

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

ROSTLINNÁ VÝROBA

Plant Production

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

5

VOLUME 46
PRAHA
KVĚTEN 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 předplatně: Objednávky na předplatně 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>

WATER CONTENT, OSMOTIC POTENTIAL AND ABSCISIC ACID LEVEL AS INDICES OF FREEZING TOLERANCE IN BARLEYS

OBSAH VODY, OSMOTICKÝ POTENCIÁL A HLADINA KYSELINY ABSCISOVÉ JAKO UKAZATELE MRAZUVZDORNOSTI JEČMENŮ

I. Prášil, Z. Kadlecová, M. Faltus, P. Prášilová

Research Institute of Crop Production, Prague-Ruzyně, Czech Republic

ABSTRACT: Evaluation of winter-hardiness and freezing tolerance in a set of two varieties of winter barley (Lunet, Marinka) and one spring variety (Akcent) by field methods was compared with a laboratory freezing test and with some physiological and biochemical traits as freezing tolerance indicators (water content, osmotic potential, abscisic acid content). Field methods allowed to classify varietal winter-hardiness by a 9-point scale (DWH) and to determine their freezing tolerance by the values of minimum lethal temperature LT50 after a four-year evaluation like this: highest tolerance in Lunet DWH = 6, LT50 = -16.5 °C, followed by Marinka DWH = 5, LT50 = -14.3 °C, lowest tolerance in Akcent DWH = 1, LT50 = -8.9 °C. A method used for laboratory measurements: the varieties were grown at 16 °C for two weeks, their hardening took place at 3 °C in a fully controlled environment (16 hour light) for another two weeks and the second, expanded leaves were taken for analyses. Varietal freezing tolerance achieved in laboratory experiments was lower than in field experiments while differences in this trait were significant and LT50 values were -13.6 °C in Lunet, -9.8 °C in Marinka and -7.9 °C in Akcent with lowest tolerance. As for the physiological and biochemical traits, the water content was in highest correlation with varietal freezing tolerance classification; it significantly decreased in all varieties after hardening. A similar classification was determined for osmotic potential, which also decreased after hardening, but there was a significant difference between Lunet and Akcent varieties only. On the contrary, no differences in abscisic acid content were observed between the varieties either before or after hardening. The usefulness of expanded leaves for laboratory analyses was confirmed in which the characteristics of plant water status were most consistent with direct evaluation of freezing tolerance.

Keywords: winter-hardiness; freezing tolerance; lethal temperature; water content; osmotic potential; abscisic acid; barley

ABSTRAKT: U souboru dvou odrůd ozimého ječmene (Lunet, Marinka) a jedné jarní odrůdy (Akcent) bylo porovnáno hodnocení zimovzdornosti a mrazuvzdornosti polními metodami s laboratorní metodou mrazového testu a s některými fyziologicko-biochemickými znaky jako ukazateli mrazuvzdornosti (obsah vody, osmotický potenciál, obsah kyseliny abscisové). Polní metody (Prášilová et al., 1999) umožnily rozlišit zimovzdornost odrůd v devítibodové stupnici (SZ) a stanovit jejich mrazuvzdornost v hodnotách minimální letální teploty LT50 po čtyřletém hodnocení v tomto pořadí: nejdolnější Lunet SZ = 6, LT50 = -16,5 °C, následovala Marinka SZ = 5, LT50 = -14,3 °C a nejméně odolná byla odrůda Akcent SZ = 1, LT50 = -8,9 °C. Pro laboratorní měření byly odrůdy pěstovány dva týdny při 16 °C a další dva týdny otužovány při 3 °C v plně regulovaném prostředí (16h osvětlení). Pro analýzy byly odebírány druhé vyvinuté listy. V těchto pokusech byla získaná úroveň mrazuvzdornosti odrůd menší než v polních pokusech, jejich rozlišení odolnosti však bylo významné a hodnoty LT50 dosahovaly -13,6 °C pro Lunet, -9,8 °C u odrůdy Marinka a -7,9 °C u nejméně odolné odrůdy Akcent. Z fyziologicko-biochemických znaků nejlépe pořadí odrůd podle mrazuvzdornosti odpovídal relativní obsah vody, který po otužení rostlin významně klesl u všech odrůd. Podobné pořadí bylo zjištěno u osmotického potenciálu, který rovněž klesl po otužení rostlin, ale významný rozdíl byl zaznamenán pouze mezi odrůdami Lunet a Akcent. Naproti tomu se odrůdy mezi sebou nelišily v obsahu kyseliny abscisové před otužováním rostlin ani po něm. Vhodné bylo použití vyvinutých listů při laboratorních analýzách, u kterých přímému hodnocení mrazuvzdornosti odrůd nejlépe odpovídaly charakteristiky vodního režimu rostlin.

Klíčová slova: zimovzdornost; mrazuvzdornost; letální teplota; obsah vody; osmotický potenciál; kyselina abscisová; ječmen

INTRODUCTION

Sufficiently high winter-hardiness of winter crops is an elementary condition of their successful production in this country. Among many abiotic stresses of the winter season (flooding, ice cover, heaving, snow dam-

age) frost is a dominant factor in the conditions of this country that influences winter crop survival. Barleys are winter crops included in a group with lowest freezing tolerance.

Even though there exists a number of methods, determination of winter-hardiness and freezing tolerance

of winter crops in field conditions is a long-lasting process with high labour and time requirements (Prášilová et al., 1999). In order to accelerate the evaluation of freezing tolerance in grain crops, various methods were developed in laboratory conditions (Prášil et al., 1989). Besides direct determination of plant freezing tolerance by a laboratory freezing test there is an urgent need to use so called indirect evaluation of freezing tolerance by means of various physiological and biochemical traits (Macháčková, Hanišová, 1990). As research on the constitution of plant freezing tolerance has progressed, the number of potential tolerance-related traits has increased, and is further specified. In addition to characteristics of plant water status recent studies have been aimed at the use of variations in the endogenous content of abscisic acid (ABA) classified among so called stress phytohormones (Kadlecová, 1999). Endogenous ABA contents in plants exposed to drought were explicitly demonstrated to increase (Nilsen, Orcutt, 1996). Effects of low temperatures are often connected with ABA accumulation (Lalk, Dörffling, 1985; Macháčková et al., 1989). Not all published results document the identical conclusions, and some new papers appeared in which no relationship between variations in ABA content and freezing tolerance was confirmed (Dallaire et al., 1994; review-study by Kadlecová, 1999).

Freezing tolerance of plants is increased by hardening. It is a gradual drop of temperatures in the fall in natural conditions, and in some crops days getting shorter (Sakai, Larcher, 1987). These processes can be induced in laboratory conditions by temperatures lower than 5 °C. It is important to know that only those plant parts (e.g. shoots, leaves) can be used for analyses that under a suitable experimental design maintain varietal differences in freezing tolerance. Particularly expanded green leaves are a good material due to their finished morphological development; the fact that the plants are not destroyed and can be used for further studies or for selection of tolerant genotypes is also important (Sakai, Larcher, 1987; Prášil, Faltus, 1994).

The objective of this paper is to compare methods of winter-hardiness and freezing tolerance evaluation in barleys grown in field conditions and determination of their freezing tolerance in a controlled environment. Besides a laboratory freezing test, our investigations were aimed at the use of some important physiological and biochemical traits (water content and osmotic potential as basic components of plant water status, and content of the phytohormone abscisic acid) as indirect indicators of barley freezing tolerance. Another objective was to verify whether expanded leaves could be used for the study of varietal differences in barleys.

MATERIAL AND METHODS

Three barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties, Lunet, Marinka and Akcent, were used as representatives of the present collection of registered varieties. Winter va-

riety Lunet is characterized by a higher tolerance to winter stresses, Marinka is a new generation of two-rowed winter barleys and Akcent is a typical spring variety.

Field experiments. Multi-annual (1996 to 1998) experiments were carried out in the Research Institute of Crop Production at Praha-Ruzyně at regular intervals to evaluate winter-hardiness and freezing tolerance of the above varieties.

Winter-hardiness was evaluated by a provocation pot-culture method when the varieties were grown in pots placed at various heights above the ground for the whole winter season. Regardless of cold intensity, winter killing rates of the varieties were different in spring every year. Degree of winter-hardiness (DWH) was calculated for each variety from all values of surviving plants by the method of variety classification. A winter-hardiness scale ranges from 1 (= lowest hardiness) to 9 (= highest hardiness). Provocation method and calculation of winter-hardiness degrees were described in detail in the papers by Prášil, Rogalewicz (1989) and Prášil et al. (1994).

Freezing tolerance was evaluated by a freezing test in plants grown on field plots. Plants of the particular varieties were sampled in the field in the winter season, cleared of soil and exposed to a freezing stress in nine freezers controlled by a computer in the RICP. A standard method was used: freezing and thawing rates 2 °C per hour and a 24 hour exposure to freezing temperatures. After the freezing test terminated, plants were grown in a greenhouse under optimum conditions (additional light, temperature about 18 °C) and plant survival rates for the particular freezing temperatures were determined after three weeks. So called lethal temperature LT50 was computed from these values using a program developed in RICP (Janáček, Prášil, 1991). LT50 indicates a temperature below the freezing point that causes 50% mortality of plants. Three freezing tests at least were carried out from the beginning of December to the end of February during each winter season.

Laboratory experiments were aimed at plant growing and hardening in a fully controlled environment. After six-day seed germination on wet filter paper at 16 °C in darkness, seedlings were grown in Hoagland 3 nutrient medium (including micro-elements) for 14 days, at 16 °C and under 16-hour daylight (illumination intensity 400 $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$). Hardening took place for another 14 days under the same light conditions, but at a temperature 3 °C. These parameters were determined in plants of the particular varieties before and after hardening: level of freezing tolerance (LT50), basic characteristics of the water status of tissues (water content and osmotic potential) and endogenous level of abscisic acid (ABA). The second fully-expanded leaves were sampled for these determinations toward the end of dark period, at the stage of full saturation of plants with water and when they were free of any visible wilting. Preliminary experiments demonstrated that a two-week period of plant hardening was sufficiently long to

reveal differences in freezing tolerance of the varieties and when the tolerance of expanded leaves did not vary any more.

Freezing tolerance (LT50) was determined after a freezing test in freezing boxes by conductometric measurements of electrolyte effluent from damaged tissues (Janáček, Prášil, 1991). Water content was determined from a difference in sample weight before and after 24-hour dehydration at 90 °C and was expressed as fresh weight percentage. Osmotic potential was determined psychrometrically on a WESCOR HR-33 (USA) apparatus, in the sap extracted from freezing killed samples. It was given in MPa and against NaCl calibration solutions. RIA (radioimmunoassay) according to Quarrie et al. (1988) was used to determine abscisic acid content in co-operation with the Division of Radiobiology at Mendel Agricultural and Forestry University at Brno. Monoclonal ABA-antibody MAC252 was bought from Dr. S. A. Quarrie (John Innes Institute, England).

All values were compared by Student's *t*-test and significance of differences was determined at 5% significance level.

RESULTS

Winter-hardiness and freezing tolerance was described on the basis of data acquired in multi-annual field experiments (Tab. I). The degree of winter-hardiness was lowest in spring variety Akcent (DWH = 1) and highest in Lunet variety (DWH = 6). Marinka was assigned DWH = 5, i.e. average winter-hardiness at an international 9-point scale. Freezing tolerance of the varieties was determined as minimum lethal temperature achieved by plants sampled in the field. The distribution of minimum LT50 was basically proportional to their winter-hardiness, ranging from -8.9 °C in Akcent to -16.5 °C in Lunet. That means Lunet variety with highest winter-hardiness could tolerate the hardest freezing of -16.5 °C, Marinka -14.3 °C and Akcent -8.9 °C only. The difference between Lunet and Marinka tolerance was always smaller than that between the tolerance of both winter varieties and spring variety Akcent.

Figs. 1 and 2 show the results of laboratory measurements of varieties grown in controlled environment. Freezing tolerance of all experimental varieties substantially increased after two-week hardening. While LT50 of expanded leaves ranged from -3.6 °C in Akcent to -4.7 °C in Lunet before hardening (i.e. at a temperature of 16 °C), plant hardening at 3 °C was followed by

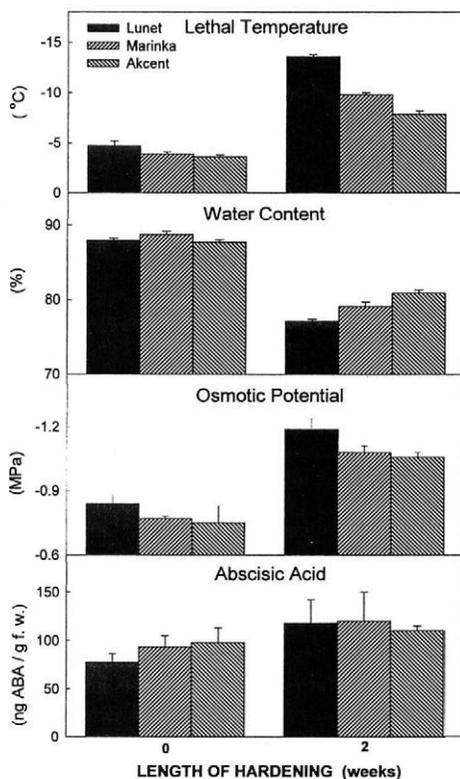
a significant increase in their freezing tolerance to -7.9 °C in Akcent, -9.8 °C in Marinka and -13.6 °C in Lunet. Differences in the level of freezing tolerance (LT50) between the varieties were significant.

Water content was similar in all three varieties before hardening and it significantly decreased after their hardening (Figs. 1 and 2). The highest decrease was determined in Lunet from 87.9 to 77.1%, the lowest in Akcent from 87.7 to 80.9%. Parallely, a significant decrease in osmotic potential was recorded in all three varieties against the values of osmotic potential before hardening (Fig. 2). Differences in the values of osmotic potential between the varieties after hardening were significant in Lunet and Akcent only.

The varieties did not show any differences in ABA contents either before or after hardening (Fig. 1). The increase in ABA content was highest in Lunet and lowest in Akcent, but the differences were not significant (Fig. 2).

DISCUSSION

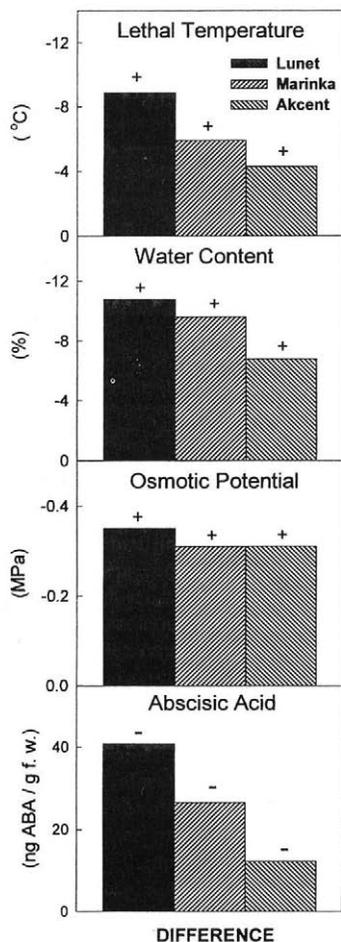
Degree 4 and higher appeared to be a sufficient level of barley winter-hardiness for variable winter condi-



I. Barley varieties, their degrees of winter-hardiness (DWH, scale 1 to 9) and minimum values of lethal temperatures (LT50 in °C)

Variety	Type	Origin	DWH	LT50
Lunet	six-rowed	CZE	6	-16.5
Marinka	two-rowed	NLD	5	-14.3
Akcent	two-rowed	CZE	1	-8.9

1. Characteristics of three barley varieties that were measured in expanded leaves before and after two-week hardening; means of three replications and their standard deviations are given



2. Differences in the characteristics before and after two-week hardening of three barley varieties; + or - indicates significance or insignificance of difference for the variety concerned

tions in this country with alternating impacts of continental and maritime climate (Prášil et al., 1999). This level was represented by both winter varieties from our experimental set, with average (Marinka) and above-average (Lunet) tolerance. On the contrary, very low tolerance was determined in spring variety Akcent. It was possible to discriminate their freezing tolerance in field and in direct laboratory experiments. The induction of freezing tolerance in plants and/or expanded leaves used for laboratory evaluation was not so high (i.e. such low LT50 values) as in plants from field experiments but significant differences in the former material were recorded after four-week growing in air-conditioned boxes while the last two weeks of growing were at low temperatures. Expanded leaves appeared to be an appropriate material for further analyses and for the study of physiological and biochemical traits.

As for the traits under study, substantial variations in both components of the water status of plants water content and osmotic potential, were observed. Freezing tolerance depends on the tolerance of tissues to water freezing, therefore a decrease in water content is often correlated with plant hardening (Sakai, Larcher, 1987). A decrease in osmotic potential can provide for higher amounts of water in liquid state if temperatures drop below zero, preventing the formation of large and destructive ice crystals in the tissue. Hence it is not surprising that these traits were previously mentioned as parameters of tolerance in the particular species (Levitt, 1980). But their correlations with freezing tolerance were not confirmed in all cases, mainly when samples were taken in field plots or when different grain species were compared (McIntyre et al., 1988). Moreover, there may be circadian fluctuations in water content in the tissues, and this is the reason why leaves were sampled at the end of dark period and all determinations were made instantly after sampling. It was possible to demonstrate that water content and osmotic potential decreased during barley hardening in a controlled environment: more sharply in the more tolerant variety Lunet. But no significant differences were proved in osmotic potential between the varieties Marinka and Akcent after hardening. A decrease in water content and osmotic potential is linked up with an increase in freezing tolerance on the one hand, but it is one factor only that cannot explain differences in the tolerance of all varieties in a satisfactory way. On the other hand, these traits can be used as benchmark indicators of variations in freezing tolerance under defined conditions (the same sampling date, identical and even-aged plant part, etc.).

Abscisic acid accumulation was previously related to the degree of freezing tolerance and considered as a good marker of such tolerance (Lalk, Dörffling, 1985; Macháčková, Hanišová, 1990). Some papers have recently been published reporting that the effect of variations in ABA content on plant freezing tolerance is questionable, ABA might play its role in the process of hardening but without any increase in its content (Dallaire et al., 1994). Our measurements did not confirm any significant differences in ABA contents between the barley varieties before and after two-week hardening. A certain trend of absolute ABA increase was observed when the difference between hardened and non-hardened plants of the particular varieties was established but it was not statistically significant (Fig. 2). So it is not possible to exclude a possibility of a transient increase in ABA content during hardening, but the increase can also be related to a decrease in water content during hardening. In this case the effect of low temperature cannot be explicitly separated from the effect of dehydration on ABA content. In addition, the latest findings (Bravo et al., 1998) show that different sensitivity of the particular varieties to ABA can play its role in barleys. The relation of ABA to freezing tolerance of barleys is not simple, and our results indi-

cate that the endogenous ABA content could not be used to describe freezing tolerance of barleys.

If different methods and approaches to evaluation of winter-hardiness and freezing tolerance were taken into account, direct exposition of plants to a freezing test yielded the most accurate results of varietal tolerance determination; as for indirect methods, determination of variations in the water status before and after hardening was best.

Acknowledgment

We are very grateful to Ing. Dr. M. Klemš from Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno for carrying out ABA analyses using RIA, and to Mrs. Marie Berová for technical assistance.

The research was conducted as part of Project 522/97/0842 of the Grant Agency of CR.

REFERENCES

- Bravo L. A., Zúñiga G. E., Alberdi M., Corcuera L. J. (1998): The role of ABA in freezing tolerance and cold acclimation in barley. *Physiol. Plant.*, 103: 17–23.
- Dallaire S., Houde M., Gagné Y., Saini H. S., Boileau S., Chevrier N., Sarhan F. (1994): ABA and low temperature induce freezing tolerance via distinct regulatory pathways in wheat. *Pl. Cell Physiol.*, 35: 1–9.
- Janáček J., Prášil I. (1991): Quantification of plant frost injury by nonlinear fitting of an S-shaped function. *Cryo-Lett.*, 12: 47–52.
- Kadlecová Z. (1999): Kyselina abscisová – stresový hormon. *Biol. Listy*, 64: 1–17.
- Lalk, I., Dörffling K. (1985): Hardening, abscisic acid, proline and freezing resistance in two winter wheat varieties. *Physiol. Plant.*, 63: 287–292.
- Levitt J. (1980): Responses of plants to environmental stresses. Vol. II. London, Acad. Press, Inc.
- Macháčková I., Hanišová A. (1990): Současné perspektivy hodnocení mrazuvzdornosti nepřímými metodami. *Genet. a Šlecht.*, 26: 1–X.
- Macháčková I., Hanišová A., Krekule J. (1989): Levels of ethylene, ACC, MACC, ABA and proline as indicators of cold hardening and frost resistance in winter wheat. *Physiol. Plant.*, 76: 603–607.
- McIntyre B. L., Chen T. H. H., Mederick M. F. (1988): Physiological traits associated with winter survival of winter wheats and winter triticales in Alberta. *Can. J. Pl. Sci.*, 68: 361–366.
- Nilsen E. T., Orcutt D. M. (1996): The physiology of plants under stress. New York, John Wiley and Sons, Inc.
- Prášil I., Faltus M. (1994): Leaf blades – experimental material for freezing resistance study. In: Dorffling K., Bretschneider B., Tantau H., Pithan K. (eds.): Crop adaptation to cool climates, Brussels, Belgium, ECSP-EEC-EAEC: 49–55.
- Prášil I., Rogalewicz V. (1989): Accuracy of wheat winter hardiness evaluation by a provocation method in natural conditions. *Genet. a Šlecht.*, 25: 223–230.
- Prášil I., Papazisis K., Janáček J., Prášilová, P. (1994): Zimovzdornost a stupně odolnosti českých a slovenských odrůd ozimé pšenice. *Rostl. Výr.*, 9: 803–816.
- Prášil I., Zámečník J., Papazisis K., Hanišová A., Pecka R., Mogileva V., Pidra M., Laml P. (1989): Testování mrazuvzdornosti pšenice ozimé na vybraných pracovištích ČSSR. *Genet. a Šlecht.*, 25: 79–86.
- Prášilová P., Prášil I., Jurečka D. (1999): Zimovzdornost a mrazuvzdornost odrůd ozimé pšenice a ozimého ječmene registrovaných v České republice. *Czech J. Genet. Pl. Breed.*, 35: 17–23.
- Quarrie S. A., Whitford P. N., Appleford N. E. J., Wang T. L., Cook S. K., Henson I. E., Loveys B. R. (1988): A monoclonal antibody to (S)-abscisic acid: its characterisation and use in a radioimmunoassay for measuring abscisic acid in crude extract of cereal and lupin leaves. *Planta*, 173: 330–339.
- Sakai A., Larcher W. (1987): Frost survival of plants. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag.

Received on November 15, 1999

Corresponding author:

RNDr. Ilja Prášil, CSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Drnovská 507, 161 06 Praha 6-Ruzyně, Česká republika, tel.: +420 2 33 02 24 40, fax: +420 2 33 31 06 36, e-mail: prasil@vurv.cz

INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION
Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic
Fax: (00422) 24 25 39 38

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Czech Academy of Agricultural Sciences. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with long summaries in English or in English language with summaries in Czech or Slovak.

Subscription to these journals should be sent to the above-mentioned address.

Periodical	Number of issues per year
Rostlinná výroba (Plant Production)	12
Czech Journal of Animal Science (Živočišná výroba)	12
Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech)	12
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12
Journal of Forest Science	12
Research in Agricultural Engineering	4
Plant Protection Science (Ochrana rostlin)	4
Czech Journal of Genetics and Plant Breeding (Genetika a šlechtění)	4
Zahradnictví (Horticultural Science)	4
Czech Journal of Food Sciences (Potravinařské vědy)	6

DYNAMICS OF SPECIES RICHNESS OF FLOODPLAIN MEADOWS

DYNAMIKA DRUHOVÉ PESTROSTI NIVNÍCH LUK

F. Klimeš

Faculty of Agriculture, University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic

ABSTRACT: The effects of different nutrition level on dynamics of species richness and total stand composition were observed in a permanent grassland (association *Stellario-Deschampsietum* FREITAG 1957, initial stand type *Alopecuretum*) in floodplain of upper Lužnice River, South Bohemia, between 1987 and 1999. A sinusoid oscillation with ten- or eleven-year cycle along totally zero trend of increase in species richness was observed in the non-fertilized stand. A depression in species richness occurred initially in the fertilized stands. Depression rate and duration of that period increased continually with increasing N doses. There were observed yearly decline 1.63 species and depression duration till about ninth year since the initial fertilization with 300 kg N + PK. The increase in species richness started to reach a threshold level of growth resilience ($e_r > +0.1$) with about one year delay after the turning point (minimum species count). As results from the observations, changes in grassland species richness are affected by nutrient doses (preferably by N) and duration of their application. A procedure for marginal species richness calculation described in the article seems to be an appropriate dynamic characteristics for specification of species richness development.

Keywords: floodplain meadows; species richness; species diversity; dynamic models; marginal analysis

ABSTRAKT: Při studiu rozvoje mimoprodukčních funkcí travních porostů je třeba věnovat zvláštní pozornost jejich druhové diverzitě (Rychnovská et al., 1985). Důležitou oblastí v řešení těchto otázek je hlubší analýza procesů fytoecologické dynamiky při různých způsobech obhospodařování těchto cenóz (Begon et al., 1997). V uvedených intencích byl u trvalého porostu v nivě řeky Lužnice (nadmořská výška 452 m, asociace *Stellario-Deschampsietum* FREITAG 1957, výchozí porostový typ *Alopecuretum*) sledován vliv diferencované úrovně výživy (tab. II) na dynamiku druhové pestrosti i celkové porostové skladby, a to ve třech časových etapách (tab. I). Vždy před první sečí byla analyzována porostová skladba cenóz (stanovení projektivní dominance jednotlivých druhů, agrobotanických skupin a prázdných míst v %, Regal, Veselá, 1975). Pro hodnocení druhové diverzity byl použit Shannonův index diverzity. Dynamika druhové pestrosti byla ověřována s využitím dynamického regresního modelu, vyjadřujícího vztah mezi dávkou N v $\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ (x), délkou doby její aplikace (t = počet let) a celkovým počtem vyšších rostlin v porostech: $Q = f(x, t)$. Dynamický model byl podrobně analyzován pomocí metod marginální analýzy. U nehojeného porostu se projevila sinusoidní oscilace druhové pestrosti (s 10- až 11letým cyklem) kolem celkově nulového trendu růstu. U hnojených porostů dochází k depresi druhové pestrosti (tab. III, IV, VII až XII), přičemž míra deprese a doba trvání této fáze plynule vzrůstá s vyšší dávkou N; od ročního úbytku 1,04 druhů při době trvání poklesu do cca šestého roku od počátku hnojení při aplikaci dávky PK (bez N) až po průměrný roční úbytek 1,63 druhů s dobou deprese až do cca devátého roku od počátku aplikace dávky 300 N + PK (tab. IV). Přibližně s ročním zpožděním za bodem obratu (minimální počet druhů) začíná dosahovat vzrůst druhové pestrosti prahové hodnoty pružnosti růstu ($e_r > +0,1$; tab. VI). Ukázalo se, že druhová pestrost travních porostů je funkcí dávky živin (především N) a doby trvání její aplikace. Vhodnou dynamickou charakteristikou pro specifikaci vývoje druhové pestrosti je marginální druhová pestrost (tab. V), kterou od dynamického regresního modelu (rovnice 2, 9) odvodíme jako jeho parciální derivace (rovnice 3, 4, 10, 11). Je prezentován postup pro stanovení komplexně pojaté dynamiky druhové pestrosti s uplatněním dynamického regresního modelu a na základě principů marginální analýzy, mezní druhové pestrosti, mezní substitute relevantních faktorů a pružnosti druhové pestrosti.

Klíčová slova: nivní louky; druhová pestrost; druhová diverzita; dynamické modely; marginální analýza

INTRODUCTION

Grasslands fulfil an array of non-producing functions and participate thus in protection and stabilization of both abiotic and biotic components of the environment (Rychnovská et al., 1985; Duvigneaud, 1988). It

is desirable to harmonize producing functions of grass biomes with developing non-producing roles. Grasslands management should allow their effective participation both within farming systems and in wider ecological linkages within landscape (Klimeš, 1997). Grasslands diversity plays a specific important role among the latter

ones and it is necessary to develop theoretical knowledge of both qualitative and quantitative aspects of its dynamics (Begon et al., 1997).

From these points of view there were studied dynamics of species richness and of total stand composition at different levels of fertilization in floodplain meadows. Moreover, some methodic aspects dealing with formation of dynamic models of species richness and approaches to their analysis using marginal variables (Dufek, 1979) were also studied.

MATERIAL AND METHODS

Changes in species composition and richness at different N doses and a constant level of P + K fertilization, and at a non-fertilized control stand were observed in a permanent grassland in floodplain of upper Lužnice River, SE Bohemia, between 1987 and 1999.

The observed stands belong to association *Stellario-Deschampsietum* FREITAG 1957. The initial community was of stand type *Alopecuretum* (subtype *Alopecureto-Poetum pratense*). The stand and site characteristics were described in details by Prach et al. (1996). The minimum area of the observed community was 13.7 m². The observations were carried out in three time stages (Tab. I).

The experiment was designed by the method of random blocks in triplicates. Each plot was 15 m² large.

I. Time schedule of the observations

Stage	Year(s)	Activities
I.	1987	observations of non-fertilized stands (control variant)
II.	1988–1995	observations of stands with different level of fertilization
III.	1996–1999	observations of response following out of fertilization

II. Design of the observed experimental variants

Variant	Doses of pure nutrients (kg.ha ⁻¹)					
	N				P	K
	in spring	after 1st cut	after 2nd cut	total	in spring	in spring
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	30	50
3	50	-	-	50	30	50
4	75	25	-	100	30	50
5	100	75	25	200	30	50
6	125	100	75	300	30	50

Applied fertilizers:
ammonium nitrate with limestone (27.5% N)
superphosphate (40% P₂O₅)
potash salt (60% K₂O)

The different doses of nutrients were applied during the second stage (Tab. II).

The stands were cut three times annually. First cut carried out during the initial flowering of *Alopecurus pratensis*. Analyses of stand composition (determination of projective dominance of individual species, agribotanical groups and percentage of uncovered space) were carried out by Regal, Veselá (1975).

Diversity of the observed cenoses was assessed by Shannon's diversity index (H):

$$H = - \sum_{i=1}^Q P_i \ln P_i \quad (1)$$

where: Q – total count of plant species in a stand
 P – projective dominance of i -th species (%/100)

Dynamics of species richness was assessed using a dynamic regression model, expressing dependence of total count of plant species in a stand (Q) on N dose (x ; kg.ha⁻¹) and time (t ; 1988 = 0, 1989 = 1, ..., 1995 = 7):

$$Q = f(x, t) \quad (2)$$

Rates of changes in species richness (= marginal species richness) were determined in relation to N dose (x) or time (t) as partial derivation of function (2):

$$\beta_{Qx} = \frac{\delta Q}{\delta x} \quad (3)$$

$$\beta_{Qt} = \frac{\delta Q}{\delta t} \quad (4)$$

where: β – marginal species richness in relation to N dose (x) or time (t)

Levels of marginal substitution of (x) and (t) were derived also from the dynamic model (2):

$$\alpha_{xt} = \frac{\delta x}{\delta t} = \frac{\beta_{Qt}}{\beta_{Qx}} \quad (5)$$

$$\alpha_{tx} = \frac{\delta t}{\delta x} = \frac{\beta_{Qx}}{\beta_{Qt}} \quad (6)$$

Resilience of species richness (e_x, e_t) in dependence on (x) or (t) was determined by the following manner:

$$e_x = \frac{\delta Q}{\delta x} \cdot \frac{x}{Q} = \beta_{Qx} \cdot \frac{x}{Q} \quad (7)$$

$$e_t = \frac{\delta Q}{\delta t} \cdot \frac{t}{Q} = \beta_{Qt} \cdot \frac{t}{Q} \quad (8)$$

The dynamic model (2) was calculated for the group of variants 2 to 6 and for years within 1988 to 1995 period (the same P + K nutrition, by principle *ceteris paribus*) using Gauss method of least squares. The characteristics (3) to (8) were derived from the model (2) by the principles of marginal analysis of quantitative variables.

RESULTS AND DISCUSSION

Different tendencies in development of species richness in differently fertilized stands were observed during the experimental period (Tab. III). In the non-fertil-

III. Total counts of higher plant species in the observed stands

Variant	Year												
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
1	17	17	18	23	22	22	19	17	18	18	18	20	21
2	19	21	21	21	20	19	18	17	18	18	19	19	20
3	17	20	22	18	18	17	18	17	20	16	19	21	18
4	17	20	22	16	14	14	12	12	13	10	13	19	17
5	15	20	20	15	16	14	13	9	12	15	12	16	17
6	15	17	23	8	8	7	10	8	9	12	12	11	13

IV. Initial and minimum theoretical values of species richness in the observed stands

Variant	Fertilization	Q'_0	$\Delta t_{Q'_{min}}$	Q'_{min}	$\Delta Q'$	$\Delta Q'/\Delta t$
2	0 N + PK	22.8	4.812	17.8	-5.0	-1.04
3	50 N + PK	22.1	5.282	16.2	-5.9	-1.12
4	100 N + PK	21.4	5.751	14.4	-7.0	-1.22
5	200 N + PK	20.0	6.690	10.5	-9.5	-1.42
6	300 N + PK	18.8	7.629	6.4	-12.4	-1.63

Q'_0 = theoretical count of higher plant species in the first year of different nutrition

Q'_{min} = theoretical minimum count of higher plant species

$\Delta Q'$ = $Q'_0 - Q'_{min}$

$\Delta t_{Q'_{min}}$ = theoretical count of years since the initial fertilization, after which count of higher plant species decreases to minimum level

V. Marginal values of species richness (β_{Q_t}) in the observed stands

Variant	t (years of observations)									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
2	-2.050	-1.624	-1.198	-0.772	-0.346	+0.080	+0.506	+0.932	+1.358	
3	-2.250	-1.824	-1.398	-0.972	-0.546	-0.120	+0.306	+0.732	+1.158	
4	-2.450	-2.024	-1.598	-1.172	-0.746	-0.320	+0.106	+0.532	+0.985	
5	-2.850	-2.424	-1.998	-1.572	-1.146	-0.720	-0.294	+0.132	+0.558	
6	-3.250	-2.824	-2.398	-1.972	-1.546	-1.120	-0.694	-0.268	+0.158	

VI. Resilience of species richness (e_t) in the observed stands

Variant	t									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	
2	0.000	-0.077	-0.122	-0.124	-0.077	+0.022	+0.167	+0.345	+0.541	
3	0.000	-0.091	-0.151	-0.169	-0.132	-0.037	+0.113	+0.305	+0.522	
4	0.000	-0.106	-0.184	-0.220	-0.199	-0.111	+0.044	+0.254	+0.511	
5	0.000	-0.139	-0.263	-0.352	-0.381	-0.324	-0.166	+0.088	+0.411	
6	0.000	-0.179	-0.365	-0.540	-0.673	-0.713	-0.599	-0.290	+0.197	

ized stand (variant 1) total count of plants increased insignificantly (approximately for 0.1 species per year). Thus, trend component of species richness dynamics showed nearly zero increase. A sinusoid oscillation along the trend component with about ten- or eleven-years cycle was observed. It can be characterized by

a polynomial of fourth-degree with maximum, inflexion and minimum at 3rd, 6th and 8th year, respectively. Changes in species richness in the non-fertilized stand and cycle duration ask for long-term observations of stands, which has been necessary for solution of their phytocenologic dynamics (Klečka, Fabian, 1934;

VII. Development of stand composition in variant 1 (non-fertilized), expressed by time succession of projective dominance (% D) of the individual species and agribotanical groups

Species	Year													
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	
Agribotanical group														
<i>Agropyron repens</i>	.	.	.	1	+	+	.	.	+	+	+	+	+	
<i>Agrostis stolonifera</i>	+	6	14	5	1	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Agrostis tenuis</i>	+	+	+	3	4	5	3	+	3	+	4	+	+	
<i>Alopecurus geniculatus</i>	+	40	12	2	+	4	2	1	3	+	4	+	+	
<i>Alopecurus pratensis</i>	49	17	8	9	11	8	10	13	8	5	4	7	18	
<i>Baldingera arundinacea</i>	4	+	+	+	
<i>Deschampsia caespitosa</i>	7	1	5	5	2	2	1	2	2	4	1	1	6	
<i>Festuca pratensis</i>	+	1	+	2	1	1	1	+	+	
<i>Holcus lanatus</i>	1	10	
<i>Lolium perenne</i>	.	.	.	+	+	.	+	.	+	+	+	.	.	
<i>Phleum pratense</i>	5	
<i>Poa palustris</i>	+	1	8	3	1	1	+	+	+	+	2	1	+	
<i>Poa pratensis</i>	16	11	5	18	14	18	18	10	18	11	6	4	3	
<i>Poa trivialis</i>	2	19	27	+	+	+	.	2	
Grasses	83	95	80	46	35	39	35	28	35	20	21	14	37	
<i>Trifolium dubium</i>	+	
<i>Trifolium hybridum</i>	.	.	+	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>Trifolium repens</i>	+	1	6	34	40	39	44	35	40	1	+	26	12	
Clovers	+	1	6	35	40	39	44	35	40	1	+	26	12	
<i>Bellis perennis</i>	+	+	+	+	+	+	.	+	.	
<i>Cardamine pratensis</i>	.	.	+	+	1	+	+	+	+	+	+	1	8	
<i>Cerastium vulgare</i>	.	+	1	2	5	+	3	1	4	1	2	1	1	
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	+	
<i>Myosotis palustris</i>	.	.	.	+	+	+	1	1	1	1	+	1	1	
<i>Plantago lanceolata</i>	.	.	.	1	2	3	
<i>Plantago media</i>	+	.	1	2	2	+	
<i>Ranunculus repens</i>	5	3	+	5	6	11	10	28	11	48	69	51	33	
<i>Rumex acetosa</i>	+	+	
<i>Rumex obtusifolius</i>	4	+	+	+	.	+	+	.	.	
<i>Taraxacum officinale</i>	1	+	4	5	4	3	5	7	6	5	2	2	6	
<i>Veronica chamaedrys</i>	+	+	+	+	
<i>Veronica scutellata</i>	.	.	.	+	3	2	1	.	1	+	+	+	+	
Other herbs	10	3	6	15	23	20	20	37	23	55	73	56	50	
<i>Carex leporina</i>	+	1	
<i>Juncaceae + Cyperaceae</i>	+	1	
Uncovered places	7	1	8	4	2	2	1	.	2	24	6	4	1	

Rychnovská et al., 1985; Moravec et al., 1994). On the contrary to oscillatory character in species richness of the non-fertilized stand, in its composition there can be seen some more distinct tendencies of succession – gradual decrease of grasses projective dominance and simultaneous increase of coverage degree of other herbs (mainly of *Ranunculus repens*) and since fourth year of the observations also of clovers (Tab. VII).

The dynamic non-linear regression model (9) describing development of species richness (Q) in dependence on N dose (x ; kg.ha⁻¹) and time (t ; 1988 = 0, 1989 = 1, ..., 1995 = 8) seems to be the most effective way for explanation and prediction of species richness of the observed differently fertilized cenoses:

$$Q = 22.845 - 0.015x - 2.050t + 0.000004824x^2 + 0.213t^2 - 0.004xt \quad (9)$$

$$\begin{bmatrix} I_{Q \dots xt} = 0.902^{**} \\ I_{Qx \dots t} = 0.813^{**} \\ I_{Qt \dots x} = 0.743^{**} \end{bmatrix}$$

Analytical characteristics (β = marginal species richness; α = marginal substitution; e = resilience of species richness), derived from the dynamic model (9) were specified by a following manner:

VIII. Development of stand composition in variant 2 (0 N + PK), expressed by time succession of projective dominance (% *D*) of the individual species and agrobotanical groups

Species	Year												
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Agrobotanical group													
<i>Agrostis stolonifera</i>	+	1	10	1	1	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Agrostis tenuis</i>	.	+	+	2	1	3	1	+	1	+	1	+	+
<i>Alopecurus geniculatus</i>	1	46	7	1	1	+
<i>Alopecurus pratensis</i>	50	23	6	10	12	11	11	14	10	7	11	11	29
<i>Baldingera arundinacea</i>	6	+	+	+	.	.	+	.	+	1	+	1	1
<i>Deschampsia caespitosa</i>	5	1	2	+	+	+	+	+	+	8	+	3	1
<i>Festuca pratensis</i>	+	+	2	2	2	1	1	+	1	1	1	+	+
<i>Lolium perenne</i>	.	.	.	1	2	1	1	+	1	+	1	.	.
<i>Phleum pratense</i>	3	+	+	.	+	.	.	+
<i>Poa palustris</i>	+	1	3	5	2	1	+	+	1	+	2	1	1
<i>Poa pratensis</i>	17	8	5	19	21	20	21	11	22	6	7	3	4
<i>Poa trivialis</i>	3	11	23	+	+	+	.	1	.	+	.	.	.
Grasses	85	91	58	41	41	37	35	26	36	23	23	20	36
<i>Trifolium dubium</i>	5	1
<i>Trifolium hybridum</i>	.	+	1	1	1	2	1	4	1	+	+	+	+
<i>Trifolium repens</i>	+	5	30	39	40	44	44	36	42	2	+	38	29
Clovers	+	5	31	40	41	46	45	40	43	2	+	43	30
<i>Bellis perennis</i>	+	+	+	.	+	+	+	.	.
<i>Cardamine pratensis</i>	+	.	+	+	1	1	+	.	+	+	+	2	4
<i>Cerastium vulgare</i>	.	+	2	4	9	4	2	+	4	+	1	+	+
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	+	1	+	.	+	.	+	.	.
<i>Myosotis palustris</i>	1	2
<i>Plantago lanceolata</i>	.	.	+	+	+
<i>Plantago media</i>	+	+	1	1	1	+
<i>Ranunculus repens</i>	4	2	+	2	1	3	11	28	10	58	70	29	21
<i>Rumex acetosa</i>	+
<i>Rumex crispus</i>	+	+
<i>Rumex obtusifolius</i>	3	+	+	+
<i>Taraxacum officinale</i>	1	1	3	8	6	7	6	4	6	1	4	3	6
<i>Veronica chamaedrys</i>	+	+
<i>Veronica scutellata</i>	.	+	+	+	+	2	1	+	1	+	+	+	+
Other herbs	8	3	6	15	18	17	20	33	21	59	75	35	33
Uncovered places	7	1	5	4	+	+	+	+	+	16	2	2	1

$$\beta_{Qt} = -0.015 + 0.000009648x - 0.004t \quad (10)$$

$$\beta_{Qr} = -2.050 - 0.004x + 0.426t \quad (11)$$

$$\alpha_{xt} = \frac{2.050 - 0.004x + 0.426t}{0.015 + 0.000009648x - 0.004t} \quad (12)$$

$$\alpha_{rx} = \frac{-0.015 + 0.000009648x - 0.004t}{-2.050 - 0.004x + 0.426t} \quad (13)$$

$$e_x = \frac{-0.015 + 0.000009648x^2 - 0.004xt}{22.845 - 0.015x - 2.050t + 0.000004824x^2 + 0.213t^2 - 0.004xt} \quad (14)$$

$$e_t = \frac{-2.050t + 0.426t^2 - 0.004xt}{22.845 - 0.015x - 2.050t + 0.000004824x^2 + 0.213t^2 - 0.004xt} \quad (15)$$

IX. Development of stand composition in variant 3 (50 N + PK), expressed by time succession of projective dominance (% *D*) of the individual species and agrobotanical groups

Species	Year												
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Agrobotanical group													
<i>Agrostis stolonifera</i>	+	+	9	1	+	+	+	+	+	.	+	+	+
<i>Agrostis tenuis</i>	+	+	+	2	+	+	+	+	+	.	+	+	.
<i>Alopecurus geniculatus</i>	1	11	4	+	+	.
<i>Alopecurus pratensis</i>	47	32	13	25	28	22	19	20	18	16	17	12	32
<i>Baldingera arundinacea</i>	3	+	+	.	.	.	+	+	+	.	.	+	+
<i>Deschampsia caespitosa</i>	4	2	4	+	+	+	+	+	1	18	4	4	2
<i>Festuca pratensis</i>	+	+	3	1	2	1	2	+	1	1	1	.	.
<i>Lolium perenne</i>	1	+	1	2	1	+	1	.	.
<i>Phleum pratense</i>	1	7	1	+	.	.	.	+	+	.	+	.	.
<i>Poa palustris</i>	+	3	4	5	3	1	+	+	1	2	2	1	3
<i>Poa pratensis</i>	18	10	4	23	20	21	18	17	20	13	7	1	3
<i>Poa trivialis</i>	3	35	27	3	1	+	.	1	1
Grasses	77	93	70	60	55	45	40	40	39	50	32	18	40
<i>Trifolium dubium</i>	2	1
<i>Trifolium hybridum</i>	.	+	+	+	+	.	+	+	+	+	+	2	.
<i>Trifolium repens</i>	1	2	14	20	26	25	34	27	32	3	+	29	24
Clovers	1	2	14	20	26	25	34	27	32	3	+	33	25
<i>Cardamine pratensis</i>	.	.	+	+	+	1	1	.	1	+	1	2	5
<i>Cerastium vulgare</i>	.	+	1	2	6	4	3	.	2	+	1	+	1
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	+	.	+	+	+	+	+
<i>Myosotis palustris</i>	+	+	+	1	+	+	+	2	1
<i>Plantago lanceolata</i>	.	.	+
<i>Plantago media</i>	.	+	1
<i>Ranunculus repens</i>	7	4	7	8	7	15	14	26	16	39	61	32	18
<i>Ranunculus acer</i>	+	+
<i>Rumex acetosa</i>	+	.	+
<i>Rumex obtusifolius</i>	5	+	+	1	+	+
<i>Taraxacum officinale</i>	2	1	3	7	5	8	7	6	6	5	2	4	8
<i>Veronica chamaedrys</i>	+	+	+	+	+
<i>Veronica scutellata</i>	.	+	.	+	1	2	1	+	1	+	+	+	+
Other herbs	14	5	12	18	19	30	26	33	26	44	65	40	33
<i>Carex leporina</i>	+	+	+	+
Juncaceae + Cyperaceae	+	+	+	+
Uncovered places	8	.	4	2	+	+	+	+	+	3	3	9	2

As results from the analysis of the model ($\delta Q/\delta t = 0$), with increasing N doses there intensifies decline in species richness per time unit (one year) and simultaneously extends time period of decrease of total species count to minimum level (Tab. IV). Time period from the start of different nutrition via initial decrease of species richness to the turning point (Δt_{Qmin}) in dependence on N dose (*x*) can be expressed quantitatively by the equation:

$$\Delta t_{Qmin} = 4.812 + 0.009389x \quad (16)$$

As can be seen from the development of marginal values of species richness (β_{Ql}) at different N doses

(+ PK), after the turning point (16) values of β_{Ql} are positive. Ordered trends are recognizable: at N doses 0, 50, 100, 200 and 300 kg.ha⁻¹ (+ PK) since about 6th, 7th, 8th and 9th year, respectively, since the start of fertilization (Tab. V).

A similar, diagonally orientated order within the matrix there show positive values of the resilience of species richness (Tab. VI).

Values $e_l > +0.1$ were observed in the stands fertilized with N doses 0, 50, 100, 200 and 300 kg.ha⁻¹ (+ PK) since 7th, 8th and 9th year, respectively, since the start of fertilization. Thus, the regeneration mechanism of floodplain meadows from species richness point of

X. Development of stand composition in variant 4 (100 N + PK), expressed by time succession of projective dominance (% *D*) of the individual species and agrobotanical groups

Species	Year													
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	
Agrobotanical group														
<i>Agrostis stolonifera</i>	1	+	8	+	+	+	+	+	
<i>Agrostis tenuis</i>	+	+	+	1	1	+	+	
<i>Alopecurus geniculatus</i>	+	8	2	+	
<i>Alopecurus pratensis</i>	53	37	26	3	1	42	35	33	32	26	30	12	30	
<i>Baldingera arundinacea</i>	4	+	8	1	1	.	+	+	1	.	+	+	.	
<i>Deschampsia caespitosa</i>	5	3	5	5	1	1	3	5	3	17	4	14	11	
<i>Festuca pratensis</i>	+	+	1	.	.	.	1	1	+	+	+	+	+	
<i>Phleum pratense</i>	1	+	+	
<i>Poa palustris</i>	+	3	3	6	2	1	+	3	
<i>Poa pratensis</i>	14	12	4	34	33	40	36	31	37	14	14	12	7	
<i>Poa trivialis</i>	3	33	24	1	2	1	.	1	
Grasses	81	96	81	79	82	78	73	71	72	57	48	38	50	
<i>Trifolium dubium</i>	1	2	
<i>Trifolium hybridum</i>	.	.	+	+	+	.	.	2	1	
<i>Trifolium repens</i>	1	1	10	5	3	2	6	5	5	+	.	13	19	
Clovers	1	1	10	5	3	2	6	5	5	+	.	16	22	
<i>Cardamine pratensis</i>	.	.	+	+	+	+	+	.	+	+	+	+	5	
<i>Cerastium vulgare</i>	+	+	+	2	4	2	2	+	2	+	1	.	1	
<i>Cirsium palustre</i>	.	.	.	+	+	.	+	.	.	
<i>Lychnis flos-cuculi</i>	+	.	
<i>Myosotis palustris</i>	+	+	
<i>Plantago lanceolata</i>	.	+	+	
<i>Plantago media</i>	.	+	1	
<i>Ranunculus repens</i>	6	2	2	6	8	13	12	18	15	29	45	30	10	
<i>Rumex acetosa</i>	+	1	1	
<i>Rumex obtusifolius</i>	2	+	1	2	+	+	+	+	.	
<i>Taraxacum officinale</i>	1	1	4	5	3	4	6	6	6	2	3	5	5	
<i>Veronica chamaedrys</i>	.	+	+	
<i>Veronica scutellata</i>	.	+	1	.	.	1	+	+	+	+	+	+	+	
Other herbs	9	3	9	15	15	20	20	24	23	31	49	36	22	
<i>Carex leporina</i>	+	+	+	
Juncaceae + Cyperaceae	+	+	+	
Uncovered places	9	.	+	1	+	+	1	.	+	12	3	10	5	

view was inhibited in increasing extent with increasing N (+ PK) doses.

The highest diversity, expressed by Shannon's index ($H = 1.857$), after eight-year application of different doses N (+ PK) was observed at dose 50 N + PK. With increasing N doses values of the index decrease continually to level 1.267 at dose 300 N + PK. Values of the index were about 1.75 in the stands non-fertilized with N (variants 1 and 2). After four years 1996 to 1999 with no fertilization, maximum values of the index $H_{\max} = 1.993$ was found in the stand fertilized with 200 N + PK during the eight-years experimental period, while the lowest value $H_{\min} = 1.345$ was observed in the stand fertilized with 0 N + PK (variant 2). The

found values of the index H have similar trends as production parameters (Střeleček, Klimeš, 1996) and rotational fertilization of grasslands seems to be appropriate.

Within the management of grassland stands composition there must be taken into account also proportion of the individual species and agrobotanical groups for harmonization of production and non-production roles of those phytocenoses (Duvigneaud, 1988; Klimeš, 1997).

In the observed stands the main species affecting both production and good quality were *Alopecurus pratensis*, *Poa pratensis* and *Trifolium repens*, while development of *Deschampsia caespitosa* and *Ranunculus repens* played a negative role in some variants. The considerable effect of nutrition and of total duration of

XI. Development of stand composition in variant 5 (200 N + PK), expressed by time succession of projective dominance (% D) of the individual species and agrobotanical groups

Species	Year												
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Agrobotanical group	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
<i>Agrostis stolonifera</i>	.	+	4	1	1	+	.
<i>Agrostis tenuis</i>	+	+	+	+
<i>Alopecurus geniculatus</i>	.	13	1
<i>Alopecurus pratensis</i>	50	38	33	43	51	46	41	34	44	39	37	32	20
<i>Baldingera arundinacea</i>	5	+	2	+	+	+	+	.	+	+	+	+	.
<i>Deschampsia caespitosa</i>	6	4	7	5	4	7	14	24	12	16	5	10	10
<i>Festuca pratensis</i>	+	1	5	2	+	1	1	1	1	1	1	1	1
<i>Holcus lanatus</i>	1	+
<i>Phleum pratense</i>	5	+	+	.	+
<i>Poa palustris</i>	+	1	3	1	1	+	+	1
<i>Poa pratensis</i>	16	15	2	37	31	34	33	21	31	19	20	11	11
<i>Poa trivialis</i>	4	20	23
Grasses	86	92	80	89	89	88	89	81	88	75	63	54	43
<i>Trifolium dubium</i>	1	1
<i>Trifolium hybridum</i>	.	.	+	+	+	.	1	1
<i>Trifolium repens</i>	+	5	9	+	1	+	+	+	+	+	.	2	19
Clovers	+	5	9	+	1	+	+	+	+	+	.	4	21
<i>Angelica sylvestris</i>	+
<i>Cardamine pratensis</i>	.	.	+	+	+	1	+	.	+	+	+	1	4
<i>Cerastium vulgare</i>	.	+	1	+	2	1	1	2	1	+	1	+	1
<i>Plantago media</i>	.	+	1
<i>Ranunculus repens</i>	3	+	+	3	2	3	5	12	6	21	32	22	18
<i>Rumex acetosa</i>	+	+
<i>Rumex obtusifolius</i>	3	2	1	5	2	2	+	.	.	2	2	2	1
<i>Sanguisorba officinalis</i>	+	1	+
<i>Taraxacum officinale</i>	2	1	7	2	3	3	5	5	5	1	.	3	6
<i>Veronica chamaedrys</i>	+	+	+	.	.	.
<i>Veronica scutellata</i>	.	+	+	+	+	+	+	.	+	+	+	3	+
Other herbs	8	3	10	10	9	10	11	19	12	24	35	32	30
<i>Carex leporina</i>	+	+	+	+
Juncaceae + Cyperaceae	+	+	+	+
Uncovered places	6	.	1	1	1	2	+	.	.	1	2	10	6

its application on dynamics of those species can be seen in Tabs. VIII to XII. The dose from 50 to 100 N + PK seems to be optimal from production, forage quality and species richness aspects and also for prevention of the necessity of substantial grassland improvement (mainly under extensive development of *Deschampsia caespitosa*). Application of doses 75 to 100 N + PK should not exceed two consecutive years for preservation of *Trifolium repens*.

Elimination of fertilization had a positive effect on decrease of *Deschampsia caespitosa* coverage (Tabs. XI and XII). The main role plays elimination of N application (Klimeš, 1997) at continuing P and if needed also K fertilization (Štráfelda, 1999 – personal communication).

Annual doses 200 N + PK seem to be necessary for permanent preservation of the stand type *Alopecuretum*. However, proportion of clovers decreased to negligible level under these circumstances. Application of that dose should not exceed five consecutive years. There is a risk of too extensive development of *Deschampsia caespitosa* in the stand type *Alopecuretum* developing on background of association *Stellario-Deschampsietum* FREITAG 1957 as a result of a prolonged 200 N + PK application.

Acknowledgements

The author wishes to thank for financial support following institutions of the Czech Republic: the National

XII. Development of stand composition in variant 6 (300 N + PK), expressed by time succession of projective dominance (% *D*) of the individual species and agrobotanical groups

Species	Year													
	1987	1988	1989	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	
Agrobotanical group														
<i>Agrostis stolonifera</i>	+	+	4	
<i>Agrostis tenuis</i>	.	+	+	
<i>Alopecurus geniculatus</i>	+	14	3	1	+	
<i>Alopecurus pratensis</i>	49	39	35	44	58	58	43	38	34	21	22	21	25	
<i>Baldingera arundinacea</i>	3	+	4	.	.	.	1	.	+	+	+	.	.	
<i>Deschampsia caespitosa</i>	4	5	8	7	4	9	15	31	35	46	30	11	8	
<i>Festuca pratensis</i>	.	+	5	1	
<i>Phleum pratense</i>	4	3	+	+	+	+	.	.	
<i>Poa palustris</i>	+	2	3	1	
<i>Poa pratensis</i>	19	13	4	38	34	26	34	15	26	9	21	12	10	
<i>Poa trivialis</i>	3	16	17	1	
Grasses	82	92	83	90	96	93	93	85	95	76	73	45	44	
<i>Trifolium hybridum</i>	.	.	+	1	1	
<i>Trifolium repens</i>	1	1	2	.	.	+	+	+	+	+	.	2	9	
Clovers	1	1	2	.	.	+	+	+	+	+	.	3	10	
<i>Aegopodium podagraria</i>	.	.	+	.	+	+	.	.	.	
<i>Angelica sylvestris</i>	+	
<i>Bellis perennis</i>	+	
<i>Campanula patula</i>	+	.	+	+	.	.	.	
<i>Capsella bursa-pastoris</i>	.	.	+	
<i>Cardamine pratensis</i>	.	.	+	+	4	
<i>Cerastium vulgare</i>	.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	.	3	
<i>Plantago lanceolata</i>	.	.	+	
<i>Plantago media</i>	.	+	+	
<i>Ranunculus repens</i>	4	+	+	.	1	3	4	12	3	22	23	27	17	
<i>Rumex acetosa</i>	+	+	
<i>Rumex obtusifolius</i>	3	6	9	9	+	1	.	
<i>Taraxacum officinale</i>	1	1	6	1	2	3	3	3	2	+	2	3	6	
<i>Urtica dioica</i>	.	.	+	
<i>Veronica chamaedrys</i>	+	
<i>Veronica scutellata</i>	3	2	
Other herbs	8	7	15	10	3	6	7	15	5	22	25	35	32	
<i>Carex leporina</i>	+	+	1	.	
Juncaceae + Cyperaceae	+	+	1	.	
Uncovered places	9	.	+	.	1	1	+	.	.	2	2	17	14	

Agency for Agricultural Research (project EP 0960006208), the Ministry of Education (CEZ J06/98 – 122200002 and 122200003) and the Grant Agency (206/99/1410).

REFERENCES

- Begon M., Harper J. L., Townsend C. R. (1997): Ecology – individuals, populations and communities. Olomouc, Univ. Palackého. (In Czech)
- Dufek J. (1979): Statistical modelling. Brno, ES VŠZ. (In Czech)
- Duvigneaud P. (1988): Ecological synthesis. Praha, Academia. (In Czech)
- Klečka A., Fabian J. (1934): Scientific base of grassland research. Praha, MZ ČR. (In Czech)
- Klimeš F. (1997): Grasslands science and management. České Budějovice, ZF JU. (In Czech)
- Moravec J. et al. (1994): Phytocenology. Praha, Academia. (In Czech)
- Prach K., Jeník J., Large A. R. G. (eds.) (1996): Floodplain ecology and management (the Lužnice river in the Třeboň biosphere reserve, central Europe). Amsterdam, SPB Acad. Publish.

Regal V., Veselá M. (1975): A research on grasslands typology. [Res. Rep.] Praha, AF VŠZ. (In Czech)
Rychnovská M. et al. (1985): Grasslands Ecology. Praha, Academia. (In Czech)

Střeleček F., Klimeš F. (1996): Resolving agrarian models in mountainous and submountainous regions in the Czech Republic. In: Montagnes d'Europe. Remiremont: 1-9.

Received on November 18, 1999

Corresponding author:

Doc. Ing. František Klimeš, CSc., Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Česká republika, tel.: +420 38 777 24 56, fax: +420 38 403 01, e-mail: klimes@zf.jcu.cz

A NON-DESTRUCTIVE METHOD OF THE EVALUATION OF FODDER WILTING AFTER CUTTING *IN SITU*

NEDESTRUKTIVNÍ METODA HODNOCENÍ RYCHLOSTI ZAVADÁNÍ PÍCE PO SEČI *IN SITU*

V. Míka¹, A. Kohoutek¹, J. Smrž²

¹ *Research Institute of Crop Production, Prague-Ruzyně, Research Station of Grassland Ecosystems, Jevíčko, Czech Republic*

² *TAGRO Červený Dvůr, Ltd., Plant Breeding Station, Tábor, Czech Republic*

ABSTRACT: In the process of the development of harvesting technologies and fodder conservation methods as well as in breeding of fodder plants for making silage or drying, it is necessary to evaluate also water loss speed from plant tissues after cutting by an accurate and sufficiently quick method. The method allowing the evaluation of relative differences between individual samples right on the swath was described. The barred frame (bar length 1 m) is put under the fodder lying on the swath. It will lift the fodder and grating (1 x 1 m) with dense slats to prevent fodder from falling when it is moved under it. The fodder occupies the same position as it was on the swath. The fodder overlapping the frame is cut away and the grating with the sample is left in the original place. For weight measuring any sensible scales would do. That means that it is a non-destructive method when after weighing wilting matter it is not necessary to dry it to constant weight (at 105 °C). The method was verified in two experiments: (1) for two grass species and red clover variety (Fig. 1) the loss of water from the the weight of original fodder was recorded in 30 minutes intervals; (2) for the fodder of five varieties of cocksfoot in two harvest years and three cuts a year the loss of water from the fodder after six hours of wilting was determined. Significant interspecific and varietal differences in water content decrease were determined. Cocksfoot varieties differences were discussed with the respect to the thickness of the layer of epicuticular waxes (negative relationship), or to the frequency of stomas on the leaves (on the face $r = 0.441$, on the back $r = 0.320$, $n = 40$), resp.

Keywords: fodder; grasses; leguminous plants; wilting; drying; speed of desiccation; varieties

ABSTRAKT: Pro potřeby šlechtění pícnin, pratotechnického výzkumu, ověřování technologií sklizně a další byla navržena jednoduchá, rychlá a dostatečně přesná metoda měření ztráty vody během zavádání. Pod právě posečený řádek pícnin se zasune rám s pruty, píce se jím nadzvedne, vsune se pod něj latkový rošt a rám s pruty se vytáhne. Píce na rámu se zváží na počátku a v potřebném časovém intervalu se stanovuje ztráta vody vztažená k počáteční hmotnosti píce na roštu. Požaduje-li se maximální chyba 3 %, postačí čtyři paralelní měření. Je prezentován odlišný průběh ztrátových křivek u jetele lučního a dvou trav během prvních 6 h zavádání. V dalším pokuse byly zjištěny významné odrůdové rozdíly ve ztrátě vody po 6 h zavádání u srhy. Rozdily byly analyzovány s ohledem na sílu vrstvy epikutikulárních vosků a na četnost průduchů na abaxiální a adaxiální straně listů.

Klíčová slova: píce; trávy; jeteloviny; zavádání; sušení; rychlost desikace; odrůdy

INTRODUCTION

The speed of water content decrease in grasses and legumes after the harvest is decisive for the amount of loss of nutritional value of conserved fodder. Condensation of cell content and creating suitable conditions for fermentation process happen during the silage fodder wilting. During hay making there are two phases: (a) water content decrease until the condition when cells die out and (b) the phase of finishing the drying process. The course of both phases for glycidid and proteinous fodder is rather different.

Fodder, wilting on the swath, goes through important aerobic chemical changes as a result of enzymatic ac-

tivity of oxidation cycle, esp. hydrolyses, and also proteases. After a short time the photosynthesis fades away. If the cells still show turgor, hydrolysis of organic matter and respiration accompanied by CO₂ production yet continues. After the interruption of transpiration stream, the tissues start to dry out and from the beginning the separated plant matter protects from water loss by a quite quick closure of stomas. If the increase of concentration of electrolytes in the cells leads to the collapse of enzymatic system, the cells start to die out. This state is characterised, for example by an obvious increase of osmotic pressure of cellular liquid, changes of colloid system, decrease of protoplasm permeability. Respiration activity ceases with the water

content in tissues at about 35% (Greenhill, 1959). Enzymatic changes are followed by non-enzymatic changes that are supported by higher temperature, light, sufficient amount of air and even in relatively dry hay by the activity of bacteria and mould. If dehydration progresses slowly, the cells stay alive for a long time and the loss of nutrients increases significantly.

Next vapour increase depends on relative air humidity. With decreasing regulating power the temperature rises, particularly in leaves, and the drying out is accelerated. This can lead under some circumstances (for example, hot air drying) to the denaturation of enzymes.

After cutting the very young plants lose water faster than the older plants. On the contrary plants with higher content of water-soluble carbohydrates, soluble proteins and soluble polypeptides dry more slowly. The speed of wilting exhibits considerable differences among botanical species (Míka et al., 1997); differences among varieties are also supposed. The process of wilting depends not only on the initial water content and fodder qualities, but also on meteorological conditions (esp. temperature, relative air humidity, airflow, and mechanical destruction of plant tissues). Therefore exact methods for evaluation of the interspecific and intraspecific differences have to minimize the influence of these exogenous agents.

In our breeding practice a non-destructive method worked well. It meant that after weighing wilting fodder in time intervals, it is not necessary in addition to dry the fodder artificially to constant weight (at 105 °C). It is sufficiently accurate and expeditious at the same time and technically simple. It can be carried out easily in the field conditions. We present its description with the evaluation of two experiments.

MATERIAL AND METHODS

At the breeding station TAGRO Červený Dvůr near Tábor the loss of water during gradual wilting was measured in the first cut of the second harvest year for two grass species and one leguminosae (Fig. 1). The cutting was performed at the phase heading (grasses),

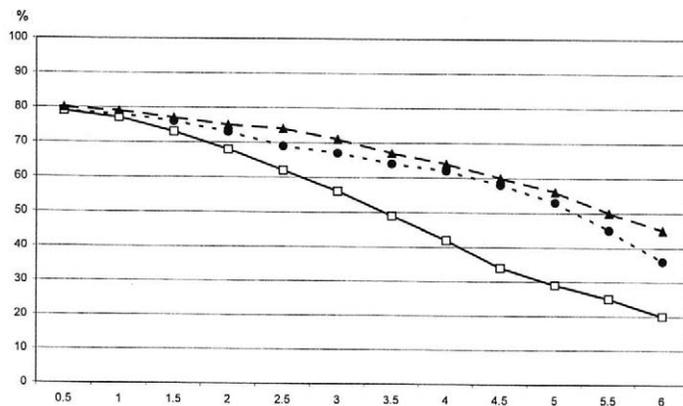
in the beginning of florescence (leguminosae), resp., during sunny weather after the dew disappeared (9.30). In half an hour intervals for six hours we recorded the loss of water from the weight of initial cut fodder, that is in grams of water from 100 g of fodder. The measurement was done in four replications.

In the second trial there was in three cuts, in two years (1998, 1999) and four replications measured the loss of water in the fodder of cocksfoot varieties that was left on the swath for six hours. The water content decrease was expressed in the same way as in the previous trial.

Our method is adjusted to the common width of plots in variety trials at the station. The plot, 1 m wide, is cut with a mower of the same width of span. Using the frame with rods (plastic, 1 m long, 0.1 m span) the fodder is carefully taken and put onto the grating, sized 1 x 1 m. The fodder is placed on the grating in the same position as on the swath. The fodder overlapping the sides is cut off and the grating with fodder stays in the initial position. To measure its weight (initial, in the set time period, resp.) any sensitive scale is sufficient.

RESULTS

Whereas the initial water content in the fodder of cocksfoot, prairie grass and red clover showed only small differences (80.4, 78.0 and 82.2%, resp.), the following wilting exhibited rising differences in the time (Fig. 1). Red clover Tábor showed the slowest wilting with the almost linear progress of water content decrease in the first five hours. During the sixth hour the water decrease starts to gain some speed. The similar progress was shown by cocksfoot newly bred ČD with the only difference that the water content decrease was in the beginning about 1 to 3% higher, in the sixth hour by 9% higher and it reaches 46%. Rather different progress was shown by prairie grass (*Bromus catharticus*) Tacit. Already in the second hour of wilting the decrease of water content is obviously higher compared to orchard grass and clover (14 versus 5 or 6%, resp.).



1. The water content decrease in % out of the absolute content during six hours of fodder wilting; the average of measurements from the 1st cut in 1999, four replications

••• *Dactylis glomerata*, newly bred material ČD
 —□— *Bromus catharticus* Tacit
 -▲- *Trifolium pratense* Tábor

I. The water content decrease in % out of the absolute content during six hours of fodder wilting of five cocksfoot varieties; the average of measurements from 1998, 1999, the 1st, 2nd and 3rd cut, four replications

Species	Variety	Water content at the harvest	Water content decrease in fodder after wilting for 6 h
<i>Dactylis glomerata</i> L.	Tenderbitte	81.3	37.1
	Dolcea	81.0	40.4
	Niva	81.6	45.0
	nbn.* ĆD	81.4	44.3
<i>Dactylis polygama</i> Horvat.	Tosca	81.1	48.5
Lowest significant difference for varieties		$D_{70,05}$	5.7
		$D_{70,01}$	7.5
Interaction variety x cut		$D_{70,05}$	N. S.
Interaction variety x year		$D_{70,05}$	N. S.
Interaction variety x cut x year		$D_{70,05}$	N. S.

N. S. = non-significant differences

* newly bred material

And the next hours the difference is getting greater. The shape of loss curves shows sigmoid progress which corresponds to the function of hyperbolic tangent (tgh).

After six hours of wilting, cocksfoot (Tab. I) exhibited significant variety differences. Tetraploid species *Dactylis glomerata* exhibited lower decrease of water content for both varieties with smooth leaves (Tenderbitte, Dolcea) than for the varieties with harsh leaves (Niva, newly bred ĆD). Variety Tosca of diploid species *Dactylis polygama* showed significantly higher water loss after six hour of wilting. Considering statistically insignificant ($P_{0,05}$) interactions of the factor variety with the other factors (harvest year, cut), the variety differences in the water loss after six hours of wilting in the trial conditions can be regarded not only significant, but also relatively steady over cuts and years.

It was also calculated from the measured figures (Tab. I) that to keep the maximal error of determination $\Delta \leq 3\%$ of the water loss during fodder wilting and $P_{0,05}$, the 3.85 parallel measurements for this method are needed.

DISCUSSION

The suggested method of the evaluation of fodder wilting speed can be used for measurement of the water loss either once to the defined point of time or repeatedly in the period of time. The advantages are its quickness, technically simple measurement, and four parallel measurements provide sufficient accuracy. Some problems can arise with very low yield of fodder when it does not make continuous line and its lifting and placing the grating underneath is a bit difficult. A similar principle for measuring wilting speed was used by Gailard (1998), but he used mobile equipment Cemagref. In his study he worked with two parallel measurements, but he does not present the error magnitude. On the contrary, the destructive methods, that are methods

when small samples (up to 1 kg of green fodder) are gradually dried in bags or on trays in the drying room, use up to 15 replications (Hübner, Wagner, 1975).

The trial with cocksfoot varieties (Tab. I) confirmed that also among varieties of the same botanical species could be significant differences with high repeatability over cuts and years. The term the speed of wilting can be used as a selection criterion in breeding of forage varieties for conservation.

The slower fodder wilting of both cocksfoot varieties with smooth leaves can be connected with a thicker layer of epicuticular waxes (Tetter, Míka, 1987), because the passage of water through cuticula after closing stomatal apparatus gets difficult and tissues desiccation slows down. We also searched the influence of stoma density on the leaf on the speed of wilting. We found out significant positive relationship between the speed of wilting and the number of stomas on the leaf front in the first cut ($\bar{x} = 212 \pm 55$ per 1 mm^2 ; $r = 0.441^{**}$; $n = 40$) and on the leaf back ($\bar{x} = 97 \pm 36$ per 1 mm^2 ; $r = 0.320^*$; $n = 40$). The significant positive correlation ($P_{0,99}$) between the number of stomas and the speed of water loss after harvest for Italian ryegrass is presented by Falkowski et al. (1978). Polyploid varieties have less stomas than diploid varieties and drying takes longer time (Tab. I). Tetraploid grass varieties are not suitable for drying for hay because they have higher content of water and the water decrease after cut is slower (ADAS, 1978).

Time progress of the water loss in individual species is not uniform (Fig. 1). Red clover wilts more slowly than grasses. If we suppose that during hay making the fodder lies on the swath four days in average and during wilting for silage three days, it should be turned over twice a day, in the final day just once before rolling up (Honig, Rohr, 1974). Red clover has to be turned over earlier after harvest and more often than grasses. The evaluation of the speed of wilting of different plant species has its practical usage particularly for the veri-

fication of new technologies and in pratotechnique research.

REFERENCES

- ADAS (1978): Growing grass for hay. MAFF ADAS Leaflet, Pinner (England), GFG 53.
- Falkowski M., Kukulka I., Kozłowski S. (1978): Morphological, anatomical and phytochemical properties of *Lolium multiflorum* cultivars affecting its fodder value. Proc. 7th Gen. Meet. EGF, Gent (1): 31–40.
- Gaillard F. (1998): Suivi de la dessiccation. Présentation d'une méthode d'essai. Fourrages, (156): 487–490.

- Greenhill W. L. (1959): The respiration drift of harvested pasture plants during drying. J. Sci. Fd. Agric., 10: 495–501.
- Honig H., Rohr K. (1974): Biologische Kenndaten verschiedener Konservierungsverfahren. Wirtsch.-eig. Futter, 20: 265–276.
- Hübner R., Wagner F. (1975): Untersuchungen über den Trocknungsverlauf von Gräsern und Kleearten. Wirtsch.-eig. Futter, 21: 247–263.
- Míka V. a kol. (1997): Fodder quality. Praha, ÚZPI. (In Czech)
- Tetter M., Míka V. (1987): Forming the leaf surface of cocksfoot (*Dactylis glomerata*) cultivars. Preslia (Praha), 59: 311–314. (In Czech)

Received on November 4, 1999

Corresponding author:

Ing. Václav Míka, DrSc., Výzkumný ústav rostlinné výroby, Praha-Ruzyně, Výzkumná stanice travních ekosystémů, Jevíčko, K. H. Borovského 461, 569 43 Jevíčko, Česká republika, tel.: +420 462 32 78 14, fax: +420 462 32 78 14, e-mail: veste@orc.cz

VYUŽITÍ SE-HPLC ANALÝZY PROLAMINOVÝCH ZÁSOBNÍCH BÍLKOVIN PRO PREDIKCI TECHNOLOGICKÉ JAKOSTI ODRŮD OZIMÉ PŠENICE

USE OF THE SE-HPLC ANALYSIS OF PROLAMIN STORAGE PROTEIN TO PREDICT BREADMAKING QUALITY IN WINTER WHEAT VARIETIES

K. Hubík

Agricultural Research Institute Kroměříž, Ltd., Czech Republic

ABSTRACT: Storage non-functional prolamin protein of wheat grain endosperm is a protein producing an amino acid pool for germination and new plant growth. From this protein, a gluten protein complex is formed during the flour hydration and mixing process associated with dough production and plays a crucial role in breadmaking quality of wheat grain due to its viscoelastic properties. The SE-HPLC analysis of prolamin protein of wheat grain endosperm was performed in 14 winter wheat varieties of the Czech and Slovak origin. The analysis showed separating prolamin storage protein into high-molecular prolamin fractions that reach a molecular weight of millions Dalton. Prolamin aggregates of 400 000 to 600 000 Dalton are present in other field of the chromatogram. These protein polymers, however, were not always thoroughly separated from monomer gliadin prolamin protein (molecular weight of 40 000 to 100 000 Dalton) in each variety. SE-HPLC chromatographs of wheat grain protein showed similarities in quality among individual varieties that suggest including the varieties in groups based on genetic linkage and need to be investigated more. The obtained SE-HPLC chromatographs were quantified using the two methods: (1) correlation analysis between SE-HPLC protein prolamin fractions F1, F2 and F1/F2 ratio and individual parameters of breadmaking quality of wheat grain, and (2) linear regression between alveographic resistance and alveographic extensibility, and SE-HPLC prolamin fractions F1, F2 and F1/F2 ratio. Quantitative statistical results reveal that highly significant correlation coefficients between alveographic resistance and extensibility and SE-HPLC fractions F1 and F2 and/or their F1/F2 ratio completed with results of linear regression indicate an important effect of high-polymer prolamin protein and prolamin protein with molecular weight of 100 000 to 600 000 Dalton on elasticity and extensibility of the gluten complex, i.e. dough as well. The obtained data show that a higher level of high-molecular fraction F1 (prolamin protein of 600 000 to 1 000 000 Dalton) decreases dough elasticity, and by contrast, increases dough extensibility. The latter is decreased by SE-HPLC fraction F2 which includes prolamin protein with molecular weight of 100 000 to 600 000 Dalton. The assessed data of correlation analysis indicate a possibility of using the SE-HPLC analysis of prolamin storage protein in the study of relationships between protein wheat grain endosperm and breadmaking quality, and particularly in genetic and breeding practice due to a low amount of material necessary for analyses.

Keywords: winter wheat; variety; grain; endosperm; storage proteins; prolamins; SE-HPLC; viscoelastic properties

ABSTRAKT: U 14 odrůd ozimé pšenice českého a slovenského původu byla provedena SE-HPLC analýza prolaminových bílkovin endospermu zrna pšenice. Z průběhu SE-HPLC analýzy je patrné rozdělení prolaminových zásobních bílkovin na vysokomolekulární prolaminové frakce dosahující molekulární hmotnosti řádově milionů Daltonů. V další oblasti chromatogramu jsou prolaminové agregáty molekulární velikosti řádově 400 000 až 600 000 Daltonů. Tyto bílkovinné polymery nebyly však vždy u každé odrůdy dokonale odděleny od monomerních gliadinových prolaminových bílkovin (molekulární hmotnost 40 000 až 100 000 Daltonů). SE-HPLC chromatografie bílkovin zrna pšenice ukázaly jisté kvalitativní podobnosti mezi jednotlivými odrůdami, které naznačují seskupování odrůd na základě genetických vazeb a vyžadují další studium. Interpretace získaných SE-HPLC chromatografů z kvantitativního pohledu byla realizována na základě korelační analýzy mezi SE-HPLC bílkovinnými prolaminovými frakcemi F1, F2 a poměrem F1/F2 a jednotlivými parametry technologické jakosti pšeničného zrna a lineární regresi mezi alveografickou rezistencí a alveografickou extenzibilitou a SE-HPLC prolaminovými frakcemi F1, F2 a poměrem F1/F2. Z výsledků vyplývají statisticky velmi vysoce průkazné korelační koeficienty mezi alveografickou rezistencí a extenzibilitou a SE-HPLC frakcemi F1 a F2, popřípadě jejich poměrem F1/F2. Výsledky lineární regrese ukazují na významný vliv vysokopolymerních prolaminových bílkovin a prolaminových bílkovin molekulární hmotnosti 100 000 až 600 000 Daltonů na elasticitu a tažnost lepkového komplexu, a tím i samotného těsta. Vyšší množství vysokomolekulární frakce F1 (prolaminové bílkoviny o velikosti 600 000 až 1 000 000 Daltonů) snižuje elasticitu těsta a zvyšuje tažnost těsta, která je naopak snižována SE-HPLC frakcí F2, zahrnující prolaminové bílkoviny o molekulární hmotnosti 100 000 až 600 000 Daltonů. Výsledky korelační analýzy naznačují možnost využití SE-HPLC analýzy prolaminových zásobních bílkovin ve studiu vztahu bílkovin endospermu zrna pšenice a technologické jakosti a dále v genetické a šlechtitelské praxi pro malé množství analyzovaného materiálu.

Klíčová slova: ozimá pšenice; odrůda; zrno; endosperm; zásobní bílkoviny; prolaminy; SE-HPLC; viskoelastické vlastnosti

ÚVOD

Ze zásobních nefunkčních prolaminových bílkovin endospermu pšeničného zrna (bílkoviny tvořící aminokyselinový pool potřebný pro klíčení a utváření nové rostliny) se v procesu hydratace a hnětení mouky spojením s tvorbou těsta vytváří lepkový bílkovinný komplex, sehrávající pro své viskoelastické vlastnosti dominantní roli v technologické jakosti zrna pšenice (Pomeranz, 1988).

Vlastní zásobní prolaminové bílkoviny endospermu pšeničného zrna tvoří jednotlivou chemickou látku homogenního složení, ale složitý komplex frakcí bílkovin různého aminokyselinového složení, a tím i různé terciární a kvartérní struktury. Tento celek ovlivňuje funkční vlastnosti jednotlivých frakcí. Zásobní bílkoviny endospermu pšeničného zrna můžeme do těchto frakcí rozdělit několika způsoby. Nejstarší je Osbornova metoda (Osborne, 1907), založená na rozpustnosti bílkovin v roztocích, která má celou řadu modifikací (Chen, Bushuk, 1970).

Zásobní endospermální prolaminové bílkoviny se podle této metody dělí na rozpustné ve zředěných roztocích alkoholu (etanol, propanol), tzv. gliadiny, dále na rozpustné v slabě koncentrovaných kyselinách (např. kyselina octová) nebo zásadách, tzv. gluteniny, a na nerozpustný zbytek. V pozdější době bylo zjištěno, že tyto tzv. gluteniny jsou po účinku redukčních činidel, jako je např. beta-merkaptetanol, redukující disulfidické S-S vazby aminokyseliny cystinu, také rozpustné ve zředěných roztocích alkoholů.

Gliadiny a gluteniny obsahují v různém množství sirmé cysteinové zbytky a na základě jejich množství lze dělit tyto bílkoviny do tří skupin (Shewry, Tatham, 1997):

1. S-bohaté prolaminy (alfa, beta, gama gliadiny a nízkomolekulární LMW gluteniny)
2. S-chudé prolaminy (omega gliadiny)
3. vysokomolekulární HMW gluteniny

Sírná aminokyselina cystein pomáhá vytvářet intra- a interdisulfidické S-S vazby mezi jednotlivými skupinami prolaminových bílkovinných polypeptidů, čímž vznikají vysokomolekulární bílkovinné agregáty, které představují konečnou strukturu a chování lepkového viskoelastického komplexu (Shewry et al., 1992).

Interdisulfidické vazby, tvořící polymery o molekulové hmotnosti řádově milionu Daltonů, jsou především formovány mezi vysokomolekulárními HMW a nízkomolekulárními prolaminovými gluteninovými bílkovinami.

Intradisulfidické vazby vytvářejí především S-bohaté prolaminy (alfa, beta a gama gliadiny a nízkomolekulární LMW gluteniny), představující v nativním stavu monomerní řetězce velikosti 30 000 až 100 000 Daltonů.

Z řady prací je zřejmé, že právě vysokomolekulární prolaminové agregáty sehrávají důležitou roli v technologické jakosti pečárenské pšenice (Gluten proteins 1993, 1994).

Analytická separace bílkovin na základě molekulárních hmotností je možná několika způsoby. Nejstarší metodou je gradientová ultracentrifugace, která je ná-

ročná jak experimentálně, tak instrumentálně a z těchto důvodů není příliš rozšířená v běžné praxi. Teprve po objevení gelové vylučovací chromatografie, u níž jsou molekuly dělené látky promývány mobilní fází přes otvory definované velikostí molekulárního síta gelového vysokopolymerizované nosiče, a tak děleny na základě své velikosti, resp. molekulární hmotnosti, došlo k širšímu použití analýzy molekulární hmotnosti prolaminových bílkovin endospermu zrna pšenice v cereální praxi.

Spojení gelové vylučovací chromatografie s instrumentální technikou vysokotlaké kapalinové chromatografie (SE-HPLC) umožnilo rychlé provádění této analýzy a možnost predikce pečárenské jakosti pšenice i ve šlechtitelském procesu (Dachkevitch, Autran, 1989; Singh et al., 1990; Gupta et al., 1993).

Naším cílem bylo ověřit tuto metodu pro predikci technologické jakosti některých českých a slovenských odrůd.

MATERIÁL A METODY

Pro analýzu molekulových hmotností pomocí SE-HPLC byl využit kapalinový chromatograf PU 4100 a UV-VIS detektor PU 4110 fy Philips (Pye-Unicam). Použitá kolona byla WATREX GMB 500, 8 x 250 mm, velikost částic 7 μm . Mobilní fází byl 50mM fosfátový pufr pH 6,9 o iontové síle $I = 0,3$ s přídavkem 0,1% SDS. Byla provedena izokratická eluce s konstantním průtokem 0,5 ml/min. Detekce proběhla při 214 nm. Registrace piků včetně integrace byla realizována na PC Data Station fy Philips.

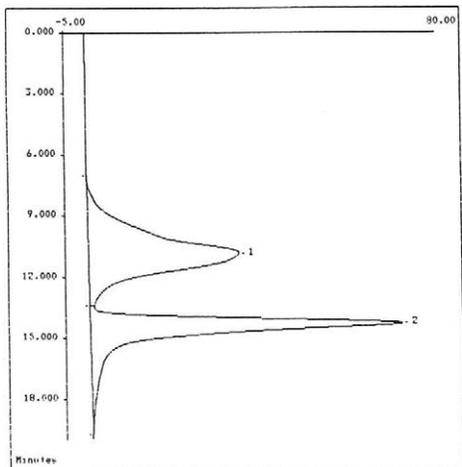
Pro analýzu byla použita mouka (T 550) umletá na mlýnku Brabender Junior z českých a slovenských odrůd a genotypů pšenic: Astella (třída pečárenské jakosti B), Ilona (E), Bruta (A), Boka (B), Brea (E), Bruneta (B), BR 458 (A), Hana (A), Asta (B), Alka (A), Alana (A), Samanta (A), Siria (B) a Samara (C). Odrůdy pšenice byly pěstovány ve zkouškách výkonů v ročníku 1996/1997 v lokalitě Kroměříže.

Mouka byla extrahována 10 ml 0,1M fosfátového pufru pH 6,9 obsahujícím 2,0% SDS po dobu 2 h při teplotě 60 °C s občasným promícháním. Po extrakci následovala centrifugace při 15 000 ot./min a filtrace supernatantu přes membránový filtr 0,45 μm . Filtrát byl nanášen v množství 20 μl na kolonu.

U všech analyzovaných odrůd pšenic byly provedeny technologické rozbor (podle metodik AACC a ICC a ČSN); obsah bílkovin v zrně a mouce, objemová hmotnost, obsah lepku a GI na přístroji Glutomatic, bobtnání lepku, viskositest, SDS-seditest, tvrdost na nástavci k farinografu, tvrdost na přístroji SKCS 4100, reologická měření na farinografu a alveografu.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Průběh SE-HPLC analýzy standardů Thyroglobulinu (molekulová hmotnost 669 000 Daltonů) a Ribonuclease A (molekulová hmotnost 13 700 Daltonů) na koloně WATREX GMB 500, 8 x 250 mm pomocí 50mM fosfá-



SE - HPLC
Standardů

1. SE-HPLC analýza standardů – SE-HPLC
analysis of standards

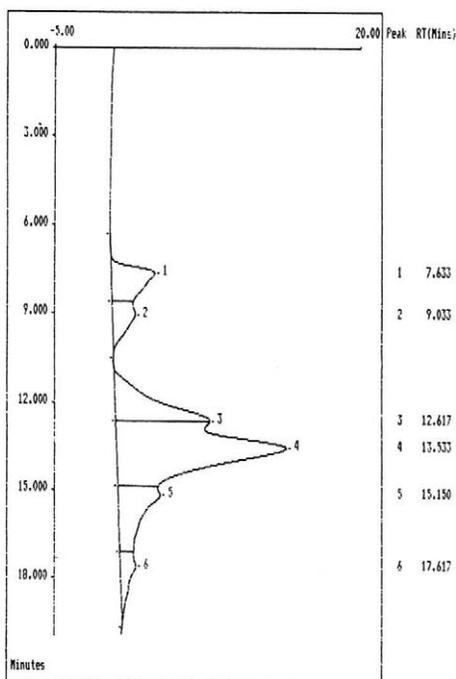
tového pufru pH 6,9 ($I = 0,3$) s 0,1% SDS podává obr. 1. Počátek eluce Thyroglobulinu je cca v 7. min, oba píky standardů jsou od sebe velmi dobře separovány. Thyroglobulin dosahuje maxima v 10,8. min a Ribonucleasa A v 14,3. min.

Výsledky SE-HPLC analýzy prolaminových bílkovin endospermu zrna pšenice odrůdy Brea znázorňuje obr. 2. Z průběhu SE-HPLC analýzy je patrné rozdělení prolaminových zásobních bílkovin na vysokomolekulární agregáty (píky v oblasti od cca 6. min retenčního času do 10,8. min), dosahující molekulární hmotnosti řádově milionů Daltonů (standard Thyroglobulin s 669 000 Daltonů má retenční čas v 10,8. min). V další oblasti mezi 10,8. a 12. min jsou prolaminové agregáty molekulární velikosti řádově 400 000 až 600 000 Daltonů. Tyto bílkovinné polymery nebyly však vždy u každé odrůdy dokonale odděleny od monomerních gliadinových prolaminových bílkovin (molekulární hmotnost 40 000 až 100 000 Daltonů), které se na chromatografu objevují od 12. min, dosahují svého maxima cca v 13,3. min a jejich množství je několiknásobně větší než množství vysokopolymerních prolaminových bílkovin.

Získaný SE-HPLC chromatogram (obr. 2) ukazuje na lepší separaci prolaminových bílkovin endospermu zrna pšenice než v citované zahraniční literatuře (Dachkevitch, Autran, 1989), a to především vydělením vysokopolymerních prolaminů o molekulové hmotnosti řádově milion Daltonů.

SE-HPLC chromatografie bílkovin zrna pšenice vykazují dále kvalitativní podobnosti mezi jednotlivými odrůdami, na jejichž základě dochází k seskupování odrůd, které je způsobeno především genetickými vazbami a vyžaduje další studium.

Interpretace získaných SE-HPLC chromatografů z kvantitativního pohledu je uvedena v tab. I, která obsahuje výsledky korelační analýzy mezi SE-HPLC bílkovinnými frakcemi F1 (= součet ploch vysokomolekulárních prolaminových bílkovin s retenčním časem 6 až 10,8 min dělený celkovou plochou pod píky chromato-



2. SE-HPLC analýza prolaminových bílkovin endospermu zrna pšenice odrůdy Brea – SE-HPLC analysis of prolamin proteins of grain endosperm of wheat variety Brea

grafu a násobený 100), SE-HPLC frakcí F2 (= součet ploch s retenčním časem 10,8 až 12 min dělený celkovou plochou pod píky chromatografu a násobený 100) a poměrem F1/F2 a jednotlivými parametry technologické jakosti pšeničného zrna.

Statisticky velmi vysoce průkazný ($P = 0,99$) korelační negativní vztah byl nalezen mezi frakcí F1 a po-

měrem frakcí F1/F2 a alveografickou rezistencí (tab. I). Kladná korelace ($P = 0,99$) se vyskytovala mezi alveografickou extenzibilitou a frakcí F1 a poměrem frakcí F1/F2. V případě poměru frakcí F1/F2 dosáhl tento korelační vztah nejvyšší hodnoty v celém sledovaném souboru ($r = 0,9137$). Mezi frakcí F2 a alveografickou extenzibilitou byl naopak zjištěn negativní korelační vztah (tab. I) o vysoké statistické průkaznosti ($P = 0,99$).

Uvedené výsledky jsou ve shodě s literaturou (Dachkevitch, Autran, 1989; Singh et al., 1990). Na rozdíl od citovaných autorů nebyly u našeho sledovaného souboru zjištěny žádné statisticky významné korelace mezi jednotlivými SE-HPLC frakcemi a alveografickou energií. V souladu s uvedenými autory byl nalezen korelační negativní vztah ($P = 0,90$) mezi frakcí F2 a sedimentačním testem (tab. I). Statisticky velmi vysoce průkazné ($P = 0,99$) negativní korelace (tab. I) byly dále zaznamenány mezi SE-HPLC frakcemi F1 a poměrem F1/F2 a vazností vody moukou a tvrdostí zrna ($P = 0,95$).

Pro další statistické vyhodnocení získaných výsledků byla vypočítána a graficky zobrazena lineární regrese mezi alveografickou rezistencí a alveografickou extenzibilitou a SE-HPLC frakcemi F1, F2 a poměrem F1/F2 (obr. 3 až 7). Vypočítané rovnice lineárních regresí vykazovaly vysoké hodnoty koeficientů determinace, přičemž nejnižšího koeficientu bylo dosaženo u regrese mezi SE-HPLC frakcí F1 a alveografickou extenzibilitou, $R^2 = 0,5567$ (obr. 5), nejvyšší koeficient determinace byl nalezen u lineární regrese mezi poměrem F1/F2 a alveografickou extenzibilitou, $R^2 = 0,8349$ (obr. 7).

Ze směrnic lineárních regresí vyplývá, že množství SE-HPLC vysokomolekulární frakce F1 ovlivňuje negativně alveografickou rezistenci (obr. 3) a naopak pozitivně alveografickou extenzibilitu (obr. 5). SE-HPLC frakce F2 zahrnující bílkovinné polymery řádově o velikosti 100 000 až 600 000 Daltonů měla na alveografickou extenzibilitu negativní vliv (obr. 6). Vzhledem k vysokému koeficientu determinace $R^2 = 0,8349$ se jako velmi slibná ukázala lineární regrese mezi poměrem frakcí F1/F2 a alveografickou extenzibilitou (obr. 7).

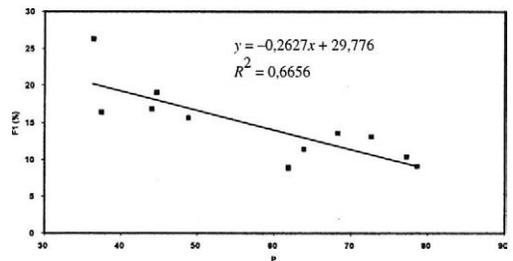
Statisticky velmi vysoce průkazné korelační koeficienty mezi alveografickou rezistencí a extenzibilitou a SE-HPLC frakcemi F1 a F2, popřípadě jejich poměrem F1/F2, doplněné výsledky lineární regrese, svědčí o významném vlivu vysokopolymerních prolaminových bílkovin a prolaminových bílkovin molekulární hmotností 100 000 až 600 000 Daltonů na elasticitu a tažnost lepkového komplexu, a tím i samotného těsta. Vyšší množství vysokomolekulární frakce F1 (prolaminové bílkoviny o velikosti 600 000 až 1 000 000 Daltonů) snižuje elasticitu těsta a zvyšuje tažnost těsta, která je naopak snižována SE-HPLC frakcí F2, zahrnující prolaminové bílkoviny o molekulární hmotnosti 100 000 až 600 000 Daltonů.

Dalším problémem, který bude třeba řešit, jsou prolaminové bílkoviny, které zůstávají v nerozpustném zbytku po extrakci fosfátovým pufrům. Jejich množství a molekulární hmotnostní distribuce mohou zcela změnit výsledky získané klasickou extrakcí a násled-

I. Výsledky korelační analýzy – Results of correlation analysis

	F1	F2	F1/F2
Alveografická energie ¹ (W)	-0,1502 N	-0,324 N	-0,0411 N
Alveografická rezistence ² (P)	-0,8159 ***	0,4736 N	-0,8051 ***
Alveografická extenzibilita ³ (L)	0,7462 ***	-0,8021 ***	0,9137 ***
P/L	-0,6541 **	0,7556 ***	-0,7783 ***
Tvrdost ⁴ (SKCS)	-0,6337 **	0,4225 N	-0,718 **
Protein v mouce ⁵	-0,3361 N	-0,4622 N	-0,0855 N
Vaznost vody moukou ⁶	-0,8372 ***	0,5001 N	-0,842 ***
Pokles farinografické křivky ⁷	-0,0345 N	0,5392 *	-0,3548 N
Doba vývinu těsta ⁸	-0,3027 N	-0,5354 *	-0,0399 N
Stabilita farinografické křivky ⁹	-0,2789 N	-0,2711 N	0,0104 N
Bobtnání lepku ¹⁰	0,3488 N	-0,5894 *	0,5689 *
SDS-seditest ¹¹	-0,3498 N	-0,5477 *	0,0618 N

¹alveographic energy, ²alveographic resistance, ³alveographic extensibility, ⁴hardness, ⁵protein in flour, ⁶water-absorptive capacity, ⁷decrease of farinographic curve, ⁸time of dough development, ⁹stability of farinographic curve, ¹⁰gluten swelling, ¹¹sedimentation test

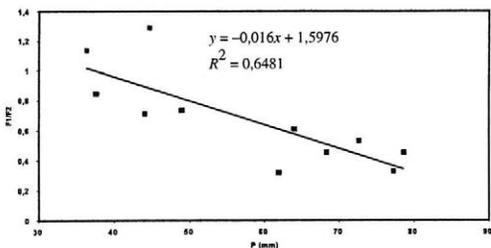


3. Vztah mezi SE-HPLC bílkovinnou frakcí F1 a alveografickou rezistencí – Relationship between SE-HPLC protein fractions F1 and alveographic resistance

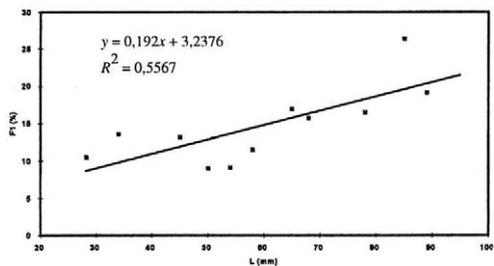
nou SE-HPLC chromatografií. Jednou z možných metod pro uvolnění prolaminových bílkovin nerozpustného zbytku do extrakčního roztoku je použití sonifikace (Gupta et al., 1993).

ZÁVĚR

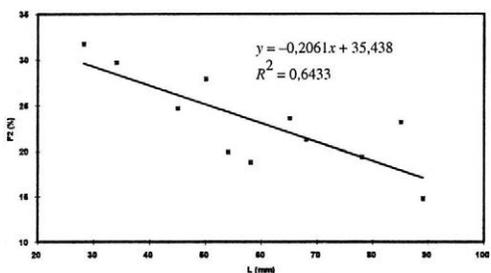
Výsledky korelační analýzy naznačují možnost využití SE-HPLC analýzy prolaminových zásobních bílkovin ve studiu vztahu bílkovin endospermu zrna pře-



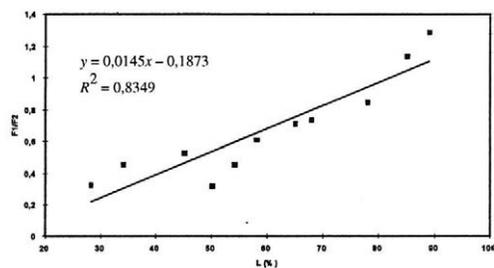
4. Vztah mezi poměrem SE-HPLC bílkovinných frakcí F1/F2 a alveografickou rezistencí – Relationship between ratio SE-HPLC of protein fractions F1/F2 and alveographic resistance



5. Vztah mezi SE-HPLC bílkovinnou frakcí F1 a alveografickou extenzibilitou – Relationship between SE-HPLC protein fraction F1 and alveographic extensibility



6. Vztah mezi SE-HPLC bílkovinnou frakcí F2 a alveografickou extenzibilitou – Relationship between SE-HPLC protein fraction F2 and alveographic extensibility



7. Vztah mezi poměrem SE-HPLC bílkovinných frakcí F1/F2 a alveografickou extenzibilitou – Relationship between ratio SE-HPLC of protein fractions F1/F2 and alveographic extensibility

nice a technologické jakosti, a především v genetické a šlechtitelské praxi pro malé množství testovaného materiálu.

Výsledky publikované v tomto článku byly získány na základě řešení projektu NAZV ev. č. 960006067 *Výzkum a hodnocení kvality potravinářských obilovin*.

LITERATURA

- Dachkevitch T., Autran J. C. (1989): Prediction of baking quality of bread wheats in breeding programs by SE-HPLC. *Cereal Chem.*, 66: 448–456.
- Gupta et al. (1993): Biochemical basis of flour properties in bread wheats. *J. Cereal Sci.*, 18: 23–41.
- Gluten proteins 1993. (1994): Detmold, Assoc. Cereal Res.

- Chen C. H., Bushuk W. (1970): Nature of proteins in triticale and its parental species. I. Solubility characteristics and amino acid composition of endosperm proteins. *Can J. Pl. Sci.*, 50: 9–14.
- Osborne T. B. (1907): The proteins of wheat kernel. Carnegie Inst. Wash. Publ. No. 84.
- Pomeranz Y. (1988): Cereal chemistry and technology. AACC.
- Shewry P. R., Tatham A. S. (1997): Disulphide bonds in wheat gluten proteins. *J. Cereal Sci.*, 25: 207–227.
- Shewry P. R., Halford N. G., Tatham A. S. (1992): High molecular weight subunits of wheat glutenin. *J. Cereal Sci.*, 15: 105–120.
- Singh N. K. et al. (1990): Use of sonification and SE-HPLC in the study of wheat flour proteins. I. Dissolution of total proteins in the absence of reducing agents. *Cereal Chem.*, 67: 150–161.

Došlo 20. 5. 1999

Kontaktní adresa:

RNDr. Květoslav Hubík, Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s. r. o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž, Česká republika, tel.: +420 634 31 71 26, fax: +420 634 227 25, e-mail: hubik@vukrom.cz

Informační servis Ústřední zemědělské a lesnické knihovny
ÚZPI

120 56 Praha 2, Slezská 7, p. schr. 39

Nabízíme vám informace o světové odborné literatuře

z oblasti fytopatologie – ochrany rostlin

z databáze

CAB – Plant Pathology

**Databáze zachycuje literaturu od roku 1995 do současnosti
a je měsíčně aktualizována.**

Informace lze vyhledávat podle těchto kritérií: název časopisu, jméno autora, klíčová slova, jazyk dokumentu, rok vydání dokumentu apod.

Tato kritéria lze i kombinovat.

Databáze obsahuje nejen klíčová slova, ale ve většině případů i **podrobné abstrakty** k jednotlivým záznamům literatury.

Předpokládaná cena za jednu rešerši (obvyklého rozsahu) je 150 až 200 Kč.

V databázi CAB – Plant Pathology lze objednat i průběžné sledování vybraných tematických profilů, např. ve čtvrtletních intervalech, neboť databáze je objednána i pro rok 2000.

Bližší informace a objednávky:

ÚZLK

Dr. Bartošová

Tel.: 02/24 25 79 39, l. 520

Fax: 02/24 25 39 38

E-mail: bartos@uzpi.cz

HETEROSIS AND COMBINING ABILITY OF CERTAIN CHEMICAL TRAITS IN BURLEY TOBACCO

HETEROZE A KOMBINAČNÍ SCHOPNOST NĚKTERÝCH CHEMICKÝCH ZNAKŮ TABÁKU TYPU BURLEY

J. Butorac

Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Croatia

ABSTRACT: Four parent burley tobacco cultivars and their F_1 , F_2 , Bc_1 and Bc_2 progenies were included in a four-year trial. The aim of these studies was to estimate the manner of inheritance of chemical traits (nicotine, proteins, total nitrogen and ash content). Medium to high broad-sense heritability, but also very low narrow-sense heritability, were estimated for most of the traits tested. Negative heterosis was estimated relative to better parent, and in some cases also to mid-parent. Negative inbreeding was recorded for nicotine and total nitrogen, and positive for ash content. Significant GCA was estimated for all the traits tested, while significant SCA was recorded in one or two years, however not for all traits. Genotype Poseydon was the best in GCA, and Hy 71 x TN 86, Hy 71 x BL1 and Poseydon x BL1 were the best in SCA.

Keywords: *Nicotiana tabacum* L.; burley; heritability; heterosis; inbreeding; combining ability; chemical traits

ABSTRAKT: Ve čtyřletém pokusu byly sledovány čtyři rodičovské odrůdy a jejich potomstvo F_1 , F_2 , Bc_1 a Bc_2 s cílem vyhodnotit dědičnost chemických znaků (obsah nikotinu, bílkovin, celkového dusíku a popela). Pro většinu sledovaných znaků byla zjištěna střední až vyšší dědivost v širším smyslu, ale také velmi nízká dědivost v užším smyslu. Negativní heteroze byla nalezena u lepšího z rodičů a v některých případech také u průměru rodičů. Negativní inbriding byl zaznamenán pro obsah nikotinu a celkového dusíku a pozitivní pro obsah popela. Byla zjištěna významná GCA pro všechny sledované znaky a významná SCA v jednom nebo ve dvou ročnících, ale ne pro všechny znaky. Genotyp Poseydon měl nejlepší GCA a genotypy Hy 71 x TN 86, Hy 71 x BL1 a Poseydon x BL1 měly nejlepší SCA.

Klíčová slova: *Nicotiana tabacum* L.; typ burley; dědivost; heteroze; inbriding; kombinační schopnost; chemické znaky

INTRODUCTION

The goal of breeding is genetic improvement of commercially important traits. Along with economic and agronomic, this also includes chemical traits of tobacco. Nicotine is certainly the most important and the most studied component of the tobacco chemical complex. This organic compound is inherited qualitatively-quantitatively and its content in tobacco leaf varying in the wide range of 0.2% to 4.5% (Campbell et al., 1982). Proteins are an adverse factor in terms of tobacco quality since they develop an unpleasant smell when burnt, and the presence of toxic products of burning, such as HCN, has been observed as well (Beljo, 1980). Genetic basis for total nitrogen in tobacco does not usually present a problem in breeding since lines with low total nitrogen have a low nicotine content as well (Kozumplik et al., 1991). Composition of the mineral component is important not only for its influence upon growth and development but also for its essential role in burning.

Nicotine heritability of burley tobacco is generally very low (Legg, Collins, 1971; Oinuma, 1971; Legg, Collins, 1975) and so ash heritability of flue-cured to-

bacco (Pandeya et al., 1984). According to Legg, Collins (1975), the breeding progress for total alkaloids is about 4%.

In most of the research done to date, no heterosis has been estimated for nicotine in burley tobacco crosses (Legg et al., 1970; Legg, Collins, 1971; Oinuma, 1971), in burley and flue-cured tobacco crosses (Povilaitis, 1971; Chang, Shyu, 1980), and neither for proteins (Beljo, 1980). However, Deverna, Aycock (1983) report significant negative heterosis for nicotine in crosses within the same tobacco type, for total nitrogen in inter-type crosses and Aycock (1980) in crosses of Maryland x burley and burley x flue-cured tobaccos.

In most studies, no inbreeding was recorded for nicotine (Legg et al., 1970; Legg, Collins, 1971; Aycock, 1980) or for total nitrogen. However, significant negative inbreeding for nicotine was estimated in inter-type crosses (Deverna, Aycock, 1983).

Significant GCA for nicotine in burley tobacco crosses was estimated by Legg et al. (1970), Matzinger et al. (1971) and Legg, Collins (1971), for total nitrogen by Ostrem, Collins (1983), and for ash in flue-cured tobacco crosses by Pandeya et al. (1984). However,

according to the results obtained by Povilaitis (1971) for nicotine and by Aycok (1980) for total nitrogen, also significant SCA was estimated in crosses of several tobacco types, while the former author estimated only significant SCA for total nitrogen.

So, the goal of these investigations was to estimate on specific materials the manner of inheritance of chemical traits (nicotine, proteins, total nitrogen and ash) by means of heritability, heterosis, and inbreeding, as well as the value of parent genotypes as combiners and the best specific cross combinations.

MATERIAL AND METHODS

Four-year investigations (1992 to 1995) of the selected burley tobacco materials were carried out according to the RCBD in four replications at the experimental field of Tobacco Institute Zagreb. In the first investigation year (1992), ten genotypes were involved in the trial, viz. four line cultivars – American line cultivar TN 86 (Miller, 1987) and three burley lines BL1, Hy 71 (Devčić, Bolsunov, 1975) and Poseydon (Devčić et al., 1984) and their F₁ hybrids obtained a year earlier: Hy 71 x TN 86, Hy 71 x BL1, Hy 71 x Poseydon, Poseydon x BL1, Poseydon x TN 86, and TN 86 x BL1. In 1993, the trial was extended by including additional six genotypes from F₂ progeny and further 12 Bc₁ and Bc₂ progenies in 1994 and 1995, respectively.

Of chemical traits, nicotine, proteins, total nitrogen and ash were estimated in an average third harvest sample on 80 plants for each genotype. CORESTA methods were applied for nicotine estimation, and AOAC methods for proteins, total nitrogen and ash.

Data for all the studied traits and for each year were statistically processed by the analysis of variance and the LSD test was performed. Heritability in the broad-sense was estimated using the formula of Mahmud, Kramer (1951): $h_b^2 = VF_2 - \sqrt{VP_1 \cdot VP_2} / VF_2$ in 1993, 1994 and 1995, and heritability in the narrow-sense according to the formula of Mather (1949): $h_n^2 = 2VF_2 - (VBc_1 + VBc_2) / VF_2$ in 1994 and 1995. Heterosis was estimated relative to the better and mid-parent value in all four years according to the following formulas: $H_1(\%) = F_1 - BP.100/BP$ and $H_2(\%) = F_1 - MP.100/MP$. Inbreeding was estimated in 1993, 1994 and 1995 by the formula: $I.D. F_2(\%) = F_1 - F_2.100/F_1$. Combining ability for all four years was estimated according to Griffing's method 2, model I (Griffing, 1956).

RESULTS

Significant differences between parents and F₁ hybrids were found in all traits measured and all years, except for total nitrogen content in 1992 and 1993, and ash content in 1993 (Tab. I). The average performance of all parents and F₁ hybrids for all studied traits from 1992 to 1995 are presented in Tab. II.

Broad-sense heritability for nicotine and proteins was medium to high, while that for total nitrogen and ash was medium to low (Tab. III). Regardless of the trait, however, differences per trial years were recorded also within the same genotype. Very low narrow-sense heritability values were obtained for the studied traits in all cross combinations. The highest value of 43.4% was achieved for nicotine in genotype Poseydon x BL1, for proteins of 49.4% in genotype Hy 71 x TN 86 and for total nitrogen of 40.3% in genotype TN 86 x BL1.

For the studied traits, negative heterosis was estimated in almost all genotypes relative to better parent, and in some genotypes also relative to mid parent. The values are rather high, but also various. The highest values of most investigated traits were recorded in F₁ hybrids Hy 71 x TN 86, Hy 71 x BL1, Poseydon x BL1 and Poseydon x TN 86.

Negative inbreeding for nicotine and total nitrogen was recorded in F₂ cross progeny in most of the studied genotypes. Estimated inbreeding values for proteins are equally positive and negative regardless of the trial year and genotype, whereas positive inbreeding was estimated for ash.

Using the analysis of variance for combining ability, significant GCA was estimated for all traits and most years (Tab. IV). In contrast to significant GCA, significant SCA was estimated only for nicotine in 1992 and 1994, for total nitrogen in 1994, and for ash in 1994 and 1995. Genotype Poseydon was the best general combiner for nicotine, total nitrogen and ash (Tab. V). This cultivar would significantly contribute to decrease of these traits. In contrast to Poseydon, BL1 and Hy 71 would significantly contribute to increased of nicotine, and also proteins, total nitrogen and ash. TN 86 was the best general combiner for proteins. The better specific combinations for nicotine and total nitrogen were Hy 71 x BL1 and Poseydon x BL1 (Tab. VI). TN 86 x BL1 was also among better specific combinations for

I. Analysis of variance for chemical traits from 1992 to 1995

Year	Source of variation	d. f.	F-values			
			nicotine	proteins	total nitrogen	ash
1992	crosses	9	3.94*	3.43*	1.15 n.s.	2.35*
	error	27				
	total	39				
1993	crosses	9	6.12*	2.49*	1.06 n.s.	1.26 n.s.
	error	27				
	total	39				
1994	crosses	9	8.26*	2.43*	4.99*	4.74*
	error	27				
	total	39				
1995	crosses	9	3.26*	3.06*	3.30*	3.16*
	error	27				
	total	39				

II. Means of parents and F₁ hybrids for chemical traits from 1992 to 1995

Trait	Year	Genotype										LSD	
		TN 86	BL1	Hy 71	Poseydon	Hy 71 x TN 86	Hy 71 x BL1	Hy 71 x Poseydon	Poseydon x BL1	Poseydon x TN 86	TN 86 x BL1	0.05	0.01
Nicotine (%)	1992	2.16	2.35	1.92	1.55	1.57	1.67	1.75	2.01	1.78	2.01	0.38	0.52
	1993	2.40	2.31	1.84	1.64	2.28	1.99	1.82	2.12	1.61	2.41	0.35	0.48
	1994	3.02	3.59	2.54	2.59	2.50	2.62	2.73	2.38	2.46	2.94	0.37	0.50
	1995	1.76	1.97	1.36	1.06	1.62	1.72	1.25	1.35	1.32	1.80	0.45	0.60
Proteins (%)	1992	10.64	11.03	12.67	11.83	10.54	10.79	11.69	10.64	10.18	9.98	1.27	1.71
	1993	8.32	8.31	9.26	8.35	8.10	8.03	8.77	8.32	8.18	7.69	0.78	n.s.
	1994	7.99	8.05	8.76	7.70	8.16	7.94	8.46	7.53	7.69	7.75	0.69	n.s.
	1995	7.25	7.64	7.55	8.51	7.17	7.12	7.75	7.70	7.25	7.42	0.68	n.s.
Total nitrogen (%)	1992	4.29	3.95	3.52	4.76	4.07	4.68	5.27	3.92	4.27	4.21	n.s.	n.s.
	1993	3.22	3.18	3.35	2.95	3.16	3.11	3.16	3.24	2.88	3.11	n.s.	n.s.
	1994	3.13	3.27	3.46	2.98	3.14	3.05	3.34	2.80	3.00	2.87	0.27	0.36
	1995	2.23	2.54	2.06	2.19	2.23	2.25	2.06	2.02	1.96	2.39	0.29	0.39
Ash (%)	1992	24.29	24.43	22.64	22.58	23.05	23.95	23.98	23.46	22.73	25.01	1.60	n.s.
	1993	25.56	25.57	25.07	24.79	25.39	24.96	24.20	25.68	25.45	25.25	n.s.	n.s.
	1994	24.99	23.17	23.19	22.62	23.01	23.70	22.90	24.33	23.59	25.20	1.19	1.60
	1995	34.62	34.41	38.43	32.32	33.94	32.38	33.41	32.12	36.04	33.30	3.17	4.29

III. Values of the estimated parameters; heritability in broad- and narrow-sense, heterosis and inbreeding for chemical traits from 1992 to 1995

Genotype	Trait	Heritability (%)		Heterosis (%)		Inbreeding (%)
		in broad-sense	in narrow-sense	in comparison to the better parent	in comparison to the midparent	(%)
Hy 71 x TN 86	nicotine	56.0–71.2	10.7–22.7	-27.31(-5.00)	-23.03-7.54	-18.40-25.43
Hy 71 x BL1		48.2-75.0	7.8-21.1	-28.93(-12.69)	-21.96-2.99	-15.57(-1.16)
Hy 71 x Poseydon		51.9-70.6	15.5-32.5	-8.85-5.40	0.57-6.22	-30.40(-2.19)
Poseydon x BL1		50.0-72.7	24.2-43.4	-33.70(-8.22)	-22.97-7.07	-14.07-13.20
Poseydon x TN 86		50.0-64.4	22.3-36.2	-32.91-17.59	-20.29(-4.30)	-15.52(-11.38)
TN 86 x BL1		46.7-68.2	12.9-23.8	-18.10-0.41	-11.17-2.11	-4.08-13.33
Hy 71 x TN 86	proteins	55.1-72.0	24.8-49.4	-16.81(-5.03)	-9.60(-2.62)	-4.32-7.77
Hy 71 x BL1		52.1-69.8	29.0-31.5	-14.83(-6.80)	-8.94(-5.58)	-5.61-0.87
Hy 71 x Poseydon		39.1-57.5	13.3-17.9	-8.93(-3.42)	-4.57(-0.45)	-0.45-4.13
Poseydon x BL1		52.6-85.3	8.2-27.4	-10.05(-0.23)	-6.91-0.00	-9.69-13.92
Poseydon x TN 86		51.8-72.9	11.3-44.0	-14.80(-2.03)	-9.43(-1.91)	-0.27-12.34
TN 86 x BL1		56.5-78.6	24.0-40.2	-9.51(-2.87)	-7.93(-0.40)	-4.64-2.02
Hy 71 x TN 86	total nitrogen	32.6-54.1	2.8-19.2	-9.24-0.00	-4.84-4.09	-12.55-0.31
Hy 71 x BL1		28.9-48.0	15.3-28.8	-11.84-18.48	-9.49-25.13	-5.33(-4.91)
Hy 71 x Poseydon		25.6-43.1	20.3-20.6	-5.93-10.71	-3.28-27.29	-3.53(-0.29)
Poseydon x BL1		37.5-45.2	19.2-39.7	-20.47-1.88	-14.76-5.53	-11.42-10.18
Poseydon x TN 86		31.4-50.0	12.5-13.7	-12.10(-4.15)	-11.31(-1.96)	-4.59-6.33
TN 86 x BL1		30.6-65.0	28.9-40.3	-12.23(-1.86)	-10.31-2.18	-8.36-10.46
Hy 71 x TN 86	ash	20.0-55.7	4.0-24.5	-11.68(-0.66)	-7.04-0.28	-6.13-9.65
Hy 71 x BL1		25.3-51.1	16.1-16.3	-15.74-2.19	-11.09-2.24	-3.34-6.01
Hy 71 x Poseydon		19.0-47.4	2.3-13.8	-13.06-5.92	-5.57-6.06	-6.94-10.70
Poseydon x BL1		30.1-37.2	13.7-23.3	-6.66-5.01	-3.75-6.24	1.25-12.38
Poseydon x TN 86		25.2-55.5	11.9-20.9	-6.42-4.10	-3.03-7.68	-3.69-10.02
TN 86 x BL1		15.5-43.1	12.6-18.2	-3.81-2.37	-3.53-4.65	-4.65-5.50

IV. Mean squares of GCA and SCA for chemical traits from 1992 to 1995

Trait	Year	Mean squares		
		GCA (<i>d. f.</i> = 3)	SCA (<i>d. f.</i> = 6)	error (<i>d. f.</i> = 27)
Nicotine (%)	1992	0.127**	0.045*	0.018
	1993	0.208**	0.036 n.s.	0.015
	1994	0.197**	0.098**	0.016
	1995	0.232**	0.050 n.s.	0.025
Proteins (%)	1992	1.125**	0.441 n.s.	0.195
	1993	0.293*	0.126 n.s.	0.073
	1994	0.338**	0.056 n.s.	0.062
	1995	0.348**	0.078 n.s.	0.055
Total nitrogen (%)	1992	0.174 n.s.	0.285 n.s.	0.215
	1993	0.027 n.s.	0.015 n.s.	0.018
	1994	0.064**	0.033**	0.009
	1995	0.055**	0.019 n.s.	0.009
Ash (%)	1992	1.268*	0.446 n.s.	0.306
	1993	0.302 n.s.	0.157 n.s.	0.163
	1994	1.334**	0.520*	0.167
	1995	4.140*	3.607*	1.197

V. GCA effects of parent lines for chemical traits from 1992 to 1995

Parents	Year	Trait			
		nicotine	proteins	total nitrogen	ash
TN 86	1992	0.06	-0.42*	-0.06	0.22
	1993	0.15**	-0.18	-0.01	0.21
	1994	0.04	-0.07	-0.04	0.57**
	1995	0.08	-0.22*	0.01	0.33
BL1	1992	0.18**	-0.28	0.13	0.53*
	1993	0.16**	-0.17	0.02	0.18
	1994	0.24**	-0.12	-0.04	0.20
	1995	0.21**	-0.03	0.13**	-0.64
Hy 71	1992	-0.10	0.53**	-0.07	-0.30
	1993	-0.07	0.29*	0.07	-0.21
	1994	-0.13**	0.35**	0.15**	-0.39*
	1995	-0.04	-0.09	-0.05	1.02*
Poseydon	1992	-0.13	0.17	0.25	-0.45*
	1993	-0.23**	0.05	-0.08	-0.18
	1994	-0.16**	-0.16	-0.07	-0.38*
	1995	-0.25**	0.34**	-0.09*	-0.71

* and ** estimate is significantly different from zero at the 0.05 and 0.01 level of probability, resp.

total nitrogen and Hy 71 x TN 86 for nicotine and ash in two years. These crosses would significantly contribute to decrease of the chemical traits. In other crosses, mainly insignificant negative values were obtained. Thus, genotypes Hy 71 x TN 86, Hy 71 x BL1 and Poseydon x BL1 were the best combinations and might serve for further research and investigations aimed at commercial growing of F₁ hybrids.

DISCUSSION

Since burley tobacco is a component and irreplaceable part of blend cigarettes, it has been included into this study for several reasons. In recent years, insufficient quantities of this tobacco have been produced in Croatia. Besides, its quality should be improved because chemical composition has a decisive influence on tobacco quality. Due to changes being made to the chemical composition of cigarettes, instigated by the increasing demands to reduce harmful constituents of cigarette smoke, the content of certain chemical components in the tobacco leaf of domestic cultivars will have to be reduced as well. Chemical traits can be changed genetically since there are limiting values for particular components in the genetic constitution of plants and it depends on external factors whose values will be manifested (Beljo, 1992). This also happened in the first year of my own investigations, as confirmed by the high content of nicotine and proteins, regardless of the genotype and cross progeny. However, the current modern techniques of genetic engineering enable changes and adjustments of chemical composition to be made accord-

ing to market demands, which includes nicotine as the most important chemical compound, because of which tobacco is enjoyed.

The so far heritability investigations for nicotine in burley tobacco point to a high participation of non-additive variance (Legg, Collins, 1971; Oinuma, 1971; Legg, Collins, 1975). My results also point to very low narrow-sense heritability both for particular genotypes and for the traits in their entirety. For example, according to the results obtained for narrow-sense heritability, Poseydon x BL1 may be singled out for nicotine. Since this is a cross between a high nicotine and a low nicotine parent, it might be possible to separate, perhaps already in early cross progenies, genotypes with a slightly lower, and thereby also more acceptable, nicotine content. Due to different starting genetic material, it is only in long-term breeding that genotypes with reduced content of other chemical traits could be separated in later cross progenies.

Since commercial production of F₁ hybrids, particularly in burley tobacco, has increased due to some of their advantages, my investigations were undertaken to prove it. In most studies, F₁ hybrids had an equal or slightly lower content of major chemical components relative to parents, which means that no heterosis occurred (Legg et al., 1970; Legg, Collins, 1971; Oinuma, 1971; Povilaitis, 1971; Beljo, 1980; Chang, Shyu, 1980). However, a significant decrease of average values is present as well, that is, negative heterosis occurs, which is a positive occurrence in this case (Aycock, 1980; Deverna, Aycock, 1983). My results also point to the same conclusions. Hence, most of the obtained F₁ hybrids could serve for further research aimed at reducing

Year	Crosses	Trait			
		nicotine	proteins	total nitrogen	ash
1992	Hy 71 x TN 86	-0.27*	-0.61	-0.10	-0.48
	Hy 71 x BL1	-0.30*	-0.49	0.58	0.11
	Hy 71 x Poseydon	0.10	-0.05	0.79	1.13
	Poseydon x BL1	0.08	-0.28	-0.50	-0.24
	Poseydon x TN 86	-0.04	-0.60	0.22	-0.64
	TN 86 x BL1	0.02	-0.35	0.10	0.64
1993	Hy 71 x TN 86	0.16	-0.35	-0.04	0.20
	Hy 71 x BL1	-0.13	-0.43	-0.13	-0.20
	Hy 71 x Poseydon	0.08	0.10	0.04	0.61
	Poseydon x BL1	0.16	0.11	0.16	0.49
	Poseydon x TN 86	-0.35	-0.03	-0.16	0.22
	TN 86 x BL1	0.07	-0.30	-0.04	-0.33
1994	Hy 71 x TN 86	-0.16*	-0.13	-0.08	-0.84*
	Hy 71 x BL1	-0.23**	-0.30	-0.17**	0.22
	Hy 71 x Poseydon	0.27**	0.27	0.15*	0.01
	Poseydon x BL1	-0.44**	-0.20	-0.19**	0.84*
	Poseydon x TN 86	-0.16*	-0.11	0.01	-0.27
	TN 86 x BL1	-0.08	-0.07	-0.15*	0.75*
1995	Hy 71 x TN 86	0.07	-0.06	0.07	-1.52*
	Hy 71 x BL1	0.04	-0.30	-0.02	-2.09*
	Hy 71 x Poseydon	0.03	-0.04	0.01	-0.99
	Poseydon x BL1	-0.12	-0.14	-0.21	-0.62
	Poseydon x TN 86	-0.03	-0.40	-0.15	2.31*
	TN 86 x BL1	0.01	0.13	0.05	-0.50

* and ** estimate is significantly different from zero at the 0.05 and 0.01 level of probability, resp.

the nicotine content. Proteins can be reduced only to a limit without disrupting the ratio of this chemical compound to other chemical components, thereby making smoking unpleasant. A high reduction, e.g. of total nitrogen, need not always be advantageous. Thus, in the last trial year, low values were recorded already in parents, and even lower in F_1 hybrids. Therefore, selection of parents for certain cross combinations should be approached with great care. Due to high oscillations under the influence of external factors, the very choice of parents may become questionable.

Most studies treating heterosis include also the occurrence of inbreeding in F_1 hybrids of tobacco. The results obtained to date point to the absence of any significant increase or decrease of nicotine in F_1 hybrids (Legg et al., 1970; Legg, Collins, 1971) and total nitrogen (Aycock, 1980). However, significant negative inbreeding for nicotine was estimated in some inter-type crosses (Deverna, Aycock Jr., 1983). Negative inbreeding for nicotine, but also for total nitrogen, was recorded also in my own research work for most genotypes studied. Thus, F_2 hybrids have the highest nicotine and total nitrogen content and thereby also a less favourable chemical composition than F_1 hybrids. Since, irrespective of the trial year and genotype, both

positive and negative inbreeding for proteins are present, no relevant conclusions could be drawn.

In inheritance of certain major chemical traits (nicotine, proteins, total nitrogen and ash) the additive components plays a greater part since research results for combining abilities point to the significance of only GCA (Legg, Collins, 1970; Legg, Collins, 1971; Matzinger et al., 1971; Ostrem, Collins, 1983; Pandeya et al., 1984). My own results also point to the preponderance of GCA, in dependence on the trial years, for all the chemical traits studied. The GCA/SCA ratio also shows higher GCA values. Still, in addition to significant GCA, significant SCA was recorded in some years, which is in agreement with the results obtained by some other authors (Povilaitis, 1971; Aycock, 1980). Accordingly, the role of nonadditive variance cannot be fully disregarded either. Moreover, the results of the heritability, heterosis and inbreeding estimation indicate a greater role of nonadditive variance in inheritance of the chemical traits studied. Hence, the results obtained after application of various methods allow the conclusion that the ratio of additive and nonadditive variance for the traits studied may vary in dependence on the genetic material, and also on the method applied.

REFERENCES

- Aycock M. K., Jr. (1980): Hybridization among Maryland, burley and flue-cured type tobaccos. *Tob. Sci.*, 24: 109–113.
- Beljo J. (1980): Prilog proučavanju nasljeđivanja kemijskih svojstava duhana. *Tutun/Tobacco*, 11–12: 5–14.
- Beljo J. (1992): Oplemenjivanje duhana-dostignuća i izazovi. *Tutun/Tobacco*, 7–12: 179–190.
- Campbell J. S., Chaplin J. F., Boyette D. M., Campbell C. R., Crawford C. B. (1982): Effect of plant spacings, topping heights, nitrogen rates and varieties of tobacco on nicotine yield and concentration. *Tob. Sci.*, 26: 66–69.
- Chang E. Y., Shyu C. C. (1980): The separation and relative importance of gene effects for seven agronomic characters and three chemical constituents in tobacco. I. Vamfen-Hicks x Burley 21. *Bull. Taiwan Tob. Res. Inst.*, 13: 19–31.
- Devčić K., Bolsunov I. (1975): Čulinec nova sorta burleya stvorena u Duhanskom institutu Zagreb, 9. Simp. Duhan. Stručnj. Jugoslavije: 10–12.
- Devčić K., Triplat J., Benković F. (1984): Sorte burleya selekcionirane u Duhanskom institutu Zagreb. *Tutun/Tobacco*, 1–2: 1–10.
- Deverna J. W., Aycock M. K., Jr. (1983): Hybridization among Maryland, burley, fire-cured, sun-cured, and flue-cured type tobaccos. II. Heterosis and inbreeding. *Tob. Sci.*, 27: 158–162.
- Griffing B. (1956): Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. *Austral. J. Biol. Sci.*, 9: 463–493.
- Kozumplik V., Devčić K., Vuletić N. (1991): Suvremeni ciljevi i metode oplemenjivanja duhana tipa virginia i burley. *Polj. Znan. Smotr.*, 56: 169–180.
- Legg P. D., Collins G. B. (1971): Genetic parameters in burley populations of *Nicotiana tabacum* L. I. Ky 10 x Burley 21. *Crop Sci.*, 11: 365–367.
- Legg P. D., Collins G. B. (1975): Genetic parameters in Ky 14 x Ky Ex 42 burley population of *Nicotiana tabacum* L. *Theor. Appl. Genet.*, 45: 264–267.
- Legg P. D., Collins G. B., Litton C. C. (1970): Heterosis and combining ability in diallel crosses of burley tobacco, *Nicotiana tabacum* L. *Crop Sci.*, 10: 705–707.
- Mahmud I., Kramer H. H. (1951): Segregation for yield, height and maturity following a soybean cross. *Agron. J.*, 43: 307–311.
- Mather K. (ed.) (1949): *Biometrical genetics*. London, Methuen.
- Matzinger D. F., Wersman E. A., Ross H. F. (1971): Diallel crosses among burley varieties of *Nicotiana tabacum* L. in the F₁ and F₂ generations. *Crop Sci.*, 11: 275–279.
- Miller R. D. (1987): Registration of TN 86 burley tobacco. *Crop Sci.*, 27: 365–366.
- Oinuma T. (1971): Inheritance and selection of quantitative characters in burley tobacco. I. Heritability and genotypes correlation in F₂ generation of three varietal crosses. *Tob. Abstr.*, 2: 202.
- Ostrem J. A., Collins G. B. (1983): Genetic variation for nitrate concentration in *Nicotiana tabacum* L. *J. Hered.*, 74: 431–434.
- Pandeya R. S., Dirks V. A., Poushinsky G., Zilkey B. F. (1984): Quantitative genetic studies in flue-cured tobacco (*Nicotiana tabacum* L.). II. Certain physical and chemical characters. *Can. J. Genet. Cytol.*, 27: 92–100.
- Povilaitis B. (1971): Characteristics of tobacco from crosses between burley and flue-cured cultivars. *Can. J. Genet. Cytol.*, 13: 179–185.
- AOAC (1984): *Official methods of analysis*. Arlington, Va.
- CORESTA (1969): *Standard method No. 20. Determination of alkaloids in manufactured tobacco*.

Received on October 5, 1999

Corresponding author:

Dr. Sc. Jasminka Butorac, Faculty of Agriculture, University of Zagreb, Svetošimunska 25, 10000 Zagreb, Croatia, tel.: +385 1 239 36 32, fax: +385 1 239 37 03, e-mail: jbutorac@agr.hr

VLIV GENOTYPU A AGROTECHNIKY NA STRUKTURU VÝNOSOVÝCH PRVKŮ POHANKY SETÉ

THE EFFECT OF GENOTYPE AND AGRONOMICAL PRACTICES ON THE STRUCTURE OF YIELD FACTORS OF BUCKWHEAT

M. Babůrková, J. Jůza, J. Moudrý, J. Pejcha

Faculty of Agriculture, University of South Bohemia in České Budějovice, Czech Republic

ABSTRACT: Between 1995 and 1996 at two experiment sites we observed three varieties of buckwheat (*Fagopyrum vulgare* L.): Pyra (Czech Republic), Lifestum (Germany) and Hruszowska (Poland). The experiments were carried out in different agro-technical conditions (the quantity of seeds sown 250 to 350 seeds per 1 m² and nitrogen dressing of 0, 30 and 60 kg N per 1 ha prior sowing). We observed the effect of genotype and the above mentioned environmental factors on the yield and yield characteristic (the number of plants per 1 m², the number of seeds per plant and thousand grains weight), as well as the process of creation and reduction of flowers (the number of storeys, the number of inflorescences, the number of flowers per plant) and formation of seeds. The seed yield was statistically affected by the choice of variety (the highest yield was found with the variety Hruszowska and the lowest with Lifestum), a site of growing and the nitrogen nutrition. Due to great differences in the weather between the experiment sites and during the experiment years the number of created storeys and flowers, and the number of ripe seeds as well as their mass differed significantly in all the genotypes. The potential positive effect of more branches and of the greater number of created flowers can be reached by both nitrogen dressing and lower plant density. The more branches the more asynchronous the ripening was and the greater was the reduction of created flowers. The number of seeds per inflorescence and the number of seeds per plant was in a positive relation to the seed yield as opposed to thousand grain weight.

Keywords: buckwheat; yield; inflorescence; the number of flowers; the number of seeds; thousand grain weight

ABSTRAKT: Na dvou stanovištích v letech 1995 a 1996 byly v podmínkách rozdílné agrotechniky (výsevek 250 a 350 semen na 1 m² a hnojení dusíkem 0, 30 a 60 kg N.ha⁻¹ před setím) sledovány tři odrůdy pohanky seté (*Fagopyrum vulgare* L.): Pyra (ČR), Lifestum (SRN) a Hruszowska (Polsko). Byl zkoumán vliv genotypu a uvedených faktorů prostředí na výnos a výnosové prvky (počet rostlin na 1 m², počet semen na rostlinu a hmotnost tisíce semen) i proces zakládání a redukce květů (počet pater na rostlině, počet květenství, počet květů na rostlině), resp. tvorby semen. Na výnos semen pohanky měla statisticky významný vliv odrůda (nejvyšší výnos byl získán u odrůdy Hruszowska a nejnižší u odrůdy Lifestum), dále stanoviště a výživa rostlin dusíkem. Vzhledem k výrazně odlišnému průběhu počasí v pokusných letech se v jednotlivých letech významně lišil u všech genotypů počet založených pater a květů a počet dozrálých semen i jejich hmotnost. Potenciální pozitivní výnosový efekt mohutnějšího větvení a většího počtu založených květů může být dosažen jak hnojením dusíkem, tak nižší hustotou porostu. S větvením roste i asynchronnost dozrávání a redukce založených květů. Počet semen na květenství a počet semen na rostlinu byl na rozdíl od hmotností tisíce semen v kladné relaci k výnosu semen.

Klíčová slova: pohanka; výnos; květenství; počet květů; počet semen; hmotnost tisíce semen

ÚVOD

Potenciální produktivita pohanky je velmi vysoká. Pokud by všechny květy daly plná semena, je možné dosáhnout výnosu až 62 t.ha⁻¹ (Ruszkowski, 1986). Reálná produktivita pohanky je však malá. Z nasazených květů se vytvoří jen 10 až 40 % nažek, někdy pouze o 5 až 10 % (Petr, 1996). Vysoká potenciální produktivita spočívá v nadměrném větvení (Zhunging et al., 1986), neukončeném růstu květenství (Namai, 1990; Ruszkowski, 1991 – cit. Adhikari, 1997) a v založení velkého počtu generativních orgánů (Petr, 1996). Míra založení květů pohanky je významně závislá na odrůdě a prostředí (Shuhua, Zhunging, 1986).

Zápornou interakci mezi množstvím nasazených květů a vytvořených semen udávají Shuhua, Zhunging (1986). Za její příčinu označují opad květů spojený s nepříznivými živinnými podmínkami. Také Kreft (1986) uvádí dostupnost asimilátů v průběhu kvetení jako důležitý činitel ovlivňující nasazení semen. Nedostatek asimilátů v době květu zdůvodňuje Petr (1996) malou listovou plochou připadající na jeden květ a konkurencí o asimiláty mezi generativními a vegetativními orgány. Namai (1990 – cit. Adhikari, 1997) hovoří o nízké distribuci asimilátů.

Na redukci založených generativních orgánů se podílí i nedostatek vláhy a vysoké teploty během kvetení, poruchy generativních orgánů, nedostatečné opylení

(Petr, 1996), resp. autoinkompatibilita (Namai, 1990 – cit. Adhikari, 1997). Opad opylených květů i nažek na počátku vývoje může být limitujícím faktorem výnosu pohanky navzdory vysokému stupni opylení a oplodnění květů (Kreft, 1986). Zvyšující se dávka minerálního hnojení způsobuje zvýšení počtu květenství a také počet vyvinutých semen na rostlinu (Szklarz, Olender, 1986).

Reálný výnos pohanky je značně ovlivněn nerovnoměrným dozráváním. V době zralosti nažek v nižších částech rostliny ve vrcholových částech květy ještě kve- tou (Zhunging et al., 1986).

Posuzovali jsme vliv genotypu, ročníku, stanoviště, hustoty porostu a hnojení na výnos pohanky, resp. na vybrané prvky struktury výnosu, jako počet rostlin na jednotku plochy, počet uzlin (pater) na rostlině, počet květenství a počet květů na rostlině, počet semen na rostlině, hmotnost tisíce semen (HTS) a procento nasazení semen.

MATERIÁL A METODY

V letech 1995 až 1996 byly na dvou stanovištích bramborařské výrobní oblasti založeny metodou náhodných bloků ve čtyřech opakováních (skliziňová plocha pokusných parcel 18 m²) polní maloparcelkové pokusy se třemi odrůdami pohanky seté. Charakteristiku stanovišť podává tab. I.

Zkoušené odrůdy Pyra (ČR), Hruszowska (Polsko) a Lifestum (SRN) byly vysety ve dvou hustotách (250 a 350 rostlin na 1 m²) při šířce řádků 25 cm a hnojeny dávkou dusíku 0, 30, 60 kg N.ha⁻¹. Dávka hnojení N byla aplikována před setím společně s základním hnojením K a P.

Průběh počasí znázorňují upravené Walterovy klimatogramy (obr. 1). Termíny setí a sklizně jsou uvedeny v tab. II.

Před sklizní byly v obou pokusných letech odebrány z každé varianty vzorky rostlin pro jejich individuální rozbor. Sklizeň pokusů probíhala ručně.

Individuální rozbor rostlin sledovaly počet uzlin (pater) na rostlině, počet květenství, počet květů (podíl zaschlých květů), počet vytvořených semen, procento vytvořených semen a HTS.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve vztahu mezi výnosem a výnosovými prvky (tab. III až V) se ukázala, jak podobně uvádí Adhikari

(1997), pozitivní závislost výnosu semen na počtu semen na květenství, resp. na počtu semen na rostlinu, zatímco hmotnost semen se ve vztahu k výnosu projevila jako nevýznamná.

Vliv hustoty porostu nebyl významný jako samostatný faktor ani v interakci s ostatními zdroji proměnlivosti u žádné ze sledovaných odrůd (vyjma působení interakce roků a hustoty na počet semen). Hustota porostu neměla podstatný vliv na hodnoty sledovaných prvků podílejících se na tvorbě výnosu ani na konečný výnos semen. Nejednoznačný vliv hustoty porostu, resp. rozdílné reakce odrůd v jednotlivých letech potvrzují i rozdílné závěry některých autorů. Ruskowski (1986) tvrdí, že vyšší hustota rostlin zmenšuje vstup světla do porostů a dochází ke snižování jmenovaných výnosových prvků. Podle citovaného autora dochází také ke zkracování periody kvetení, což může vést ke snížení pravděpodobnosti opylení včelami. Jako jeden z nových ideotypů pohanky navrhuje rostliny se zvýšeným počtem větví a zvýšeným povrchem listů. Aufhammer et al. (1994) naopak doporučují šlechtění rostlinných genotypů pouze s ohraničeným větvením a rovnoměrným dozráváním a uvádějí jako dostačující hustotu porostu 100 rostlin na 1 m². Vyšší hustota nepřinesla podle těchto autorů žádné výnosové efekty.

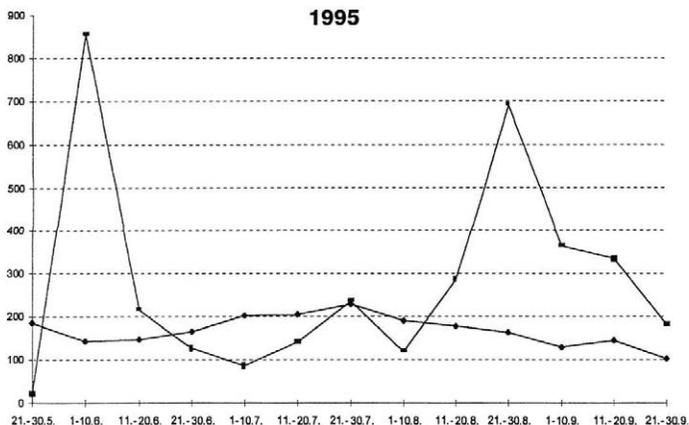
Vliv stanoviště na tvorbu a úroveň výnosu u pohanky se projevil jako vysoce průkazný, co se týká konečného výnosu semen, a jako průkazný v počtu vytvořených semen na jednu rostlinu. Ukázaly se pozitivní interakce odrůdy a stanoviště u počtu pater, květů i semen, což je zřejmě způsobeno rozdílným průběhem počasí na jednotlivých stanovištích a různými půdními podmínkami.

Vliv odrůdy na výnos rostlin se ukázal jako statisticky vysoce průkazný, ale v rozdělení jednotlivých výnosových prvků byl průkazný u počtu pater, počtu semen a HTS. Projevily se průkazné interakce odrůdy a ročníku na počet pater, počet květů a HTS. Významné interakce odrůd a ročníku vypovídají o tom, že ne každá odrůda reagovala na povětrnostní podmínky ročníku stejným způsobem. Chloupek (1995) uvádí, že v polyfaktoriálních pokusech je výnos ovlivňován ročníky a jejich interakcemi. Z hlediska produkce semen se nejvíce osvědčila polská odrůda Hruszowska, což se shoduje i s výsledky jiných autorů (Honermeier et al., 1994; Michalová et al., 1998). Následovala česká odrůda Pyra. Odrůda Lifestum byla především pro svou relativně delší vegetační dobu pro naše podmínky méně

I. Charakteristika stanovišť – Characteristics of sites

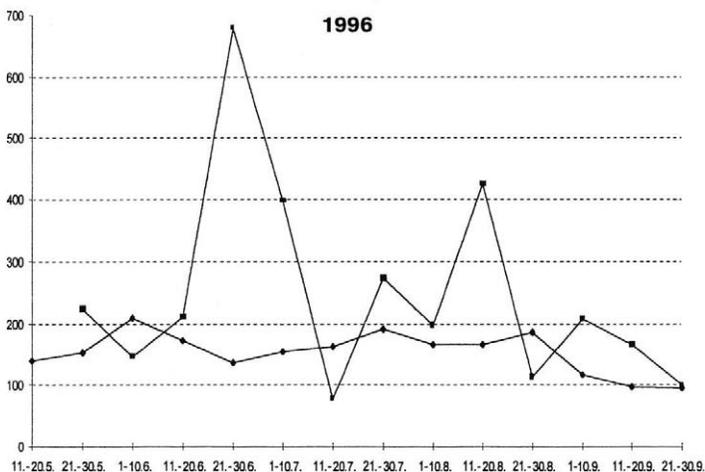
Charakteristika ¹	České Budějovice (1)	Sedlečko (2)
Nadmožská výška ²	380 m	520 m
Průměrný roční úhrn srážek ³	621 mm	600 mm
Průměrná roční teplota ⁴	7,8 °C	7,2 °C
Půda ⁵	hlinitopísčitá ⁶	hlinitopísčitá
pH	6,1	6,0 (slabě kyselá ⁷)

¹characteristics, ²altitude, ³average annual sum of precipitation, ⁴average annual temperature, ⁵soil, ⁶loamy sand, ⁷slightly acid



I. Upravený Walterův klimatogram (České Budějovice) – Modified Walter climatogram (České Budějovice)

● teploty – temperatures
 ■ srážky – precipitation
 osa x: datum – x axis: date
 osa y: suma teplot a srážek – y axis: sum of temperatures and precipitation



II. Termíny setí a sklizně pohanky seté – Dates of sowing and buckwheat harvest

Rok ¹	České Budějovice (1)		Sedlečko (2)	
Datum ²	setí ³	sklizně ⁴	setí	sklizně
1995	23. 5.	5. 9., 13. 9., 4. 10.	24. 5.	4. 9., 12. 9., 3. 10.
1996	30. 5.	4. 9., 24. 9.	29. 5.	3. 9., 25. 9.

¹year, ²date, ³sowing, ⁴harvest

vhodná, od ostatních odrůd se lišila velkým nárůstem zelené hmoty a dlouhým a nerovnoměrným dozráváním. Nízký výnos byl dán nízkým procentem nasazení semen a rovněž nerovnoměrným a pozdním dozráváním, a tím i vysokými ztrátami při sklizni v důsledku méně vhodných podmínek při sklizni. Podobný případ ve svých pokusech uvádějí Aufhammer et al. (1994) při pěstování japonské odrůdy Miyazakiotsubu, která již na začátku květu byla oproti ostatním odrůdám opožděna o 15 až

20 dní a ani v době žní nedosáhla konce kvetení. Proti tomu tato odrůda vytvořila vysoký výnos biomasy cca 13 t.ha⁻¹ při tvorbě výnosu semen pouze 0,5 t.ha⁻¹. Výsledky vycházejí z vyšší citlivosti této odrůdy na krátký den. V našich oblastech se odrůda v podmínkách dlouhého dne rozvíjí především vegetativně, k nasazování semen a ke zralosti dochází později.

Vliv ročníku byl vysoce průkazný, a to u všech sledovaných výnosových prvků (počet pater, počet květů a počet semen na rostlinu i HTS). Průběh počasí v letech 1995 a 1996, co se týká srážek a teplot, byl velmi odlišný (obr. 1). Vyšší množství srážek po zasetí a v první třetině vegetace v roce 1995 zapříčinilo jednoznačně větší počet pater na rostlinu. Počet semen byl silně ovlivněn zejména stanovištěm a hnojením ve vztahu k jednotlivým rokům. Lze to vysvětlit především průběhem srážek a teplot jednotlivých ročníků (obr. 1). Sušší průběh letních měsíců vedl k vytvoření vyššího počtu květenství a květů na rostlinu a snížil procento nasazení semen a HTS. Vlhký podzim 1995 ztížil podmínky při

Zdroje proměnlivosti ¹	dF	Počet pater ²	Počet květů ³	Počet semen ⁴	HTS ⁵
Odrůda ⁶ (a)	2	9,11**	23 671*	931,3	126,4**
Hnojení ⁷ (b)	2	14,17**	84 494**	9 035,7**	22,6**
Rok ⁸ (c)	1	270,67**	3 421 693**	198 219**	1 104,0**
Stanoviště ⁹ (d)	1	7,95**	148 109**	14 729**	3,3
Hustota ¹⁰ (e)	1	0,97	5 749	797,7	1,68
Interakce¹¹					
a x b	4	0,49	1 185	70,5	2,0
a x c	2	1,66*	79 284**	64,1	49,6**
a x d	2	1,99*	79 290*	1 117*	1,29
a x e	2	0,14	4 948	335,6	3,29
b x c	2	1,3	2 652*	18 699*	4,45
b x d	2	0,21	400	374,7	9,11
b x e	2	0,20	4 120	238,6	4,05
c x d	1	0,16	135 458**	3 106,6**	32,9
c x e	1	1,33	11 207	1 784*	0,008
d x e	1	0,27	17 999	180,9	3,88

¹source of variability, ²number of storeys, ³number of flowers, ⁴number of seeds, ⁵TGW, ⁶variety, ⁷fertilization, ⁸year, ⁹site, ¹⁰density, ¹¹interaction

IV. Podíl faktorů na celkové variabilitě jednotlivých znaků – Share of factors on total variability of different characteristics

Zdroje proměnlivosti ¹	Podíl variability ¹² (%)			
	počet pater ²	počet květů ³	počet semen ⁴	HTS ⁵
Odrůda ⁶ (a)	2,91	0,5	0	8,7
Hnojení ⁷ (b)	4,54	2,0	3,8	1,5
Rok ⁸ (c)	85,44	82,3	83,3	76,7
Stanoviště ⁹ (d)	2,96	3,56	6,2	0,02
Hustota ¹⁰ (e)	0,3	0,1	0	0,01
Interakce¹¹				
a x b	0,2	0	0	0,01
a x c	0,68	1,9	0	3,5
a x d	0,42	0,6	0,07	0,03
a x e	0,64	1,9	0,05	0
b x c	0	0	0	0,06
b x d	0	3,3	1,3	2,29
b x e	0	0,1	0	0,03
c x d	0	0,1	0	0,03
c x e	0,4	0,26	0,07	0
d x e	0	0,43	0	0,03
Vícenásobné interakce ¹³	1,51	0,55	5,21	7,09

For 1–11 see Tab. III, ¹²share of variability, ¹³multiple interaction

sklizi, a tím zvýšil sklizňové ztráty. Rozložení srážek a teplot v roce 1996 bylo zcela opačné. Délka vegetační doby byla v závislosti na odrůdě v roce 1995 v Českých Budějovicích 104 až 134 dní a v Sedlečku 103 až

132 dní; v roce 1996 trvalo vegetační období 96 až 116 dní, resp. 96 až 118 dní. U všech odrůd bylo v roce 1995 dosaženo ve srovnání s rokem 1996 vyššího teoretického výnosu, ale skutečný výnos byl ve všech variantách vyšší v roce 1996.

Vliv hnojení dusíkem. V roce 1995 se potvrdilo, že s rostoucí dávkou N stoupá také výnos rostlin. Na stanovišti 1 u odrůdy Pyra stoupl počet hroznů, počet květů i počet semen na rostlinu, procento nasazení semen však klesalo a HTS kolísala. U odrůdy Hruszowska měly všechny sledované znaky vzestupný charakter. Odrůda Lifestum reagovala podobně. Na stanovišti 2 všechny odrůdy reagovaly shodně jako na stanovišti 1. Také v roce 1996 se s rostoucí dávkou N u odrůdy Pyra a Hruszowska zvyšovala úroveň všech sledovaných faktorů včetně výnosů semen. U odrůdy Lifestum jsou výsledky spornější, ale konečné výnosy byly u hnojené varianty vyšší. Odrůda Pyra reagovala na dávku N zvýšením všech sledovaných prvků včetně teoretického výnosu. Zajímavé je porovnat rozložení tvorby jednotlivých výnosových prvků na rostlině u hnojené a nehnojené varianty. U hnojené varianty byl celkový počet hroznů vyšší, ale hrozny byly na rostlině rozloženy díky mohutnějšímu větvení mezi větší počet pater, takže průměrný počet hroznů na patro může být nižší. Potvrdilo se to především u vrcholových květenství, která se u nehnojené varianty podílela na výnosu semen přibližně z jedné třetiny, zatímco u hnojené varianty byla tvorba semen díky již zmíněnému větvení rozložena i do nižších pater. Vrcholové květenství tvořilo přibližně pětinu až čtvrtinu počtu vyvinutých semen. Podobně, ale výrazněji reagovala na dávku N odrůda Hruszowska, u jejíž hnojené varianty se oproti nehnojené varian-

Faktory ¹	Úrovně faktorů ⁷	n	Výnosové znaky ⁹			
			počet pater ¹⁰	počet květů ¹¹	počet semen ¹²	HTS ¹³
Rok ²	1995	36	8,90	563,16	139,25	13,75
	1996	36	5,07	127,16	34,31	21,58
Odrůda ³	Pyra	24	6,39	357,43	90,94	18,12
	Hruszowska	24	6,95	309,47	89,77	19,70
	Lifestum	24	7,61	368,58	79,62	15,18
Hustota ⁴	250 semen ⁸	36	7,10	354,10	90,11	17,82
	350 semen	36	6,87	336,23	83,45	17,51
Hnojení ⁵	0 kg N.ha ⁻¹	24	6,25	283,33	66,81	16,59
	30 kg N.ha ⁻¹	24	6,93	350,51	87,99	18,48
	60 kg N.ha ⁻¹	24	7,77	401,64	105,56	17,92
Stanoviště ⁶	Sedlečko	36	6,63	299,81	72,47	17,45
	České Budějovice	36	7,34	390,52	101,08	17,88

¹factors, ²year, ³variety, ⁴density, ⁵fertilization, ⁶site, ⁷level of factors, ⁸seeds, ⁹yield characteristics, ¹⁰number of storeys, ¹¹number of flowers, ¹²number of seeds, ¹³TGW

tě výrazně snížil celkový počet zaschlých květů a výrazně se zvýšilo procento nasazení semen. Celkově byl vliv hnojení na konečném výnosu pohanky vysoce průkazný, ale vliv jednotlivých prvků výnosu vzhledem k jejich variabilitě byl neprůkazný. Průkaznosti se přibližoval počet pater na rostlinu.

Různá úroveň hnojení N byla do pokusu zařazena především pro možnost sledování rozdílné tvorby výnosových prvků. U všech variant se potvrdil předpoklad, že u hnojených porostů došlo i k nárůstu výnosu semen. Aufhammer et al. (1994) uvádějí, že dávka 40 kg N.ha⁻¹ ani její rozdílná aplikace nezpůsobily žádné výnosové rozdíly oproti nehnojené variantě. U všech odrůd byl u hnojených variant vesměs získán příznivý výnosový efekt, který byl dán zvýšeným procentem nasazení semen, vyšším počtem pater i vyšším počtem hroznů na rostlinu. Potenciálně pozitivní výnosový efekt mohutnějšího větvení a většího založení květů může tak být dosažen jak hnojením N, tak nižší hustotou porostu. Na druhou stranu se však mohutnější větvení rostlin projevilo i nerovnoměrnějším dozráváním a v konečném důsledku i vyššími sklizňovými ztrátami u hnojených variant. U nehnojených variant byl výnos tvořen především vrcholovým květenstvím, resp. horními květenstvími, zatímco u hnojených variant se tvorba a rozmístění semen rovnoměrněji rozprostřely i do nižších pater rostliny. Naše výsledky je možné srovnat se závěry z literatury (Ruszkowski, 1986), podle nichž jsou jednotlivé květy na hlavním stonku neproduktivnější, zatímco květy na větvích prvního a druhého řádu jsou méně fertily. Můžeme také souhlasit s tvrzením citovaného autora, že vysoký počet květenství na rostlinu může způsobit zvýšení počtu semen na rostlinu. Adhikari (1997) naproti tomu uvádí, že vysoký počet větví a následně i vysoký počet květenství na rostlinu může mít negativní vliv na výnos semen díky konkurenci mezi vyvinutými semeny a poupaty, a to

vzhledem k limitující zásobě zdrojů. Uvedené tvrzení podporují také další výzkumy (Ruszkowski, 1986; Kreft, 1986), které dokazují, že dostupnost asimilátů v době kvetení je důležitým faktorem pro regulaci tvorby semen pohanky. Opad opylených květů a zrn na začátku vývoje může být také limitujícím faktorem pro výnos pohanky. Kreft (1986) se rovněž domnívá, že vysoký počet květů je spíše plýtváním asimilátů.

ZÁVĚR

Na obou stanovištích byla ve všech pokusných ročních jednoznačně nejlepší polská odrůda Hruszowska. Vyznačovala se vysokým výnosem, vysokým procentem nasazení semen a nízkými ztrátami při sklizni. V pořadí druhá odrůda Pyra měla vysoký počet semen na rostlinu i teoretický výnos, avšak vzhledem k vyšším ztrátám při sklizni byl její skutečný výnos nižší než u odrůdy Hruszowska. Jako nejhorší se ukázala odrůda Lifestum, která se lišila habitem rostlin i délkou vegetační doby. Vytvořila sice vysoký nárůst zelené hmoty a vysoký počet květů, ale vlivem nízkého podílu nasazení semen a HTS byl pak konečný výnos nižší. Vzhledem k velmi dlouhé vegetační době dozrávala až za velmi nepříznivých povětrnostních podmínek.

Větších výnosů bylo dosaženo na stanovišti 2. Na stanovišti 1 měla nejvyšší výnos odrůda Pyra při hnojení 30 kg N.ha⁻¹ a vyšší hustotě výsevu. Na stanovišti 2 byl zjištěn nejvyšší výnos u odrůdy Hruszowska při hnojení 30 kg N.ha⁻¹ a nižší hustotě výsevu.

Ve vztahu ke konečnému výnosu semen pohanky byl jako vysoce průkazný zjištěn vliv stanoviště, odrůdy a hnojení. Na jednotlivé výnosové prvky (počet pater, počet květů a počet semen na rostlinu a HTS) měl vysoce průkazný vliv pouze ročník. Odrůda měla průkazný vliv na HTS a stanoviště na počet semen.

Sledované prvky predikující hospodářský výnos (počet pater, počet květů, počet semen i HTS) byly z vybraných faktorů prostředí nejvýznamněji ovlivněny ročníkem, hnojením a stanovištěm.

Příspěvek byl zpracován za podpory GA ČR, projekt GA 521/97/0052.

LITERATURA

Adhikari K. N. (1997): Determination of yield in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench). Res. Rep. Ljubljana, Biotechn. Fac. Univ. Agric.: 59–64.

Aufhammer W., Esswein H., Kübler E. (1994): Zur Entwicklung und Nutzbarkeit des Kornertragspotentials von Buchweizen (*Fagopyrum esculentum*). Bodenkultur, 45: 37–46.

Honermeier B. et al. (1994): Buchweizen – Empfehlungen zum Anbau. IVAP Güterfelde e. V.

Chloupek O. (1995): Genetická diverzita, šlechtění a semennářství. Praha, Academia.

Kreft I. (1986): Physiology of buckwheat yield. Proc. 3rd Int. Symp. Buckwheat, Pulawy: 37–49.

Michalová A., Dotlačil L., Čejka L. (1998): Evaluation of common buckwheat cultivars. Rostl. Vyr., 44: 361–368.

Petr J. (1996): Pěstování pohanky. In: Sbor. Alternativní a maloobjemové plodiny pro zdravou výživu, Praha 1996: 24–30.

Ruszkowski M. (1986): Productivity of buckwheat. Proc. 3rd Int. Symp. Buckwheat, Pulawy: 78–97.

Shuhua R., Zhunging W. (1986): Observation on flowering of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench.). Proc. 3rd Int. Symp. Buckwheat, Pulawy: 5–9.

Szklarz J., Olender K. (1986): Effect of different fertilization on utilitarian features and seed of buckwheat. Proc. 3rd Int. Symp. Buckwheat, Pulawy: 100–103.

Zhunging W., Anlin L., Shuhua R. (1986): Study on the high-yielding cultivation of buckwheat. Proc. 3rd Int. Symp. Buckwheat, Pulawy: 79–93.

Došlo 18. 11. 1999

Kontaktní adresa:

Ing. Martina Babůrková, Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Studentská 13, 370 05 České Budějovice, Česká republika, tel.: +420 38 777 27 15, fax: +420 38 403 01, e-mail: benisek@zf.jcu.cz

INFORMACE – STUDIE – SDĚLENÍ

POTATO TUBERS AS A SIGNIFICANT SOURCE OF ANTIOXIDANTS IN HUMAN NUTRITION

HLÍZY BRAMBOR JAKO VÝZNAMNÝ ZDROJ ANTIOXIDANTŮ V LIDSKÉ VÝŽIVĚ

J. Lachman, K. Hamouz, M. Orsák, V. Pivec

Czech University of Agriculture in Prague, Czech Republic

ABSTRACT: One of the richest sources of antioxidants in human diet are potato tubers (*Solanum tuberosum* L.). Their antioxidant content decreases in great deal atherosclerotic processes, inhibits from cholesterol accumulation in blood serum and enhances resistance of vascular walls. Many antioxidants decrease risk of coronary heart disease and have free radical scavenging effect. The main potato antioxidants are polyphenols, ascorbic acid, carotenoids, tocopherols, α -lipoic acid, and selenium.

Keywords: potatoes; antioxidants; polyphenols; ascorbic acid; carotenoids; tocopherols; α -lipoic acid; selenium

ABSTRAKT: Jedním z nejbohatších zdrojů antioxidantů v lidské výživě jsou bramborové hlízy (*Solanum tuberosum* L.). Antioxidanty zastoupené v lidské výživě snižují ve značné míře aterosklerotické procesy, inhibují akumulaci cholesterolu v krevním séru a zvyšují rezistenci cévních stěn. Mnohé antioxidanty snižují riziko koronárních srdečních onemocnění a redukují volné radikály. Hlavními antioxidanty brambor jsou polyfenoly, askorbová kyselina, karotenoidy, tokoferoly, α -lipoová kyselina a selen. Polyfenolické antioxidanty (fenolické kyseliny odvozené od skořicové kyseliny, tyrozin a flavonoidy) a askorbová kyselina jsou rozpustné ve vodě, zatímco karotenoidy, tokoferoly a α -lipoová kyselina jsou lipofilní. Působí synergicky a vzájemně zvyšují pozitivní účinek. Polyfenolické sloučeniny chrání vitamin C a β -karoten, které na druhé straně chrání obsah vitamínu E – tokoferolu. Kromě L-tyrozinu (770 až 3900 mg/kg) jsou v bramborách nejvíce zastoupeny skořicové polyfenolické kyseliny [chlorogenová (22 až 71 mg/kg), neochlorogenová (11 mg/kg), kávová (280 mg/kg) a ferulová (28 mg/kg)], jež představují silné antioxidanty, které mohou zastavit i růst některých rakovinných buněk. U červeně zbarvených odrůd jsou v peridermu hlíz obsaženy antokyany odvozené od pelargonidinu a peonidinu. Antokyaniny působí jako antioxidanty na lidský lipoprotein a na systémy lecitín – liposom. Brambory jsou významným zdrojem askorbové kyseliny (170 až 990 mg/kg), dokonce i po tepelné úpravě. Askorbová kyselina je hlavním přírodním inhibitorem hnědnutí brambor, neboť redukuje původní produkty oxidace o-chinony zpět na o-difenoly. Askorbová kyselina působí jako zachytávač skofliku, resp. jako donor vodíku pro fenolické sloučeniny a reaguje s některými kovy, které redukuje. Karotenoidy mohou být obsaženy v bramborách v množství 4 až 4,5 mg/kg. Nejvíce jsou zastoupené β -karoten a xantofyly lutein a zeaxantin. Karotenoidy se vyznačují antioxidačními účinky, zvyšují imunitní odpověď a chrání buňky pokožky proti UV záření. Ochranné účinky karotenoidů jsou zvýšeny jejich komplexním zastoupením (12 karotenoidů). Hlízy brambor jsou také bohaté na α -tokoferol (0,5 až 2,8 mg/kg) a v relativně dostatečném množství se v bramborách vyskytuje selen (0,01 mg/kg). Selen působí společně s vitamínem E v buněčném antioxidačním obranném systému tak, že zastavuje reakce volných radikálů. Dalším antioxidantem v bramborových hlízách typu vitamínu je α -lipoová kyselina (růstový faktor brambor), která se uvnitř buněk redukuje na dihydroliipoovou kyselinu, jež likviduje a neutralizuje volné radikály. Vzhledem k obsahu těchto typů antioxidantů jsou brambory důležitým zdrojem fytonutrientů a mohou být řazeny k tzv. fytopotravinám, ovlivňujícím pozitivně lidské zdraví.

Klíčová slova: brambory; antioxidanty; polyfenoly; askorbová kyselina; karotenoidy; tokoferoly; α -lipoová kyselina; selen

Introduction

Natural antioxidants present in food and other biological materials have received considerable interest because of their safety and potential nutritional and therapeutic effects. Antioxidants regarding their chemical structure

could be divided into polyphenols (flavonoids, anthocyanins, phenolcarboxylic acids, and coumarins), carotenoids (carotenes – precursors of vitamin A and xanthophylls), and tocopherols (vitamin E). Also ascorbic acid (vitamin C) and selenium possess strong antioxidant activity. Antioxidants can scavenge free radicals before

they cause damage, or prevent oxidative damage from spreading out. Antioxidants have been found to slow, block or reverse oxidative changes in human body substances and cells.

Polyphenolic compounds, esp. flavonoids are effective antioxidants (Bors, Saran, 1987) due their capability to scavenge free radicals of fatty acids and oxygen (Good, 1994). Vegetables and crops are significant sources of antioxidants in human nutrition either in direct consumption or in the form of vegetable juices. Justesen et al. (1997) estimated daily flavonoid intake at 26 mg/day. Potato tubers present very significant source of antioxidants (Al-Saikhan et al., 1995) in human nutrition, e.g. among fruits and vegetables they insure an average daily intake about 64 mg polyphenols per capita in the U.S.A. and occupy second place after tomatoes (Vinson, 1996). From antioxidants they are richest in polyphenols (1226 to 4405 mg/kg) and ascorbic acid (170 to 990 mg/kg). From other antioxidant compounds carotenoids (as high as 4 mg/kg), α -tocopherol (0.5 to 2.8 mg/kg) and in lesser contents selenium (0.01 mg/kg) or α -lipoic acid are occurring.

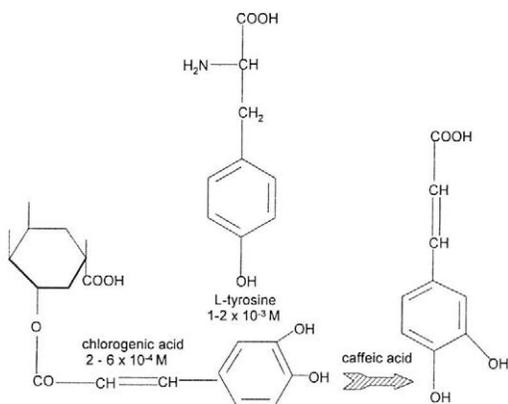
Polyphenols

Potato tubers contain secondary metabolites (polyphenolic compounds) presenting substrates for enzymatic browning of potatoes that is occurring during peeling, cutting or grating of raw potato tubers (Laanest et al., 1995). L-tyrosine (1 to $2 \cdot 10^{-3}$ M) and chlorogenic acid (2 to $6 \cdot 10^{-4}$ M) (Dao, Friedman, 1992) are major polyphenolic potato constituents (Matheis, 1987, 1989; Leja, 1989). The most presented polyphenolic compound in potato tubers is amino acid tyrosine (770 to 3900 mg/kg), followed with caffeic acid (280 mg/kg), scopolin (98 mg/kg), chlorogenic acid (22 to 71 mg/kg), ferulic acid (28 mg/kg) and cryptochlorogenic acid (11 mg/kg). Caffeic acid may be a product of hydroly-

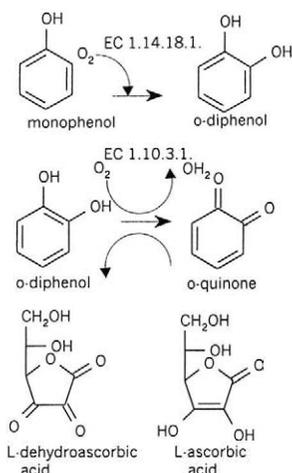
sis of chlorogenic acid (Fig. 1) and possesses strong antioxidant activity as well as its related hydroxycinnamic acid compounds (Chen, Ho, 1997). Yamamoto et al. (1997) have found caffeic acid level in the edible parts of potato as high as 0.2 to 3.2 mg/kg, the total polyphenols were 422 to 834 mg/kg. The skin parts contained double in each case. Some polyphenols are presented only in lesser levels such as neochlorogenic acid (7 mg/kg), p-coumaric acid (4 mg/kg), sinapic acid (3 mg/kg), and 3,4-dicaffeoyl-quinic acid (3 mg/kg). Only in small levels were found 3,5-dicaffeoyl-quinic acid, scopoletin, trans-feruloylputrescine. Negrel et al. (1996) have found the occurrence of ether-linked ferulic acid amides (feruloyltyramine and/or feruloyloctopamine) in suberin-enriched samples of natural and wound periderms of potato tubers. The major part of the ether bonds involved the ferulic moiety of the amides. In total plant were identified glycosides of delphinidin (3-O-rutinoside), quercetin (3-O-glucoside or rutinoside), kaempferol (3-O-diglucoside-7-O-rhamnoside, 3-O-triglucoside-7-O-rhamnoside), and petunidin (3-O-rutinoside). Phenolics are mostly contained in potato tuber peels (Sotillo et al., 1994a, b). Hung et al. (1997) using the red tuber-producing potato cultivar Norland observed changes in anthocyanin content and tuber surface color during tuber development – intensity of redness and anthocyanin content per unit of surface area decreased as tuber weight increased. HPLC showed that pelargonidin and peonidin are the major anthocyanidins in the tuber periderm.

Ascorbic acid

Ascorbic acid (AA) is the major naturally occurring inhibitor of enzymatic browning of potatoes (Almeida, Nogueira, 1995). It reduces the initial oxidation products, the o-quinones, back to o-diphenols until it is quantitatively oxidised to dehydroascorbic acid (Fig. 2). Ascorbic acid also inhibits potato PPO directly by blocking the copper of the active site of the enzyme. Ascorbic acid contained in tubers attracts interest because regarding its content in tubers and deal of consumption potatoes present an important source of vitamin C in human nutrition. Ascorbic acid concentration in tubers influences degree and rate of enzymatic browning of potatoes because it is a naturally occurring inhibitor. Potatoes are very rich in ascorbic acid (170 to 990 mg/kg) (Duke, 1992a). Even in cooked potato tubers remained in average 130 mg/kg of ascorbic acid and in microwaved potato tubers 151 mg/kg (USDA Nutrient Database, 1998). Ascorbic acid content is affected by many extrinsic and intrinsic factors such as variety, year of cultivation, way of cultivation, environmental conditions, stage of maturity, storage conditions and many others (Mapson et al., 1963; Brudzynski, Zawidzka-Okoniewska, 1979; Mondy et al., 1979; Takebe, Yoneyama, 1992; Mondy, Munshi, 1993; Cieslik, 1994; Štorková, Prugar, 1997; Hamouz et al., 1997, 1999). Dìpierro, Leonardis (1997) investigated the changes in the components of



1. Major phenolcarboxylic acids in potato tubers



2. Antioxidant network between polyphenols and ascorbic acid

the ascorbate-glutathione system during the storage of potato tubers for 40 weeks at both 3 and 9 °C in relation to lipid peroxidation. The ascorbate content of tubers decreased during storage both at 3 and 9 °C. The dehydroascorbate content reached a maximum after about eight weeks and was significantly higher in tubers stored at 3 °C. Ascorbate free radical reductase, dehydroascorbate reductase and glutathione reductase, the enzymes involved in the regeneration of ascorbate, were not affected by temperature, and remained quite unchanged throughout storage. It can be concluded that the ascorbate system is involved in the scavenging of the free radicals responsible for lipid peroxidation in stored potato tubers at least at low temperatures and in the first period of storage.

Carotenoids

Also carotenoids are efficient antioxidants involved in antioxidant network (Canfield, 1993; Järvinen; 1995; Mayne, 1996). In potatoes they represent in average 4 mg/kg. Mader, Vodičková (1996, 1998) have found total carotenoid content in 35 Czech potato varieties in range from 0.16 to 6.36 mg/kg and average value 1.94 mg/kg. Dokkum et al. (1990) bring an average total carotenoid value 0.75 mg/kg. After Duke (1992a) β -carotene (1 mg/kg) and its derivative β -carotene-5,6-monoepoxide (Fig. 3) are the most presented among them. But Ong, Tee (1992) have found as most occurring lutein (0.13 to 0.60 mg/kg), and β -carotene (0.03 to 0.40 mg/kg). Granado et al. (1992) have found in early variety as major components lutein (0.12 mg/kg), zeaxanthin (0.04 mg/kg) and β -carotene (0.01 mg/kg). Also Heinonen et al. (1989) have found as major carotenoids lutein and zeaxanthin (0.13 to 0.60 mg/kg) and β -carotene (0.032 to 0.077 mg/kg). They have found higher contents in older potato tubers after stor-

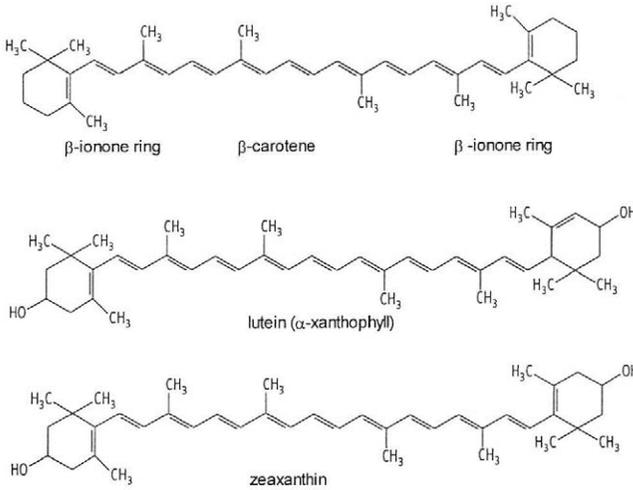
age (in March) in comparison with new tubers (in August), what could be explained by changes in water content. Other carotenoids are contained only in minor levels. Among them were found α -carotene, cis-antheraxanthin-5,6-monoepoxide, cis-neoxanthin, cis-violaxanthin, cryptoxanthin, cryptoxanthin-5,6-diepoxyde, hypoxanthin, lycopene and trans-zeatine (Bergthaller et al., 1986; Duke, 1992a, b). Müller (1997) has found the total carotenoid content in potato tubers 4.5 mg/kg – this content was constituted from violaxanthin (1.8 mg/kg), antheraxanthin (zeaxanthin-5,6-epoxide, 1.3 mg/kg), lutein (1.0 mg/kg), zeaxanthin (0.16 mg/kg), neoxanthin (0.14 mg/kg), β -carotene (0.05 mg/kg) and β -cryptoxanthin (0.03 mg/kg). As determined Mader, Vodičková (1996) and Mader (1998), total carotenoid content is highly dependent on given variety (the highest levels were found in Agria, Lipta, Albina, Svatava, Zlata, Korela, Tara, Nikola, Lukava and Karin varieties). Carotenoid content is affected strongly by given year of cultivation, whereas semi-early varieties are more dependent in comparison with early varieties. They identified as dominant lutein and zeaxanthin (42 to 66% of peak area), in lesser level was present β -carotene (1.1 to 3%).

Other potato antioxidants

Potato tubers are also rich in α -tocopherol (0.5 to 2.8 mg/kg) (Packer, 1994) and relatively sufficient among vegetables is selenium content (0.01 mg/kg). Djujić et al. (1995) estimated average daily dietary intake of selenium as 29.72 μ g/day and contribution of vegetables and potatoes was 6.5%. The other vitamin-like antioxidant in potato tubers is α -lipoic acid, known as potato growth factor. Inside the cell, α -lipoic acid is readily reduced to dihydrolipoic acid that is neutralising free radicals (Packer et al., 1995). It directly destroys damaging superoxide radicals, hydroperoxy radicals and hydroxylradicals.

Importance of potato antioxidants

Potato tubers processed in different forms such as French fries, hash browns, tatter tots, potato chips, and scalloped potatoes, mashed potatoes, and baked potatoes are actually loaded with cholesterol-lowering fibre, and potassium which maintains fluid and electrolyte balance as well as normal heart function and blood pressure. They are also rich in antioxidants complex, esp. in polyphenols (cinnamic acids, tyrosine and flavonoids) and ascorbic acid. These compounds are predominantly water-soluble. On the other hand, in potato tubers are contained also lipophilic antioxidants such as carotenoids, tocopherols and α -lipoic acid. Generally, antioxidants are more effective when used in combinations due to their synergical effect. They all work together synergistically for mutual benefit. Polyphenolic



compounds protect vitamin C and β -carotene, which in turn, can help to extend vitamin E functions (Heinonen, 1997). Besides L-tyrosine are in potatoes in greatest deal occurring cinnamic acids (chlorogenic, neochlorogenic, caffeic, ferulic) that are powerful antioxidants and can stop the growth of some cancer cells (Hertog et al., 1993). Flavonoids are able to capture and neutralise excessive free radicals in many tissues of the body and work in synergy with antioxidant vitamins C and E (Cutler, 1991). Some flavonoids are capable of binding to metal ions, which prevents these metals from acting as catalysts in the body and are able to regulate the activity of the body's own antioxidant enzymes, superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPX). They enhance the effects of ascorbic acid. Anthocyanins work as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin – liposome systems (Satué et al., 1997). Ascorbic acid can have antioxidant activity under some circumstances. It can act as a scavenger for oxygen, as a hydrogen donor to phenolics and as a synergist with some antioxidants. Ascorbic acid reacts with some metals, it reduces them and allow them to act more effectively as prooxidants. β -Carotene, the major carotenoid compound of potato tubers, possesses the highest antioxidant activity. α -Lipoic acid regenerates other antioxidants such as C, E vitamins and glutathione, prolonging their existence in the body. Dihydrolipoic acid recycles vitamin E by synergistically interacting with ascorbate. While β -carotene is not active in vitamin E recycling, it may itself protect against oxidative destruction (Kagan et al., 1993). Carotenes are tissue-specific in their protection (Ziegler, 1991). Overall protective effects are greater when all carotenes are taken together. Carotenes also enhance immune response and protect skin cells against UV radiation. Selenium works with vitamin E in the cell's antioxidant defence system to slow or stop free radical reactions that can damage vital cell structures.

Regarding content of these groups of antioxidants potatoes are an important source of nutraceuticals or phytonutrients and can be classed to phytofoods affecting positively human health.

References

- Almeida M. E. M., Nogueira J. N. (1995): The control of polyphenoloxidase activity in fruits and vegetables: a study of the interactions between the chemical compounds used and heat treatment. *Pl. Fds Hum. Nutr. (Dordrecht)*, **47**: 245–256.
- Al-Saikhan M. S., Howard L. R., Miller J. C., Jr. (1995): Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum* L.). *J. Fd. Sci.*, **60**: 341–343.
- Bergthaller W., Tegge G., Hoffmann W. (1986): Effect of storage temperature on color changes and content of carotenoids of dehydrated diced potatoes. In: Carghill B. F. (ed.): *Engineering for potatoes*. St. Joseph, MI, USA, ASAE.
- Bors W., Saran M. (1987): Radical scavenging by flavonoid antioxidants. *Free Radic. Res. Commun.*, **2**: 289–294.
- Brudzynski A., Zawidzka-Okoniewska E. (1979): Changes in the factors, which control the darkening of potato tubers in relation to the temperature and time of storage. *Zesz. Nauk. Szk. Glow. Gospod. Wiejsk. Ser. Technol. Rol.-Spoz.*, **13**: 91–111.
- Canfield M. (1993): Co-oxidative reactions of carotenoids. In: *Carotenoids in human health*, San Diego, CA.
- Chen J. H., Ho C. T. (1997): Antioxidant activities of caffeic acid and its related hydroxycinnamic acid compounds. *J. Agric. Fd. Chem.*, **45**: 2374–2378.
- Cieslik E. (1994): The effect of naturally occurring vitamin C in potato tubers on the levels of nitrates and nitrites. *Fd. Chem.*, **49**: 233–235.
- Cutler R. G. (1991): Antioxidants and aging. *Amer. J. Clin. Nutr.*, **53**: 373–380.

- Dao L., Friedman M. (1992): Chlorogenic acid content of fresh and processed potatoes determined by ultraviolet spectrophotometry. *J. Agric. Fd. Chem.*, **40**: 2152–2156.
- Dipierro S., Leonardis S. de (1997): The ascorbate system and lipid peroxidation in stored potato (*Solanum tuberosum* L.) tubers. *J. Exp. Bot.*, **48**: 779–783.
- Djujić I., Djujić B., Trajković L. (1995): Dietary intake of selenium in Serbia: results for 1991. In: Conf. Selenium, Nauc. Skup. Srp. Akad. Nauk. Umet., **6**: 81–87.
- Dokkum W. van, Vos R. H. de, Schrijver J. (1990): Retinol, total carotenoids, beta-carotene, and tocopherols in total diets of male adolescents in the Netherlands. *J. Agric. Fd. Chem.*, **38**: 211–216.
- Duke J. A. (1992a): Handbook of phytochemical constituents of grass herbs and other economic plants. Boca Raton, CRC Press.
- Duke J. A. (1992b): Handbook of biologically active phytochemicals and their activities. Boca Raton, CRC Press.
- Good D. (1994): The role of antioxidant vitamins. *Amer. J. Med.*: 5–12.
- Granado F., Olmedilla B., Blanco I., Rojas-Hidalgo E. (1992): Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables. *J. Agric. Fd. Chem.*, **40**: 2135–2140.
- Hamouz K., Lachman J., Pivec V., Orsák M. (1997): Vliv podmínek pěstování na obsah polyfenolických látek v bramborách u odrůd Agria a Karin. *Rostl. Výr.*, **43**: 541–546.
- Hamouz K., Lachman J., Vokál B., Pivec V. (1999): Influence of environmental conditions and type of cultivation on the polyphenol and ascorbic acid content in potato tubers. *Rostl. Výr.*, **45**: 293–298.
- Heinonen M. I., Haila K., Lampi A. M., Piironen V. (1997): Inhibition of oxidation in 10% oil-in-water emulsions by beta-carotene with alpha- and gamma-tocopherols. *J. Amer. Oil Chem. Soc.*, **74**: 1047–1052.
- Heinonen M. I., Ollilainen V., Linkola E. K., Varo P. T., Koivistoinen P. E. (1989): Carotenoids in Finnish foods: vegetables, fruits, and berries. *J. Agric. Fd. Chem.*, **37**: 655–659.
- Hertog M. G. L., Hollman P. C. H., Katan M. B., Kromhout D. (1993): Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutr. Canc.*, **20**: 21–29.
- Hung Ch. Y., Murray J. R., Ohmann S. M., Tong C. B. S. (1997): Anthocyanin accumulation during potato tuber development. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.*, **122**: 20–23.
- Järvinen R. (1995): Carotenoids, retinoids, tocopherols and tocotrienols in the diet, the Finnish mobile clinic health examination survey. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, **65**: 24–30.
- Justesen U., Knuthsen P., Leth T. (1997): Determination of plant polyphenols in Danish foodstuffs by HPLC-UV and LC-MS detection. *Canc. Lett. (Shannon)*, **114**: 165–167.
- Kagan V. E., Serbinova E. A., Forte T., Scita G., Packer L. (1993): Recycling of vitamin E in human low density lipoproteins. *J. Lipid. Res.*, **33**: 385–397.
- Laanest L., Tohver A., Palm E. (1995): Soluble phenolics and alicyclic acids in aging potato tuber slices. *Eesti Tüd. Akad. Toim. Biol.*, **44**: 1–10.
- Leja M. (1989): Chlorogenic acid as the main phenolic compound of mature and immature potato tubers stored at low and high temperature. *Acta Physiol. Pl.*, **11**: 201–206.
- Mader P. (1998): Karotenoidy v hlízách brambor vybraných odrůd českého sortimentu. In: Sbor. Ref. XXIX. Symp. o nových směrech výroby a hodnocení potravin, Skalský dvůr.
- Mader P., Vodičková H. (1996): Karotenoidy v hlízách brambor vybraných odrůd českého sortimentu. [Závěrečná zpráva.] Praha.
- Mapson L. W., Swain T., Tomalin A. W. (1963): Influence of variety, cultural conditions and temperature of storage on enzymic browning of potato tubers. *J. Sci. Fd. Agric.*, **14**: 673–684.
- Matheis G. (1987): Polyphenol oxidase and enzymatic browning of potatoes (*Solanum tuberosum*). II. Enzymatic browning and potato constituents. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.*, **11**: 33–41.
- Matheis G. (1989): Polyphenol oxidase and enzymatic browning of potatoes (*Solanum tuberosum*). III. Recent progress. *Chem. Mikrobiol. Technol. Lebensm.*, **12**: 86–95.
- Mayne S. T. (1996): Beta-carotene, carotenoids, and disease prevention in humans. *Faseb J.*, **10**: 690–701.
- Mondy N. I., Munshi C. B. (1993): Effect of maturity and storage on ascorbic acid and tyrosine concentrations and enzymic discoloration of potatoes. *J. Agric. Fd. Chem.*, **41**: 1868–1871.
- Mondy N. I., Koch R. L., Chandra S. (1979): Influence of nitrogen fertilisation on potato discoloration in relation to chemical composition. 2. Phenols and ascorbic acid. *J. Agric. Fd. Chem.*, **27**: 418–420.
- Müller H. (1997): Determination of the carotenoid content in selected vegetables and fruits by HPLC and photodiode array detection. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch. A*, **204**: 88–94.
- Negrel J., Pollet B., Lapiere C. (1996): Ether-linked ferulic acid amides in natural and wound periderms of potato tuber. *Phytochemistry*, **43**: 1195–1199.
- Ong A. S. H., Tee E. S. (1992): Natural sources of carotenoids from plants and oils. *Meth. Enzymol.*, **213**: 142.
- Packer L. (1994): Vitamin E is nature's master antioxidant. *Sci. & Med.*: 54–63.
- Packer L., Witt E. H., Tritschler H. J. (1995): Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic. Biol. Med.*, **19**: 227–250.
- Satué M. T., Heinonen M. I., Frankel E. N. (1997): Anthocyanins as antioxidants in human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. *J. Agric. Fd. Chem.*, **45**: 3362–3367.
- Sotillo R. D. de, Hadley M., Holm E. T. (1994a): Phenolics in aqueous potato peel extract: extraction, identification and degradation. *J. Fd. Sci.*, **59**: 649–651.
- Sotillo R. D. de, Hadley M., Holm E. T. (1994b): Potato peel waste: stability and antioxidant activity of a freeze-dried extract. *J. Fd. Sci.*, **59**: 1031–1033.
- Štorková J., Prugar J. (1997): Kvalita brambor z ekologického pěstebního systému. *Výž. Potravn.*, **52**: 2–5.
- Takebe M., Yoneyama T. (1992): Plant growth and ascorbic acid. 1. Changes of ascorbic acid concentrations in the

- leaves and tubers of sweet potato (*Ipomea batatas* Lam.) and potato (*Solanum tuberosum* L.). *Nippon Dojo Hiryo-gaku Zasshi*, 63: 447–454.
- Vinson J. A. (1996): U.S. per capita polyphenol consumption from common fruits, vegetables and beverages. *Amer. Chem. Soc. Ann. Meet.* Orlando.
- Yamamoto I., Takano K., Sato H., Kamo I., Miamoto T. (1997): Natural toxic substances polyphenols, limonene, and allyl isothiocyanate, in several edible crops. *Tokyo Nogyo Daigaku Nogaku Shuho*, 41: 239–245.
- Ziegler R. (1991): Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 53: 251–265.
- USDA Nutrient Database for Standard Reference Release 12 (1998).

Received on December 17, 1999

Corresponding author:

Doc. Ing. Jaromír L a c h m a n , CSc., Česká zemědělská univerzita v Praze, 165 21 Praha 6-Suchbát, tel.: +420 2 24 38 27 20, fax: +420 2 20 92 16 48, e-mail: lachman@af.czu.cz

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 dvojitě mezery. K rukopisu je třeba přiložit disketu s prací pořízenou na PC a s grafickou dokumentací. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

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

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

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

Rozšířený souhrn (Abstract) je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

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

Literární přehled má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému.

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

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

Diskuse obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostacích 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 PSC, 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

Prášil I., Kadlecová Z., Faltus M., Prášilová P.:	
Water content, osmotic potential and abscisic acid level as indices of freezing tolerance in barleys	
Obsah vody, osmotický potenciál a hladina kyseliny abscisové jako ukazatele mrazuvzdornosti ječmenů.....	193
Klímeš F.:	
Dynamics of species richness of floodplain meadows	
Dynamika druhové pestrosti nivních luk.....	199
Míka V., Kohoutek A., Smrž J.:	
A non-destructive method of the evaluation of fodder wilting after cutting <i>in situ</i>	
Nedestruktivní metoda hodnocení rychlosti zavádání píce po seči <i>in situ</i>	209
Hubík K.:	
Využití SE-HPLC analýzy prolaminových zásobních bílkovin pro predikci technologické jakosti odrůd ozimé pšenice	
Use of the SE-HPLC analysis of prolamin storage protein to predict breadmaking quality in winter wheat varieties	213
Butorac J.:	
Heterosis and combining ability of certain chemical traits in burley tobacco	
Heteroze a kombinační schopnost některých chemických znaků tabáku typu burley	219
Babůrková M., Jůza J., Moudrý J., Pejcha J.:	
Vliv genotypu a agrotechniky na strukturu výnosových prvků pohanky seté	
The effect of genotype and agronomical practices on the structure of yield factors of buckwheat.....	225
INFORMACE – STUDIE – SDĚLENÍ – INFORMATION – STUDY – REPORT	
Lachman J., Hamouz K., Orsák M., Pivec V.:	
Potato tubers as a significant source of antioxidants in human nutrition	
Hlízy brambor jako významný zdroj antioxidantů v lidské výživě.....	231