

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

# ROSTLINNÁ VÝROBA

## *Plant Production*

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

2

VOLUME 46  
PRAHA  
ÚNOR 2000  
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

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

### Členové – Members

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

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

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

Doc. Ing. Václav Hosnedl, CSc. (Česká zemědělská univerzita v Praze, ČR)

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

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

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

Doc. Ing. Jan Moudrý, CSc. (Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, ČR)

Prof. RNDr. Lubomír Nátr, DrSc. (Přírodovědecká fakulta, Karlova univerzita v Praze, 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 v Brně, 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. (Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, ČR)

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

Doc. Ing. Pavel Tlustoš, CSc. (Česká zemědělská univerzita v Praze, ČR)

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

Prof. Ing. Karel Voříšek, CSc. (Česká zemědělská univerzita v Praze, ČR)

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

Prof. Dr. hab. Kazimiera Zawisła (Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Polska)

Prof. Ing. Josef Zimolka, CSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, ČR)

### 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, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus.

**Periodicita:** Časopis vychází měsíčně (12krát ročně), ročník 46 vychází v roce 2000.

**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 2000 je 816 Kč.

Aktuální informace najdete na URL adrese: <http://www.uzpi.cz>

**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, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus.

**Periodicity:** The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 46 appearing in 2000.

**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 2000 is 195 USD (Europe), 214 USD (overseas).

Actual information are available at URL address: <http://www.uzpi.cz>

# RESISTANCE TO IMAZAPYR AND CROSS RESISTANCE TO SELECTED SULFONYLUREA HERBICIDES IN KOCHIA (*KOCHIA SCOPARIA* S. L.)

REZISTENCE VŮČI IMAZAPYRU A KŘÍŽOVÁ REZISTENCE VŮČI VYBRANÝM SULFONYLMOČOVINÁM U BYTELU METLATÉHO (*KOCHIA SCOPARIA* S. L.)

D. Chodová, J. Mikulka

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

**ABSTRACT:** Percentage of resistant plants of imazapyr-resistant *Kochia scoparia* s. l. was determined in four populations occurring in railroad areas in the territory of the Czech Republic; standard susceptible populations and cross resistance to some acetolactate synthase inhibitors were also investigated. Resistance was verified in four different ecotypes of kochia. More than 30% of resistant plants were identified in these populations: Kolín, Praha-Vršovice, Praha-Holešovice and Dlouhá Třebová. Kochia was found to show cross resistance to imazapyr, nicosulfuron, methyl triflurosulfuron, prosulfuron + primisulfuron and chlorsulfuron. Dlouhá Třebová and Praha-Holešovice populations contained the highest percentage of resistant plants after applications of all herbicides. The lowest level of resistance was observed with respect to tribenuron and imazapyr, the highest to methyl triflurosulfuron. Dry matter content of above-ground parts in susceptible standard and Kolín population was reduced significantly in comparison with untreated control after the application of all tested herbicides. A reduction in dry matter content in three populations Dlouhá Třebová, Praha-Vršovice and Praha-Holešovice was insignificant after chlorsulfuron and nicosulfuron applications. A significant reduction in dry matter content against the control was observed in all populations following tribenuron and imazapyr applications (except Dlouhá Třebová locality in this case).

**Keywords:** *Kochia scoparia* s. l.; resistance; imazapyr; sulfonylureas

**ABSTRAKT:** Bylo sledováno procento rezistentních jedinců bytely metlatého (*Kochia scoparia* s. l.) vůči imazapyru ve čtyřech populacích z oblastí s provozem železnic na území ČR a standardní citlivé populace a cross rezistence vůči vybraným inhibitorům acetolaktát syntázy. Rezistence byla potvrzena u čtyř různých ekotypů *Kochia scoparia*. Více než 30 % rezistentních jedinců bylo prokázáno v populacích: Kolín, Praha-Vršovice, Praha-Holešovice a Dlouhá Třebová. Byla nalezena cross rezistence kochia vůči imazapyru, nicosulfuronu, triflurosulfuron-methylu, prosulfuronu + primisulfuronu a chlorsulfuronu. Nejvyšší procento rezistentních jedinců po ošetření všemi herbicidy bylo zaznamenáno v populacích Dlouhá Třebová a Praha-Holešovice. Nejnižší stupeň rezistence byl zjištěn vůči herbicidům tribenuronu a imazapyru, nejvyšší vůči triflurosulfuron-methylu. Po aplikaci všech testovaných herbicidů byla snížena průkazně sušina nadzemních částí oproti neošetřené kontrole u citlivého standardu a populace Kolín. Po ošetření chlorsulfuronem a nicosulfuronem byla snížena sušina u tří populací (Dlouhá Třebová, Praha-Vršovice a Praha-Holešovice) neprůkazně. Průkazně snížení sušiny vzhledem ke kontrole bylo zaznamenáno u všech populací po ošetření tribenuronem a imazapyrem (v tomto případě kromě Dlouhé Třebové).

**Klíčová slova:** *Kochia scoparia* s. l.; rezistence; imazapyr; sulfonylmočoviny

## INTRODUCTION

Acetolactate synthase (ALS) inhibiting herbicides (sulfonylureas, imidazolinones) are widely used because they effectively control a broad spectrum of weed species and are highly active inhibitors of a single target enzyme. The weeds are selectively killed in crops where these herbicides are applied because tolerant crops rapidly metabolize the herbicide to nonherbicidal compounds and weeds are unable to do the same (Shaner, Mallipudi, 1991; Manley et al., 1998).

*Kochia (Kochia scoparia)* is classified among foreign expansive weeds. Its distribution in this country was described by Jehlík (1998). This weed causes great damage in the USA and in Canada, particularly in grain crops, where a biotype resistant to sulfonylureas was identified in 1987 (Primiani et al., 1990). The bulk of the authors report the occurrence of resistant populations only after several-year applications of herbicides (Al-Khatib et al., 1998).

The occurrence of imazapyr-resistant kochia was identified in this country in 1997, in railroad areas (railroad

stations and trackage) following irregular applications of herbicides imazapyr and atrazine (Chodová, Mikulka, 1998; Mikulka et al., 1999). It is alarming that it was the first identification of kochia with resistance to ALS inhibitors in Europe (Claude, Cornes, 1999; Chodová, Mikulka, 1999). This is the reason why biology and herbicidal effects on this weed are intensively studied. For instance both susceptible and resistant populations of kochia were found to show high susceptibility to cyanazine, an active ingredient of herbicide Bladex 50 SC (Chodová, Mikulka, 1998). Herbicidal effects were higher in young plants, similar findings about kochia treated with other herbicides were reported by Tonks, Westra (1997).

ALS is the first enzyme common to the biosynthesis of the branched-chain amino acids leucine, valine and isoleucine (Eberlein et al., 1997). Differences in the contents of branched-chain amino acids after imazapyr and chlorsulfuron applications between kochia populations with various proportions of resistant plants confirmed disturbances of ALS activity in susceptible plants (Chodová, Mikulka, 2000). It is the mechanism of resistance implying an altered target site, it may mean that the herbicide no longer binds to its normal site of action. It is usually due to a change in the structure of the target site at the molecular level (Wright, Penner, 1998).

The objective of the present paper was to identify resistant plants of kochia in five populations in the territory of this country and cross resistance to some herbicides. The effect of some ALS-inhibiting herbicides on fresh weight and dry matter content was investigated in these populations.

## MATERIAL AND METHODS

**Experimental plants.** Seeds of experimental plants of kochia (*Kochia scoparia* s. l.) were collected at five railway stations especially along railroad tracks and be-

tween rails (Fig. 1): Praha-Holešovice (hereinafter Holešovice), irregular applications of imazapyr for several years; Praha-Vršovice (hereinafter Vršovice), irregular applications of imazapyr and atrazine for several years; Kolín, irregular and limited applications of imazapyr; Dlouhá Třebová (hereinafter Třebová), irregular applications of imazapyr for several years; susceptible biotype, commercial seed of *Kochia scoparia* var. *trichophylla*.

**Plant growing.** Seeds were sown into plastic containers 15 x 15 cm in size, 0.1 g seeds per container, the number of plants was thinned to ten individuals after their emergence. Standard growing conditions were used: temperature 22 to 24 °C, illumination with fluorescent lamps 130 µmol/m<sup>2</sup>/s, humidity 65 to 80%, photoperiod of 12-hour darkness.

**Herbicide applications.** Plants were 2 to 5 cm high in two weeks after sowing. Herbicides were applied with a hand sprayer, using 50 ml water per 1 m<sup>2</sup> and doses of active ingredients as indicated. Tab. I shows the herbicides used and their active ingredients.

**Evaluation of resistant plants.** Plants that did not show any signs of wilting or drying within two weeks after treatment were evaluated as resistant individuals. A total of 50 plants were evaluated per experiment, the experiment was repeated three times (1997, 1998, 1999).

I. Herbicides used and their active ingredients

Active ingredient	Herbicide
Nicosulfuron	Milagro
Triflusalufuron-methyl *	Safari 50 WG
Tribenuron	Granstar 75 WG
Prosulfuron + primisulfuron *	Ring 80 WG
Chlorsulfuron	Glean 75 DF
Imazapyr	Arsenal

\* wetting agent Trend 0.05% was added to these herbicides



I. The locality with occurrence of resistant biotypes of *Kochia scoparia* in the Czech Republic

1 = Praha-Vršovice, 2 = Praha-Holešovice, 3 = Kolín, 4 = Dlouhá Třebová

**Fresh weight and dry matter.** Fresh weight and dry matter content (at 78 °C) of above-ground parts were determined in two weeks in plants treated with herbicides and in plants without any treatment (controls). A total of 50 plants were evaluated per experiment, the experiment was repeated three times.

## RESULTS AND DISCUSSION

Three gradated doses of herbicides were used to determine the number of resistant plants of kochia while the lowest dose roughly corresponded to a standard dose recommended for weed killing. Thomson et al. (1994) documented that after application of the dose 52 g a.i. chlorsulfuron per 1 ha 70 to 80% of plants in kochia populations from Kansas and North Dakota did not show any signs of damage. Kwon, Penner (1995) reported that the dose of 28 g chlorsulfuron per 1 ha damaged 96% of susceptible plants in greenhouse experiments.

The number of plants without any signs of damage after applications of selected sulfonylureas and imazapyr shows Tab. II.

If the generally accepted opinion of Gressel, Segel (1978) that resistant are the populations containing 30% of resistant plants is taken into account, then it is to state that the populations Vršovice, Třebová, Holešovice and Kolín (except the herbicide tribenuron in this case) complied with this criterion after applications of the lowest doses of all herbicides. Plants from Holešovice and Třebová populations showed total resistance after applications of 14.5 g/ha of tribenuron, the effect on Kolín population was very low (only 8% of

plants were without damage). Empirically 100% of all plants were without any signs of damage after applications of the lowest dose of all herbicides at the localities Třebová and Holešovice.

The number of resistant plants in our experiments was not directly proportional to herbicide doses as also observed e.g. by Friesen et al. (1993) after tribenuron applications at doses 4, 8 and 16 g/ha: the respective numbers of resistant plants were 83, 64 and 24.

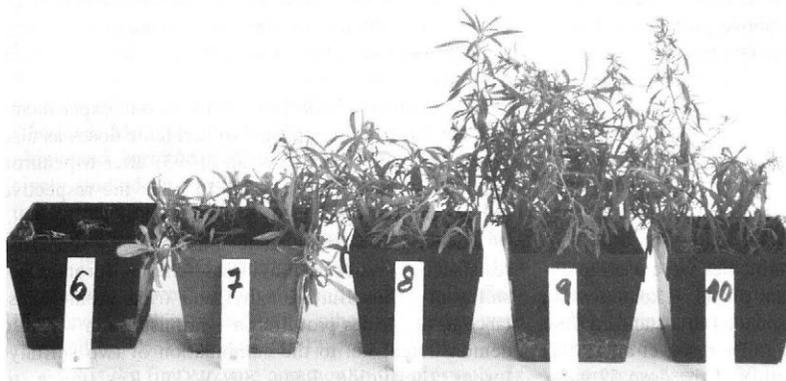
Kochia plants, resistant to imazapyr, showed cross resistance to other sulfonylureas: chlorsulfuron, nicosulfuron, triflusaluron-methyl and tribenuron. Resistance to herbicides prosulfuron + primisulfuron was also demonstrated; i.e. to the combination of two sulfonylureas (herbicide Ring 80 WG). Resistance to tribenuron and imazapyr was found to be at the lowest level.

The highest level of resistance of Czech kochia populations was determined in methyl triflusaluron. Following applications of this herbicide, kochia plants except the standard susceptible biotype were empirically intact in all populations, even after a dose of 30 g/ha (Fig. 2). Similarly, the highest level of resistance of kochia populations from Idaho (USA), which were resistant to chlorsulfuron, was reported by Kwon, Penner (1995) in triflusaluron, followed by resistance to chlorsulfuron while their resistance to nicosulfuron was at the lowest level.

Total resistance was observed in plants from the populations Holešovice and Třebová after applications of 14.5 g/ha tribenuron, the effect on Kolín population was very low (only 8% of plants were without any signs of damage).

II. The number of resistant plants *Kochia scoparia* expressed as the percentage of plants before treatment

Active ingredient	Dose (g/ha)	Susceptible biotype	Kolín	Vršovice	Holešovice	Třebová
Nicosulfuron	40	0	58	80	100	100
	80	0	33	70	92	86
	120	0	18	53	83	69
Tiflusaluron-methyl	10	43	100	100	100	100
	20	33	93	100	100	100
	30	30	84	100	100	100
Tribenuron	14.5	0	8	64	100	100
	29	0	0	37	100	92
	43.5	0	0	17	89	92
Prosulfuron + primisulfuron	12.5 + 7.5	0	80	78	100	91
	25 + 15	0	75	77	98	77
	37.5 + 22.5	0	70	12	98	69
Chlorsulfuron	22.5	0	80	87	100	100
	45	0	75	75	94	93
	67.5	0	30	67	72	87
Imazapyr	1000	0	40	64	93	98
	2000	0	12	60	76	79
	3000	0	0	27	47	50



2. Effect of triflusaluron-methyl (30 g/ha) on populations of *Kochia scoparia* from different localities two weeks after treatment (plants were treated when 1 to 5 cm high)

Susceptible standard (6), Kolín (7), Praha-Vršovice (8), Dlouhá Třebová (9), Praha-Holešovice (10)

Saari et al. (1994) demonstrated kochia resistance to these herbicides: chlorsulfuron, imazapyr, methyl sulfometuron, methyl metsulfuron, ethyl chlorimuron and trisulfuron. Cross resistance to imazapyr and triflusaluron in the activity of acetolactate synthase was proved in commercial corn hybrids (Wright, Penner, 1998).

Manley et al. 1998 reported cross resistance to imazapyr and imazethapyr, low level of resistance to chlorimuron and rimsulfuron in *Amaranthus hybridus* after six-year applications of imazaquin in combination with trifluralin or pendimethalin. Our assumption that kochia biotypes from the Czech Republic will also be resistant to other active ingredients from the group of sulfonyleureas and imidazolinones is currently verified.

With respect to further potential spread of resistant weeds onto arable land in practical conditions it is necessary to know their fitness.

It was the reason why differences in fresh weight and dry matter content between the populations were studied; results are shown in Tab. III.

The five populations of kochia in our experiments grown at a temperature 22 to 24 °C, with different susceptibility to imazapyr and chlorsulfuron, did not show any significant differences in dry matter content of above-ground parts; fresh weight and dry matter were highest in populations with a high proportion of resistant plants (Holešovice and Třebová).

Thompson et al. (1994) stated that resistant biotype of kochia had the same or higher fresh weight than the susceptible one. Christoffoleti et al. (1997) did not observe any significant differences in the biomass and net assimilation of above-ground parts in kochia populations resistant and susceptible to sulfonyleureas.

In our previous communication (Chodová, Mikulka, 1998), we did not report any differences in dry matter contents between two kochia populations with different susceptibility to imazapyr grown in natural climatic conditions. When grown at a temperature of 30 °C, resistant population had significantly lower dry matter content than the population with a high proportion of susceptible plants. This fact is explained by our finding that the resistant population shows cross resistance to atrazine (Chodová, Mikulka, unpubl.). Biological alterations in atrazine-resistant plants (not in ALS inhibitors) are a result of alterations in their chloroplasts and disorders of their photosynthetic function. These alterations are evident mainly at higher temperatures (30 °C) due to the photosensitivity of resistant biotype (Chodová et al., 1993; Körnerová et al., 1998).

Tab. IV shows dry matter contents of five kochia populations studied for their cross resistance after applications of some herbicides, Tab. V documents these values as the percentage of untreated control, and evaluation of significance of differences is also given.

III. Dry matter content and fresh weight in above-ground parts of five *Kochia scoparia* populations

Biotype	Dry matter			Fresh matter
	mg per plant $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	significance of differences of the biotypes from the susceptible one	% of susceptible biotype	% of susceptible biotype
Susceptible standard	87.9 13.4	—	100	100
Kolín	94.0 8.0	—	107	115
Vršovice	79.6 9.2	—	91	111
Třebová	96.0 6.7	—	109	129
Holešovice	105.7 10.6	—	120	135

— insignificant difference

IV. Dry matter contents in above-ground parts of *Kochia scoparia* from five localities after their treatment with herbicides (the values are given in mg per plant)

Biotype	Nicosulfuron (40 g)		Triflusalufuron (10 g)		Tribenuron (14.5 g)		Prosulfuron + primisulfuron (12.5 + 7.5 g)		Chlorsulfuron (22.5 g)		Imazapyr (1000 g)	
	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$
Susceptible standard	15.4	0.9	13.4	0.6	12.3	0.8	12.8	0.8	18.6	1.0	13.1	0.3
Kolín	24.0	2.2	57.7	1.9	18.6	0.3	63.2	0.8	32.3	3.2	24.0	1.6
Vršovice	57.9	7.1	77.5	3.5	19.0	2.3	36.8	5.7	77.2	2.3	25.5	2.8
Třebová	85.1	8.5	122.2	10.4	46.8	3.7	70.2	5.0	90.3	6.8	84.7	6.7
Holešovice	80.7	10.2	98.2	5.6	76.6	6.3	106.5	8.5	90.2	7.2	62.6	3.6

V. Dry matter contents in above-ground parts of *Kochia scoparia* from five localities after their treatment with herbicides (expressed as the percentage of untreated control)

Active ingredient	Locality					Significance of difference treatments to untreated control				
	susceptible standard	Kolín	Vršovice	Třebová	Holešovice	susceptible standard	Kolín	Vršovice	Třebová	Holešovice
Nicosulfuron	17.5	25.5	72.3	88.6	76.3	++	++	-	-	-
Triflusalufuron	15.2	61.3	97.3	127.2	92.9	++	++	-	+	-
Tribenuron	13.9	19.7	23.8	65.8	63.5	++	++	++	++	+
Prosulfuron + primisulfuron	14.5	67.2	46.2	70.2	100.7	++	++	++	++	-
Chlorsulfuron	21.0	34.3	96.9	90.3	85.4	++	++	-	-	-
Imazapyr	14.9	25.5	32.0	84.7	59.2	++	++	++	-	++
Control (%)	100	100	100	100	100					

++ highly significant difference, + significant difference, - insignificant difference

A significant reduction in dry matter content to 14 to 21% of the control was determined in susceptible standard, and dry matter content was significantly lower (25 to 67% of the control) in Kolín population after applications of all tested herbicides. Three populations (Vršovice, Třebová and Holešovice) had significantly lower contents of dry matter after tribenuron application, similarly like after imazapyr application (except Třebová). Chlorsulfuron application resulted in an insignificant decrease in dry matter content against the control. Friesen et al. (1993), who conducted experiments with chlorsulfuron-resistant kochia from Manitoba (Canada) treated with four sulfonylureas, reported the lowest dry matter content after tribenuron application. It amounted to 7% of the control at a dose of 16 g/ha, and 22% of the control at a dose of 4 g/ha.

To achieve 90% reduction in the growth of chlorsulfuron-resistant kochia it was necessary to apply three and six times higher doses of imazapyr (pre- and post-emergence application) than to susceptible kochia (Primiani et al., 1990). Kwon, Penner (1995) reported that less than 10% of resistant kochia plants were damaged by a chlorsulfuron dose twice higher than the commonly recommended dose. ALS inhibitors have been classified in accordance with decreasing susceptibility of kochia: triflusalufuron, thifensulfuron, halosulfuron, imazamethabenz, chlorsulfuron, nicosulfuron, chlor-

imuron, primisulfuron, imazaquin and imazethapyr. Following chlorsulfuron application at a dose of 22 g/ha dry matter contents in susceptible biotype and fully resistant biotype (Třebová and Holešovice) were reduced at an approximate ratio 1 : 4.

Primiani et al. (1990) reported that chlorsulfuron-resistant biotypes can show different levels of resistance. Subramanian et al. (1990) stated that the level of resistance and cross resistance can vary in kochia populations, as a result of the type of mutation in ALS-coding gene.

Experimental results document that the studied kochia populations are resistant to several ALS inhibitors. These populations were found to show the lowest level of resistance to tribenuron and imazapyr by evaluating the number of dead plants and dry matter content. Populations from Holešovice and Třebová localities contained the highest number of resistant plants. These populations appeared after applications of herbicides, acetolactate-synthase inhibitors, or resistant biotypes could be introduced through railroad activities.

## REFERENCES

Al-Khatib K., Baumgartner J. R., Currie R. S. (1998): Imazethapyr resistance in common sunflower (*Helianthus annuus*). Weed Sci., 46: 403-407.

- Chodová D., Mikulka J. (1998): Rozdíly v růstu populací byteli metlatého (*Kochia scoparia*) s rozdílnou citlivostí vůči imazapyru a chlorsulfuronu. *Pl. Protec. Sci.*, *34*: 146–150.
- Chodová D., Mikulka J. (1999): Sensitivity of *Kochia scoparia* to herbicides inhibiting acetolactate synthase in the Czech Republic. In: Proc. 11th Symp. EWRS, Basel.
- Chodová D., Mikulka J. (2000): Changes in free amino acids content in kochia (*Kochia scoparia*) resistant to ALS-inhibitors. *Pl. Protec. Sci.*, *36*: (in print).
- Chodová D., Mikulka J., Kočová M. (1993): Different growth of two biotypes of common groundsel (*Senecio vulgaris* L.) grown in natural climatic conditions. *Rostl. Výr.*, *39*: 889–894.
- Christoffoleti P., Westra P., Moore F. (1997): Growth analysis of sulfonylurea-resistant and -susceptible kochia (*Kochia scoparia*). *Weed Sci.*, *45*: 691–695.
- Claude J. P., Cornes D. (1999): Status of ALS resistance in Europe. In: Proc. 11th Symp. EWRS, Basel.
- Eberlein C. V., Guttieri M. J., Mallory-Smith C. A., Thill D., Baerg R. J. (1997): Altered acetolactate synthase activity in als-inhibitor resistant prickly lettuce (*Lactuca serriola*). *Weed Sci.*, *45*: 212–217.
- Friesen L. F., Morrison I. N., Rashid A., Devine M. D. (1993): Response of a chlorsulfuron-resistant biotype of *Kochia scoparia* to sulfonylurea and alternative herbicides. *Weed Sci.*, *41*: 100–106.
- Gressel J., Segel L. A. (1978): The paucity of plants evolving genetic resistant to herbicides: possible reasons and implications. *J. Theor. Biol.*, *75*: 349–371.
- Jehlik V. (ed.) (1998): Cizí expanzivní plevele České republiky a Slovenské republiky. Praha, AV ČR.
- Körnerová M., Holá D., Chodová D. (1998): The effect of irradiance on Hill reaction activity of atrazin-resistant and -susceptible biotypes of weeds. *Photosynthetica*, *35*: 265–268.
- Kwon C. S., Penner D. (1995): Response of a chlorsulfuron-resistant biotype of *Kochia scoparia* to ALS inhibiting herbicides and piperonyl butoxide. *Weed Sci.*, *43*: 561–565.
- Manley B. S., Wilson H. P., Hines T. E. (1998): Characterization of imidazolinone-resistant smooth pigweed (*Amaranthus hybridus*). *Weed Technol.*, *12*: 575–584.
- Mikulka J., Chodová D. (1998): Rezistence plevelů vůči herbicidům. *Stud. Inform. ÚZPI, Rostl. Výr.*, *6*.
- Mikulka J. et al. (1999): Plevelné rostliny polí, luk a zahrad. Praha, Farmáf.
- Primiani M. M., Cotterman J. C., Saari L. L. (1990): Resistance of kochia (*Kochia scoparia*) to sulfonylureas and imidazolinone herbicides. *Weed Technol.*, *4*: 169–172.
- Saari L. L., Cotterman J. C., Primiani M. M. (1990): Mechanism of sulfonylurea herbicide resistance in the broadleaf weed, *Kochia scoparia*. *Pl. Physiol.*, *93*: 55–61.
- Shaner D. L., Mallipudi N. M. (1991): Mechanisms of selectivity of the imidazolinones. In: Shaner D. L., O'Connor S. L. K. (eds.): The imidazolinone herbicides. Boca Raton, Florida, CRC Press: 91–102.
- Subramanian M. V., Hung H., Dias J. M., Miner V. W., Butler J. H., Jachetta J. (1990): Properties of mutant acetolactate synthase resistant to triazolopyrimidine sulfoamide. *Pl. Physiol.*, *94*: 239–244.
- Thompson C. R., Thill D. C., Shafii B. (1994): Growth and competitiveness of sulfonylurea-resistant and -susceptible kochia. *Weed Sci.*, *42*: 172–179.
- Tonks D. J., Westra P. (1997): Control of sulfonylurea-resistant kochia (*Kochia scoparia*). *Weed Technol.*, *11*: 270–276.
- Wright T. R., Penner D. (1998): Corn (*Zea mays*) acetolactate synthase sensitivity to four classes of ALS-inhibiting herbicides. *Weed Sci.*, *46*: 8–12.

Received on September 16, 1999

---

Corresponding author:

RNDr. Daniela Chodová, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha-Ruzyně, Česká republika, tel.: +420 2 33 02 22 96, fax: +420 2 33 31 06 36, e-mail: chodova@hb.vurv.cz

---

# BIOLOGICKÁ AKTIVITA ANTROPOGENNÍCH PŮD

## BIOLOGICAL ACTIVITY OF ANTHROPOGENIC SOILS

R. Šiša, J. Sixta, L. Růžek, G. Štorkánová

*Czech University of Agriculture in Prague, Czech Republic*

**ABSTRACT:** In three-year period 1995 to 1997 the set of selected tests was used to study the biological activity of anthropogenic soils. The selected localities in the region of North Bohemian brown coal basin were represented by the undisturbed soils as well as anthropogenic soils, newly forming soils during recultivation. Enzymatic soil activities (phosphatase, invertase, catalase), basal and potential respiration and microbe communities of topsoil through C-biomass of soil microflora were investigated.  $C_{ox}$  various forms of phosphorus (total, water-soluble, mobile and available) and soil reaction (pH of water extract) were determined. In view of these indicators the biological soil activity is the highest in recultivation by topsoil overlap at Úžín (locality 2). This is testified by a high level of hydrolytic processes, high microbial population of topsoil profile and high potential activity of microflora and in addition also a good saturation of microflora by available organic matter in soil. This recultivation seems to be the most successful, it is comparable by its parameters with the undisturbed Cambisol at Braňany (locality 4). Biological activity in this soil is also very high, with high level of hydrolytic processes and high potential activity of soil microflora. Microbial population of topsoil profile is also high, though the content of soil organic matter is lower in the mentioned recultivation at Úžín (locality 2), despite the saturation of soil microflora is good. Biological activity of soils is on lower level in other two recultivations, that is direct recultivation at Úžín (locality 1) and by overlap of bentonite layer and topsoil layer at Svoboda (locality 3). The level of hydrolytic processes is slightly lower in them but potential microflora activity in the utilization of easy available sources of nitrogen and carbon is on the same level like Cambisol at Braňany (locality 4). The content of soil organic matter was high in direct recultivation at Úžín (locality 1), despite it microbial population of topsoil profile was lower compared with the undisturbed Cambisol at Braňany (locality 4). The contents of  $C_{ox}$  and biomass of soil microflora were lower in the soil of Svoboda recultivation (locality 3). Lower biological activity, assessed by the above standpoints, was in other two undisturbed soil, as in Chernozem at Havraň (locality 8), as in Pelosol of vineyard at Rudolice (locality 5). The lowest biological activity was in anthropogenic soil of the vineyard recultivation at Čepihory (locality 6) and recultivation by overlap of topsoil at Trískolupy (locality 7). Though catalase activity was high, the level of hydrological processes was on low level, together with microbial population of potential activity of microflora, what indicated passivity and low capacity of microflora to mineralize existing organic matter, even when this is not in stable, hardly mineralizable form. The results demonstrate the fact that resulting quality of recultivation much depends on the technology used and the quality of the used soil-forming substrate. The set of tests selected by us seems to be suitable to judge the quality and successfulness of recultivations.

**Keywords:** biological activity; undisturbed soil; recultivated soil; enzymatic activity of soil; phosphatase; invertase; catalase; basal and potential respiration; organic carbon content  $C_{ox}$ ; soil microbial biomass carbon; pH

**ABSTRAKT:** V třiletém období 1995 až 1997 jsme pomocí souboru vybraných testů sledovali biologickou aktivitu antropogenních půd. Sledované lokality v oblasti Severočeské hnědouhelné pánve reprezentovaly jak půdy rostlé, tak i antropozemě, nově se vytvářející půdy v procesu rekultivací. Sledovali jsme enzymové aktivity půdy (fosfatázovou, invertázovou a katalázovou), bazální a potenciální respiraci a oživení orničního profilu mikrobiálními společenstvy prostřednictvím C-biomasy půdní mikroflóry. Jako doplňující údaje jsme stanovili  $C_{ox}$  a různé formy fosforu (totální, vodorozpustný, pohyblivý a přístupný) a reakci půdy (pH vodního výluhu). Z hlediska těchto ukazatelů je biologická aktivita půdy nejvyšší u rekultivace překryvem orníci v Úžíně (lokality 2). Svědčí o tom vysoká úroveň hydrolytických procesů, vysoké oživení orničního profilu a vysoká potenciální aktivita mikroflóry i dobrá saturace mikroflóry přístupnou organickou hmotou v půdě. Tato rekultivace se ukazuje jako nejúspěšnější, svými parametry je srovnatelná s rostlou kambizemí v Braňanech (lokality 4). I u této půdy je biologická aktivita vysoká, s vysokou úrovní hydrolytických procesů a vysokou potenciální aktivitou půdní mikroflóry. Rovněž oživení orničního profilu je vysoké, i když obsah půdní organické hmoty je nižší než u zmíněné rekultivace v Úžíně (lokality 2), přesto saturace půdní mikroflóry je dobrá. Na nižší úrovni je biologická aktivita půdy u dalších dvou rekultivací, a to přímo v Úžíně (lokality 1) a překryvem vrstvou bentonitu a vrstvou ornice ve Svobodě (lokality 3). Mírně nižší je u nich úroveň hydrolytických procesů, ale potenciální aktivita mikroflóry ve využívání lehce dostupných zdrojů dusíku i uhlíku je na stejné úrovni s kambizemí z Braňan (lokality 4). Obsah půdní organické hmoty při vysoký u přímé rekultivace v Úžíně (lokality 1), přesto oživení orničního profilu ve srovnání s rostlou kambizemí v Braňanech (lokality 4) bylo nižší. U rekultivace ve Svobodě (lokality 3) byly obsah  $C_{ox}$  i C-biomasy půdní mikroflóry nižší. Nižší biologická aktivita, posuzovaná uvedenými hledisky,

byla i u obou dalších rostlých půd, jak u černozemě v Havrani (lokalita 8), tak u pelozemě vinice v Rudolicích (lokalita 5). Nejnížší biologická aktivita byla u antropogenních půd rekultivace vinice v Čepirohách (lokalita 6) a rekultivace překryvem ornici v Trískolupech (lokalita 7). Katalázová aktivita byla sice vysoká, ale úroveň hydrolytických procesů byla na nízké úrovni, rovněž oživení a potenciální aktivita mikroflóry byly nízké, což svědčí o pasivitě a malé schopnosti mikroflóry mineralizovat stávající organickou hmotu, i když není ve stabilní, obtížně mineralizovatelné formě. Výsledky prokazují fakt, že výsledná kvalita rekultivací do značné míry závisí na použité technologii a kvalitě půdotvorného substrátu. Soubor námi vybraných testů se zdá být vhodný pro posuzování kvality a úspěšnosti rekultivací.

**Klíčová slova:** biologická aktivita; neporušené půdy; rekultivované půdy; enzymová aktivita půd; fosfatáza; invertáza; kataláza; bazální a potenciální respirace; obsah oxidovatelného uhlíku  $C_{ox}$ ; uhlík biomasy půdní mikroflóry; pH

## ÚVOD

Rozvoj energetiky, těžkého průmyslu a těžba surovin mají za následek vznik rozsáhlých území, jejichž původní krajina byla téměř úplně degradována. Těžbu provází tzv. technogenní transformace krajiny, při které dochází k destrukci v oblasti litosféry, hydrosféry, pedosféry, troposféry i biosféry a k následnému narušení funkce všech ekosystémů krajiny.

Cestu k obnově ekologické rovnováhy prostředí představuje rekultivace zdevastovaných půd. Problematikou rekultivací území postižených těžbou nerostných surovin se zabývá Štýs (1981). Tvorba půd na zrekontaminovaných plochách je proces dlouhodobý a uplatňují se při něm vzájemně se ovlivňující půdotvorné faktory a procesy působící na půdotvorné substráty (Jonáš, 1970, 1975, 1985). Vedle tvorby nových půd je významné i hospodaření s půdotvornými substráty, které jsou nakonec využitelné při biologické (zemědělské, lesnické) rekultivaci, tj. jejich selektivní skrývání a skladování v deponiích (Štýs, 1981).

Zásah člověka do biosféry u nás je nejmarkantnější při těžbě nerostů, která je doprovázena značnou devastací původní přírodní zalesněné a zemědělsky užívané krajiny. V ČR je svým rozsahem nejvíce postižena povrchovou těžbou hnědého uhlí oblast Severočeské podkráňské pánve. Většina dříve zrealizovaných rekultivačních projektů směřovala k návratu devastované krajiny jejímu původnímu určení, tj. k zemědělské rekultivaci. V současné době se však výrazně omezují investice, což vede k preferenci lesnických způsobů rekultivací. Až dosud bylo v této oblasti těžbou postiženo

zhruba 20 tisíc ha a po vytěžení Severočeského hnědouhelného revíru se předpokládá celkový zábor asi 70 tisíc ha (tab. I).

Cílem zemědělské rekultivace devastovaných ploch je vytváření antropogenních půd, schopných plnit vedle své ekologické funkce v krajině i funkce produkční (Kohel, 1997). Pro značnou diverzitu podmínek není možné rekultivační postup obecně generalizovat na úrovni oborové nebo státní normy, ale k rekultivaci každé lokality je nutno přistupovat individuálně. Při vytváření antropogenních půd na výsypkách určených k zemědělskému využití se užívají různé technologické postupy, a to od přímé rekultivace výsypkových substrátů (ojedinělé případy) k jejich překryvům ornici (selektivně skrytými A horizonty) v mocnosti cca 0,5 m. Na minerálně deficitních až fytotoxických výsypkových substrátech (zajímavé tercierní písky s příměsí uhelné substance, obsahující hlavně pyritickou síru) se používají kombinované překryvy s použitím sprašových zemin, bentonitu či slinitých hornin, s konečným převrstvením humózními zeminami (A horizonty) v mocnosti 0,3 až 0,5 m. Způsob zemědělské rekultivace výsypkových substrátů závisí na předpokládaném cíli využití vytvářené antropogenní půdy a na technických možnostech rekultivace, zejména na dostupnosti vhodných melioračních zemin (Kohel, 1997).

Současným prioritním úkolem pro hodnocení vytvořených antropogenních půd je realizace komplexního základního pedologického průzkumu, který zahrnuje podrobný popis stratigrafie a morfologie jednotlivých půdních horizontů (vrstev), včetně případných znaků probíhajících půdotvorných procesů. Na základě takového komplexního hodnocení bude možné provést konečné hod-

I. Přehled rekultivací – Survey of recultivations (Štýs, 1997)

Rekultivace <sup>1</sup>	Typ <sup>4</sup>	Zemědělské <sup>5</sup>	Lesnické <sup>6</sup>	Hydrologické <sup>7</sup>	Ostatní <sup>8</sup>	Celkem <sup>9</sup>	Podíl <sup>10</sup> (%)
Dokončené v letech <sup>2</sup> 1952–1996	celkem ČR	6 002	5 298	280	616	12 196	100
	%	49,2	43,4	2,3	5,1	100	
	SHR	3 368	2 989	165	452	6 974	57,2
	%	48,29	42,86	2,37	6,48	100	
Rozpracované k <sup>3</sup> 1. 1. 1997	celkem ČR	1 477	5 642	231	1 968	9 318	100
	%	15,9	60,5	2,5	21,1	100	
	SHR	769	4 250	129	1 699	6 847	73,5
	%	11,23	62,07	1,88	24,81	100	

<sup>1</sup>recultivation, <sup>2</sup>finished in the years, <sup>3</sup>elaborated to, <sup>4</sup>type, <sup>5</sup>agricultural, <sup>6</sup>forestry, <sup>7</sup>hydrological, <sup>8</sup>the others, <sup>9</sup>total, <sup>10</sup>percentage

## II. Přehled vybraných lokalit s pěstovanými plodinami v letech 1995 až 1997 – Survey of selected localities with cultivated crops in the years 1995 to 1997

Lokalita <sup>1</sup>			1995	1996	1997
1	Výsypka <sup>2</sup> Úžín	přímá zemědělská rekultivace šedých miocenních jíílů <sup>3</sup>	ozimá pšenice <sup>11</sup>	úhor <sup>16</sup>	řepka
2	Výsypka Úžín	zemědělská rekultivace miocenních jíílů překryvem ornici <sup>4</sup>	ozimá pšenice	úhor	řepka
3	Výsypka Svoboda	zemědělská rekultivace překryvem písčitých a hlinitopísčitých zemín s příměsí toxických látek vrstvou bentonitu (20 cm) a vrstvou ornice (50 cm) <sup>5</sup>	jarní ječmen <sup>12</sup>	směska <sup>17</sup> + podsev <sup>18</sup>	jetelotráva <sup>21</sup>
4	Braňany	rostlá kambizem na čedičovém podkladu <sup>6</sup>	vojtěška <sup>13</sup>	ozimá pšenice	ozimá pšenice
5	Rudolice	rostlá pelozem na miocenních jíílech <sup>7</sup>	vinice <sup>14</sup>	vinice	vinice
6	Čepirohy	přímá zemědělská rekultivace sprašových zemín <sup>8</sup>	vinice	vinice	vinice
7	Výsypka Třískolupy	zemědělská rekultivace miocenních jíílů překryvem ornici <sup>9</sup>	jarní ječmen	řepka <sup>19</sup>	ozimá pšenice
8	Havraň-Moravěves	rostlá černozem na spraších <sup>10</sup>	slunečnice <sup>15</sup>	jílek <sup>20</sup>	ozimá pšenice

<sup>1</sup>locality, <sup>2</sup>dump site, <sup>3</sup>direct agricultural recultivation of grey miocenic clays, <sup>4</sup>agricultural recultivation of miocenic clays by topsoil overlap, <sup>5</sup>agricultural recultivation by overlap of sandy and loamy sand soils with admixture of toxic substances by bentonite layer (20 cm) and by topsoil layer (50 cm), <sup>6</sup>undisturbed Cambisol on basalt bedrock, <sup>7</sup>undisturbed Pelosol on miocenic clays, <sup>8</sup>direct agricultural recultivation of loess soils, <sup>9</sup>agricultural recultivation of miocenic clays by topsoil overlap, <sup>10</sup>undisturbed Chernozem on loesses, <sup>11</sup>winter wheat, <sup>12</sup>spring barley, <sup>13</sup>lucerne, <sup>14</sup>vineyard, <sup>15</sup>sunflower, <sup>16</sup>fallow, <sup>17</sup>mixture, <sup>18</sup>underseeded, <sup>19</sup>rape, <sup>20</sup>ryegrass, <sup>21</sup>clover-grass

nocení lokality antropogenní půdy a přistoupit k jejím porovnání s půdními vytvořenými přirozeným pedogennetickým procesem (zvl. rostlé půdy) v zájmovém katastrálním území. Končným výsledkem je přiřazení odpovídajícího kódu bonitované půdně ekologické jednotky (BPEJ), a tím zařazení antropogenní půdy do soustavy bonitace zemědělského půdního fondu (Kohel, 1997).

Neméně důležité je i studium biologické aktivity antropogenních půd a její porovnání s biologickou aktivitou půd rostlých v dané oblasti. Neoddělitelnou složkou půdotvorných procesů jsou biologické procesy spojené s osídlením a aktivitou půdní mikroflóry. Rozhodující je jejich úroveň v povrchovém horizontu, ať už jde o ornici vznikající při zemědělské rekultivaci, nebo o povrchovou vrstvu lesnické rekultivace (Hyšek, Hejdvová, 1997; Růžek, Dušek, 1997). Úroveň biologické aktivity antropogenních půd umožňuje hodnotit úspěšnost různých typů uskutčených rekultivací (Šiša, Belatková, 1991; Šiša et al., 1997; Voříšek et al., 1997).

Záměrem naší studie bylo víceleté (trileté) sledování a porovnávání biologické aktivity antropogenních (technogenních) půd vznikajících při zemědělských způsobech rekultivací na plochách zdevastovaných povrchovou těžbou hnědého uhlí, a půd rostlých, které se vyvíjely přímo rozně v delším časovém úseku, u nichž předpokládáme určitý stupeň ekologické rovnováhy půdního prostředí. Cílem bylo i prohloubení poznatků půdotvorného procesu antropogenních půd a dále získání reálných podkladů pro zdůvodnění nutných investic na ochranu životního prostředí. Různé typy rekultivací jsou různě nákladné, ale i různě úspěšné.

Svou pozornost jsme zaměřili na oblast Severočeské hnědouhelné pánve, u níž devastace v rámci povrchové těžby nabyla největšího rozsahu.

## MATERIÁL A METODY

Sledování proběhla v letech 1995, 1996 a 1997 na osmi vybraných lokalitách. Reprezentovaly je jak orné půdy rostlé, které se vyvíjely dlouhodobě na půdotvorných substrátech a jejich vývoj nebyl těžbou hnědého uhlí narušen, tak i půdy antropogenní (technogenní), které vznikají v procesu rekultivací. Přehled a základní charakteristiky vybraných lokalit uvádějí tab. II a III.

V letech 1995 až 1997 jsme na uvedených lokalitách přibližně ve stejných časových termínech (tj. tři odběry v jarním a dva v podzimním období) odebrali půdní vzorky z profilu 0 až 20 cm. Po přepravě do laboratoře byly vzorky homogenizovány, prosejy sítem o velikosti ok 2 mm a v uzavřených dózách skladovány po dobu dvou měsíců. Po této době následovaly analýzy, které zahrnovaly tento soubor testů:

- stanovení enzymových aktivit půdy
- fosfatázové (Tabatabai, Bremner, 1969) v  $\mu\text{g PNF/1 g suché půdy/1 h}$  (spektrofotometricky)
- invertázové (Frankenberger, Johanson, 1983) v  $\text{mg redukujících látek/1 g suché půdy/24 h}$  (spektrofotometricky)

Lokalita <sup>1</sup>	Písek <sup>2</sup> (%)	Prach <sup>3</sup> (%)	Jíl <sup>4</sup> (%)	C <sub>ox</sub> (%)	N (%)	C : N	Humus <sup>5</sup> (%)
1	28,12	37,68	34,21	2,8	0,26	10,67	4,83
2	36,28	37,74	25,98	2,77	0,26	10,55	4,78
3	36,73	33,87	29,40	1,65	0,15	10,75	2,84
4	26,29	30,33	43,39	2,11	0,20	10,37	3,64
5	36,95	22,18	40,88	1,36	0,12	11,24	2,34
6	34,51	25,03	40,47	1,08	0,09	12,20	1,86
7	17,69	45,66	36,66	1,25	0,12	10,55	2,16
8	16,28	44,22	39,51	1,52	0,17	9,21	2,62

<sup>1</sup>locality, <sup>2</sup>sand, <sup>3</sup>dust, <sup>4</sup>clay, <sup>5</sup>humus

- katalázové (Ambrož, 1956) v ml 0,1N KMnO<sub>4</sub>/l g suché půdy/15 min (titračně manganometricky)
- respirometrický test (Novák, Apfeltaler, 1964) bazální (B) a potenciální (N – s přidavkem dusíku, G – s přidavkem glukózy, NG – s přidavkem dusíku a glukózy), v mg CO<sub>2</sub>/100 g suché půdy/1 h (interferometricky)
- stanovení C-biomasy půdní mikroflóry (Blagodatskiy et al., 1987) v mg C-biomasy/1 kg suché půdy (spektrofotometricky)
- stanovení C<sub>ox</sub> (Sims, Haby, 1971) v % (spektrofotometricky)
- měření půdní reakce (pH vodního výluhu)
- stanovení různých forem fosforu (Kalčík, Macháček, 1995) v mg P/l g suché půdy (spektrofotometricky)

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Při povrchové těžbě hnědého uhlí dochází k zásadnímu narušení přirozeného vývoje půd. Rekultivace zahrnují procesy od záboru a skrývky přes transport a deponování až po zakládání a ukončení různých typů rekultivací. Jejich účelem je postupný návrat těžbou postižených ploch jejich původnímu účelu.

Při půdotvorném procesu technogenních půd dochází k řadě fyzikálních, chemických a biologických procesů. Studium těchto změn a procesů by mělo přispět k posouzení, zda dochází k postupnému návratu k ekologické rovnováze prostřednictvím různých typů rekultivací.

K charakterizování biologické aktivity půdy, mezi níž a úrodností půdy existuje nesporně pozitivní vztah, byla vypracována řada metod (Alef, Nannipieri, 1995). Tyto metody sledují např. oživení, tj. početnost a zastoupení, důležitých fyziologických skupin půdní mikroflóry, biomasu mikroorganismů, potenciální respirometrické testy, enzymové aktivity půdy a další biologické charakteristiky. Největší pozornost se soustřeďuje na povrchový horizont, převážně orniční profil, a to jak u orných půd rostlých, tak u antropogenních. Na základě těchto poznatků jsme vybrali vhodný soubor testů, jejichž vypovídací schopnost jsme ověřili (Šiša et al.,

1997; Voříšek et al., 1997). Získané hodnoty souboru vybraných testů jsou sumarizovány v tab. IV.

Veškeré biotransformace v půdě probíhají za aktivní účasti enzymů jako biokatalyzátorů, proto je věnována často pozornost výzkumu enzymových aktivit technogenních půd (Šiša, Belatková, 1991; Kiss et al., 1993, 1996). Enzymové aktivity představují citlivé ukazatele biologické aktivity půdy (Šiša, 1993), a tak jsme do studia antropogenních půd zařadili sledování tří vybraných enzymových aktivit půd. Pro posouzení úrovně hydrolytických procesů probíhajících v půdách jsme vybrali stanovení fosfatázové a invertázové aktivity půdy, pro informaci o oxidoredukčních procesech jsme zvolili katalázovou aktivitu půdy.

Úroveň hydrolytických procesů byla nejvyšší u půd obou rekultivací v Úžíně (lokality 1 a 2) a prakticky na stejné úrovni u rostlé kambizemě v Braňanech (lokality 4). Nejvyšší naměřené tříleté výsledky invertázové aktivity půdy byly zjištěny u rekultivace překryvem orníci v Úžíně (lokality 2) a u rostlé kambizemě v Braňanech (lokality 4). Téměř stejných hodnot dosahovala tato aktivita u přímé rekultivace v Úžíně (lokality 1) a u rekultivace překryvem vrstvou bentonitu a ornice ve Svobodě (lokality 3). O málo nižší byla invertázová aktivita půdy u rostlé černozemě na spraších v Havrani (lokality 8) a u rostlé pelozemě vinice v Rudolicích (lokality 5). Nejnižší invertázová aktivita byla u rekultivační vinice v Čepirohách (lokality 6) a u rekultivace překryvem orníci v Třískolupech (lokality 7).

K podobným výsledkům jsme dospěli i u fosfatázové aktivity půdy. Nejvyšší byla naměřena u přímé rekultivace v Úžíně (lokality 1) a téměř na stejné úrovni u rekultivace překryvem v Úžíně (lokality 2) a u rostlé kambizemě v Braňanech (lokality 4). Nižší byla u rostlé černozemě v Havrani (lokality 8) a u rekultivace ve Svobodě (lokality 3). Nejnižší byla u obou vinic (jak na rekultivační, tak i na rostlé pelozemi) a u rekultivace v Třískolupech (lokality 7).

Opačné výsledky jsme získali u katalázové aktivity. Nejvyšší byla naměřena u vzorků půd obou vinic a téměř na stejné úrovni byla u rekultivace překryvem orníci v Třískolupech (lokality 7). Nižší byla na ostatních

Testy <sup>1</sup>	Lokalita <sup>2</sup>							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Invertázová aktivita <sup>3</sup>	5,11	5,95	5,15	5,75	3,87	2,33	3,02	4,63
<i>s</i>	1,30	1,24	0,67	1,24	0,71	0,42	0,41	0,66
Fosfatázová aktivita <sup>4</sup>	28,57	25,06	14,90	23,86	5,83	4,58	7,04	16,02
<i>s</i>	7,19	5,74	3,50	5,88	2,29	1,33	2,66	8,32
Katalázová aktivita <sup>5</sup>	0,80	0,94	0,85	0,74	1,51	1,54	1,31	0,78
<i>s</i>	0,36	0,46	0,45	0,56	0,84	0,64	0,76	0,56
Respirace <sup>6</sup> B	0,41	0,53	0,39	0,41	0,33	0,29	0,31	0,37
<i>s</i>	0,15	0,14	0,11	0,12	0,07	0,09	0,08	0,13
Respirace N	0,58	0,78	0,48	0,47	0,69	0,54	0,64	0,42
<i>s</i>	0,13	0,25	0,07	0,11	0,10	0,10	0,08	0,06
Respirace G	4,29	5,89	4,11	5,54	3,43	2,16	3,51	3,71
<i>s</i>	1,49	1,62	1,18	1,44	1,37	0,93	0,87	1,58
Respirace NG	13,30	22,06	17,51	13,85	13,97	5,54	6,25	10,34
<i>s</i>	5,23	7,46	4,40	4,29	5,05	1,80	2,05	4,45
Respirace N : B	1,53	1,47	1,43	1,32	2,30	2,15	2,27	1,38
<i>s</i>	0,40	0,42	0,39	0,42	0,50	0,40	0,44	0,22
Respirace G : B	10,54	11,73	11,35	14,39	10,60	7,98	11,96	10,94
<i>s</i>	3,85	3,66	4,17	4,72	4,18	3,84	4,14	5,09
Respirace NG : B	35,51	43,24	48,56	36,55	44,54	20,23	20,97	30,87
<i>s</i>	13,51	13,28	17,41	15,08	19,52	7,61	7,00	15,18
C-mikrobní biomasy <sup>7</sup>	439,84	644,03	388,16	655,70	459,78	402,97	493,49	421,07
<i>s</i>	116,58	90,11	87,17	77,09	73,00	74,62	69,30	41,62
P celkový <sup>8</sup> (P <sub>T</sub> )	1 287,78	1 677,86	955,86	1 470,76	1 520,01	630,57	688,36	769,11
<i>s</i>	109,28	232,45	163,49	146,80	227,00	69,30	75,43	87,90
P vodorozpuštěný <sup>9</sup> (P <sub>V</sub> )	20,45	56,65	29,19	26,42	10,79	5,85	5,80	15,62
<i>s</i>	11,41	7,16	10,97	5,70	4,08	2,99	2,45	5,82
P pohyblivý <sup>10</sup> (P <sub>K</sub> )	155,53	209,89	168,53	197,41	281,22	27,85	46,17	78,55
<i>s</i>	39,04	34,35	33,51	46,18	67,12	9,88	11,55	19,96
P přístupný <sup>11</sup> (P <sub>V</sub> + P <sub>K</sub> )	175,98	266,54	197,72	223,82	292,01	33,70	51,97	94,17
<i>s</i>	40,77	34,71	41,36	48,13	67,31	9,93	12,07	22,37
pH	6,75	6,92	6,82	6,11	8,33	8,58	8,52	7,19
<i>s</i>	0,27	0,33	0,12	0,15	0,23	0,17	0,20	0,51

*s* = směrodatná odchylka – standard deviation

<sup>1</sup>tests, <sup>2</sup>locality, <sup>3</sup>invertase activity, <sup>4</sup>phosphatase activity, <sup>5</sup>catalase activity, <sup>6</sup>respiration, <sup>7</sup>C-microbial biomass, <sup>8</sup>total, <sup>9</sup>water-soluble, <sup>10</sup>mobile, <sup>11</sup>available

lokalitách, nejnižší u rostlých půd, kambizemě a černozemě.

Jako další jsme zařadili respirometrické testy, které informují o intenzitě činnosti mikrobiálních společenstev. Výsledky bazálního respirometrického testu prokázaly výrazně nejvyšší hodnoty u rekultivace překryvem orníci v Úžíně (lokalita 2). Následovaly poněkud nižší hodnoty u přímé rekultivace v Úžíně (lokalita 1), u rostlé kambizemě v Braňanech (lokalita 4), u rekultivace překryvem orníci ve Svobodě (lokalita 3) a u rostlé černozemě v Havrani (lokalita 8). Nejnižší hodnoty byly zjištěny u obou vinic a u rekultivace překryvem orníci v Třískolupech (lokalita 7).

Co se týká potenciální aktivity půdní mikroflóry, tj. schopnosti reagovat na lehce dostupné zdroje dusíku a uhlíku, na přidavek dusíku nejvíce zareagovala půdní mikroflóra vinice v Rudolicích (lokalita 5), rekultivace v Třískolupech (lokalita 7) a rekultivační vinice v Čepirohách (lokalita 6), nejméně pak mikrobiální společenstvo rostlé černozemě v Havrani (lokalita 8) a kambizemě v Braňanech (lokalita 4). Reakce na přidavek snadno dostupného dusíku byla malá.

Na přidavek lehce dostupného zdroje uhlíku nejvíce zareagovala mikroflóra rostlé kambizemě v Braňanech (lokalita 4), poněkud nižší byla reakce u ostatních lokalit, s výjimkou lokality rekultivované vinice v Čepirohách

(lokalita 6), u níž byla reakce na přidavek glukózy nejnižší.

Obsah oxidovatelného uhlíku  $C_{ox}$  dává obraz o množství půdní organické hmoty a poměr respirace NG : B o její stabilitě. Nejvyšší obsah  $C_{ox}$  byl zjištěn u obou rekultivací v Úžíně (lokality 1 a 2) a o něco nižší u rostlé kambizemě v Braňanech (lokalita 4). Ještě nižší byl obsah  $C_{ox}$  u rostlé černozemě v Havrani (lokalita 8), u rekultivace ve Svobodě (lokalita 3) a u pelozemě vinice v Rudolicích (lokalita 5). Nejnižší pak byl u rekultivační vinice v Čepirohách (lokalita 6).

Vysoká hodnota respirací NG a B u pravděpodobně nejspěšnější rekultivace překryvem ornici v Úžíně (lokalita 2) svědčí o značné potenciální schopnosti mikrobiologie mineralizovat lehce přístupnou organickou hmotu a zároveň o tom, že půdní mikroflóra je saturována přístupnou organickou hmotou. Na rekultivaci vinice v Čepirohách (lokalita 6) dokazují nízké hodnoty respirací NG i B pasivitu a malou schopnost mikrobiologie mineralizovat stávající organickou hmotu, i když se nenachází ve stabilní, obtížně mineralizovatelné formě (respirometrický poměr NG : B). Půdní organická hmota byla v nejstabilnější formě na rekultivacích výsypky ve Svobodě (lokalita 3), vinice na pelozemi v Rudolicích (lokalita 5) a dále u rekultivace překryvem ornici v Úžíně (lokalita 2). Poměrně nízká byla u černozemě v Havrani (lokalita 8) a v nejméně stabilní formě se nacházela u půdy rekultivační vinice v Čepirohách (lokalita 6) a u rekultivace překryvem ornici v Třískolupěch (lokalita 7).

Charakter a úroveň mikrobiálních procesů probíhajících v půdě se mění současně s jejím oživením. Byla prokázána i odlišnost sledovaných lokalit v oživení orníčního profilu půdními mikrobními společenstvy. Nejvyšší hodnota obsahu uhlíku biomasy půdních mikrobů byla zjištěna u rostlé kambizemě v Braňanech (lokalita 4) a u rekultivace překryvem ornici v Úžíně (lokalita 2). U ostatních lokalit jsme zjistili nižší obsah C-biomasy půdních mikroorganismů, nejjednodušší oživení orníčního profilu bylo u antrozemě rekultivace ve Svobodě (lokalita 3).

Jako další doplňující faktory jsme stanovili obsah různých forem fosforu, a to celkového ( $P_T$ ), vodorozpuštěného ( $P_V$ ) pohyblivého ( $P_K$ ) a přístupného ( $P_V + P_K$ ). Nejvyšší obsah  $P_T$  jsme zaznamenali u rekultivace překryvem ornici v Úžíně (lokalita 2), u rostlé kambizemě v Braňanech (lokalita 4) a u rostlé pelozemě vinice v Rudolicích (lokalita 5), nejnižší opět u rekultivační vinice v Čepirohách (lokalita 6) a na rekultivaci výsypky v Třískolupěch (lokalita 7). Na obou těchto lokalitách byly zjištěny i nejmenší hodnoty ostatních forem fosforu. Nízké hodnoty všech forem fosforu byly zjištěny i u černozemě v Havrani (lokalita 8). U rostlé pelozemě vinice v Rudolicích (lokalita 5) jsme ve srovnání s ostatními lokalitami stanovili poměrně vysoký obsah jak celkového, tak pohyblivého fosforu, i když obsah vodorozpuštěného fosforu byl malý.

Stanovili jsme rovněž pH vodního výluhu. Reakce byla na většině lokalit v oblasti slabě kyselé až neutrální

(pH 6,10 až 7,20), pouze u obou vinic (lokality 5 a 6) a u rekultivace výsypky v Třískolupěch (lokalita 7) byla v alkalické oblasti (pH 8,25 až 8,60).

## Poděkování

Autoři děkují za spolupráci a pomoc RNDr. Daniele Randové a RNDr. Svatě Strnadové.

## LITERATURA

- Alef K., Nannipieri P. (1995): Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Acad. Press Limit.
- Ambroz Z. (1956): Sledování aktivity půdních enzymů v závislosti na činnosti mikroorganismů. Rostl. Vyr., 29 (12): 1269–1282.
- Blagodatskiy S. A., Blagodatskaya E. V., Gorbenko A. Y., Panikov N. S. (1987): Regidracionnyj metod opredelenija biomasy mikroorganizmov v počve. Počvovedenje, 4: 64–71.
- Frankenberger W. T. Jr., Johanson J. B. (1983): Method of measuring invertase activity in soil. Pl. and Soil, 74: 301–311.
- Hýšek J., Hejčlová J. (1997): Mikrobiologická vyšetření půd výsypky v Mostu. In: Sbor. Ref. Konf. 45 let české rekultivační školy, Most: 135–137.
- Jonáš F. (1970): Průběh půdotvorných procesů na rekultivovaných výsypkách v SHR. [Závěrečná zpráva.] Praha, VÚM.
- Jonáš F. (1975): Tvorba půdy na rekultivovaných výsypkách. [Závěrečná zpráva.] Praha, VÚM.
- Jonáš F. (1985): Tvorba půdy na rekultivovaných výsypkách. [Závěrečná zpráva.] Praha, VŠZ.
- Kalčík J., Macháček V. (1995): Metody studia fosforu a dalších elementů (K, Ca, Na, Mg) v půdě. In: Sbor. Přísp. Semin. České Budějovice, ÚPB: 11–25.
- Kiss S., Dragan-Bularda M., Pasca D. (1993): Enzymology of technogenic soils. Casa Cart. Stiin. Cluj.
- Kiss S., Dragan-Bularda M., Pasca D. (1996): Enzymology of technogenic soils. Stud. Univ. Babeş-Bolyai, Biol., XLI (1–2): 3–21.
- Kohel J. (1997): Zemědělská rekultivace výsypky a problematika hodnocení vytvořených antropogenních půd. In: Sbor. Ref. Konf. 45 let české rekultivační školy, Most: 122–124.
- Novák B., Apeltaler R. (1964): Příspěvek k metodice stanovení respirace jako indikátoru mikrobiologických pochodů v půdě. Rostl. Vyr., 10 (2): 145–150.
- Růžek L., Dušek L. (1997): Mikrobiologická sledování půdotvorného procesu rekultivovaných půd, kvantifikace živé mikrobiální složky a modelová predikce doporučených hodnot oživení orníčního profilu mikroorganismy. In: Sbor. Ref. Konf. 45 let české rekultivační školy, Most: 153–156.
- Sims J. R., Haby V. A. (1971): Simplified colorimetric determination of soil organic matter. Soil Sci., 112: 137–141.
- Šiša R. (1993): Enzymová aktivita půdy jako ukazatel její biologické aktivity. Rostl. Vyr., 39 (9): 817–825.
- Šiša R., Belatková P. (1991): Effect of recultivation on enzymatic activity and respiration of soil. In: 10th Int. Symp. Humus et Planta, Praha.

- Šiša R., Voříšek K., Růžek L., Randová D., Strnadová S. (1997): Biologická aktivita neporušených a antropogenních půd v Severočeském hnědouhelném revíru. In: Život v půdě, Českoslov. Spol. Mikrobiol. Bratislava, ÚM SAV: 10–12.
- Štýs S. (1981): Rekultivace území postižených těžbou nerostných surovin. Praha, SNTL.
- Štýs S. (1997): Česká škola rekultivací. In: Sbor. Ref. Konf. 45 let české rekultivační školy, Most: 29–45.
- Tabatabai M. A., Bremner J. B. (1969): Use of p-nitrophenil phosphate for assay of phosphatase activity. Soil Biol. Biochem., 1: 301–307.
- Voříšek K., Růžek L., Šiša R. (1997): Microbiological activities in reclaimed and undisturbed soils. In: Abstr. Symp. Organic matter application and element turnover in disturbed terrestrial ecosystems, Cottbus: 13–15.

Došlo 4. 12. 1998

---

*Kontaktní adresa:*

Ing. Rastislav Šiša, CSc., Česká zemědělská univerzita v Praze, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika, tel.: +420 2 24 38 27 55, fax: +420 2 20 92 03 12, e-mail: sisa@af.czu.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.

# VLIV NIKLU A ARZENU NA VÝSKYT A SYMBIOTICKÉ SCHOPNOSTI NATIVNÍCH RHIZOBIÍ

## THE EFFECT OF NICKEL AND ARSENIC ON THE OCCURRENCE AND SYMBIOTIC ABILITIES OF NATIVE RHIZOBIA

T. Šimon

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

**ABSTRACT:** Contaminated soils by Ni and As (Šimon, 1999) were used for evaluation of the occurrence and symbiotic properties of native rhizobia. Two soils were used (heavy soil: clay-loam from Ruzyně, light soil: sandy-loam from Lukavec) and four levels of contamination were selected, based on the natural abundance of the elements in the soil used: no addition (0), addition to the limit (L) allowed by Czech standards, twice (2L), five (5L) and ten (10L) times the limit for Ni and As, respectively (Tab. I). Microbiological analyses determining numbers of rhizobia (colony forming units CFU/g soil) in soils samples (Vincent, 1970) were realised 10 (1998) and 22 (1999) months after contamination. At the same time the hydroponic experiments with pea were prepared. As native inoculum, 1 g of soil from each treatments was used. Plants were grown in plastic pots in perlite and supplied by nutrient nitrogen-free solution. At the onset of anthesis total nitrogenase activity (TNA) of nodules (Hardy et al., 1973) was measured. Simultaneously, nodule numbers, nodule dry weight and shoot and root dry weight were determined. The values from experiments were processed by analysis of variance. Figs. 1 to 4 show numbers of rhizobia in soil samples in 1998 and 1999. First of all, reduction of rhizobia due to increased Ni concentration in light soil is evident in both the years. Plant biomass and nodule numbers and their weights are shown in Tab. II. TNA is shown in Figs. 5 to 8. TNA of root nodules approximately copied the rhizobia numbers in soil samples. Significant decrease of TNA (Figs. 5 to 6) and nodule dry weight (Tabs. II, III) was found using soil samples with high Ni concentrations as inoculum. A lot of nodules were of white or green colour that confirmed the lack of leghaemoglobin and the loss of their effectiveness. Pea plants were therefore poorly supplied by nitrogen and their growth was limited. It seems that due to prolonged Ni presence in the soils tolerant rhizobia prevailed, but these rhizobia lose their intrinsic abilities. Similar situation was described by McGrath (1987). The negative effect of As on symbiotic a growth characteristic of pea in 1998 was not found, but in 1999 it was obvious in heavy soil (Fig. 7, Tab. II). The effect of As in light, more acid soil was poor. Results from experiments confirm that the monitoring of rhizobia occurrence and evaluation of symbiosis with legumes can help the indication of soil pollution.

**Keywords:** nickel; arsenic; rhizobia; pea; symbiosis

**ABSTRAKT:** Pro pokusné účely byly použity vzorky půd zatížené zvyšujícími se hladinami Ni a As (Šimon, 1999). Šlo o tyto hladiny kontaminace: a) bez přídavku (0), b) doplnění na povolený limit (vyhláška MŽP ČR 13/1994 Sb.) (L), c) 2L, d) 5L, e) 10L a o dva druhy půd: těžká půda – stanoviště Praha-Ruzyně (Ru) a lehká půda – stanoviště Lukavec u Pacova (Lu). Za 10 měsíců (leden 1998) a 22 měsíců (leden 1999) od kontaminace byl ve vzorcích půd stanoven počet rhizobií (Vincent, 1970). V obou uvedených termínech byl založen stejný hydroponický pokus s hrachem (odrůda Tyrkys). Rostliny byly pěstovány v nádobkách s perlitem a vyživovány roztokem živin bez dusíku. Jako přirozené inokulum byl použit 1 g odpovídajícího vzorku půdy. Na začátku kvetení rostlin byla stanovena celková nitrogenázová aktivita (TNA) (Hardy et al., 1973). Současně byla zjišťována hmotnost sušiny kořenů (K) a nadzemní hmoty (NH) rostlin a počet a sušina hlízek. Statistické zpracování výsledných hodnot bylo provedeno analýzou variance. Počty rhizobií ve vzorcích půd v letech 1998 a 1999 jsou zachyceny na obr. 1 až 4, kde je zaznamenána především redukce počtů rhizobií v lehké půdě při vysokých koncentracích Ni v půdě. Biomasu rostlin, počty hlízek a jejich hmotnost uvádí tab. II. TNA je znázorněna na obr. 5 až 8. TNA hlízek kopírovala přibližně počty rhizobií ve vzorcích půd. Signifikantní snížení TNA (obr. 5, 6) a sušiny hlízek (tab. II, III) bylo zjištěno při inokulaci hrachu vzorky půd s vysokou koncentrací Ni. U těchto variant pokusu bylo nalezeno mnoho bílých neefektivních hlízek. Negativní efekt As na symbiotické charakteristiky a růst hrachu se projevil u těžké půdy až v roce 1999 (obr. 7, tab. II). U lehké půdy byl nižší. Výsledky pokusů ukázaly, že již relativně krátká doba přítomnosti zvýšených koncentrací Ni (od 2L) v použitých půdách snížila početnost nativních rhizobií a v půdách pod tímto tlakem začaly převládat méně efektivní skupiny hlízkových bakterií. V případě přítomnosti As se negativní efekt na rhizobia projevil za delší časové období až při nejvyšší koncentraci (odpovídající 10L).

**Klíčová slova:** nikl; arzen; rhizobia; hrách; symbióza

## ÚVOD

Vlivem lidské činnosti dochází k zatěžování půd látkami anorganického i organického původu. Půda se tak stává příjemcem mnoha odpadních produktů a chemikálií, které při svém hromadění způsobují změny v její chemické struktuře a negativně ovlivňují i biologické procesy. Významná je z tohoto pohledu kontaminace půd těžkými kovy, která obecně způsobuje pokles celkové biomasy mikroorganismů a snižuje diverzitu mikrobiálních populací (Atlas et al., 1991), čímž dochází k postupnému zvyšování zastoupení mikroorganismů rezistentních ke kovům na úkor těch citlivých. Nepříznivý vliv kontaminace těžkými kovy se zároveň ve větší či menší míře projevuje změnou enzymové aktivity půd. Kandeler et al. (1996) uvádějí, že výrazný pokles aktivity vlivem zvýšeného zatížení půd těžkými kovy byl zaznamenán u enzymů koloběhu N, P a S, naopak enzymy koloběhu C byly méně ovlivněny. Největší pokles aktivity byl pozorován u arylsulfatázy a fosfatázy.

Kontaminace půd těžkými kovy se projevuje i negativním ovlivněním aktivity nitrogenázy, ať již volně žijících heterotrofních bakterií a modrozelených řas, nebo symbiotických hlízkových bakterií. Bylo zjištěno, že acetylen-redukční aktivita, používaná obecně jako metoda pro zjištění aktivity nitrogenázy, je proces silně senzitivní k působení toxických kovů (Skujins et al., 1986). McGrath et al. (1988) porovnávali dva systémy fixující  $N_2$  (volně žijící modrozelené řasy a symbiózu jetel – *Rhizobium*) a zjistili, že na přítomnost vysokých koncentrací Zn, Cu, Ni, Cd, Pb a Cr (pocházejících z odpadních kalů) byly citlivější řasy než symbióza jetel – *Rhizobium*, což pravděpodobně souvisí s ochranou bakterií rhizobií v hlízkách před přímým působením toxických prvků. Z výsledků zmíněných autorů však dále vyplývá, že potlačení symbiotické fixace  $N_2$  nebylo způsobeno selháním nativních populací rhizobií v tvorbě hlízek, ale spíše tím, že bakterie uvnitř hlízek byly neefektivní. Giller et al. (1989) uvádějí dvě možnosti, kterými zvyšující se koncentrace toxických kovů eliminují fixaci  $N_2$ : a) jeden nebo více těžkých kovů zabírají v tvorbě efektivně fixujících hlízek, i když jsou efektivní rhizobia přítomna v půdě, b) kontaminace půd kovy eliminuje efektivní kmeny *Rhizobium* z půdy. Druhé možnosti odpovídají i výsledky, které uveřejnil McGrath et al. (1988).

Cílem naší práce bylo prověřit vliv zvyšujících se koncentrací Ni a As na výskyt nativních rhizobií v půdě a na efektivitu symbiózy hrách – *Rhizobium* za použití modelového hydroponického pokusu.

## MATERIÁL A METODY

K pokusným účelům byly použity vzorky půd z dlouhodobého nádobového pokusu, sledujícího vliv zatížení půd Ni a As na růst ředkvičky a půdní mikroflóru (Simon, 1999). Půdy byly před založením pokusu (březen 1997) odděleně doplněny roztoky solí (Ni ve formě

$NiCl_2 \cdot 6 H_2O$ , As ve formě  $NaAsO_2$ ) tak, aby po svém přidání do půdy byly dosaženy tyto hladiny kontaminace: a) bez přídavku (0), b) doplnění na povolený limit (L), c) 2L, d) 5L, e) 10L. Za limit byla považována maximálně přípustná hodnota obsahu rizikových prvků v půdách podle vyhlášky MŽP ČR 13/1994 Sb., § 2 (Ni: 80 mg/kg – těžké půdy, 60 mg/kg – lehké půdy, As: 30 mg/kg – všechny půdy). Šlo o dva typy půd: těžká půda – stanoviště Praha-Ruzyně [Ru] (černozem luvičká, jílovitohlinitá) a lehká půda – stanoviště Lukavec u Pacova [Lu] (kambizem, písčitoohlinitá). Za 10 měsíců (leden 1998) a 22 měsíců (leden 1999) od umělé kontaminace solemi kovů byly odebrány vzorky půd pro stanovení počtu CFU (jednotek tvořících kolonie) rhizobií mikrobiologickým rozborem (Vincent, 1970). Další část vzorků půd byla potom sušena v tenké vrstvě při teplotě 25 °C během dvou dnů a prosáta na sítu s otvory o průměru 1 mm. V obou uvedených termínech byl založen stejný hydroponický pokus. Semena hrachu setého (*Pisum sativum* L., odrůda Tyrkys) byla povrchově sterilizována roztokem 0,2%  $HgCl_2$  (Vincent, 1970) a tři dny předkloučena. Pro pěstování rostlin byla použita sestava dvou nádobek z umělé hmoty, sterilizovaných v autoklávu, spodní nádobka obsahovala živný roztok bez dusíku (Šimon, 1991), vrchní nádobka o objemu 500 ml byla plněna expandovaným perlitem. Rostliny byly zásobovány živným roztokem prostřednictvím knotu ze skelných vláken, který byl umístěn do dna horní nádoby a zasahoval do živného roztoku ve spodní nádobce. Roztok byl pravidelně doplňován. Před sázením naklíčených rostlin byl pod povrch perlitu (2 až 4 cm) přidán vždy 1 g odpovídajícího vzorku půdy jako přirozené inokulum. Povrch nádobek byl potom navlhčen živným roztokem a byla zasetá naklíčená semena (vždy jedno na nádobku). Každá varianta měla tři opakování. Rostliny byly pěstovány ve skleniku s řízeným programem osvětlení a regulací teploty (16h fotoperioda, teploty: 22 °C den, 16 °C noc). Na začátku kvetení byla stanovena celková nitrogenázová aktivita (TNA) acetylen-etylen redukční metodou (Hardy et al., 1973). Současně byla zjišťována hmotnost sušiny kořenů (K) a nadzemní hmoty (NH) rostlin a počet a sušina hlízek. Statistické zpracování výsledných hodnot bylo provedeno analýzou variance a následným Tukey testem.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Skutečné koncentrace Ni, resp. As před založením druhého pokusu (mineralizace v lučavce královské, analýza na spektrometru ICP) v použitých vzorcích půd jsou uvedeny v tab. I. Naměřené hodnoty přibližně odpovídají původně zvoleným koncentracím kovů v půdách. Obr. 1 až 4 uvádějí počty rhizobií v jednotlivých vzorcích půd po 10 měsících (1998) a 22 měsících (1999) přítomnosti kovů. V případech přídavků Ni do těžké půdy nedošlo po 10měsíčním působení k redukci celkových počtů rhizobií, naopak u variant do 5L je viditelný nárůst. Redukce počtů je patrná až v roce 1999 od hladiny kontaminace 2L. U lehké půdy byly počty rhizobií vli-

I. Koncentrace Ni a As ve vzorcích půd – Concentration of Ni and As in soil samples

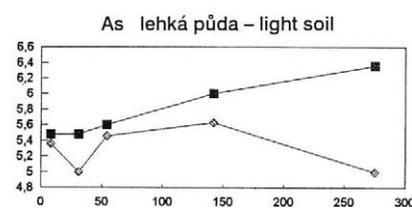
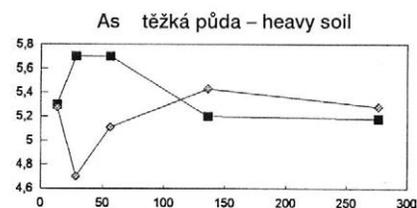
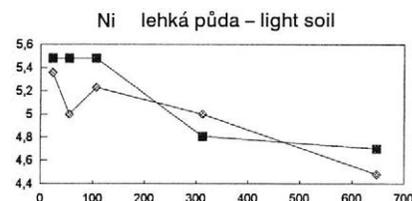
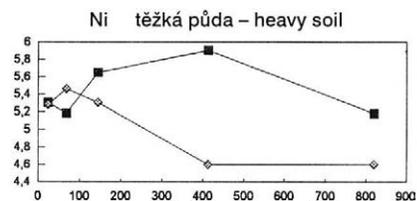
Varianta <sup>1</sup>	Koncentrace <sup>2</sup> Ni (μg)	Varianta	Koncentrace As (μg)
RuNi0	24,26	RuAs0	13,48
RuNiL	68,04	RuAsL	28,33
RuNi2L	144,48	RuAs2L	55,81
RuNi5L	413,10	RuAs5L	136,11
RuNi10L	819,55	RuAs10L	276,19
LuNi0	23,33	LuAs0	7,88
LuNiL	54,87	LuAsL	30,78
LuNi2L	107,31	LuAs2L	53,98
LuNi5L	311,72	LuAs5L	141,89
LuNi10L	647,87	LuAs10L	274,51

<sup>1</sup>treatment, <sup>2</sup>concentration

ve přítomnosti Ni redukovány v obou letech od kontaminace rovnající se dvojnásobku přípustné hodnoty, s výkyvem hladiny L v roce 1999. Přídavek As se na přítomnosti rhizobií neprojevil negativně (s výjimkou hladiny L) a v případě lehké půdy měl na počet rhizobií v roce 1998 znatelný stimulační účinek. Výskyt a početnost rhizobií souvisí s biodostupností uvedených kovů během jejich přítomnosti v půdě, a tím i s možností negativního ovlivnění. Při stanovení obsahu mobilních frakcí těchto kovů během roku 1998 (při použití slabého extrakčního činidla CaCl<sub>2</sub>) byla v lehké půdě zjištěna značně vyšší míra extrahovatelnosti Ni než As (Šimon, 1999). Vytvoření pevnějších vazeb As snížilo jeho toxické účinky na přežívání mikroorganismů, včetně rhizobií. Naopak, extrahovatelnost Ni se zvláště v kyselěj-

ší lehké půdě u variant s vysoký počátečním přídavkem (5L a 10L) s postupujícím časem zvyšovala. Rhizobia tak byla vystavena jeho nepříznivému působení během celé doby, a tím došlo i k jejich výraznější početní redukci. Právě lehké půdy s nižším obsahem organické hmoty a nižším pH jsou více negativně ovlivněny přídavky solí těžkých kovů než půdy těžké (Doelman, Hanstra, 1984; Maliszewska et al., 1985). Negativní efekt přídavku kovů je závislý na délce jejich působení. Chaudri et al. (1992) sledovali přežívání *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* v půdě doplněné jednotlivě různými koncentracemi Zn, Cd, Cu a Ni a zjistili, že teprve 18měsíční působení snižuje nebo eliminuje (v případě Zn a Cd) při vysokých koncentracích počet rhizobií. Citlivost jednotlivých druhů rodu *Rhizobium* je různá (Giller et al., 1993) a v půdách dlouhodobě vystavených působení těžkých kovů se objevují tolerantní kmeny rhizobií (Purchase et al., 1997). Giller et al. (1998) uvádějí jako základní mechanismy tolerance bakterií a hub vázání kovů pomocí proteinů, extracelulárních polymerů nebo vázání na buněčnou stěnu, kompartmentaci uvnitř buněk, produkci nerozpustných sulfidů kovů, snížení příjmu, zvýšení exportu z buněk a volatilizaci.

Produkce biomasy testovaných rostlin a tvorba hlízek a jejich hmotnost jsou uvedeny v tab. II. Celková nitrogenázová aktivita hlízek je znázorněna na obr. 5 až 8. Hodnoty TNA hlízek přibližně kopírují celkové počty rhizobií ve vzorcích půd. Při vysokých koncentracích Ni v obou půdách v obou letech došlo současně s poklesem počtů rhizobií v 1 g půdy použité jako inokulum k poklesu TNA, při současném snížení hmotnosti sušiny hlízek (tab. II). Tyto poklesy byly významné (tab. III). Pokles až na minimální hodnoty je zvláště patrný u lehké půdy zatížené nejvyšší dávkou Ni (10L). Vlivem



I.-4. Přežívání rhizobií v půdách po 10 (1998) a 22 (1999) měsících od přídavku solí Ni a As – Survival of rhizobia in soils amended with Ni and As salts after 10 (1998) and 22 (1999) months

osa x: koncentrace Ni a As (μg/g půdy) – x axis: concentration of Ni and As (μg/g of soil)  
osa y: log<sub>10</sub> buněk rhizobií/g půdy – y axis: log<sub>10</sub> rhizobia cells/g of soil

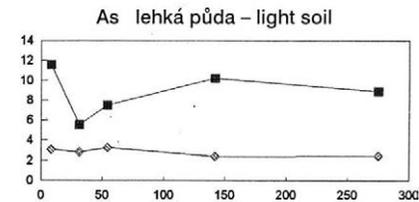
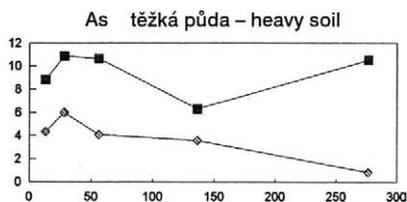
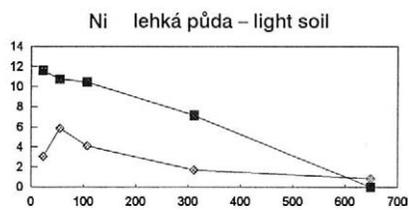
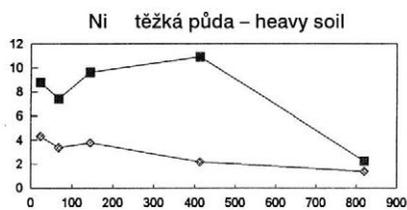
II. Průměrné hodnoty produkce biomasy a nodulačních charakteristik u hrachu (přepočteno na rostlinu) – Average values of the biomass production and nodule characteristics of pea (calculated per plant)

Přídavek <sup>1</sup>	Varianta <sup>2</sup>	Počet hlízek na rostlinu <sup>3</sup>		Sušina hlízek <sup>4</sup> (mg)		Sušina nadzemní hmoty <sup>5</sup> (g)		Sušina kořenů <sup>6</sup> (g)	
		1998	1999	1998	1999	1998	1999	1998	1999
Ni	Ru0	78b	51ns	148,0c	129,5ab	0,88bc	0,82ab	0,15abc	0,12ns
	RuL	93b	55	148,7c	134,3b	0,83bc	1,15b	0,13abc	0,23
	Ru2L	77b	63	150,7c	94,0ab	0,86bc	1,11b	0,11ab	0,16
	Ru5L	56ab	54	154,7c	106,3ab	0,93c	0,51ab	0,13abc	0,10
	Ru10L	45ab	71	40,0ab	61,3ab	0,41ab	0,39ab	0,17bc	0,11
	Lu0	96b	60	91,0ab	64,7ab	1,04c	0,97ab	0,15abc	0,14
	LuL	74b	88	85,5bc	82,5ab	1,10c	1,12b	0,15abc	0,17
	Lu2L	83b	48	94,0bc	94,0ab	1,17c	1,15b	0,08a	0,16
	Lu5L	52ab	109	67,0ab	60,0ab	0,85bc	0,23ab	0,12abc	0,15
	Lu10L	5a	88	5,3a	29,0a	0,31a	0,20a	0,20c	0,19
As	Ru0	78ns	51ns	148,0bc	129,5abc	0,88ns	0,82ns	0,15ab	0,12ns
	RuL	91	57	196,3c	163,3abc	1,42	1,23	0,15ab	0,15
	Ru2L	81	83	205,3c	154,0abc	1,30	0,72	0,11a	0,11
	Ru5L	67	40	144,3bc	108,3abc	1,07	1,00	0,10a	0,15
	Ru10L	78	47	174,7c	45,5a	1,17	0,31	0,17ab	0,20
	Lu0	96	60	91,0ab	64,7abc	1,04	0,97	0,15ab	0,14
	LuL	87	51	63,0a	73,0abc	0,97	1,15	0,14ab	0,16
	Lu2L	93	72	85,7ab	65,0abc	1,32	1,21	0,19b	0,18
	Lu5L	83	48	87,0ab	63,0abc	0,95	0,77	0,13ab	0,14
	Lu10L	75	82	83,7ab	50,0ab	0,84	0,66	0,13ab	0,10

Hodnoty ve sloupcích označené stejnými písmeny se neliší významně, Tukey test ( $p = 0,05$ ) – Means within the column followed by the same letter do not differ significantly, Tukey test ( $p = 0,05$ )

ns = nonsignifikanční rozdíly – nonsignificant differences

<sup>1</sup>addition, <sup>2</sup>treatment, <sup>3</sup>nodule number per plant, <sup>4</sup>nodule dry weight, <sup>5</sup>shoot dry weight, <sup>6</sup>root dry weight



5.–8. Celková nitrogenázová aktivita (TNA) hlízek hrachu inokulovaného vzorky půd se zvyšujícími se koncentracemi Ni a As – Total nitrogenase activity (TNA) of root nodules of pea inoculated by soil samples with increased Ni and As concentrations

osa x: koncentrace Ni a As ( $\mu\text{g/g}$  půdy) – x axis: concentration of Ni and As ( $\mu\text{g/g}$  of soil)

osa y: TNA ( $\mu\text{mol}/\text{rostlina}/\text{h}$ ) – y axis: TNA ( $\mu\text{mol}/\text{plant}/\text{h}$ )

nízké fixace dusíku došlo zákonitě i k významné redukci tvorby nadzemní hmoty (tab. II). Výsledky pokusů ukázaly, že vysoké koncentrace Ni v půdě ovlivnily

nejen celkový počet rhizobií, ale i jejich nodulační schopnosti a efektivitu. Tento vliv je možné demonstrovat na vzhledu hlízek. Jejich počty se s výjimkou roku

Parametr <sup>1</sup>	TNA		Počet hlízek na rostlinu <sup>2</sup>		Sušina hlízek <sup>3</sup>		Sušina nadzemní hmoty <sup>4</sup>		Sušina kořenů <sup>5</sup>	
	1998	1999	1998	1999	1998	1999	1998	1999	1998	1999
Kontaminace <sup>6</sup>										
Ni	5,65*	2,55*	4,54*	0,55 ns	15,39*	2,50*	7,54*	5,01*	4,07*	1,39 ns
As	1,90 ns	1,66 ns	0,42 ns	0,52 ns	10,08*	3,97*	2,11 ns	1,80 ns	2,75*	0,67 ns

\* signifikantní rozdíly mezi variantami ( $p = 0,05$ ) – significant differences among treatments ( $p = 0,05$ )

ns = nesignifikantní rozdíly – nonsignificant differences

<sup>1</sup>parametr, <sup>2</sup>nodule number per plant, <sup>3</sup>nodule dry weight, <sup>4</sup>shoot dry weight, <sup>5</sup>root dry weight, <sup>6</sup>contamination

1998 signifikantně nelišily (tab. III), avšak u variant se zvýšeným obsahem Ni (od varianty 5L) stoupal podíl hlízek zelených a bílých, které byly umístěny na spodní části kořene. Barva těchto hlízek svědčí o tom, že v hlízkách chybí leghemoglobin, který u normálně vyvinutých hlízek zprostředkovává zásobování bakteroidů kyslíkem a zároveň chrání nitrogenázu před inhibičními hladinami  $O_2$  (Našinec, Škrdleta, 1981). Při tvorbě takových hlízek je narušena správná funkce symbiocy, hlízky jsou neefektivní, a tím je výrazně snížena nitrogenázová aktivita a zásobování rostlin dusíkem, což se negativně odráží na produkci biomasy rostlin. Vysoké koncentrace Ni zřejmě podporují převládnutí tolerantních rhizobií, avšak tyto populace ztrácejí svoje vlastnosti a stávají se neefektivní. Výsledky odpovídající těmto závěrům byly získány při rozsáhlém výzkumu symbiocy jetel – *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* (Market Garden Experiment, Woburn; McGrath, 1987) a následných studiích tohoto jevu (McGrath et al., 1988). Při tomto výzkumu bylo v konkrétní situaci zjištěno, že na dlouhodobě kontaminovaných parcelkách (Cd, Zn, Cu, Ni, Pb) přežil pouze jeden kmen *Rhizobium*, který byl při tvorbě bílých hlízek neefektivní v symbióze s jetelem bílým (Giller et al., 1989). Tento izolát však později tvořil efektivní symbiózu s *Trifolium subterraneum* (Hirsch et al., 1993). Giller et al. (1998) upozorňují na to, že nelze předpokládat spojení mezi tolerancí ke kovům a efektivitou ve fixaci dusíku, a spíše se přiklání k závěru, že přežívající tolerantní kmeny budou efektivní při  $N_2$  fixaci. Podle výsledků našich pokusů se však zdá, že případ, který popsali Giller et al. (1989), může platit i pro jiné biovary druhu *Rhizobium leguminosarum*.

Vliv vysokých koncentrací As se na symbiotických a růstových charakteristikách hrachu v roce 1998 negativně neprojevil ani při jejich nejvyšších hodnotách v použitých půdách (tab. II). V roce 1999 byl však již zvláště v těžké půdě zřejmý negativní vliv nejvyšší koncentrace As (10L) na všechny sledované parametry pokusu (obr. 7, tab II). V kyselejší lehké půdě byl negativní efekt přidavku As nižší, což může souviset se skutečností, že vazbami As na Fe a Al se tvoří arzenitany a arzeničnany, které jsou v kyselejších půdách málo rozpustné (Beneš, 1994). Výsledky pokusů ukázaly, že již relativně krátká doba přítomnosti zvýšených koncentrací Ni (od 2L) v použitých půdách snížila početnost nativních rhizobií a pod tímto

tlakem v nich začaly převládat méně efektivní skupiny hlízkových bakterií. V případě přítomnosti As se negativní efekt na rhizobia projevil za delší časové období až při nejvyšší koncentraci (odpovídající 10L).

Sledováním přežívání rhizobií v půdách zatížených různými těžkými kovy nebo jinými polutanty a hodnocením různých typů symbióz s leguminózami z hlediska efektivity procesu fixace dusíku je tak možné získat důležité doplňující informace o vlivu polutantů na půdu.

## LITERATURA

- Atlas R., Horowitz A., Krichevsky M., Bej A. K. (1991): Response of microbial populations to environmental disturbance. *Microbiol. Ecol.*, 22: 249–256.
- Beneš S. (1994): Obsahy a bilance prvků ve sférah životního prostředí. II. část. Praha, MZe ČR: 101–102.
- Doelman P., Haanstra L. (1984): Short-term and long-term effects of cadmium, chromium, copper, nickel, lead and zinc on soil microbial respiration in relation to abiotic soil factors. *Pl. and Soil*, 79: 317–327.
- Giller K. E., McGrath S. P., Hirsch P. R. (1989): Absence of nitrogen fixation in clover grown on soil subject to long-term contamination with heavy metals is due to survival of only ineffective *Rhizobium*. *Soil Biol. Biochem.*, 21: 841–848.
- Giller K. E., Witter E., McGrath S. P. (1998): Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: A review. *Soil Biol. Biochem.*, 30: 1389–1414.
- Giller K. E., Nussbaum R., Chaudri A. M., McGrath S. P. (1993): *Rhizobium meliloti* is less sensitive to heavy metal contamination in soil than *R. leguminosarum* bv. *trifolii* or *R. loti*. *Soil Biol. Biochem.*, 25: 273–278.
- Hardy R. W. F., Burns R. C., Holsten R. D. (1973): Application of acetylene-ethylene assay for measurement of nitrogen fixation. *Soil Biol. Biochem.*, 5: 47–81.
- Hirsch P. R., Jones M. J., McGrath S. P., Giller K. E. (1993): Heavy metals from past applications of sewage sludge decrease the genetic diversity of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* populations. *Soil Biol. Biochem.*, 25: 1485–1490.
- Chaudri A. M., McGrath S. P., Giller K. E. (1992): Survival of the indigenous population of *Rhizobium leguminosarum*

- bv. *trifolii* in soil spiked with Cd, Zn, Cu and Ni salts. *Soil Biol. Biochem.*, 24: 625–632.
- Kandeler E., Kampichler C., Horak O. (1996): Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biol. Fertil. Soils*, 23: 299–306.
- Maliszewska W., Dec S., Wierzbicka H., Wozniakowska A. (1985): The influence of various heavy metal compounds on the development and activity of soil micro-organisms. *Envir. Poll. Ser. A*, 37: 195–215.
- McGrath S. P. (1987): Long-term metal transfers following applications of sewage sludge. In: Coughtrey P. J., Martin M. H., Unsworth M. H. (eds.): *Pollutant transport and fate in ecosystems*, Oxford, Blackwell Sci. Publ.: 301–317.
- McGrath S. P., Brookes P. C., Giller K. E. (1988): Effects of potentially toxic metals in soil derived past applications of sewage sludge on nitrogen fixation by *Trifolium repens* L. *Soil Biol. Biochem.*, 20: 415–424.
- Našinec V., Škrdleta V. (1981): Biologická fixace molekulárního dusíku. II. Fyziologie. *Biol. Listy*, 47: 81–95.
- Purchase D., Miles R. J., Young T. W. K. (1997): Cadmium uptake and nitrogen fixing ability in heavy-metal-resistant laboratory and field strains of *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 22: 85–93.
- Skujins J., Nohrstedt H., Odén S. (1986): Development of a sensitive biological method for determination of a low-level toxic contamination in soils. I. Selection of nitrogenase activity. *Swed. J. Agric. Res.*, 16: 113–118.
- Šimon T. (1991): The N<sub>2</sub> fixation ability of new-bred cultivars of pea (*Pisum sativum* L.). *Zbl. Mikrobiol.*, 146: 143–148.
- Šimon T. (1999): Vliv stupňovaných dávek niklu a arzenu na růst ředkvičky a půdní mikroflóru. *Rostl. Výr.*, 45 (9): 421–430.
- Vincent J. M. (1970): *A manual for the practical study of root nodule bacteria*. Blackwell, Oxford, IBP Handb. (15).

Došlo 6. 5. 1999

---

*Kontaktní adresa:*

Ing. Tomáš Šimon, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: +420 2 33 02 22 53, fax: +420 2 33 31 06 36, e-mail: simont@hb.vurv.cz

---

# PEDOTRANSFER FUNCTIONS AS A TOOL FOR ESTIMATION OF PESTICIDES BEHAVIOR IN SOILS

## PEDOTRANSFEROVÉ FUNKCE JAKO PROSTŘEDEK PRO ODHAD CHOVÁNÍ PESTICIDŮ V PŮDÁCH

J. Kozák, O. Vacek

*Czech University of Agriculture in Prague, Czech Republic*

**ABSTRACT:** Soil Informatics, a new discipline makes possible to interpret the results of research in a new way. Possibility for interpretation of adsorption characteristics of atrazine in soils of the CR was studied. Our approach was based on exploitation of pedotransfer functions. As a pedotransfer function we used multivariate statistical methods.  $K_d$  value for atrazine estimation was based on the knowledge of data on humus content, soil texture, pH and CEC values, respectively. The results were interpreted in the GIS environment exploiting the digitized soil map of the CR at scale 1 : 200 000 and the corresponding database of soil characteristics. The spatial distribution of  $K_d$  values for the topsoil and the subsoil were computed and presented as soil vulnerability maps. The results have shown that there was a substantial decrease in  $K_d$  values in subsoil. For better assessment of that decrease the ratio of  $K_d$  values for atrazine in topsoil and in subsoil was computed. Under the field conditions it means that once atrazine reaches the subsoil layer it is less bound on the soil particles and the possible leaching by water-flow in soil profile is accelerated. This example of exploitation shows how can be sorption data together with digitized soil database exploited in evaluation of ecological function of soil. The higher are the values of ratio, the more realistic is the transport of pesticide under study towards the ground water table. The application of atrazine in the areas of the ratio equal or higher than two thus represents potential ecological hazards.

**Keywords:** pedotransfer function; application of soil GIS; atrazine adsorption

**ABSTRAKT:** Půdní informatika jako nový obor umožňuje netradiční interpretaci výsledků výzkumu. Byla studována možnost takové interpretace pro adsorpční charakteristiky atrazinu v půdách ČR. Zvolený přístup využívá pedotrasferových funkcí, které umožňují kvalifikovaný přenos experimentálních dat ze studované lokality na jinou, a to na základě znalostí vztahu mezi přenášenými daty a vhodně zvolenými obecně dostupnými charakteristikami. V našem případě bylo použito metody vícerozměrné statistické analýzy, umožňující odhad distribučního koeficientu pro atrazin  $K_d$  mezi pevnou a kapalnou fází půdy na základě znalostí obsahu humusu, jílnatých částic, hodnot pH a KVK. Výsledky byly interpretovány v prostředí GIS (Geografického informačního systému) při využití digitalizované půdní mapy ČR v měřítku 1 : 200 000 a příslušné databáze půdních charakteristik. Bylo vytvořeno prostorové rozmístění hodnot  $K_d$  ve vrchní a vnitřní vrstvě půd ČR a stanoven vzájemný poměr těchto hodnot. Výsledky jsou prezentovány ve formě map zranitelnosti půd vůči kontaminaci atrazinem. Pro vnitřní vrstvu půd ČR byly získány podstatně nižší hodnoty  $K_d$ , což indikuje možnost zvýšeného vymytí studované pesticidní látky do podzemních vod, jakmile pronikne do vnitřních vrstev půdního profilu. Výsledky mohou být cennou pomůckou pro legislativní účely, týkající se pesticidních látek.

**Klíčová slova:** pedotransferové funkce; aplikace GIS o půdě; adsorpce atrazinu

### INTRODUCTION

Soil Informatics, a new discipline has a place between soil and computer science. Amerskamp, Lamp (1998) summarized the main topics of Soil Informatics: methodology and control of information transfer process guided by criteria of effectiveness (predicting the most relevant soil functions); safety (minimum information loss, best possible correlation); efficiency (the most simple and practical methods in relation to effort). Translating information about soil characteristics and qualities across

different spatial and temporal scales has emerged as a major theme in soil science.

Pesticides are applied at large quantities at regional scales. The assessment of environmental fate and environmental impact has therefore to take into account the macroscale variation of soil types in connection with land-use patterns and application habits of the farmers, and meteorological data. The necessary link between spatial information and pesticide environmental fate models can best be achieved in the frame of a geographical information system (GIS) (Richter et al., 1996).

Wagenet (1996) indicated that the development of GIS has been a significant step forward in the ability to achieve integrated assessment of environmental issues. On a large territory (nearly 300 000 km<sup>2</sup>) results from the regional scale modelling methodology were mapped using GIS, with four map classes of pesticide leaching displayed. According to Tim, Jolly (1994) the simplest way to couple a GIS with a model is the ad hoc integration. This means that process models and GIS are developed separately each with its own operating system. Interaction is solely mediated by file exchange.

Lücke et al. (1995) implemented successfully the herbicide model FLOWCONC into GIS ARC INFO to assess the re-cropping risk of winter wheat following sugar beet in crop rotation. Tiktak (1999) has successfully incorporated a one-dimensional pesticide-leaching model into GIS environment recently. Regional patterns of four pesticides with contrasting behavior were calculated using mega-plot approach. Mega-plots were obtained by overlaying in the GIS maps of soil structure, organic matter content, ground – water – depth – class, land-use and climate.

Sorption is generally recognized as one of key processes influencing behavior of pesticides in soils. According to Jones (1996) predictions of sorption in field scale models are often based on average  $K_{oc}$  (organic carbon partition coefficient) values from a range of soils or  $K_d$  (distribution coefficient) value measured for the specific soil. Sometimes sorption is described using Freundlich or Langmuir isotherm. For the practical exploiting of sorption data there is a problem laying in both its obtaining (mainly under laboratory conditions) and interpretation. In similar cases, where the needed data are missing, they could be in soil science derived indirectly from available information on the other soil characteristics, if a close relationship between them was proved.

Originally the pedotransfer functions (PTFs) were designed as algorithms for estimating soil properties (mostly regression functions) which compute saturated hydraulic conductivity and retention data or parameters of the retention curve according to Genuchten's (1980) or Brooks, Corey's (1964) relation from particle size distribution, organic carbon content and pore volume. Ranst et al. (1995) introduced the term Pedotransfer Rules, which are based on Boolean or other logic. They are used to predict ranges of classes of not easily determined soil qualities such as soil fertility, vulnerability and potential productivity. Finke et al. (1998) defined pedotransfer functions as mathematical functions which translate basic, easily available soil data to model parameters or, more general, to less easy to obtain soil data. Kozák, Vacek (1996) suggested exploiting the same principle for estimation of  $K_d$  values from soil characteristics.

The aim of present study was to show the possibility of regional scale estimates of pesticide sorption by mean of GIS.

## MATERIAL AND METHODS

Adsorption of pesticide atrazine was studied. Adsorption experiments were evaluated by means of Freundlich adsorption isotherm:

$$C_s = K_f \cdot C_w^{1/n} \quad (1)$$

where:  $C_s$  – the amount of substance sorbed by soil  
 $C_w$  – the equilibrium concentration of sorbate  
 $K_f$  – Freundlich sorption coefficient  
 $1/n$  – constant

If the concentration  $C_w = 1$ , the isotherm becomes a straight line and  $K_f$  represents the distribution coefficient  $K_d$ . Experimental details are given in Kozák et al. (1992).

The effect of soil properties on atrazine adsorption was described by means of multivariate statistical methods, i.e. regression and correlation analyses. As a selective estimation of linear regression, a model based on the data of a sample with  $n$  values was applied:

$$Y = X_b + e \quad (2)$$

where:  $Y$  – column vector of observed values of the dependent variable of a sample with  $n$  ( $n.1$ ) values  
 $X$  – matrix for  $n$  values of factors connected to the regression function ( $n.k$ )  
 $b$  – column vector of estimation of  $b_j$  linear parameters ( $k.1$ )  
 $e = Y - X_b$  – column vector of deviations  $e_i$  of observed values of the dependent variable

The values of the calculated regression coefficients were used for the following equation:

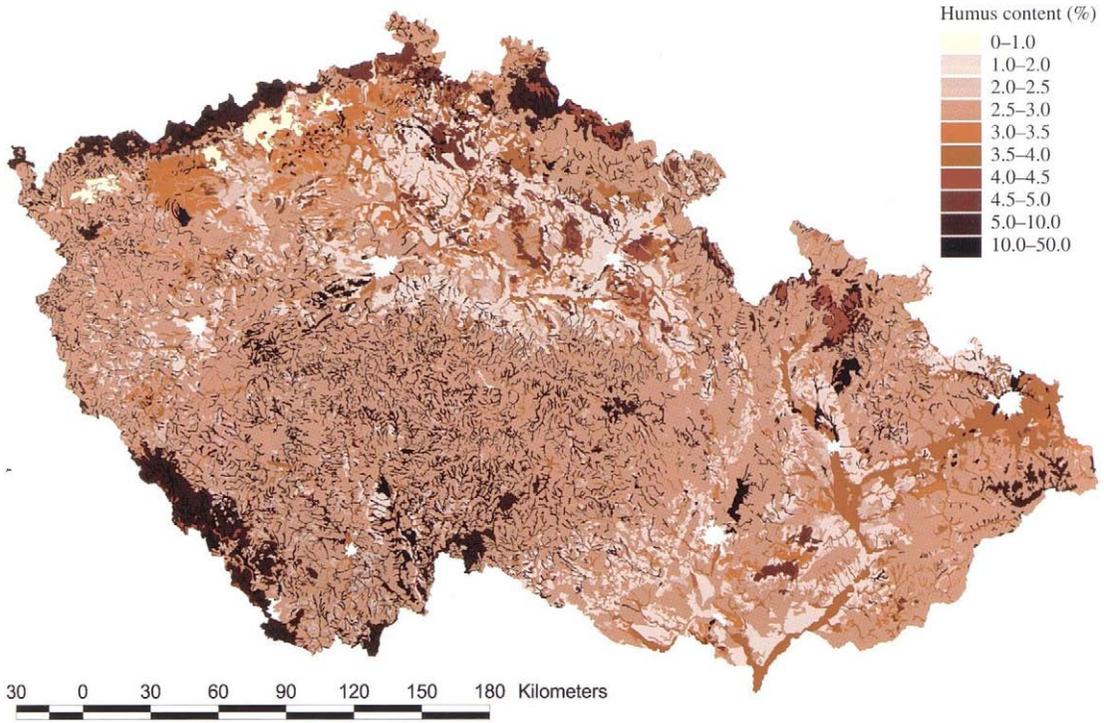
$$E(Y|X_1, X_2, X_3, X_4) = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_4X_4 \quad (3)$$

The  $b_0$  value is called the absolute member,  $b_1$  represents the regression coefficient for clay content,  $b_2$  for CEC,  $b_3$  for  $\text{pH}_{\text{KCl}}$  and  $b_4$  for  $C_{\text{org}}$  content, respectively.  $E$  represents the estimation of the value under study, i.e.  $K_f$  value. Details are given in Kozák et al. (1992).

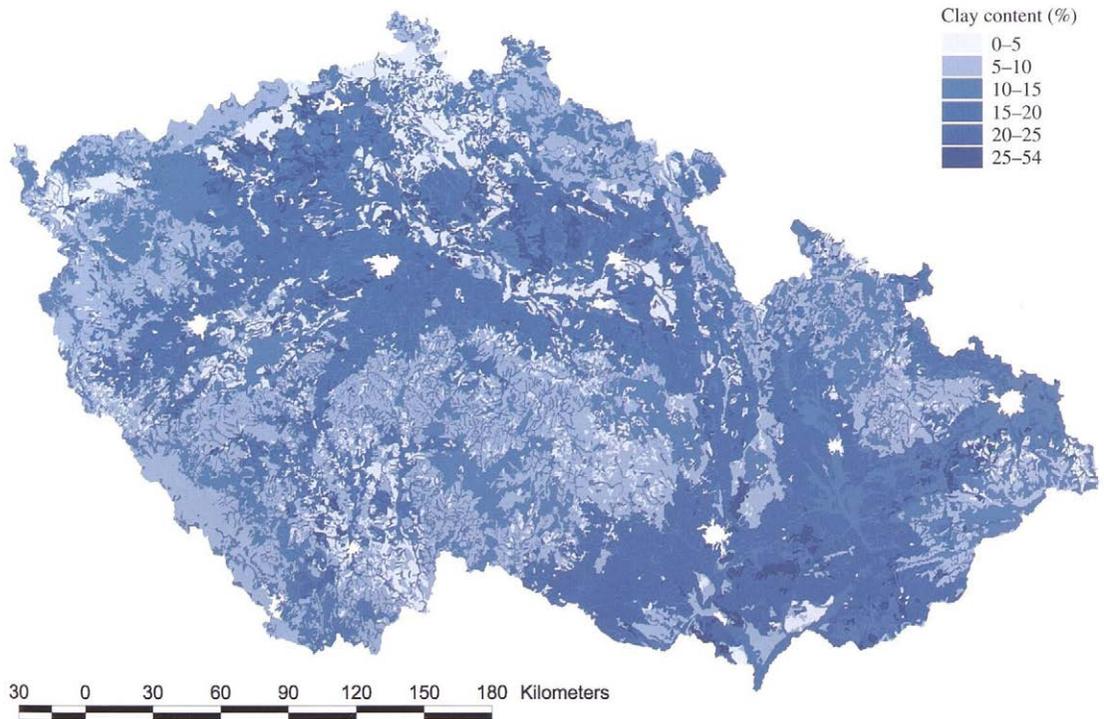
For the evaluation of the extent of atrazine sorption in the GIS system, the digitized soil map at scale 1 : 200 000 was used. The map was connected with the database of soil mapping units, containing the necessary data, i.e. data on  $C_{\text{org}}$  (soil humus content was obtained by multiplication by coefficient 1.724),  $\text{pH}_{\text{KCl}}$ , clay particles content and CEC values, respectively. The digital soil map and the above-mentioned database were prepared in the GIS environment using ARC INFO for Windows NT software (a product of ESRI comp.). In the GIS environment the parameters of pedotransfer functions were computed exploiting the above-mentioned equations. The database of soil characteristics and analytical data was structured according to soil horizons. In the present study A horizons were denoted as topsoil and the B- or C-horizons, respectively as a subsoil.

## RESULTS AND DISCUSSION

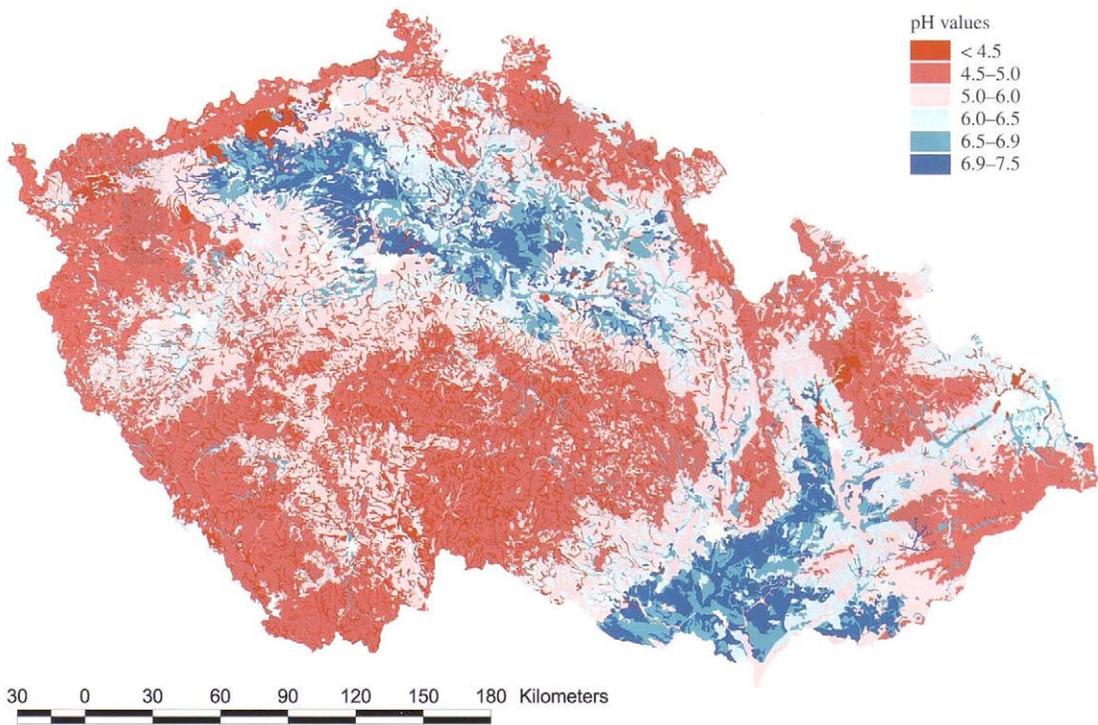
At first the sets of soil-related input-data in a form of digitized soil maps were prepared. In Figs. 1 to 4 are



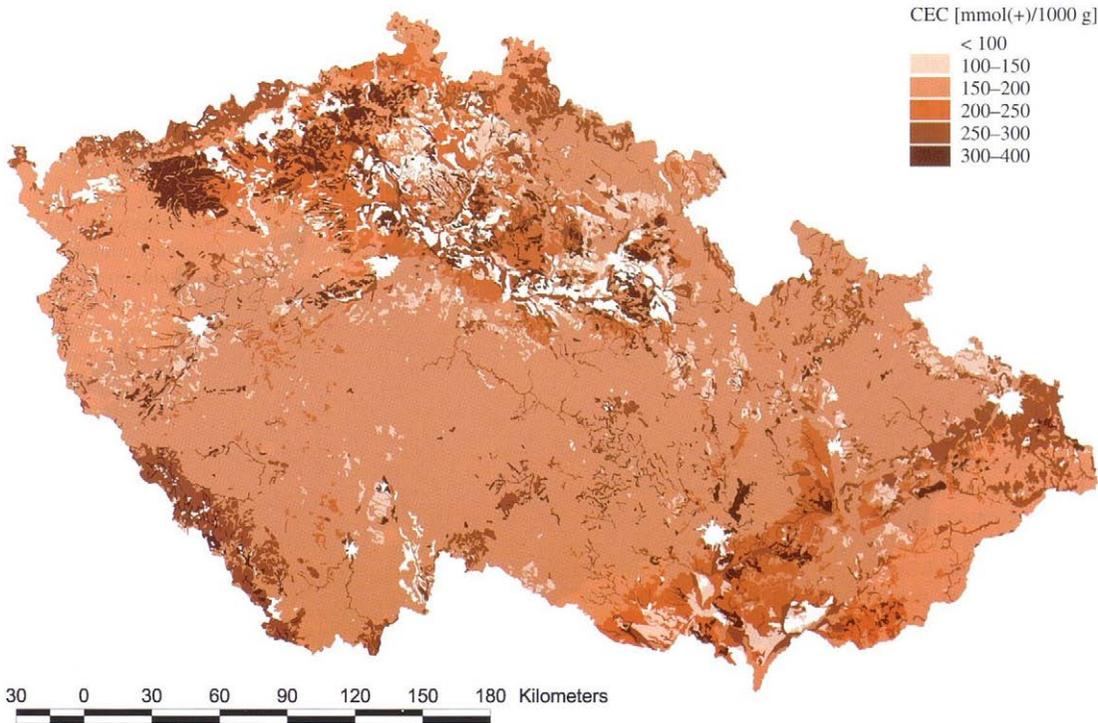
1. Humus content in the Topsoil of Czech Republic soils



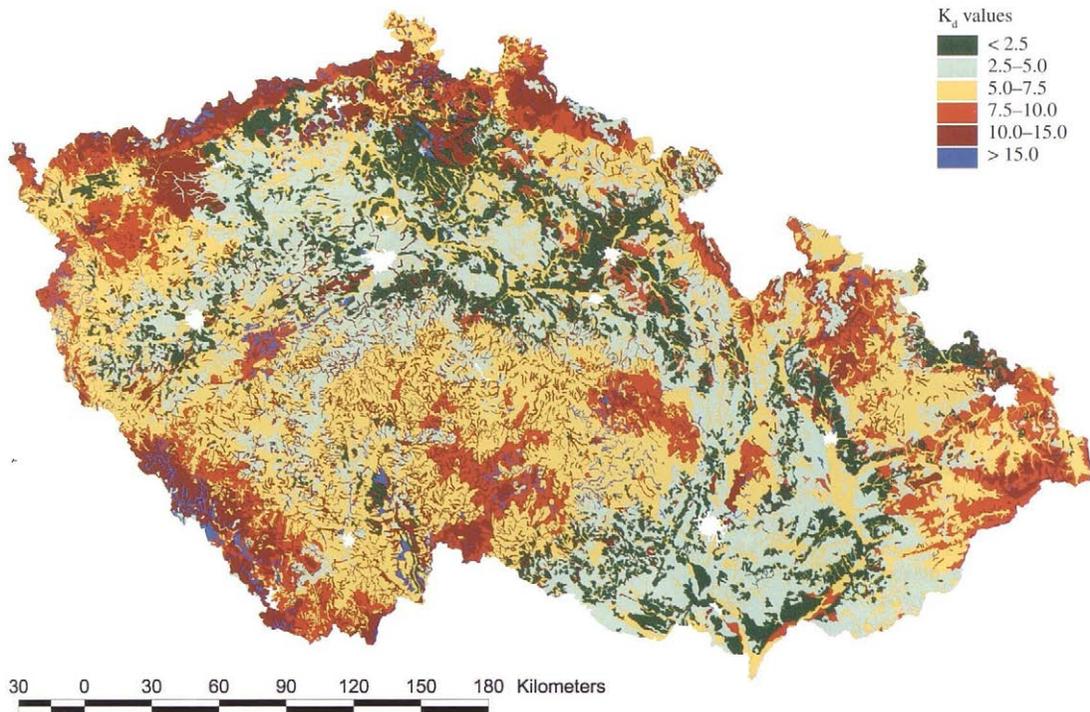
2. Clay content (< 0.001 mm) in the Topsoil of Czech Republic soils



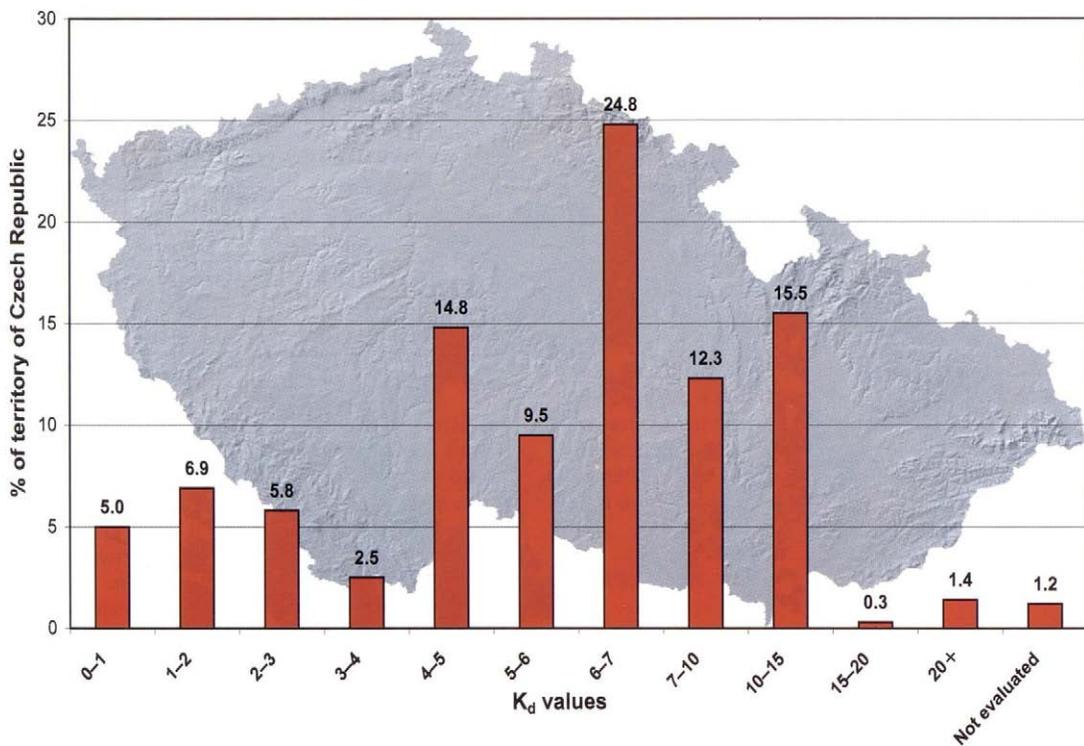
3. pH values in the Topsoil of Czech Republic soils



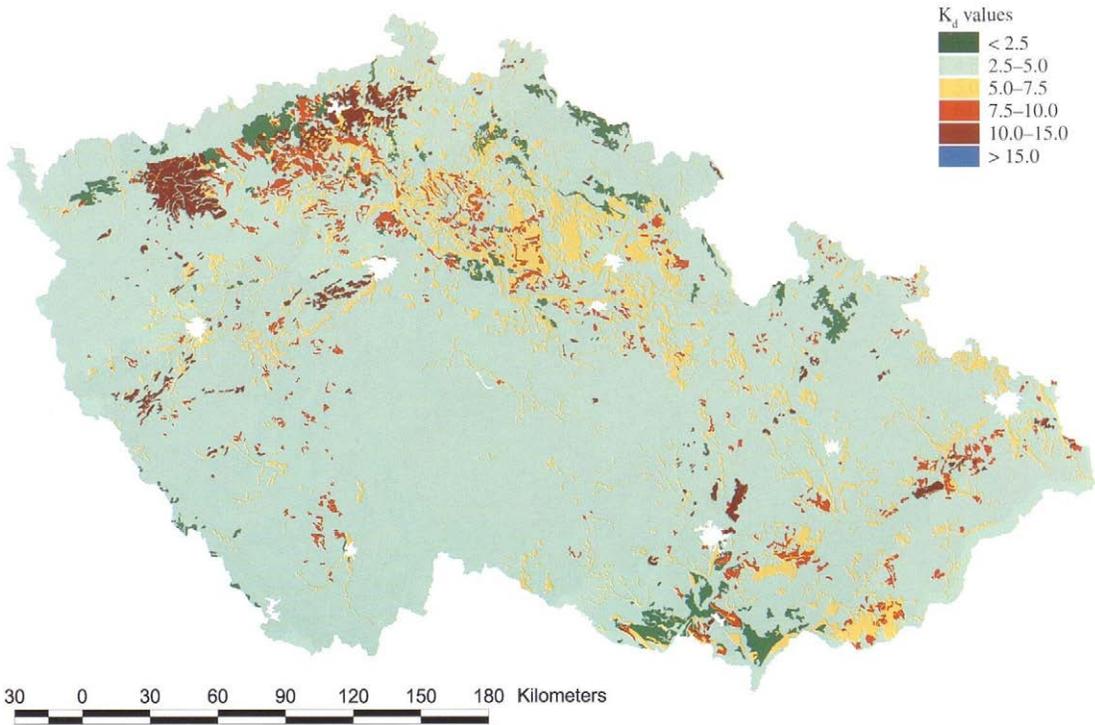
4. CEC in the Topsoil of Czech Republic soils



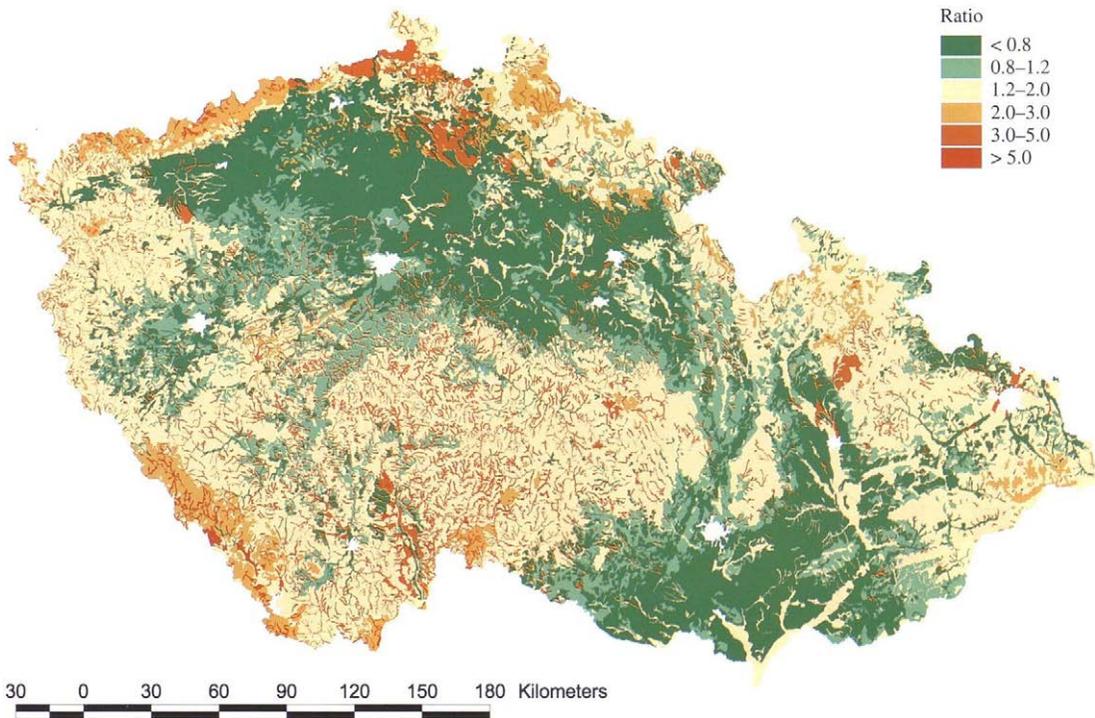
5.  $K_d$  values for herbicide Atrazine in the Topsoil of Czech Republic soils



6. Distribution of  $K_d$  values for Atrazine in the territory of Czech Republic (Topsoil)



7.  $K_d$  values for herbicide Atrazine in the Subsoil of Czech Republic soils



8. Ratio of  $K_d$  values for Atrazine in the Topsoil and Subsoil of Czech Republic soils

I. Soil type grouping in accordance with the value of  $K_d$

$K_d$	Soil units, Czech classification	Soil type, Corresponding units in World Reference Base for Soil Resources FAO classification
0-1	kambizem arenická kambizem arenická	areni-eutric Cambisol areni-haplic Chernozem
1-2	luvizem modální šedozem modální	glossalbic Luvisol greyic Phaeozem
2-3	hnědozem modální pseudoglej luvičský	orthic Luvisol luvic Stagnosol
3-4	černozem modální černozem luvičská černozem černicová	calcic Chernozem luvic Chernozem gleyic Phaeozem
4-5	kambizem modální kambizem pelická oglejená černice modální	eutric Cambisol peli-stagnogleyic Cambisol haplic Phaeozem
5-6	černice pelická fluvizem modální pseudoglej modální	peli-haplic Phaeozem eutric Fluvisol orthic Stagnosol
6-7	kambizem oglejená kambizem kyselá kambizem oglejená kyselá fluvizem glejová	stagnogleyic Cambisol eutri-dystric Cambisol dystri-stagnogleyic Cambisol gleyic Fluvisol
7-10	černozem pelická smonice modální černice glejová	peli-haplic Phaeozem Vertisol gleyic Phaeozem
10-15	kambizem dystrická podzol kambický glej modální pseudoglej histický rendzina melanická	hyperdystric Cambisol cambic Podzol eutric Gleysol histic Stagnosol rendic Leptosol
> 15	glej organozem	histic Gleysol Histosol
Not evaluated	water tables urban areas mining areas	

shown maps of soil humus content, clay particles content, pH values and CEC values, respectively. Both agricultural and forest soils were included, because triazine pesticides could be applied even in forests. On the map in Fig. 1 it is apparent, that on the majority of the territory of CR humus content reaches values between 2 and 3 (%). The higher values could be found in mountainous forest regions and in soils formed on the alluvial deposits. In Fig. 2 is shown clay – particles spatial distribution on the territory of CR. The regions of high clay particles content were found in soils formed on sedimentary and metamorphic parent materials. The fact, that also forest soils were included in-

fluenced, substantially the values of soil pH, as it is apparent from Fig. 3. Fig. 4 shows the spatial distribution of CEC values, which partially reflects both humus and clay particles content distribution.

In accordance with the procedure described in section methods the soil vulnerability map based on distribution of  $K_d$  values for herbicide atrazine in topsoil was derived. The results are shown in Fig. 5. It could be observed that values of  $K_d$  varied substantially. On the diagram in Fig. 6 is the extent of the territory of CR showing different ranges of  $K_d$  for atrazine presented. The most frequently found values were in the range 4 to 15.

It was also possible to group the soil types in accordance with the  $K_d$  values. The results of such grouping are given in Tab. I. The highest  $K_d$  values were found in soil types known to have the high content of humus in humic horizons which is mainly composed of less humified organic matter with fulvic acids prevailing in its extractable part. Soil types like histic Gleysol, Histosol, hyperdystric Cambisol, cambic Podzol, eutric Gleysol, histic Stagnosol and rendic Leptosol. Peli-haplic Phaeozem, Vertisol, and gleyic Phaeozem which have also shown high values of  $K_d$  are known to be high in humus content and or clay particles content, respectively. The lowest  $K_d$  values were found in soil types in which the top parts of soil profiles are leached or which are formed on sandy parent materials. The humic horizons of those soil types are also known to have low content of humus in humic horizons. These findings are in accordance with Tiktak (1999) also included atrazine in his study and who found a clear effect of soil type on both the magnitudes of the concentration and the time that this concentration was reached during leaching of pesticides through the soil profile. The author also emphasized the importance of soil organic matter and soil texture on leachability of pesticides in soil profiles.

The  $K_d$  values were also computed for the subsoil (i.e. B- or C-horizons respectively). The results are shown in Fig. 7 in which the same legend was applied as in Fig. 5. It is clearly apparent that there was a substantial decrease in  $K_d$  values in subsoil. For better assessment of that decrease the ratio of  $K_d$  values for atrazine in topsoil and in subsoil was computed. The results are shown in Fig. 8. It could be concluded that generally there was observed the decrease of  $K_d$  values in subsoil. Under the field conditions it means that once atrazine reaches the subsoil layer it is less bound on the soil particles and the possible leaching by water-flow in soil profile is accelerated.

## CONCLUSION

It was possible to interpret the adsorption data on atrazine in a non-traditional way in a GIS environment and to produce a spatial distribution of the ratio of  $K_d$  values for atrazine in the topsoil and subsoil at scale 1 : 200 000. In that case the advantage of existing pro-

file databases of soil characteristics was exploited. This example shows how can be sorption data together with digitized soil database exploited in evaluation of ecological function of soil. The higher are the values of the ratio, the more realistic is the transport of pesticide under study towards the ground-water table. The application of atrazine in the areas of ratio equal or higher than two represents a potential ecological hazard.

### Acknowledgment

The present study was supported by a grant project GA CR No. 526/98/1293.

### REFERENCES

- Amerskamp M., Lamp J. (1998): Three-dimensional soil prediction: Fuzzy rules and GIS. In: Heineke H. J., Eckelmann W., Thomasson A. J., Jones R. J. A., Montanarella L., Buckley B. (eds.): Land information systems development for planning the sustainable use of land resources. Eur. Soil Bur. EC: 243–250.
- Brooks R. M., Corey A. T. (1964): Hydraulic properties of porous media. Hydrol. Pap., 3: 22–27.
- Finke P., Hartwich R., Dudal R., Ibáñez J., Jamagne M., King D., Montanarella L., Yassoglou N. (1998): EUR 18092 – Georeferenced Soil Database for Europe. Manual of procedures. Version 1.0. Eur. Soil Bur. EC: 60–65.
- Genuchten M. T. van (1980): A closed-form equation for predicting the hydraulic conductivity of unsaturated soil. Soil Sci. Soc. Amer. J., 44: 892–898.
- Jones R. L. (1996): Environmental fate processes at the field scale. In: Del Re A. A. M., Capri E., Evans S. P., Trevisan M. (eds.): The environmental fate of xenobiotics. Proc. X. Symp. Pesticide chemistry, Castelnuovo Fogliani, Piacenza, Italia: 19–31.
- Kozák J., Vacek O. (1996): The mathematical model (BPS) for prediction of pesticide behaviour in soils. Rostl. Výr., 42 (12): 551–558.
- Kozák J., Valla M., Prokopec O., Vacek O. (1992): Prediction of the role of soil organic matter and some other soil characteristics in herbicide adsorption. In: Kubát J. (ed.): Humus, its structure and role in agriculture and the environment. Proc. 10th Symp. Humus et Planta, Praha, Elsevier, Amsterdam: 165–169.
- Lücke A., Günther P., Diekkrüger B., Pestmer Richter O. (1995): Implementation of a herbicide simulation model in geographical information system with an example of a site-specific application. Weed Res., 35: 333–342.
- Ranst E. I. van, Vanmechelen A. J., Thomasson A. J., Daroussin J., Hollis J. M., Jones R. J. A., Jamagne M., King D. (1995): Elaboration of an extended knowledge database to interpret the 1 : 1 000 000 EU soil map for environmental purposes. In: King D., Jones R. J. A., Thomasson A. J. (eds.): European Landinformation Systems for Agro-environmental Monitoring. Off. off. Publ. Eur. Commun. Luxembourg: 71–84.
- Richter O., Diekkrüger B., Nörtersheuser P. (1996): Environmental fate modeling of pesticides. Lab. Fld Scale, VCH Verl.-Gesell. m.b.H.
- Tim U. S., Jolly R. (1994): Evaluating agricultural nonpoint – Source pollution using integrated geographic information system and hydrologic water quality model. J. Envir. Qual., 23: 25–35.
- Tiktak A. (1999): Modeling non-point source pollutants in soils. Applications to the leaching and accumulation of pesticides and cadmium. PhD Thesis Univ. Amsterdam.
- Wagenet R. J. (1996): Description of soil processes and mass fluxes at the regional scale. In: Del Re A. A. M., Capri E., Evans S. P., Trevisan M. (eds.): The environmental fate of xenobiotics. Proc. X. Symp. Pesticide chemistry, Castelnuovo Fogliani, Piacenza, Italia: 1–18.

Received on January 21, 1999

---

### Corresponding author:

Prof. Ing. Josef Kozák, DrSc., Česká zemědělská univerzita v Praze, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika, tel.: +420 2 24 38 27 57, fax: +420 2 20 92 16 44, e-mail: kozak@af.czu.cz

---

# ZÁVISLOST OBSAHU BETAINU V CUKROVCE NA SRÁŽKÁCH A TEPLOTÁCH VZDUCHU BĚHEM VEGETACE

DEPENDENCE OF BETAININE CONTENT IN SUGAR BEET  
ON THE RAINFALL AND AIR TEMPERATURE DURING  
THE VEGETATION PERIOD

V. Švachula, J. Pulkrábek

*Czech University of Agriculture in Prague, Czech Republic*

**ABSTRACT:** One of the most effective nitrogen compound in sugar beet is the betaine. In sugar beet ontogenesis betaine plays a very important role as a component of the so-called harmful nitrogen. Relatively high betaine concentration in plant tissues is the taxonomic character mainly in the species from the family *Chenopodiaceae*. Betaine is not a waste product or a compound of ammonium detoxication, but a molecule with a distinct physiological function in osmotic adaptation. Betaine content is increasing in leaves during ontogenesis (in contrast to free amino acids and amides) and is decreasing in roots and it can be found anywhere in plants, where new tissues are built. In this paper the influence of rainfall and air temperature on the betaine content in leaves and roots of sugar beet was examined. The broadly directed experiments were realized at the Experimental Station of the Czech University of Agriculture in Prague on small plots with regard to the weather of different years 1993, 1994, 1995. In the file of 20 variations with six cultivars and with application of four biologically active compounds the dependence of betaine content before harvest on monthly values of hydrothermic coefficient ( $K_h$ ) was established. The average betaine content in per cent of dry matter of leaf blades was in studied variants 3.44 in 1993, 5.73 in 1994 and 4.67 in 1995. The average betaine content in per cent of dry matter of roots as the average of all variations was 2.18 in 1993, 1.77 in 1994 and 1.93 in 1995. The narrowest dependence of betaine content on the  $K_h$  value in the blades and roots was proved in the months August and April. Relative insufficiency of moisture in August 1993 ( $K_h = 0.97$ ) influenced lowest mean value of betaine in blades and highest in roots. In the opposite relative over-supply of moisture above all in August 1994 ( $K_h = 1.41$ ) evoked growth of betaine content in blades and fall in roots. It was demonstrated, that influence of years and especially distribution of rainfall and air temperature during the vegetation period manifested on the betaine content most expressively. The knowledge about the betaine accumulation in sugar beet gives the possibility of wider exploitation, for example in fodder or pharmaceutical industry and so sugar beet could be considered as a fodder or energetic crop.

**Keywords:** sugar beet; betaine; rainfall; air temperature; hydrothermic coefficient

**ABSTRAKT:** V povětrnostně rozdílných ročnících 1993, 1994 a 1995 byl v rámci víceúčelových maloparcelových pokusů ČZU v Praze zkoumán vliv povětrnostních činitelů na obsah betainu v listech a bulvách cukrovky. V souboru 20 variant s šesti odrůdami a s aplikací čtyř biologicky aktivních látek byla zjišťována závislost předsklízňového obsahu betainu na měsíčních hodnotách hydrotermického koeficientu ( $K_h$ ). Průměrný obsah betainu v sušině listových čepelí činil v roce 1993 3,44 %, v roce 1994 5,73 % a v roce 1995 4,67 %. V sušině bulev bylo v roce 1993 naměřeno 2,18 %, v roce 1994 1,77 % a v roce 1995 1,93 %. Nejtěsnější závislost hladiny betainu na  $K_h$  byla zjištěna v listech i bulvách v měsících srpnu a dubnu. Relativní nedostatek vláhy v srpnu 1993 ( $K_h = 0,97$ ) měl za následek nejnižší průměrnou hodnotu betainu v čepelích a nejvyšší v bulvách. Naopak, relativní nadbytek vláhy především v srpnu 1994 ( $K_h = 1,41$ ) způsobil nárůst obsahu betainu v čepelích a pokles v bulvách. Ukázalo se, že vliv ročníků a zejména rozdělení srážek a teplot vzduchu během vegetace se na obsahu betainu projevuje velmi výrazně a že tato látka má v cukrovce zřetelnou fyziologickou funkci. Poznatky o akumulaci betainu v cukrovce mohou mít širší využití v krmivářském či farmaceutickém průmyslu při eventuálním pěstování cukrovky jako krmné nebo energetické plodiny.

**Klíčová slova:** cukrovka; betain; srážky; teploty vzduchu; hydrotermický koeficient

## ÚVOD

Betain neboli trimetylderivát glycinu ( $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-$  s molekulovou hmotností 117,146 a obsahem N 11,05 % je jednou z nejvýznamnějších dusíkatých látek v cukrovce a je součástí tzv. škodlivého dusíku (Bretschneider et al., 1974). Relativně vysoká hladina betainu je taxonomickým znakem rostlinných druhů z čeledi *Chenopodiaceae*, tedy i cukrovky. Lokalizací a dynamikou betainu v cukrovce se zabývalo mnoho autorů, v poslední době např. Beiss (1994), který zjistil, že v listech je větší obsah betainu než v bulvách. Během ontogeneze jeho obsah v listech zpravidla vzrůstá (na rozdíl od volných aminokyselin a amidů) a v bulvách klesá. V prvním roce vegetace cukrovky je betain dopravován z kořene do listů, v mladších listech vnitřních je ho více než v listech starších a jeho obsah klesá až při jejich odumírání. Uvnitř řepné bulvy má betain stoupající gradient směrem k řepné hlavě. Molekula betainu není odpadovým metabolickým produktem, ale má zřetelnou fyziologickou funkci v osmotickém přizpůsobování rostliny (Jefferies, 1980). Obsah betainu se liší podle odrůd. Není látkou zásobní jako např. sacharóza, ale spíše stavební a transportní. Nachází se všude tam, kde se staví nová pletiva (Stehlík, 1982). Jak uvádí Beiss (1994), nebyly prokázány signifikantní vztahy mezi obsahem betainu a ostatními technologickými ukazateli, především výnosem. Nižší obsah betainu není spojen s vysokým výnosem, sýbrž spíše s obsahem průměrným, resp. optimálním (Švachula, 1978). Vliv ekologických faktorů, zejména počasí, prokázala řada autorů (např. Pavlas, 1957; Niemann, 1964; Švachula, 1979; Švachula, Pulkrábek, 1995; Švachula et al., 1996; Pačuta et al., 1999). V suchých ročních obdobích obsah betainu v cukrovce (Stehlík, 1982) vzrůstá (bulva chutná nahořkle).

## MATERIÁL A METODY

Charakteristika polních pokusů: Maloparcelkové pokusy byly založeny v letech 1993, 1994 a 1995 na Pokusné stanici katedry rostlinné výroby AF ČZU v Praze-Uhřetěvesi, na hlubokých hnědozemních půdách obvyklou pěstiteleskou technologií. Pokusné parcely cukrovky 8,4 x 3,0 m byly vysety na vzdálenost 4 až 6 cm v řádcích 50 cm a po vzejití ručně dojednoceny. Varianty byly čtyřikrát opakovány. Do pokusů bylo zahrnuto šest odrůd, z toho tři cukernaté odrůdy ze SRN (Ibis, Edda a Perla) a tři odrůdy od firmy Hillesehög (Švédsko, ČR): Jitka (výnosový typ), Petra (normální až cukernatý typ) a Hilma (normální až cukernatý typ).

Po zapojení porostu a šest týdnů před sklizni byly aplikovány růstové regulátory Rastim 30 DKV, Atonik, syntetický cytokinin a alginát Bioalgeen S-90 (Švachula et al., 1996).

Ve vegetačním období 1993 po velmi suchém a teplém dubnu následoval srážkově normální, velmi teplý květen. Červen, červenec a září byly charakterizovány jako vlhké měsíce, přičemž září bylo teplotně velmi studené. Srpen byl srážkově i teplotně normální. Vege-

tační období 1994 bylo poznamenáno srážkově silně podnormálním červnem s nadnormálními teplotami. I v červenci byly srážky podnormální a teploty nadnormální. Srpen byl srážkově i teplotně nadnormální, což mělo za následek silnou retrovegetaci řepných rostlin v druhé polovině vegetačního období. Ve vegetačním období 1995 byl srážkově nadnormální květen a červen (nerovnoměrně vzešlé porosty trpěly hypoxií), přičemž červen byl naopak teplotně podnormální. Extrémně nadnormální teploty byly zaznamenány v červenci a nadnormální v srpnu. V ostatních měsících se srážky a teploty vzduchu pohybovaly kolem normálu.

Rostlinný materiál byl získán před sklizni pokusných parcel. Po usušení byly vzorky z jednotlivých opakování smíchány, jemně rozemlety a použity ke stanovení betainu.

Obsah betainu byl zjišťován modifikovanou metodou (Bretschneider, Horálek, 1968; Lukovniková, Jaroš, 1972; Prey et al., 1974), spočívající ve srážení betainu ve vodním extraktu ze suchého vzorku rostlinného materiálu Reineckovou solí (tetrahydro-diamo-chromitan amonný)  $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4]$  s následným měřením vzniklých barevných roztoků na spektrofotometru Spekol-220 (Carl Zeiss Jena) při vlnové délce 525 nm (Švachula, 1978, 1979; Švachula, Pulkrábek, 1995; Švachula et al., 1996).

Jako kritérium vlivu počasí byl použit hydrotermický koeficient ( $K_h$ ) podle Seljaninova, počítaný pro jednotlivé měsíce podle vzorce:

$$K_h = \frac{Z}{0,1\Sigma t}$$

kde: Z – měsíční úhrn srážek (mm)

$\Sigma t$  – měsíční suma průměrných denních teplot vzduchu ( $^{\circ}\text{C}$ )

Hodnoty  $K_h < 1,0$  znamenají nedostatek vláhy,  $K_h = 1,0$  představují vyrovnanou vláhovou bilanci a při  $K_h > 1,0$  má oblast dostatek až nadbytek vláhy (Havlíček et al., 1986).

Koeficienty korelace (hodnoty spolehlivosti R) závislosti obsahu betainu na hodnotách hydrotermického koeficientu ( $K_h$ ) byly zjištěny statistickým šetřením pomocí programu Microsoft Excel.

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Průměrný obsah betainu v listových čepelích ze všech 20 sledovaných variant byl nejvyšší v roce 1994 a v bulvách v roce 1993. Hladiny betainu v listech byly v průběhu tří sledovaných let zhruba 2,4krát vyšší než v bulvách (tab. I). Vliv odrůd, účinek použitých biologicky aktivních látek a vztahy mezi hladinami betainu a výnosy chrástu a bulev zhodnotili Švachula et al. (1996).

Významný vliv na obsah betainu měl povětrnostní charakter vegetačního období, zvláště rozdělení srážek a teplot vzduchu. Pokusné ročníky se mezi sebou značně lišily, jak vyplývá z měsíčních hodnot hydrotermických koeficientů (tab. II). K posouzení vlivu počasí byl zvolen  $K_h$  proto, že přesněji vystihuje účinek srážek, jež se mění podle výše teplot.

I. Průměrný obsah betainu z 20 pokusných variant cukrovky (v % sušiny) – Average betaine content from 20 experimental variants of sugar beets (in % of dry matter)

Rok <sup>1</sup>	Čepele <sup>2</sup>	Bulvy <sup>3</sup>
1993	3,44	2,18
1994	5,73	1,77
1995	4,67	1,93

<sup>1</sup>year, <sup>2</sup>blades, <sup>3</sup>roots

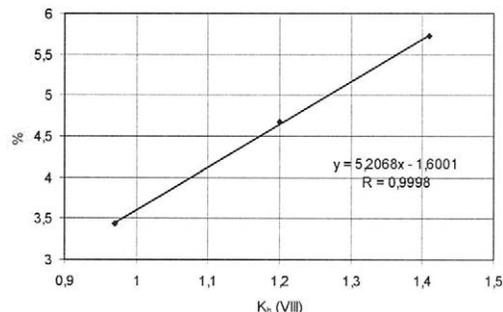
III. Sestupně seřazené koeficienty korelace ( $R$ ) závislosti obsahu betainu v listových čepelech a bulvách cukrovky na hydrotermickém koeficientu ( $K_h$ ) v jednotlivých měsících vegetací 1993, 1994 a 1995 – Descendently arranged correlation coefficients ( $R$ ) of dependences of betaine content in leaf blades and roots of sugar beet on hydrothermic coefficient ( $K_h$ ) in different months of vegetation of 1993, 1994 and 1995

Měsíc <sup>1</sup>	Čepele <sup>2</sup>	Bulvy <sup>3</sup>
8.	0,9998	0,9950
4.	0,9995	0,9935
7.	0,9728	0,9887
9.	0,7031	0,7597
6.	0,6138	0,5471
5.	0,4710	0,5426

<sup>1</sup>month, <sup>2</sup>blades, <sup>3</sup>roots

Závislosti obsahu betainu v listech a bulvách cukrovky na hodnotách hydrotermického koeficientu v jednotlivých měsících vegetací 1993 až 1995 uvádí tab. III, v níž jsou hodnoty korelačního koeficientu  $R$  seřazeny sestupně. Z tab. III vyplývá, že jak v listech, tak i v bulvách cukrovky je nejtěsnější vztah v měsících srpnu a dubnu, zatímco květen a červen mají závislost nejnižší.

V srpnu byla v listech u zkoumaných ročníků patrná vzestupná tendence regresní přímky. S rostoucí hodnotou  $K_h$  byl obsah betainu vyšší. U bulvů byla situace opačná. S rostoucími hodnotami  $K_h$  hladina betainu tech-



1. Závislost obsahu betainu v listových čepelech cukrovky (% sušiny) na hodnotách hydrotermického koeficientu v srpnu – Dependence of betaine content in leaf blades of sugar beet (% of dry matter) on values of hydrothermic coefficient in August

II. Měsíční hodnoty hydrotermického koeficientu – Monthly values of hydrothermic coefficient

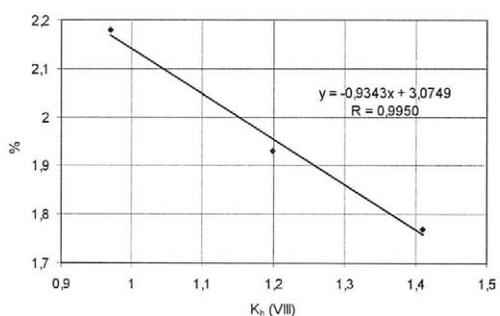
Rok <sup>1</sup>	Měsíc <sup>2</sup>					
	4.	5.	6.	7.	8.	9.
1993	0,23	0,79	1,68	1,79	0,97	1,01
1994	1,68	1,25	0,45	0,57	1,41	1,12
1995	0,97	1,85	2,32	0,88	1,20	1,17

<sup>1</sup>year, <sup>2</sup>month

nologicky příznivě klesala (obr. 1 a 2). Nejnižší průměrný obsah betainu v bulvách byl zjištěn v roce 1993, zřejmě vlivem nedostatku vláhy v dubnu a srpnu.

Vysoké hladiny betainu v listových čepelech v roce 1994 (vyvolané mj. nadbytkem vláhy v srpnu a září) byly způsobeny pravděpodobně silnou retrovegetací, jež byla pozorována v závěru vegetačního období. Potvrdila se domněnka řady autorů, že betain v cukrovce je látkou stavební a transportní (Cromwell, Rennie, 1953, 1954; Delwiche, Bregoff, 1958; Stehlík, 1982; Beiss, 1994). Ukázalo se také, že betain bývá často spojen s osmotickým stresem, jak vyplývá z prací některých autorů (např. Gareth Wyn Jones, 1980; Saxton et al., 1980). Tato látka je nejenom významná z hlediska technologického (složka tzv. škodlivého dusíku, jež zhoršuje výtěžnost cukru), ale má nepochybně i funkci fyziologickou v osmotickém přizpůsobení rostlin vláhovým podmínkám prostředí, jak na to poukazují Rains et al. (1980). Nejvýrazněji se to projevilo v roce 1994, kdy byla zjištěna vlivem povětrnostních činitelů v rámci zkoumaných tří let nejvyšší hladina betainu v listech a nejnižší v bulvách.

Získané výsledky korespondují s údaji v literatuře (Sommer, 1957; Prey et al., 1974; Hanson et al., 1982). Obsah betainu lze použít jako jedno z kritérií ekologických, zejména však povětrnostních vlivů. Použití hydrotermického koeficientu se osvědčilo jako přesnější vyjádření vlivu počasí, než je oddělené sledování srážek či teplot vzduchu.



2. Závislost obsahu betainu v bulvách cukrovky (% sušiny) na hodnotách hydrotermického koeficientu v srpnu – Dependence of betaine content in sugar beet roots (% of dry matter) on values of hydrothermic coefficient in August

Poznatky o hromadění betainu v cukrovce mohou mít i širší použití např. v krmivářském či farmaceutickém průmyslu, což by bylo možné uplatnit při eventuálním využití cukrovky jako krmné či energetické plodiny (Steinmetzer, 1972; Bretschneider et al., 1974).

## LITERATURA

- Beiss U. (1994): Zum Betaingehalt der Zuckerrübe. Zuckerindustrie, 119: 112–117.
- Bretschneider R., Horálek I. (1968): Studie o melase. Listy cukrov. řep., 84: 80–91.
- Bretschneider R., Čopíková J., Kadlec P., Kalíková B. (1974): Řepný betain a jeho použití. Listy cukrov. řep., 90: 155–163.
- Cromwell B. T., Rennie S. D. (1953): The biosynthesis and metabolism of betaines in plants. I. The estimation and distribution of glycinebetaine (betaine) in *Beta vulgaris* L. and other plants. Biochem. J., 55: 189–192.
- Cromwell B. T., Rennie S. D. (1954): The biosynthesis and metabolism of betaines in plants. II. The biosynthesis of glycylbetain (betaine) in higher plants. Biochem. J., 58: 318–322.
- Delwiche C. G., Bregoff H. M. (1958): Pathway of betaine and cholin synthesis in *Beta vulgaris*. J. Biol. Chem., 223: 430–433.
- Gareth Wyn Jones R. (1980): An assessment of quarternary ammonium and related compounds as osmotic effectors in crop plants. In: Rains D. W., Valentine R. C., Hollaender A. (eds.): Genetic engineering of osmoregulation. New York, Plenum Press: 155–170.
- Hanson A. D., Wyse R. (1982): Biosynthesis, translocation, and accumulation of betaine in sugar beet and its progenitors in relation to salinity. Pl. Physiol., 70: 1191–1198.
- Havlíček V. a kol. (1986): Agrometeorologie. Praha, SZN: 174–176.
- Jefferies R. L. (1980): The role of organic solutes in osmoregulation in halophytic higher plants. In: Rains D. W., Valentine R. C., Hollaender A. (eds.): Genetic engineering of osmoregulation. New York, Plenum Press: 135–154.
- Lukovnikova G. A., Jaroš N. P. (1972): Opredělení vitamínů i dalších biologických aktivních veštev. In: Ermanov A. I.: Metody biologického issledovanija rastenij. Leningrad, Kolos.
- Niemann A. (1964): Chemische Untersuchungen zum Wachstumsverlauf der Zuckerrübe. Zucker, 17: 686–691.
- Pačuta V., Karabinová M., Černý I. (1999): Kvantita a kvalita úrody cukrové řepy vo vztahu k vybraným pestovatelským faktorom. Rostl. Vyr., 45: 61–67.
- Pavlas P. (1957): Výsledky 35leté cukrovarnické kontroly. In: Sbor. cukrov.-řep. Konf. Praha: 880–896.
- Prey V., Braunsteiner W., Andres H. (1974): Die quantitative Bestimmung des Betains in Zuckerfabrikationsprodukten. Z. Zuckerind., 24: 242–244.
- Rains D. W., Croughan T. P., Stavarek S. J. (1980): Selection of salt-tolerant plants using tissue culture. In: Rains D. W., Valentine R. C., Hollaender A. (eds.): Genetic engineering of osmoregulation. New York, Plenum Press: 279–292.
- Saxton M. J., Breidenbach R. W., Lyons J. M. (1980): Membrane dynamics: Effects of environmental stress. In: Rains D. W., Valentine R. C., Hollaender A. (eds.): Genetic engineering of osmoregulation. New York, Plenum Press: 203–233.
- Sommer E. (1957): Betain in der Rübe und in Zuckerfabrikprodukten. Z. Zuckerind., 7: 330–331.
- Stehlík V. (1982): Biologie druhů, variet a forem řep rodu *Beta* L. Praha, Academia.
- Steinmetzer W. (1972): Beitrag zur Biochemie und Verwendung des Rübeninhaltsstoffs Betain. Zucker, 25: 48–57.
- Švachula V. (1978): Termodynamická analýza vlivu klimatických podmínek v letech 1955–1974 na jakost cukrovky v ČR se zvláštním zřetelem na tvorbu dusíkatých látek. Sbor. VŠZ Praha, Fak. Agron., Ř. A, díl 1: 197–209.
- Švachula V. (1979): Dynamika betainu v listech a bulvách cukrové řepy jako měřitelný příznak změn energetických podmínek. Rostl. Vyr., 25: 1065–1072.
- Švachula V., Pulkrábek J. (1995): Vliv aplikace biologicky aktivních látek na změny obsahu betainu v listech a bulvách cukrovky. Listy cukrov. řep., 111: 243–248.
- Švachula V., Pulkrábek J., Zahradníček J. (1996): Changes in betaine content in selected cultivars of sugar beet treated with biologically active compounds. Scientia Agric. Bohemoslov., 27: 183–197.

Došlo 20. 5. 1999

---

### Kontaktní adresa:

Prof. Ing. Vladimír Švachula, DrSc., Česká zemědělská univerzita v Praze, 165 21 Praha 6-Suchdol, Česká republika, tel.: +420 2 24 38 25 35, fax: +420 2 24 38 25 35, e-mail: svachula@af.czu.cz

---

# GRAIN FILLING IN TWO-ROWED WINTER BARLEY

## NALÉVÁNÍ ZRNA U DVOUŘADÉHO OZIMÉHO JEČMENE

N. Przulj, V. Momčilović, N. Mladenov

*Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Yugoslavia*

**ABSTRACT:** Kernel weight depends on the rate and duration of grain filling (GF). Rate of GF presents the rate of dry matter accumulation per kernel and GF period duration from anthesis to physiological maturity. In this paper two two-rowed winter barley cultivars were used to investigate the rate and duration of GF and rate of kernel water release during the GF period. Accumulated growing-degree days (GDD) from anthesis were used as a time scale. The relation between kernel weight and accumulated GDD was presented by fitting a quadratic polynomial and the relation between kernel water content and accumulated GDD by fitting a linear equation. Depending on the cultivar and year, rate of GF ranged from 0.068 to 0.082 mg/kernel/GDD and the duration of GF from 572 to 778 GDD. Both the rate and duration of GF were influenced the most by environmental factors. Yield was positively correlated with rate of GF, while between yield and duration of GF there was no significant correlation. The phenotypic correlation between rate and duration of GF was negative. Rate of GF had positive and duration of GF negative indirect effects on yield through yield components. The positive correlations between the rate of GF and kernel weight as well as kernel weight and yield enable indirect selection for yield and a high rate of GF via breeding for a larger kernel.

**Keywords:** winter barley (*Triticum vulgare* L.); grain filling; yield; correlation

**ABSTRAKT:** Hmotnost zrna závisí na intenzitě a délce nalévání zrna (NZ). Intenzitu NZ vyjadřuje akumulace sušiny v zrnu a délka NZ odpovídá období od začátku kvetení do fyziologické zralosti. V této práci jsme ke sledování intenzity a délky NZ a rychlosti uvolňování vody ze zrna v období NZ použili dvě odrůdy dvouřadého ozimého ječmene. Za souřadnici času jsme považovali sumu aktivních rostoucích teplot (GDD) od začátku kvetení. Závislost mezi hmotností zrna a sumou GDD jsme znázornili proložení kvadratického polynomu a vztah mezi obsahem vody v zrnu a sumou GDD proložení lineární rovnice. Intenzita NZ se v závislosti na odrůdě a ročníku pohybovala v rozmezí 0,068 až 0,082 mg/zrno/GDD a délka NZ od 572 do 778 GDD. Intenzitu i délku NZ nejvíce ovlivňovaly ekologické faktory. Výnos byl v pozitivní korelaci s intenzitou NZ, zatímco mezi výnosem a délkou NZ jsme nezjistili významnou korelaci. Fenotypová korelace mezi intenzitou a délkou NZ byla záporná. Intenzita NZ měla prostřednictvím výnosových složek kladný nepřímý vliv na výnos, zatímco délka NZ vykazovala záporný nepřímý vliv. Kladné korelace mezi intenzitou NZ a hmotností zrna, jakož i hmotností zrna a výnosem umožňují nepřímou selekci na výnos a vysokou intenzitu NZ prostřednictvím šlechtění na větší zrno.

**Klíčová slova:** ozimý ječmen (*Triticum vulgare* L.); nalévání zrna; výnos; korelace

### INTRODUCTION

After spike number and kernel number per spike have been determined during the vegetative phase, cereal grain yields become proportional to kernel weight (Wiegand, Cuellar, 1981), which is a function of the rate and duration of grain filling (GF). The GF is the result of the translocation of photosynthate from source to kernels. Rate of GF represents the rate of dry matter accumulation per kernel during the period of GF. The GF period represents the duration from anthesis to physiological maturity. Physiological maturity represents the point at the end of GF beyond which there is no significant increase in kernel dry matter.

Rate of GF depends on the number of endosperm cells formed during the first two weeks after anthesis (Brocklehurst, 1977) and, to a lesser extent, on increased

temperature in that period (Sofield et al., 1977a, b). Duration of GF is in strong negative correlation with temperature (Spiertz, 1977; Wardlaw et al., 1980; Wiegand, Cuellar, 1981; Wych et al., 1982; Sanford, 1985; Stapper, Fischer, 1990). Lengthening of the duration of GF can be achieved through the selection of genotypes that have earlier anthesis (Metzger et al., 1984) or genotypes that are relatively insensitive to high temperatures and continue photosynthesis under high temperature conditions (Sanford, 1985). Genetic factors to a large extent determine the rate of GF, and environmental factors, first of all temperature to a large extent determine the duration of GF (Sanford, 1985; Bruckner, Froberg, 1987; Campbell et al., 1990; Triboi, 1990; Hunt et al., 1991). An increase in temperatures up to a certain point does not negatively affect the yield, since the intensification of physiological processes can compensate for the short-

ening of GF (Sofield et al., 1977b). Longer duration of high temperature reduces GF period to such a large extent that faster rate of GF cannot prevent yield losses (Wardlaw et al., 1980). When duration of GF is severely limited by temperature, final kernel weight is proportional to the rate of GF (Wiegand, Cuellar, 1981).

Investigations have shown the existence of genetic variation for both the rate and duration of GF within different species (Daynard et al., 1971; Nass, Reiser, 1975; Sofield et al., 1977a; Gebeyehou et al., 1982; Dofing, Knight, 1994). Sofield et al. (1977a), Fussell, Pearson (1978) and Darroch, Baker (1990) found that high kernel weight is associated with intensive rate of GF, while Wiegand, Cuellar (1981), Sayed, Gadallah (1983), and Wong, Baker (1986) emphasized the importance of duration of GF. Wiegand, Cuellar (1981) found that each 1 °C increase in mean daily temperature during GF decreased the period of filling by 3.1 days and reduced kernel weight by 2.8 mg.

Researchers have established that linear (Housley et al., 1982; Sanford, 1985; Hunt et al., 1991; Gouis, 1993; Takahashi et al., 1993), quadratic (Nass, Reiser, 1975; Bruckner, Froberg, 1987) or cubic (Gebeyehou et al., 1982; Bauer et al., 1985) polynomial equations can describe GF. Suitable growth curve can be used to calculate the rate and duration of GF. The objectives of this study were to examine (i) effect of cultivar and year on rate and duration of GF, (ii) association between kernel growth characters and yield components and (iii) kinetics of water during the GF process in two-rowed winter barley.

## MATERIAL AND METHODS

Two two-rowed winter barley cultivars, Novosadski 183 and Astrid, were used for investigations. The cultivar Novosadski 183 was selected from the cross Ager/Emir and released by the Institute of Field and Vegetable Crops, Novi Sad, Yugoslavia. The cultivar Astrid was selected from the cross Weih.8264 (Malta-Emir-818-Tria) x Weih.5907 (4095-Malta) and released by BPZ/Dörfler, Germany. Novosadski 183 is the leading winter malting barley cultivar in Yugoslavia and it is grown on more than 50% of acreage sown with this crop. Astrid is a German cultivar with good agronomic performances in the Yugoslavian environmental conditions. The trials were sown on calcareous chernozem soil at Novi Sad (45° 20' N, 15° 51' E, 86 m asl) on 15 Oct 1994, 20 Oct 1995, 12 Oct 1996 and 17 Oct 1997 at a planting rate of 350 viable seeds per 1 m<sup>2</sup>, in two identical trials with three replications. Plots were 5 m long and consisted of six rows 20 cm apart. The first trial was used for GF parameters determination and the second for yield and yield components determination. Rate and duration of GF and the yield parameters were estimated for each replication in four years. Each experiment followed a fertilized crop of soybean and received 300 kg/ha N<sub>15</sub>P<sub>15</sub>K<sub>15</sub> as preplant. The cul-

tural practices applied were those regularly used for large-scale winter malting barley production (Przulj, Momčilović, 1998).

At anthesis DC 60 main spikes from each plot of the first trial that flowered on the same day were tagged. Samples of four tagged spikes were collected from each plot at three to four days intervals beginning about five to ten days after anthesis and continuing past harvest maturity. Spikes were weighed immediately after sampling, oven-dried at 70 °C for 48 h to water content determination, then hand trashed in bulk to determine average kernel dry weight. Accumulated growing-degree days (GDD) from anthesis were used as the time scale. Daily degree-days were calculated as  $T_n = (T_7 + T_{14} + 2T_{21})/4$ , where  $T_7$ ,  $T_{14}$  and  $T_{21}$  are temperatures at 7 a.m., 14 p.m. and 21 p.m. Rate of GF was expressed as mg/kernel/GDD.

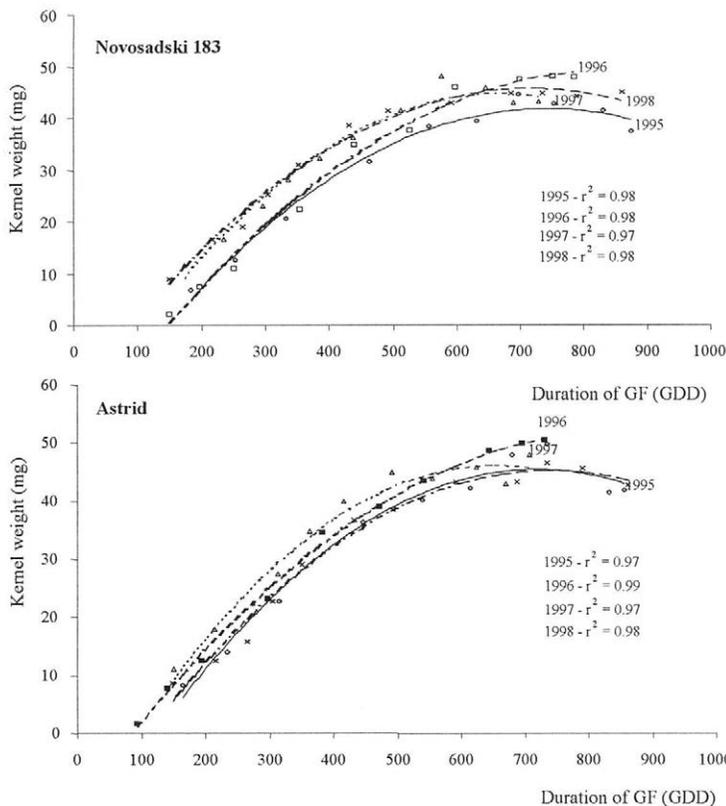
The relation between kernel weight and accumulated GDD from anthesis for each plot was presented by fitting a quadratic polynomial  $W = a + bt + ct^2$ , where  $W$  is kernel dry weight (mg),  $t$  is time (GDD) from anthesis and  $a$ ,  $b$ , and  $c$  regression coefficients. The instantaneous rate of GF  $dW/dt$  can be calculated from the derivative of the polynomial  $dW/dt = b + 2ct$  (Nass, Reiser, 1975; Gebeyehou et al., 1982). When kernel weight has reached its maximum, then  $dW/dt = 0$ . Solving for  $t$  in  $dW/dt = 0$  gives  $t_2$  as the estimated point of the end of duration of GF. Anthesis, i.e. beginning of GF ( $t_1$ ) calculated for  $W = 0$  and predicted duration of GF obtained as  $t_2 - t_1$ . The average of rate of GF in the interval from  $t_1$  to  $t_2$  can be defined as  $1/(t_2 - t_1)$

$\int_{t_1}^{t_2} (dW/dt) dt = (W_2 - W_1)/(t_2 - t_1)$  (Radford, 1967), where  $W_1$  and  $W_2$  are the predicted kernel weights at times  $t_1$  and  $t_2$ . Mean GF rates were estimated as predicted maximum kernel dry weight divided by GF duration. The relation between kernel water proportion and accumulated GDD from anthesis for each plot was presented by fitting a linear equation  $M = a + bt$ , where  $M$  is percentage of kernel moisture content,  $t$  is time (GDD) from anthesis and  $a$  and  $b$  regression coefficients. For percentage of kernel moisture content  $\arcsin\sqrt{\text{percentage}}$  transformation was used.

Grain yield, number of productive tillers per square meter, kernel number per spike, and kernel weight were determined for each plot and year in the second trial. Analysis of variance for each character was conducted. Phenotypic and path correlation coefficients among the estimated GF parameters and associated agronomic characters were calculated.

## RESULTS AND DISCUSSION

The quadratic polynomial, used to describe kernel growth from anthesis to physiological maturity, provided a good description of GF for these cultivars and years. Kernel weight and GDD data have fit the model well and  $r^2$  values exceeded 0.97 in all cases.



1. Relation between duration of grain filling and kernel weight in winter two-rowed barley

I. Date of anthesis and mean 10-day temperatures during grain filling period

Year	Date of anthesis		1-10 May	Deviation from long-term average	11-20 May	Deviation from long-term average	21-31 May	Deviation from long-term average	1-10 June	Deviation from long-term average
	NS. 183	Astrid								
1995	May 3	May 5	14.1	-1.3	19.2	-3.1	24.1	+1.2	19.0	+0.6
1996	May 10	May 13	18.9	+3.6	20.0	+3.6	16.3	-0.8	22.5	+4.1
1997	May 12	May 13	16.8	+1.5	21.2	+4.9	14.9	-2.2	17.6	-0.8
1998	May 5	May 5	15.4	+0.1	15.8	-0.5	16.8	-0.3	23.0	+4.6

In the cultivar Novosadski 183, the rate of GF ranged from 0.071 mg/kernel/GDD in 1995 and 1996 to 0.080 mg/kernel/GDD in 1997 (Tab. II). The dynamics of GF in 1995 and 1996 were approximately the same up to the kernel weight of about 20 to 25 mg, or 300 GDD (Fig. 1) despite the difference of 6.7 °C (-3.1 °C in 1995 and +3.6 °C in 1996) in mean daily temperatures during the period (Tab. I). The reason for the equal rates of GF in the first half of the GF in these two environmental different years was that in 1996 the initial GF phase was shortened due to high temperatures, and the plants entered the early phase of GF quickly, whereby later anthesis was compensated for. The increase of kernel weight in the second half of the GF was more rapid in 1996 than in 1995, so the yield

and kernel weight were larger in the former than in the latter year (Tab. II). The GF curves for the cultivar Novosadski 183 were almost identical in 1997 and 1998 (the duration of GF was 568 GDD in 1997 and 626 GDD in 1998). High mean daily temperatures in the second ten-day period of May 1997 (+4.9 relative to the long-term average) speeded up the GF, which is why in this cultivar the rate of GF was higher in 1997 than in 1998. In 1997, anthesis started seven days later, so the sum of GDD was lower and the GFR about 10% higher than in 1998. The yield in the year with later anthesis and faster GF was higher than in that with earlier anthesis and slower GF, although the difference was not statistically significant (Tab. II).

## II. Means of yield components and grain filling parameters in four years

Year	SN		KN		KW		Y		GFR		GFD	
	NS. 183	Astrid	NS. 183	Astrid								
1995	685	789	28	30	39.8	40.9	6.94	8.89	0.071	0.073	608	616
1996	755	817	24	25	43.8	44.3	7.72	9.00	0.071	0.068	710	778
1997	804	743	28	30	45.0	47.3	10.07	10.16	0.080	0.082	568	572
1998	856	768	26	27	44.6	46.2	9.68	9.34	0.073	0.072	626	640
<i>LSD<sub>Y</sub></i>	21*	29**	1.05*	1.46**	0.64*	0.95**	0.38*	0.53**	0.0055*	0.0077**	53*	73**
<i>LSD<sub>GxY</sub></i>	30*	42**	1.49*	2.06**	0.97*	1.34**	0.54*	0.75**	0.0076*	0.0106**	75*	103**

0.05\*, 0.01\*\*

Explanations to Tabs. II to IV:

SN = number of spike per 1 m<sup>2</sup>

KN = kernel number per spike

KW = 1000-kernel weight (g)

Y = yield (t/ha)

GFR = rate of grain filling (mg/kernel/GDD)

GFD = duration of grain filling (GDD)

In the other cultivar, Astrid, the rate of GF ranged from 0.068 mg/kernel/GDD in 1996 to 0.082 mg/kernel/GDD in 1997. The patterns of GF in 1995 and 1998 were identical (Fig. 1), although the two years differed with regard to the temperature deviation from the long-term average (Tab. I). In both years, anthesis occurred on May 5 and there was no significant difference between the rates of GF, durations of GF, yields, and numbers of spikes per 1 m<sup>2</sup> (Tab. II). The larger kernel size in 1998 than in 1995 was a result of the compensatory relations between kernel weight, spike number, and kernel number per spike (Rasmussen, Cannell, 1970). In 1996, the rate of GF was the slowest and the duration of GF the longest (778 GDD). In 1997, on the other hand, rate of GF was the fastest but duration of GF the shortest, with the highest yield and largest 1000-kernel weight (Tab. II).

Kernel water content and GDD data fit the linear model well, and the  $r^2$  values generally ranged from 0.91 to 0.99. Only in two replicates  $r^2$  was low (0.74 and 0.82). The cultivars differed significantly in the rate of water release (WR) in all four years (data not shown). In all years, the cultivar Novosadski 183 released kernel water content faster (with an average of 0.057%/kernel/GDD) than the cultivar Astrid (an average of 0.053%/kernel/GDD). The cultivar Novosadski 183 also had a shorter duration of GF than Astrid in all investigated years (Tab. II). The rate of WR depended on the cultivar, year and specific behavior of cultivar in a particular year (Tab. III).

The fastest rate of GF and the shortest duration of GF were recorded in 1997 in both cultivars. In that year rate of GF was around 0.080 mg/kernel/GDD and duration of GF about 570 GDD. Compared with the other years, 1997 was characterized by the highest mean daily temperatures in the early phases of GF. High temperatures at anthesis shortened the initial GF phase in both cultivars, while moderate temperatures in the relatively short remainder period of the GF enabled an even and rapid GF.

Of all the components of variance, it was the year that contributed the most to the rate and duration of GF (Tab. III), indicating that GF was controlled to the largest extent by environmental conditions, primarily temperature. Many authors (Bruckner, Froberg, 1987; Campbell et al., 1990; Hunt et al., 1990), however, report that the cultivar had the largest influence on the rate of GF. In our study, there were differences between the replicates regarding the rate of GF, probably as a result of an inadequate choice of spikes as well as because of the fact that a relatively small number of them was analyzed. The spike number per 1 m<sup>2</sup> responded to year and genotype x year interaction. The kernel number and kernel weight per spike were influenced by the cultivar and year, while yield, in addition to the main factors, was influenced by genotype x year interaction as well (Tab. III).

Yield was positively correlated with the rate of GF, so the highest yield in both cultivars was recorded in

III. Square means for yield components, rate of grain filling, duration of grain filling and rate of water release

Source of variation	Degree of freedom	SN	KN	KW	Y	GFR	GFD	WRR
Replicate	2	15	1.63	0.07	245 817	0.000067*	2 962	0.000125
Cultivar	1	121	16.67**	10.94**	4 133 400**	0.00000	3 227	0.000248
Year	3	5 819**	31.61**	39.96**	5 792 311**	0.000151**	33 084**	0.000123
C x Y	3	13 112**	0.56	0.91	1 893 533**	0.00001	1 335	0.000124
Error	14	291	0.72	0.31	95 855	0.000012	1 811	0.000124

\*P ≤ 0.05, \*\*P ≤ 0.01

IV. Correlations (r) between yield and yield components, and path coefficients for direct effects of yield components on yield and for indirect effects of rate of GF and duration of GF on yield via other yield components (data shown are for two cultivars, four years, and three replicates with the total n = 24)

Yield component	KN	KW	GFR	GFD	Y	Direct effect of yield components on yield	Indirect effect of GFR and GFD on yield via yield components	
							GFR	GFD
SN	-0.23	0.33	-0.03	0.23	0.60**	0.52**	-0.06	0.12
KN		-0.10	0.32	-0.59**	0.21	0.29*	0.10	-0.17
KW			0.39*	0.04	0.74**	0.56**	0.13	-0.02
GFR				-0.79**	0.54**	0.16	0.16	-0.13
GFD					-0.27	-0.07	0.05	-0.07

\*P ≤ 0.05, \*\*P ≤ 0.01

the year with the highest rate of GF and at the same time the lowest duration of GF. There was no correlation between yield and duration of GF. Sofield et al. (1977a, b), Gebeyehou et al. (1982), Sanford (1985) and Darroch, Baker (1990) pointed out that high kernel weight is associated with a rapid rate of GF, while Nass, Reiser (1975), Gebeyehou et al. (1982) and Wong, Baker (1986) reported positive correlations between an effective filling period and grain yield. In the present study, as expected, yield was positively correlated with spike number per 1 m<sup>2</sup> and kernel weight. Path coefficient analysis revealed significant direct effects on yield of the three main yield components and no significant direct effects of rate and duration of GF (Tab. IV). Rate of GF had positive and duration of GF negative indirect effects on yield via the components of yield. The rate of GF was correlated positively and duration of GF negatively with kernel weight. As the phenotypic correlation between the rate of GF and kernel weight is considerably higher than the correlation between duration of GF and kernel weight, it is possible to select simultaneously for a larger kernel and a higher rate of GF without changing the duration of GF. The positive correlation between rate of GF and kernel weight enables indirect selection for a higher rate of GF via the breeding for a larger kernel size.

Although kernel number per spike forms during the vegetative stage and depends on the sensitivity of morphogenesis of generative organs during the process of ontogenesis, the final number of kernels is still determined at GF, since poorly filled kernels are lost during harvesting and in fact do not represent yield at all. If

the GF period lasts longer, the less well-developed kernels may not complete the filling process due to a strong rise in temperatures and disease attacks, which could explain the negative correlations between duration of GF and kernel number per spike.

Metzger et al. (1984) and Wong, Baker (1986) stated that the GF period can be prolonged by choosing genotypes with a shorter vegetative period. In our study a longer predicted period of GF was associated with later anthesis and a longer vegetative period. In years when anthesis occurs earlier, there is a possibility of a longer duration of GF but shortening of that period may occur as a result of an earlier disease attack, drought, etc.

In our investigation the phenotypic correlation between the rate and duration of GF was negative, although many authors (Sofield et al., 1977a; Wardlaw et al., 1980; Sayed et al., 1983; Sanford, 1985) report a lack of association. Brukner, Frohberh (1987) found a strong negative environmental correlation between these two characters, which indicates that the environmental conditions favor a high GF rate and short GF duration. Consequently, the relationships we obtained in the present study can be attributed to the strong negative environmental correlation. The breeding program on two-rowed winter barley for the environmental conditions of south-east Europe should favor genotypes with a large kernel, a high rate of GF, and a moderate duration of GF. During the latter and final phase of GF, genotypes with a long duration of GF may enter a period of high temperatures (Przulj, Momčilović, 1998), which may significantly reduce yields and grain quality. The duration

of the vegetative and generative phases should be balanced, since neither genotypes with too early nor too late an anthesis will bring maximum yields. The choice of genotypes with a high rate of GF whose developmental dynamics are suitable for particular environmental conditions represents a more certain way of developing stable, adaptable, and high-yielding cultivars.

## REFERENCES

- Bauer A., Frank A. B., Black A. L. (1985): Estimation of spring wheat grain dry matter assimilation from air temperature. *Agron. J.*, 77: 743–752.
- Brocklehurst P. A. (1977): Factors controlling grain weight in wheat. *Nature*, 266: 348–349.
- Bruckner P. L., Frohberg R. C. (1987): Rate and duration of grain fill in spring wheat. *Crop Sci.*, 27: 451–455.
- Campbell C. A., Cutforth H. W., Selles F., DePauw R. M., Clarke J. M. (1990): Dynamics of dry matter N and P accumulation in the developing kernels of four spring wheat cultivars for irrigation and dryland. *Can. J. Pl. Sci.*, 70: 1043–1056.
- Darroch B. A., Baker R. J. (1990): Grain filling in three spring wheat genotypes: Statistical analysis. *Crop Sci.*, 30: 525–529.
- Daynard T. B., Tanner J. W., Duncan W. G. (1971): Duration of the grain filling period and its relation to grain yield in corn, *Zea mays* L. *Crop Sci.*, 11: 45–47.
- Dofing S. M., Knight C. W. (1994): Variation for grain fill characteristics in northern-adapted spring barley cultivars. *Acta Agric. Scand. Sec. B. Soil Pl. Sci.*, 44: 88–93.
- Fussell L. K., Pearson C. J. (1978): Course of grain development and its relation to black region appearance in *Pennisetum americanum*. *Fld Crop Res.*, 1: 21–31.
- Gebeyehou G., Knott D. R., Baker R. J. (1982): Rate and duration of grain filling in durum wheat cultivars. *Crop Sci.*, 22: 337–340.
- Gouis J. L. (1993): Grain filling and shoot growth of 2-row and 6-row barley varieties. *Agronomie*, 13: 545–552.
- Housley T. L., Kirleis A. W., Ohm H. W., Patterson F. L. (1982): Dry matter accumulation in soft red winter seeds. *Crop Sci.*, 22: 290–294.
- Hunt L. A., Poorten G. van der, Pararajasingham S. (1991): Postanthesis temperature effects and rate of grain filling in some winter and spring wheats. *Can. J. Pl. Sci.*, 71: 609–617.
- Metzger D. D., Szaplewski S. J., Rasmusson D. C. (1984): Grain-filling duration in spring barley. *Crop Sci.*, 24: 1101–1105.
- Nass H. G., Reiser B. (1975): Grain filling period and grain yield relationships in spring wheat. *Can. J. Pl. Sci.*, 55: 673–678.
- Przulj N., Momčilović V. (1998): Novosadske sorte pivskog ječma za proizvodne uslove Jugoslavije. *Zbor. Rad. Inst. Ratar. Povrtar. Novi Sad*, 30: 453–462.
- Radford P. J. (1967): Growth analysis formulae – their use and abuse. *Crop Sci.*, 7: 171–175.
- Rasmusson D. C., Cannell R. Q. (1970): Selection for grain yield and components of yield in barley. *Crop Sci.*, 10: 51–54.
- Sanford D. A. van (1985): Variation in kernel growth characters among soft red winter wheats. *Crop Sci.*, 25: 626–630.
- Sayed H. I., Gadallah A. M. (1983): Variation in dry matter and grain filling characteristics in wheat cultivars. *Fld Crop Res.*, 7: 61–71.
- Sofield I., Evans L. T., Cook M. G., Wardlaw I. F. (1977a): Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Austral. J. Pl. Physiol.*, 4: 785–797.
- Sofield I., Wardlaw I. F., Evans L. T., Zee S. Y. (1977b): Nitrogen phosphorus and water contents during development and maturation in wheat. *Austral. J. Pl. Physiol.*, 4: 799–810.
- Spiertz J. H. J. (1977): The influence of temperature and light intensity on grain growth in relation to the carbohydrate and nitrogen economy of the wheat plant. *Netherl. J. Agric. Sci.*, 25: 182–197.
- Stapper M., Fischer R. A. (1990): Genotype sowing date and plant spacing influence on high-yielding irrigated wheat in Southern New Wales. III. Potential yields and optimum flowering dates. *Austral. J. Agric. Res.*, 41: 1043–1056.
- Takahashi T., Takahashi N., Nakaseko K. (1993): Grain filling mechanism in spring wheat. *Jap. J. Crop Sci.*, 62: 560–564.
- Tribou E. (1990): Modèle d'elaboration du poids du grain chez le blé tendre (*Triticum aestivum* Thell). *Agronomie*, 10: 191–200.
- Wardlaw I. F., Sofield I., Cartwright P. M. (1980): Factors limiting the rate of dry matter accumulation in the grain of wheat grown at high temperature. *Austral. J. Pl. Physiol.*, 73: 387–400.
- Wiegand C. L., Cuellar J. A. (1981): Duration of grain filling and kernel weight of wheat as affected by temperature. *Crop Sci.*, 21: 95–101.
- Wong L. S. L., Baker R. J. (1986): Developmental patterns in five spring wheat genotypes varying in time to maturity. *Crop Sci.*, 26: 1167–1170.
- Wych R. D., McGraw R. L., Stutham D. D. (1982): Genotype x year interaction for length an, rate of grain filling in oats. *Crop Sci.*, 22: 1025–1028.

Received on September 9, 1999

*Corresponding author:*

Prof. Dr. Novo Przulj, Institute of Field and Vegetable Crops, Maksima Gorkog 30, 21000 Novi Sad, Yugoslavia, tel.: +381 21 41 18 88, fax: +381 21 41 18 88, e-mail: przulj@ifvcns.ns.ac.yu

# BIOLOGICKÁ INDIKACE ZNEČIŠTĚNÍ PŮD TĚŽKÝMI KOVY INKUBAČNÍ METODOU

## BIOLOGICAL INDICATION OF HEAVY METAL CONTAMINATION OF SOILS BY THE INCUBATION METHOD

G. Mühlbachová, P. Růžek

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

**ABSTRACT:** The incubation with glucose as the possible biological indication of heavy metal contamination was studied in arable and grassland soils from vicinity of a secondary smelter operating for more than 200 years. The significant correlations between total organic carbon, native microbial biomass, basal respiration and specific respiration (Figs. 1, 2, 3) showed that, irrespective to strong heavy metal contamination, the soil microbial properties well corresponded to the organic matter content under steady-state conditions. The treatment of soils with glucose showed that the microbial biomass in contaminated arable soils reached only about 42 to 43% of the content of microbial biomass found in less contaminated soils (Tab. III). The soil respiration increased significantly in contaminated soils compared to less polluted soils during the first day of incubation with glucose (Tab. IV). The comparative study, where the microbial biomass was killed by chloroform fumigation and thereafter incubated with glucose, showed that in comparison to polluted soils in less contaminated soils the ability to synthesise new microbial biomass was greater. The measures of respiration activity (Tab. IV) in arable soils after fumigation showed a similar trend as the incubation with glucose, whereas the results of grassland soils were not significant, probably because of the different organic matter content. The glucose incubation as the biological measure of heavy metal contamination could be an appropriate method for the soils with similar physical-chemical properties.

**Keywords:** incubation of soil with glucose; heavy metals; soil microbial biomass; soil respiration

**ABSTRAKT:** V dlouhodobě kontaminovaných orných a zatravněných půdách z blízkosti kovohutě byla posuzována inkubace půd s glukózou jako jedna z možností biologické indikace kontaminace těžkými kovy. V přirozených půdních podmínkách nebylo zjištěno ovlivnění obsahů organického uhlíku, mikrobiální biomasy ani respirační aktivity kontaminací těžkými kovy. Během inkubace půd s glukózou se obsah mikrobiální biomasy v kontaminovaných orných půdách zvýšil jen na 42 až 43 % obsahu v půdě nekontaminované. Respirační aktivita v kontaminovaných půdách během prvního dne inkubace byla statisticky významně vyšší. Ve srovnávacím pokusu, v němž byla mikrobiální biomasa nejprve usmrcena chloroformem a poté inkubována s přidavkem glukózy, byl nárůst nové mikrobiální biomasy významně větší v nekontaminovaných půdách. Respirace ve fumigovaných orných půdách podobně jako v půdách nefumigovaných byla větší v půdách kontaminovaných. Podle dosažených výsledků může být inkubace s glukózou vhodná jako biologický ukazatel kontaminace půd těžkými kovy u půd s podobnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi.

**Clíčová slova:** inkubace půd s glukózou; těžké kovy; půdní mikrobiální biomasa; půdní respirace

### ÚVOD

Mezi největší a často i nejstarší zdroje znečištění těžkými kovy patří kovohutě a doly. Těžké kovy, pokud se vyskytují ve větším množství, jsou pro živé organismy toxické. Mezi jinými metodami je doporučováno také využívání mikrobiálních vlastností jako biologických indikátorů půdního znečištění (Brookes, 1995; Giller et al., 1998). Obsahy těžkých kovů se mohou v půdách postupně kumulovat po stovky let, a proto množství a aktivita půdních mikroorganismů mohou být jejich působením závažně ovlivněny. Z tohoto hlediska může být stanovení půdní mikrobiální biomasy velmi vhodným prostředkem k biologickému určování úrovně kontaminace. Přestože mikrobiální biomasa představuje pouze

1 až 4 % organické hmoty v půdě, účastní se aktivně většiny mineralizačních a imobilizačních procesů v půdě. Měření mikrobiální aktivity, jako je např. mikrobiální respirace, resp. obsah mikroorganismů v půdě, a především kombinace těchto měření patří mezi nejvíce sledované biologické parametry u kontaminovaných půd. Právě poměr mikrobiální biomasy k celkovému organickému uhlíku a specifická respirace, která vyjadřuje respiraci na jednotku mikrobiální biomasy, jsou často doporučovány jako indikátory půdního znečištění (Anderson, Domsch, 1990; Brookes, 1995; Wardle, Ghani, 1995).

Cílem této práce bylo posoudit možnosti inkubace dlouhodobě kontaminovaných půd s glukózou jako jeden ze způsobů biologické indikace kontaminovaných

půd a dále vliv těžkých kovů na mikrobiální biomasu a její respirační aktivitu v dlouhodobě kontaminovaných půdách s různým systémem hospodaření.

## MATERIÁL A METODY

### Stanoviště a půdy

Stanoviště se nachází v blízkosti Kovohutě Příbram, která je v činnosti od roku 1789. Původně v ní byly zpracovávány vytěžené olověné rudy, od roku 1972 kovo hutu upravuje pouze druhotné zdroje olova. Od roku 1982 jsou emise pohlcovány vysoce účinným odlučovačem ve 150m komíně (Kalač et al., 1991; Riuwerts, Farago, 1996; Vrabel et al., 1996).

Vzorky písčito-hlinitých orných (A, B, C) a zatravněných půd (D, E, F) byly odebrány v různých vzdálenostech od kovo hutě podle odlišné úrovně kontaminace, jak ji zaznamenali Vrabel et al. (1996). Před odběrem vzorků byly na orných půdách A, B a C pěstovány obilniny. Půda D byla dlouhodobě zatravněná, půdy E a F byly pro vysoké obsahy těžkých kovů zatravněny v ro-

ce 1995. Půdní vzorky byly na každém stanovišti odebrány z půdního profilu 0 až 20 cm. Po manuálním odstranění kořenových zbytků a makroedafonu byly půdy přesáty na sítu (< 2 mm) a uchovávány při teplotě 4 °C až do počátku pokusů. Charakteristiky půd jsou uvedeny v tab. I a II.

### Inkubační pokus

Každá odebraná zemina o hmotnosti 1 kg byla dosyčena vodou na 50 % své kapilární vodní kapacity. Zeminy v plastických miskách pak byly uloženy do uzavřených nádob a ponechány v termostatu při 27 °C. Před započítáním pokusů byly jeden týden preinkubovány. Na dno nádob byla přidána destilovaná voda pro udržení stabilní vlhkosti a kádinka s 25 ml 1M NaOH pro sorpci uvolněného CO<sub>2</sub>. Nádoby byly pravidelně otevírány, aby byl zajištěn dostatečný přísun kyslíku. Poté byla přidána glukóza v dávce 1000 µg C.g<sup>-1</sup> zeminy a (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> v poměru C : N = 10 : 1. Následně bylo z každé zeminy odděleno 3 x 50 g a zvláště ve speciálních lahvích byl měřen uvolněný CO<sub>2</sub>. Inkubace probí-

I. Charakteristiky a celkové obsahy těžkých kovů (± směrodatná odchylka) u použitých půd – Characteristics and total contents of heavy metals (± standard deviation) in soils

Půda <sup>1</sup>	Písek <sup>2</sup>	Prach <sup>3</sup>	Jíl <sup>4</sup>	KVK <sup>5</sup>	pH <sub>H<sub>2</sub>O</sub>	pH <sub>KCl</sub>	Pb	Cd	Zn	As
	%	%	%	mmol.kg <sup>-1</sup>						
A	48	42	10	96,30	5,28	4,35	58,7 ± 7,36	0,20 ± 0,14	50,4 ± 4,43	9,0 ± 1,45
B	52	39	9	116,72	7,21	6,45	595,7 ± 13,44	3,31 ± 0,47	295,9 ± 30,31	59,9 ± 9,16
C	38	45	17	127,90	7,00	6,00	1 363,6 ± 52,95	5,45 ± 0,15	287,1 ± 13,96	90,5 ± 5,04
D	52	34	14	172,21	5,75	4,82	359,4 ± 19,72	2,24 ± 0,24	93,9 ± 3,52	64,9 ± 6,59
E	37	50	13	150,25	6,31	5,25	1 162,6 ± 43,97	4,99 ± 0,33	240,6 ± 32,81	99,7 ± 5,88
F	32	51	17	161,81	6,98	5,89	2 204,5 ± 21,46	8,34 ± 0,46	315,2 ± 27,80	201,8 ± 10,04

A, B, C = orné půdy – arable soils

D, E, F = zatravněné půdy – grassland soils

<sup>1</sup>soil, <sup>2</sup>sand, <sup>3</sup>silt, <sup>4</sup>clay, <sup>5</sup>CEC

### II. Biologické charakteristiky v půdách – Biological characteristics of soils

Půda <sup>1</sup>	C <sub>tot</sub> (%)	B <sub>c</sub> (µg C.g <sup>-1</sup> půdy <sup>4</sup> )	Bazální respirace <sup>2</sup> (µg C.g <sup>-1</sup> půdy.h <sup>-1</sup> )	B <sub>c</sub> /C <sub>tot</sub> (%)	Specifická respirace <sup>3</sup> (µg C.µg <sup>-1</sup> B <sub>c</sub> .h <sup>-1</sup> )
A	1,41 f	163,24 c	0,512 c	1,24 cd	0,00299 a
B	1,63 d	177,78 c	0,504 c	1,16 cd	0,00258 b
C	1,51 e	169,18 c	0,456 d	1,12 d	0,00270 b
D	3,50 a	1 018,41 a	0,819 a	2,91 a	0,00080 d
E	2,10 c	312,59 b	0,625 b	1,49 b	0,00200 c
F	2,23 b	299,38 b	0,600 b	1,34 bc	0,00201 c

C<sub>tot</sub> = celkový organický uhlík – total organic carbon

B<sub>c</sub> = mikrobiální biomasu – microbial biomass

B<sub>c</sub>/C<sub>tot</sub> = poměr mikrobiální biomasy k celkovému organickému uhlíku – ratio of microbial biomass to total organic carbon

Hodnoty ve sloupcích, které nejsou označeny stejným písmenem, jsou statisticky významně odlišné podle Duncanova testu analýzy rozptylu jednoduchého třídění na hladině významnosti P < 0,05 – Results within a column not followed by the same letters indicate significant differences determined by Duncan's multiple range test (P < 0.05)

<sup>1</sup>soil, <sup>2</sup>basal respiration, <sup>3</sup>specific respiration, <sup>4</sup>of soil

hala po dobu deseti dnů, kdy byly půdy ve trojím opakování analyzovány první, druhý a desátý den na obsah mikrobiální biomasy. Respirace v půdách ve trojím opakování byla stanovena první, druhý, čtvrtý a desátý den inkubace. Ve srovnávacím pokusu byly zeminy nejprve fumigovány 24 h chloroformem stabilizovaným amylem a po jeho odstranění byla přidána glukóza a  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , poté byly zeminy inkubovány a analyzovány stejným způsobem jako v první části pokusu.

### Analytické metody

Půdní mikrobiální biomasa ( $B_c$ ) byla stanovena fumigačně-extrakční metodou (Vance et al., 1987). Organický C v extraktech byl stanoven mokřím rozkladem s  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  a titrací přebytku dvochromanu s  $(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Mikrobiální biomasa byla vypočítána ze vztahu: biomasa C =  $2,64 \cdot E_c$ , kde  $E_c$  představuje rozdíl mezi organickým C extrahovaným z fumigovaných a nefumigovaných půd, obojí vyjádřeno jako  $\mu\text{g C} \cdot \text{g}^{-1}$  suché půdy.

Pro stanovení celkového organického uhlíku ( $C_{\text{tot}}$ ) byly vzorky půd rozloženy s 1N  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  a koncentrovanou  $\text{H}_2\text{SO}_4$  při 125 °C. Organický uhlík byl stanoven titrací 0,05N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  s přídavkem 20% KI.

Množství organického C uvolněného jako  $\text{CO}_2$  po absorpci v NaOH a následném vysrážení s  $\text{BaCl}_2$  bylo stanoveno titrací se standardizovanou HCl. Specifická respirace ( $q\text{CO}_2$ ) byla vyjádřena vztahem:  $q\text{CO}_2 = \mu\text{g C} \cdot \mu\text{g C}_{\text{Bc}}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  (Anderson, Domsch, 1990).

Celkové obsahy těžkých kovů byly stanoveny na ICP Trace Scan fy Thermo Jarrel Ash po celkovém rozkladu 1 g zeminy ve směsi koncentrované  $\text{HNO}_3$ , HCl a  $\text{H}_2\text{O}_2$  v mikrovlnném zařízení Milestone MLS 1200.

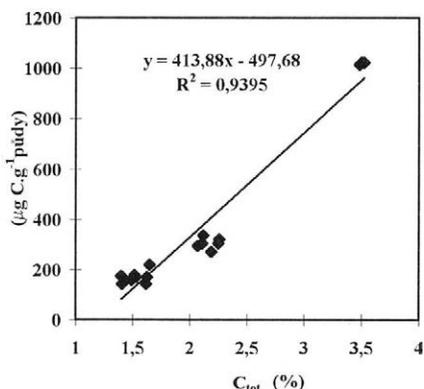
### VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve všech sledovaných orných půdách byly před počátkem inkubace bez ohledu na úroveň kontaminace těžkými kovy nalezeny srovnatelné obsahy mikrobiální biomasy (tab. II). Významně vyšší obsahy byly pozorovány ve statisticky významně závislosti na vyšším obsahu organické hmoty v zatravněných půdách (obr. 1). Z této závislosti je patrné, že kontaminace těžkými kovy zde nepředstavovala limitující faktor pro celkové obsahy mikrobiální biomasy v půdě a nezávisle na obsahu rizikových prvků v půdách velmi dobře odpovídala obsahu organické hmoty v půdách. Podobně i respirační aktivita korelovala s obsahem jak mikrobiální biomasy, tak i celkového organického uhlíku (obr. 2). Naše výsledky získané u těchto půd neodpovídají poznatkům z literatury. Baath (1989) např. popisuje výrazné snížení respirační aktivity kontaminovaných půd. Brookes (1995) naopak uvádí zvýšení půdní respirace, které vyplývá z větší energetické potřeby mikrobiální biomasy v kontaminovaných půdách.

Jedním z doporučených indikátorů půdního znečištění je i poměr mikrobiální biomasy k celkovému organickému uhlíku ( $B_c/C_{\text{tot}}$ ). Brookes (1995) v kontaminovaných půdách udává tento poměr nižší než v půdách neznečištěných. Ve sledovaných kontaminovaných orných půdách byly hodnoty  $B_c/C_{\text{tot}}$  pouze mírně nižší (tab. II), neklesly však pod 1 %, které je považováno za hraniční hodnotu mikrobiální biomasy v nenarušených půdách (Brookes, 1995). Za fyziologickou charakteristiku mikrobiální biomasy v půdním prostředí je ve stabilních podmínkách považována i specifická respirace (Giller et al., 1998). Ve sledovaných půdách se specifická respirace snižovala v závislosti na větším obsahu jak celkového organického uhlíku, tak i mikrobiální biomasy (obr. 3). Mikrobiální biomasa v kontaminovaných půdách tak nevykazovala větší energetické nároky, které by se mohly projevit právě zvýšením hodnot specifické respirace.

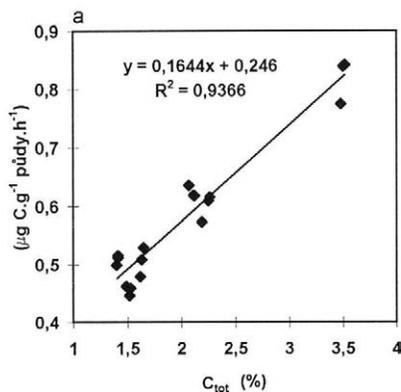
Dosažené výsledky naznačují, že během dlouhodobé, postupně se zvyšující kontaminace půd mohlo dojít k určité adaptaci půdních mikroorganismů na zátěž rizikovými prvky. Tolerance mikroorganismů vůči toxickým účinkům těžkých kovů není dosud plně objasněna, ale při velkém znečištění půd se může zvyšovat (Giller et al., 1998), což by mohlo být důvodem, proč v porovnání s běžně uváděnými údaji (Fliessbach et al., 1994; Brookes, 1995; Giller et al., 1998) nebylo pozorováno snížení obsahu půdní mikrobiální biomasy ani vliv na její respirační aktivitu.

Vzhledem k tomu, že v přirozených podmínkách nebyly prokázány statisticky významné rozdíly v biologických aktivitách dlouhodobě různě kontaminovaných půd, byla testována schopnost půdní mikrobiální biomasy využívat přídavek glukózy. První den inkubace se obsah mikrobiální biomasy v kontaminovaných orných půdách B a C oproti jejímu nárůstu v nekontaminované

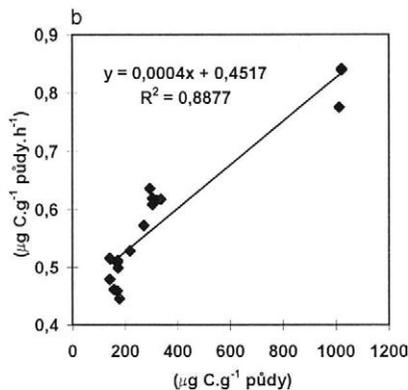


1. Korelace mezi obsahem celkového organického uhlíku ( $C_{\text{tot}}$ ) a půdní mikrobiální biomasy – Correlation between content of total organic carbon ( $C_{\text{tot}}$ ) and soil microbial biomass

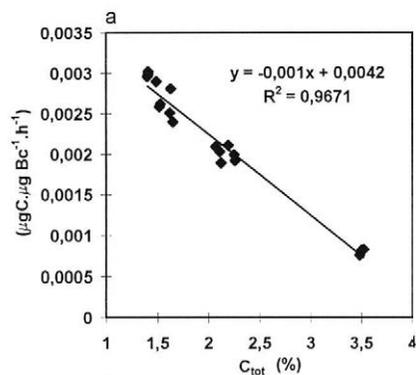
osa y: mikrobiální biomasa – y axis: microbial biomass



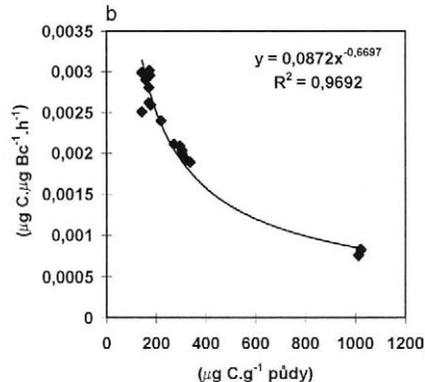
2a. Korelace mezi obsahem celkového organického uhlíku ( $C_{tot}$ ) a bazální respirací v půdách – Correlation between content of total organic carbon ( $C_{tot}$ ) and basal respiration of soils



2b. Korelace mezi obsahem půdní mikrobiální biomasy a bazální respirací v půdách – Correlation between content of soil microbial biomass and basal respiration of soils



3a. Korelace mezi obsahem celkového organického uhlíku ( $C_{tot}$ ) a specifickou respirací v půdách – Correlation between content of total organic carbon ( $C_{tot}$ ) and specific respiration of soils



3b. Korelace mezi obsahem půdní mikrobiální biomasy a specifickou respirací v půdách – Correlation between content of soil microbial biomass and specific respiration of soils

Vysvětlivky k obr. 2 a 3 – Explanations to Figs. 2 and 3:  
osa x: mikrobiální biomasa – x axis: microbial biomass  
osa y: respirace – y axis: respiration

orné půdě A zvýšil pouze o 41,8 a 42,9 % (tab. III). Druhý den obsah mikrobiální biomasy u orné půdy A poklesl asi o 80 %, zatímco v půdách B a C byl pokles pouze třetinový, přičemž významně vyšší obsah mikrobiální biomasy byl pozorován u nekontaminovanější půdy C. U zatravněných půd byl největší nárůst mikrobiální biomasy během prvního dne inkubace pozorován u půdy D s nejvyšším obsahem organické hmoty, ale podobně jako u ostatních zatravněných půd E a F její obsah vzrostl jen celkem čtyřikrát (tab. III). Jak uvádějí Chander, Brookes (1992), může být při větším obsahu těžkých kovů v půdách pro syntézu nové mikrobiální biomasy využito méně glukózového substrátu. Potvrzují to výsledky především u kontaminovaných orných

půd, u nichž mohla mikrobiální biomasa část glukózy využít ještě druhý den inkubace.

Ve srovnávacím pokusu, v němž byly půdy fumigovány chloroformem a poté inkubovány s glukózou, byl nárůst mikrobiální biomasy větší v méně kontaminovaných půdách A a D (tab. III). Maximální obsahy mikrobiální biomasy v kontaminovaných půdách dosahovaly pouze třetinových obsahů ve srovnání s půdami méně kontaminovanými. Tyto výsledky potvrzují též Chander, Brookes (1992) zjištěním, že schopnost syntetizovat novou mikrobiální biomasu nemusí být v závislosti na původním obsahu mikrobiální biomasy, ale může být negativně ovlivněna kontaminací těžkými kovy.

Významně vyšší respirační aktivita byla během prvního dne zaznamenána v kontaminovaných orných i zatravněných půdách (tab. IV). Respirační aktivita byla v zatravněných půdách nižší, její vývoj však byl podobný jako v půdách orných. Během druhého dne inkubace

III. Obsah mikrobiální biomasy ( $\mu\text{g C.g}^{-1}$  půdy) během inkubace půd s glukózou – Content of microbial biomass ( $\mu\text{g C.g}^{-1}$  of soil) during incubation of soils with glucose

	Den <sup>1</sup>	Půda <sup>2</sup>					
		A	B	C	D	E	F
nf	0	163,24 c	177,78 c	169,18 c	1 018,41 a	312,59 b	299,38 b
	1	1 659,07 b	700,72 d	718,93 d	4 138,30 a	1 218,67 c	1 219,44 c
	2	436,24 e	484,59 d	584,64 c	1 908,37 a	707,97 b	711,67 b
	10	347,42 e	353,08 e	382,05 d	1 537,71 a	564,24 b	497,73 b
f	0	4,05 a	2,22 ab	1,47 ab	0,00 c	0,00 c	0,00 c
	1	158,96 b	106,98 c	17,60 d	261,28 a	138,58 bc	33,87 bc
	2	444,41 a	63,02 d	78,23 d	329,23 b	82,31 cd	128,03 c
	10	33,29 ab	33,17 ab	36,62 ab	42,11 a	13,44 c	23,13 bc

A, B, C = orné půdy – arable soils

D, E, F = zatravněné půdy – grassland soils

nf = půdy nefumigované – non-fumigated soils

f = půdy fumigované – fumigated soils

Hodnoty v řádku, které nejsou označeny stejným písmenem, jsou statisticky významně odlišné podle Duncanova testu analýzy rozptylu jednoduchého třídění na hladině významnosti  $P < 0,05$  – Results within a row not followed by the same letters indicate significant differences determined by Duncan's multiplate range test ( $P < 0,05$ )

<sup>1</sup>day, <sup>2</sup>soil

IV. Respirační aktivita půd ( $\mu\text{g C.g}^{-1}$  půdy) během inkubace s glukózou – Respiration activity of soils ( $\mu\text{g C.g}^{-1}$  of soil) during incubation with glucose

	Den <sup>1</sup>	Půda <sup>2</sup>					
		A	B	C	D	E	F
nf	0	0,50 c	0,50 c	0,46 d	0,84 a	0,62 b	0,61 b
	1	9,41 d	14,69 a	13,68 b	6,76 e	11,00 c	11,24 c
	2	6,81 a	3,17 d	3,59 cd	6,12 b	3,77 c	4,03 c
	4	2,07 a	1,57 c	1,86 ab	1,86 abc	1,70 bc	1,82 abc
	10	0,77 a	0,96 b	1,19 b	1,12 b	0,87 b	0,93 b
f	0	2,488 c	4,69 b	4,78 b	11,2 a	4,71 b	4,81 b
	1	3,5 e	33,64 a	30,73 b	20,81 d	22,18 c	22,42 c
	2	15,56 a	6,95 b	8,21 b	15,9 a	7,18 b	7,02 b
	3	19,97 a	2,36 cd	3,03 c	4,23 b	8,18 d	2,45 cd
	10	1,82 a	0,99 b	1,16 b	1,65 a	1,06 b	1,16 b

A, B, C = orné půdy – arable soils

D, E, F = zatravněné půdy – grassland soils

nf = půdy nefumigované – non-fumigated soils

f = půdy fumigované – fumigated soils

Hodnoty v řádku, které nejsou označeny stejným písmenem, jsou statisticky významně odlišné podle Duncanova testu analýzy rozptylu jednoduchého třídění na hladině významnosti  $P < 0,05$  – Results within a row not followed by the same letters indicate significant differences determined by Duncan's multiplate range test ( $P < 0,05$ )

<sup>1</sup>day, <sup>2</sup>soil

byl v méně kontaminovaných půdách pozorován významně nižší pokles respirace než v půdách kontaminovaných. U fumigovaných půd byla zaznamenána respirace vyšší než v půdách inkubovaných pouze s přidavkem glukózy. Vyšší hodnoty respirační aktivity v půdách, naměřené bezprostředně po fumigaci, mohly být způsobeny např. uvolněným C pocházejícím z mikrobiálních buněk rozložených během fumigace půd (Giller et al., 1998), přesto byla v orných kontaminovaných půdách

zjištěna vyšší respirační aktivita; v zatravněné půdě D výsledek ovlivnila vyšší hodnota respirace ihned po fumigaci (tab. IV). Výsledky respirační aktivity z inkubačního pokusu tedy souhlasily s poznatky, které publikovali Brookes (1995) a Giller et al. (1998), podle nichž respirační aktivita v kontaminovaných půdách může být větší, protože mikroorganismy v těchto půdách spotřebovávají větší množství energie pro svůj metabolismus.

## ZÁVĚR

V přirozených půdních podmínkách nelze vždy jednoznačně určit nejvhodnější metodu pro biologickou indikaci půd kontaminovaných těžkými kovy. Analýzy mikrobiální biomasy a respirační aktivity, provedené v původních dlouhodobě kontaminovaných i nekontaminovaných půdách, neprokázaly negativní vliv vysokých koncentrací těžkých kovů na půdní mikrobiální biomasu. Z tohoto hlediska se jako mnohem vhodnější ukázala inkubace půd s glukózou, která především v orných půdách velmi rychle v porovnání s nekontaminovanou půdou zvýraznila negativní účinek těžkých kovů na syntézu nové mikrobiální biomasy a zvýšila respirační aktivitu v kontaminovaných půdách.

## LITERATURA

- Anderson T. H., Domsch K. H. (1990): Application of eco-physiological quotients ( $qCO_2$  and  $qD$ ) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biol. Biochem.*, 22: 251–255.
- Baath E. (1989): Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations: a review. *Wat. Air Soil Poll.*, 47: 335–379.
- Brookes P. C. (1995): The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biol. Fertil. Soils*, 19: 269–279.
- Fließbach A., Martens R., Reber H. H. (1994): Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge. *Soil Biol. Biochem.*, 26: 1201–1205.
- Giller K. E., Witter E., McGrath S. P. (1998): Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils. A review. *Soil Biol. Biochem.*, 30: 1389–1414.
- Chander K., Brookes P. C. (1992): Synthesis of microbial biomass from added glucose in metal-contaminated soil and effects on soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 24: 613–614.
- Kalač P., Burda J., Stašková I. (1991): Concentrations of lead, cadmium, mercury and copper in mushrooms in the vicinity of lead smelter. *Sci. Tot. Envir.*, 105: 109–119.
- Riüwerts J., Farago M. (1996): Heavy metal pollution in the vicinity of a secondary lead smelter in the Czech Republic. *Appl. Geochem.*, 11: 17–23.
- Vance E. D., Brookes P. C., Jenkinson D. S. (1987): An extraction method for measuring microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 19: 703–707.
- Vrubel J., Trantinová M., Trojáček P., Sáňka M. (1996): Kontaminace olovem, kadmíem a arzenem v zemědělských půdách hospodářského obvodu Sádek u Lhoty u Přibramí. MŽP ČR.
- Wardle D. H., Ghani A. (1995): A critique of the metabolic quotient ( $qCO_2$ ) as a bioindicator of disturbance and ecosystem development. *Soil Biol. Biochem.*, 27: 1601–1610.

Došlo 16. 9. 1999

---

### Kontaktní adresa:

Ing. Gabriela M ü h l b a c h o v á, Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: +420 2 33 02 22 05, fax: +420 2 33 31 06 36, e-mail: muhlbachova@hb.vurv.cz

---

# VARIABILITY AND CORRELATIONS OF YIELD COMPONENTS, HARVEST INDEX AND YIELD OF CHAMOMILE FLOWER HEADS

## VARIABILITA A KORELACE VÝNOSOTVORNÝCH PRVKŮ, SKLIZŇOVÉHO INDEXU A VÝNOSU KVĚTŮ HEŘMÁNKU

S. Dražić

*Institute for Medicinal Plant Research Dr. Josif Pančić, Belgrade, Yugoslavia*

**ABSTRACT:** The trial with the following four varieties of chamomile [*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.] was conducted under semiarid conditions of Vojvodina: Banatska, Bona, Novbona, and Lutea. The aim of the present study was to observe variability of quantitative traits (plant height, number of secondary stems, number and diameter of flower heads, yield and harvest index). The highest variability was detected in the number of flower heads. Significant differences, found for both flower head diameter and harvest index, affected yield (1.46 and 2.04 t.ha<sup>-1</sup> in varieties Banatska and Lutea, resp.). Correlations at 0.05 and 0.01 probability levels were detected between plant height and the number of secondary stems, yield and flower head diameter, harvest index and flower head diameter, as well as between yield and harvest index.

**Keywords:** chamomile; variability; correlation; yield components; yield; harvest index

**ABSTRAKT:** V semiaridní oblasti Vojvodiny byl realizován pokus se čtyřmi odrůdami heřmáнку [*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.]: Banatska, Bona, Novbona a Lutea. Byla sledována variabilita kvantitativních znaků (výška rostliny, počet vedlejších stonků, počet a průměr květních úborů, výnos a sklizňový index). Nejvyšší variabilita byla zjištěna v počtu květních úborů. Významné rozdíly, zaznamenané pro průměr květních úborů a sklizňový index, měly vliv na výnos (1,46, resp. 2,04 t.ha<sup>-1</sup> u odrůd Banatska, resp. Lutea). Korelace na hladině pravděpodobnosti 0,05 a 0,01 byly zjištěny mezi výškou rostliny a počtem vedlejších stonků, resp. mezi výnosem a průměrem květních úborů, dále mezi sklizňovým indexem a průměrem květních úborů, resp. mezi výnosem a sklizňovým indexem.

**Klíčová slova:** heřmánek; variabilita; korelace; výnosotvorné prvky; výnos; sklizňový index

### INTRODUCTION

Genetic improvements of yield, as a complex trait, should be aimed at the modifications of phenotypes, developmental and growing stages and tolerance to environmental stresses (Dražić, 1997).

It was observed that a high stem was a disadvantage, as vegetative parts did not present an economic yield. Moreover, plant lodging often occurred. Stem shortening would mean a redistribution of the total organic matter in favour of flower heads, what would alter harvest index. Furthermore, greater resistance to lodging would be accomplished in thick stand (Dražić, 1997).

Besides shorter (and strong) stem, the number of secondary stems and side branches are also important, as they can affect the degree of lodging and the number of flower heads. Large and firm flower heads are desirable. Uniform growth and development, as well as, uniform flowering in the short period of time, are also important yield components (Dražić, 1997).

It is considered that high yields can be obtained in thick stand per area unit, but with optimal nutrition and protection against weed and pathogens. According to data presented by Kišgeci et al. (1982), seed rates, although affect crop density, do not affect the total yield of the bitter medicinal principle.

The aim of this study was to observe variability of more important quantitative traits (plant height, number of secondary stems, number and diameter of flower heads, yield and harvest index) and to evaluate their interrelationship in genetically divergent genotypes of chamomile.

### MATERIAL AND METHODS

The trial was set up on marshy black soil in the experimental field of the Institute for Medicinal Plants Dr. Josif Pančić under conditions of semiarid climate of Vojvodina in the period 1997 to 1998.

I. Mean values and variability for analysed traits

No.	Traits	Varieties							
		$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$				CV (%)			
		1	2	3	4	1	2	3	4
1	height (cm)	73 ± 2.1	66 ± 4.0	73 ± 0.4	77 ± 0.9	5.6	12.0	1.1	2.2
2	number of secondary stems (m <sup>-2</sup> )	596 ± 15.1	701 ± 81.3	582 ± 80.3	511 ± 36.8	5.2	23.2	27.6	14.4
3	number of flower heads (m <sup>-2</sup> )	6 072 ± 504	5 523 ± 1 016	6 039 ± 1 060	4 330 ± 550	16.6	36.8	35.1	25.4
4	diameter of flower heads (mm)	7.8 ± 0.21	8.1* ± 0.07	7.4 ± 0.11	8.9** ± 0.29	53	1.8	3.0	6.6
5	yield (t.ha <sup>-1</sup> )	1.46 ± 46.7	1.77 ± 91.4	1.54 ± 202.6	2.04 ± 124.5	6.3	10.3	26.3	12.2
6	harvest index (Hi)	0.17 ± 0.006	0.25** ± 0.015	0.17 ± 0.019	0.28** ± 0.021	7.2	11.8	21.8	15.0

\* and \*\* significant at 0.05 and 0.01 probability level, resp.

1 = Banatska, 2 = Bona, 3 = Novbona, 4 = Lutea

The trial, set up according to a four-replicated randomised complete-block design, was conducted with a local variety Banatska (Dražić, 1997) and the three introduced varieties: Bona, Novbona and Lutea (Oravec, 1996; Salomon, 1998). Planting with 4 kg seeds ha<sup>-1</sup> was done during the 2nd decade of September on well prepared soil, while harvest was performed in the 3rd decade of May. The common cropping practices were applied during the growing season. Soil on which the experiment was performed was supplied with biogenous elements. Nutritive elements were added during neither land preparation, nor growing season.

The elementary plot size amounted to 4 m<sup>2</sup>, while the size of the actual plot, used to analyse variability of yield and its components [plant height, number of secondary stems, number and diameter of flower heads and harvest index (Hi)], amounted to 1 m<sup>2</sup>.

The following principal biometrical parameters were evaluated: means ( $\bar{x}$ ), standard error of arithmetic mean ( $S_{\bar{x}}$ ) and coefficient of variation (CV).

Obtained results were processed by the analysis of variance (ANOVA), while the evaluation of significance was performed by *F* and *LSD* tests. Rank correlation, used as a test of interrelationships of studied traits, was estimated by the use of values obtained from a sample. It was performed following Spearman's formulae:

$$r_s = 1 - \frac{6x \sum d^2}{n(n-1)(n+1)} \quad r = r_s x \sqrt{\frac{n-2}{1-r_s^2}}$$

Obtained results are tabularly presented.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Means and variability

In respect to mean values, significant differences were obtained for flower head diameter and harvest index, while other traits did not express any significant difference (Tab. I).

The analysis of variance indicated significant differences for flower head diameter (*MS* – significant at 0.05 probability level) and statistically significant differences for harvest index (*MS* – significant at 0.01 probability level) (Tab. II).

The highest variability was detected for the number of flower heads (*CV* = 16.6–36.8%), while the lowest one was determined for their diameter (*CV* = 1.8–6.6%).

The uniform plant height ranged from 66 cm (Banatska) to 77 cm (Lutea), while variability ranged from 1.1 to 12%. These results are not in accordance with those obtained by Adamović et al. (1982) by which means for plant height of 15 genetically divergent genotypes greatly differed and ranged from 15 to 69.4 cm.

The average number of stems did not express statistical significance in observed genotypes, although means ranged from 511 to 596 stems m<sup>-2</sup> (Tab. I). Variability of this trait ranged from 5.2 to 26.7% in the local variety Banatska and the introduced one Novbona, resp.

## II. ANOVA for analysed traits

Source of variance	df	MS					
		1	2	3	4	5	6
Replication	3	6.17	3.907	2.107	0.089	0.035	0.002
Variety	3	80.67	2.457	3.074	1.724*	0.269	0.0126**
Error	9	25.5	2.536	4.119	0.274	0.106	0.0012

\* and \*\* significant at 0.05 and 0.01 probability level, resp.

1 = height (cm), 2 = number of secondary stems ( $\text{m}^{-2}$ ), 3 = number of flower heads ( $\text{m}^{-2}$ ), 4 = diameter of flower heads (mm), 5 = yield ( $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), 6 = harvest index (Hi)

## III. Rank correlations ( $r_s$ ) among analysed traits

Trait	6	5	4	3	2	1
Height (cm)	-0.188	-0.306	-0.232	-0.082	0.500*	-
Number of secondary stems ( $\text{m}^{-2}$ )	-0.262	-0.159	-0.062	0.192	-	-
Number of flower heads ( $\text{m}^{-2}$ )	-0.124	-0.409	-0.309	-	-	-
Diameter of flower heads (mm)	0.503*	0.585*	-	-	-	-
Yield ( $\text{t}\cdot\text{ha}^{-1}$ )	0.659**	-	-	-	-	-
Harvest index (Hi)	-	-	-	-	-	-

\* and \*\* significant at 0.05 and 0.01 probability level, resp.

The variety Lutea had relatively the lowest number of flower heads ( $4330\text{m}^{-2}$ ), but they were significantly larger than flower heads of other genotypes. Furthermore, the variety Bone had flower heads significantly larger than Banatska and Novbona, but the latter had a relatively greater number of flower heads.

Studies on the contribution of genetic and non-genetic factors to the development of phenotypic variability of chamomile yield, point out to a significant effect of genetic variance on this trait expression (Dražić, 1990).

However, results on rank correlation showed that yield could depend on effects of a year (Dražić, Šurlan, 1991).

Although it is difficult to distinguish impacts of climatic conditions, cropping practices and genotypes, there is an opinion that the variety has a leading role (Dražić, 1997).

The highest yield ( $\bar{x} = 2.04 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) was detected in the tetraploid variety Lutea (other varieties were diploid), while the lowest yield ( $\bar{x} = 1.46 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) was determined in the variety Banatska. However, the lowest variations (7.2%) were found, as expected, in the variety Banatska. On the other hand, the greatest variations (26.3%) were detected in the variety Novbona.

Besides mentioned traits, the chamomile harvest index was also observed. Although this trait is important, little work has been done to study it in medicinal plants in contrast to other plant species, especially major field crops (Kraljević-Balalić, Borojević, 1988; Singh, Sharma, 1994; Balalić, Kobiljski, 1996, and others).

## Interrelationship of studied traits

Results on rank correlation point out that a negative and low correlation prevails among investigated traits (Tab. III).

As it was logical and expected, the correlation between plant height and the number of secondary stems was significantly positive ( $r_s = 0.500^*$ ). Likewise, a significantly positive correlation, detected between yield of flower heads and their size ( $r_s = 0.585^*$ ) is in accordance with results obtained by Adamović et al. (1982). Furthermore, a significantly positive correlation ( $r_s = 0.503^*$ ) was detected between the size of flower heads and harvest index, indicating the possibility that higher yield could be obtained by the enlargement of flower head size, which should be an important task in chamomile breeding. Statistically significant positive correlation was detected for yield and harvest index ( $r_s = 0.659^{**}$ ).

## CONCLUSION

According to investigations carried out with four chamomile varieties, the following conclusions can be drawn:

Variability for several traits was detected among observed varieties. Of six quantitative traits, the greatest variability was determined for the number of flower heads ( $CV = 16.6\text{--}36.8\%$ ).

Statistically significant differences estimated for flower head diameter ( $MS = 1.724^*$ ) and harvest index ( $MS = 0.0126^{**}$ ), affected yield and it varied from 1.46 to  $2.04 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$  in varieties Banatska and Lutea, resp.

Correlations at 0.05 and 0.01 probability levels were detected between plant height and the number of secondary stems, yield and flower head diameter, harvest index and flower head diameter, as well as, between yield and harvest index. Weak and negative correlations were established for other traits.

Determined variability and interrelationship of quantitative traits can be used in chamomile breeding.

## REFERENCES

- Adamović D., Borojević K., Joksimović J., Gašić O., Lukić V. (1982): Genetska varijabilnost prinosa i kvaliteta sorti i populacija kamilice (*M. chamomilla* L.). Bilt. Hemlj Sirak Lek. Bilje, 39 (1): 34–45.
- Balalić I., Kobiljski B. (1996): Varijabilnost i međuzavisnost visine stabiljke, žetvenog indeksa i prinosa zrna pšenice. Selek. Semen., 3–4: 7–13.
- Dražić S. (1990): Genetička analiza fenotipske varijabilnosti prinosa i kvaliteta lekovitog bilja. Lek. Sir., 9: 23–29.
- Dražić S. (1997): Selekcija kamilice – stanje i buduci pravci. In: Kamilica [*Chamomilla recutita* (L.) Rausch.]. Belgrade, IPLB: 102–108.
- Dražić S., Šurlan G. (1991): Korelacija ranga za prinos i sadržaj eterskog ulja lekovitog bilja. Lek. Sir., 10: 13–18.
- Kišgeci J., Adamović D., Stanačev S., Lukić V. (1982): Uticaj načina setve i količine semena na prinos i kvalitet domaće populacije kamilice. Bilt. Hemlj Sirak Lek. Bilje, 39 (1): 46–61.
- Kraljević-Balalić M., Borojević S. (1988): Inheritance of harvest index and related traits in wheat. Bk Proc. VII Int. Wheat Genetics Symp. Cambridge: 547–550.
- Oravec V. (1996): Varieties of chamomile produced in Slovakia and concentration of their effective components. Bk Proc. Days of medicinal plants, Brezovica, Yugoslavia.
- Salomon I. (1998): Selected herbs, identification of their natural components and medicinal quality. Bk Proc. Days of medicinal plants, Banja Koviljača, Yugoslavia.
- Singh I., Sharma S. K. (1994): Interrelationship of harvest index and other traits in wheat. Haryana Agric. J. Res., 24 (1): 1–4.

Received on October 4, 1999

---

### Corresponding author:

Dr. Slobodan Dražić, Institut za proučavanje lekovitog bilja Dr. Josif Pančić, Tadeuša Koščuška 1, 11000 Beograd, Jugoslavia, tel.: +381 11 182 111, fax: +381 11 182 072, e-mail: iplb@sezampro.yu

---

## 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 zřetelem 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 dvojité 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** 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 nedostatecích 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 plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PŠČ, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

**Rukopis nebude redakcí 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 – CONTENTS

Chodová D., Mikulka J.:		
Resistance to imazapyr and cross resistance to selected sulfonylurea herbicides in <i>Kochia</i> ( <i>Kochia scoparia</i> s. l.)		
Rezistence vůči imazapyru a křížová rezistence vůči vybraným sulfonylmočovinám u bytlu metlatého ( <i>Kochia scoparia</i> s. l.) .....		49
Šíša R., Sixta J., Růžek L., Štorkánová G.:		
Biologická aktivita antropogenních půd		
Biological activity of anthropogenic soils.....		55
Šimon T.:		
Vliv niklu a arzenu na výskyt a symbiotické schopnosti nativních rhizobií		
The effect of nickel and arsenic on the occurrence and symbiotic abilities of native rhizobia .....		63
Kozák J., Vacek O.:		
Pedotransfer functions as a tool for estimation of pesticides behavior in soils		
Pedotransferové funkce jako prostředek pro odhad chování pesticidů v půdách.....		69
Švachula V., Pulkrábek J.:		
Závislost obsahu betainu v cukrovce na srážkách a teplotách vzduchu během vegetace		
Dependence of betaine content in sugar beet on the rainfall and air temperature during the vegetation period .....		77
Pržulj N., Momčilović V., Mladenov N.:		
Grain filling in two-rowed winter barley		
Nalévání zrna u dvouřadého ozimého ječmene .....		81
Mühlbachová G., Růžek P.:		
Biologická indikace znečištění půd těžkými kovy inkubační metodou		
Biological indication of heavy metal contamination of soils by the incubation method .....		87
Dražić S.:		
Variability and correlations of yield components, harvest index and yield of chamomile flower heads		
Variabilita a korelace výnosotvorných prvků, sklizňového indexu a výnosu květů heřmánku .....		93