population as the results of their adaptation to the higher metal content in the soil.

Presented results confirmed the intraspecific tolerance of studied herbs to the heavy metals. Sensitive

population of *R. acetosela* and *M. rubrum* possessed the higher number of individuals with higher values of IT (genotype frequency) (Figs. 2 and 3) than those of *A. stolonifera* (Fig. 1). In sensitive population of the species *R. acetosela* the individuals in interval IT = 161 to 170%

(Fig. 2A) and *M. rubrum* in interval IT = 131 to 140% occurred (Fig. 3A). For both populations with increasing Cu concentration whole field of the number of individuals shifted to the lower values of IT. These findings confirmed the existence of different intraspecific tolerance of the studied species to the different Cu concentrations. Higher genotype frequency found for the sensitive population of *R. acetosella* and *M. rubrum* in intervals with the higher values of IT is the basis for potential arise of tolerant population under higher pollution stress (higher concentration of the metals).

In sensitive populations of a studied species the individuals with the high values of IT occurred (Figs. 1 to 3). These individuals are the basis for selection process being allow the adaptation of populations. Intensive and long-term selective strength of high Cu concentration in the pile substrate tend to cause the high degree of tolerance in the plants covered the piles. This tolerance is inheritant and genetically determines adaptation on the level of biochemical and physiological processes (Baker, 1987). The use of the seeds of F₁ generation of studied herbs confirmed that tolerance is not only dominant but also inheritable feature for the further generations. According to Gardside, McNeilly (1974) tolerance arise in evolution process through the adaptation processes and its measure is determined by genotype frequency in sensitive populations, which is the basis for selection process under stress condition (higher concentration of the metals). Within the adaptation processes the genotype frequency is gradually changed and tended to the tolerant population (Baker, 1987; Ernst et al., 1992).

In the plants of tolerant populations the genotype frequency of the individuals with the high values of IT was higher which confirmed that the genetical structure was changed in favour of these populations. On the basis of found results it could be concluded that the seeds from the plants of the tolerant populations are suitable for biological recultivation of contaminated and degraded soils. These plants could adapt on the high metal content in the soil and then cover anthropic substrates.

Apart from the interest in elucidating the underlying biochemical mechanism of metal tolerance, metal hyperaccumulators are attracting increasing attention because of their potential application in the decontamination of metal-polluted soils. The use of roots of terrestrial plants to remove heavy or toxic metals from the soils may provide the foundation for a novel soil-treatment technology. Phytoremediation, although still in its infancy, may one day become an established environmental clean-up technology (Ensley, 1995).

Acknowledgements

The authors are grateful to Mrs. Evelyná Khandlová for her technical assistance.

REFERENCES

- Baker A. J. M. (1987): Metal tolerance. *New Phytol.*, 106: 93–111.
- Baker A. J. M. (1995): Metal hyperaccumulation by plants: our present knowledge of the ecophysiological phenomenon. In: Randall D., Raskin I., Baker A., Blevins D., Smith R. (eds.): *Current topics in plant biochemistry, physiology and molecular biology*. Univ. Missouri, Columbia: 7–8.
- Banásová V. (1976): *Vegetácia medených a antimónových hald*. Bratislava, Veda: 1–109.
- Banásová V., Holub Z., Zeleňáková E. (1987): The dynamic, structure and heavy metal accumulation in vegetation under long-term influence of Pb and Cu immissions. *Ekológia* (Bratislava), 6: 101–111.
- Ensley B. D. (1995): Will plants have a role in bioremediation? In: Randall D., Raskin I., Baker A., Blevins D., Smith R. (eds.): *Current topics in plant biochemistry, physiology and molecular biology*. Univ. Missouri, Columbia: 1–2.
- Ernst W. H. O., Verkleij J. A. C., Shat H. (1992): Metal tolerance in plants. *Acta Bot.*, 41: 229–248.
- Fan T. W. M., Higashi R. M. (1995): Environmental consideration of phytoremediation. In: Randall D., Raskin I., Baker A., Blevins D., Smith R. (eds.): *Current topics in plant biochemistry, physiology and molecular biology*. Univ. Missouri, Columbia: 50–51.
- Gardside D. W., McNeilly T. (1974): The potential for evolution of heavy metal tolerance in plants. II. Copper tolerance in normal populations of different plant species. *Heredity*, 32: 335–348.
- Guy C. L. (1990): Cold acclimation and freezing stress tolerance. Role of protein metabolism. *Ann. Rev. Pl. Physiol., Pl. Mol. Biol.*, 41: 187–223.
- Masarovičová E., Holubová M. (1998): Effect of copper on growth and chlorophyll content of some herbs. *Rostl. Výr.*, 44: 261–265.
- Masarovičová E., Cicák A., Štefančík I. (1998): Plant responses to air pollution and heavy metal stresses. In: Pessarakli M. (ed.): *Handbook of plant and crop stress*. New York, Basel, Hong Kong, Marcel Dekker Inc.: 569–598.
- Punz W. F., Sieghardt H. (1993): The response of root of herbaceous plant species to heavy metal. *Env. Exp. Bot.*, 1: 85–98.
- Symeonidis L., McNeilly T., Bradshaw A. D. (1985): Differential tolerance of three cultivars of *Agrostis capillaris* L. to cadmium, copper, lead, nickel and zinc. *New Phytol.*, 101: 309–315.

Received on December 12, 1998

Contact Address:

Prof. RNDr. Elena Masarovičová, DrSc., Univerzita Komenského, Prírodovedecká fakulta, Mlynská dolina B-2, 842 15 Bratislava, Slovenská republika, tel.: 00421 7/60 29 66 47, fax: 00421 7/65 42 90 64, e-mail: masarovicova@fns.uniba.sk

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 (včetně klíčových slov).

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 zřetelům k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce.

Rozsah vědeckých prací nesmí přesáhnout 12 strojopisných stran včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

Vlastní úprava rukopisu: formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojitě mezery. K rukopisu je třeba přiložit disketu s prací pořízenou na PC a s grafickou dokumentací. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

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.

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů. 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. Musí obsahovat klíčová slova. 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, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné 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.

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 by měla sestávat hlavně z lektorovaných periodik. 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 plně jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

Rukopis nebude redakci přijat k evidenci, nebude-li po formální stránce odpovídat pokynům pro autory.

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 (including key words).

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 12 typescript pages, including tables, figures and graphs.

Manuscript layout: quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript. A PC diskette should be provided with the paper and graphical documentation. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

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 title of the paper shall not exceed 85 strokes. Subtitles of the papers are not allowed either.

Abstract is an information selection of the subject 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 basic numerical data including statistical data. It must contain key words. 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.

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 section **References** should preferably contain reviewed periodicals. 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.

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, telephone and fax number or e-mail.

The manuscript will not be accepted to be filed by the editorial office if its formal layout does not comply with the instructions for authors.

OBSAH

Haberle J., Diepen C. A. van: Variabilita potenciálních a vodou limitovaných výnosů cukrovky a jarní pšenice simulovaných modelem WOFOST	433
Zbírál J.: Porovnání vybraných extrakčních postupů pro stanovení síry v půdách ČR.....	439
Klem K., Váňová M.: Analýza konkurenčních vztahů mezi ozimou pšenicí a jednoletými plevelnými druhy.....	445
Gonet S. S., Debska B.: Vlastnosti huminových kyselin vznikajících během rozkladu rostlinných zbytků v půdě.....	455
Drozdová A.: Testování jílku a kostřavy na rezistenci vůči <i>Drechslera</i> spp. metodou dvouvrstevného média	461
Guberac V., Martinčić J., Marić S., Banaj Đ.: Výnos zrna hybridní kukuřice v korelaci se vzdáleností mateřských a otcovských komponent.....	467
Masarovičová E., Holubová M.: Vnútrodruhová tolerancia niektorých bylín na vplyv medi	473

PLANT PRODUCTION

CONTENTS

Haberle J., Diepen C. A. van: Variability of potential and water-limited sugar beet and spring wheat yields simulated with WOFOST model (in English).....	433
Zbírál J.: Comparison of some extraction methods for determination of sulphur in soils of the Czech Republic (in Czech)	439
Klem K., Váňová M.: Analysis of competition between winter wheat and annual weed species (in Czech) 445	445
Gonet S. S., Debska B.: Properties of humic acids produced during decomposition of plant residues in soil (in English).....	455
Drozdová A.: Testing of ryegrass and meadow fescue for resistance to <i>Drechslera</i> spp. with method of double-layer medium (in Czech).....	461
Guberac V., Martinčić J., Marić S., Banaj Đ.: Hybrid maize seed yield in correlation with distance of mother and father parent components (in English)	467
Masarovičová E., Holubová M.: Intraspecific tolerance of some herbs to the copper effect (in English) 473	473