

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

ROSTLINNÁ VÝROBA

Plant Production

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

8

VOLUME 46
PRAHA
SRPEN 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 Vaňek, 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 rostlinnej 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 pícninařský, 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 Zawislak (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 oblastí rostlinné výroby, především pěstování rostlin, tvorby výnosů plodin, kvality jejich produktů, semenářství, fyziologie rostlin, agrochemie, pedologie, mikrobiologie, meliorací a agroekologie. Časopis je citován v bibliografickém časopise Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences. Abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: Agricola, Agris, CAB Abstracts, Czech Agricultural Bibliography, Toxline Plus.

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

Přijímání rukopisů: Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: RNDr. Eva Stříbrná, vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Česká republika, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@uzpi.cz. Den doručení rukopisu do redakce je publikován jako datum přijetí k publikaci.

Informace o předplatném: Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslány na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 2000 je 816 Kč.

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

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

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

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

Acceptance of manuscripts: Two copies of manuscript should be addressed to: RNDr. Eva Stříbrná, editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@uzpi.cz. The day the manuscript reaches the editor for the first time is given upon publication as the date of reception.

Subscription information: Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 2000 is 195 USD (Europe), 214 USD (overseas).

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

TRACE METAL INTERACTIONS EXPRESSED THROUGH PHOTOSYNTHETIC PIGMENT CONTENTS IN *SINAPIS ALBA* SEEDLINGS

INTERAKCIE STOPOVÝCH KOVOV VYJADRENÉ POMOCOU OBSAHU FOTOSYNTETICKÝCH PIGMENTOV V SEMENAČKÁCH *SINAPIS ALBA*

A. Fargašová

Faculty of Chemical Technology, Slovak Technical University, Bratislava, Slovak Republic

ABSTRACT: Seedlings of *Sinapis alba* were grown in the presence of five trace metals Cu, Ni, Mo, Mn and V and their combinations to evaluate how metals and their pairs influence photosynthetic pigments production. When metal ions were tested alone Mn, V and Cu significantly decreased in comparison with the control production of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and carotenoids. Mo and Ni had not unfavorable effect on chlorophyll *a* and carotenoids production. For major metal-metal combinations an unfavorable effect of single metals was reduced or unchanged. The metals had primarily an antagonistic or indifferent effect mutually. For all three determined pigments production synergism indicated only combinations Ni + Mn, Mo + Cu and Mo + Mn with aspect to Ni and Mo. In combination Mn + Mo the decrease in chlorophyll *a* and chlorophyll *b* content was reciprocally confirmed. Mn enhanced Mo and Ni unfavorable effect on all pigments production. V resulted in no interactions with Mo and Ni to all pigments content, but it was introduced as antagonist to Mn. In relation to Cu, V enhanced Cu inhibitory effect on carotenoids production, decreased Cu unfavorable effect on chlorophyll *b* production, and in Cu presence had an indifferent effect on chlorophyll *a* content.

Keywords: photosynthetic pigments; metal combinations; interactions; *Sinapis alba*; copper; molybdenum; nickel; vanadium; manganese

ABSTRAKT: V práci sa stanovoval účinok piatich stopových kovov Cu, Ni, Mo, Mn a V na produkciu fotosyntetických pigmentov v semenačkách horčice bielej *Sinapis alba*. Kovy sa testovali tak jednotlivito, ako aj vo vzájomných párových kombináciách. Pri raste semenačiek len v prítomnosti Mn, V a Cu sa preukazuje znižovala tvorba chlorofylu *a* i chlorofylu *b* a karotenoidov. Mo a Ni naopak nemali v použitej koncentrácii nepriaznivý vplyv na tvorbu chlorofylu *a* a karotenoidov a preukazuje znižovali len obsah chlorofylu *b*. Pri väčšine párových kombinácií sa nepriaznivý účinok jednotlivých kovov na tvorbu pigmentov buď znižoval, alebo sa v porovnaní s účinkom jednotlivých kovov nemenil. Na základe týchto zistení sa dá konštatovať, že medzi kovmi prevládala vzájomne antagonistickej alebo indiferentnej účinok. Synergický účinok na tvorbu všetkých troch stanovovaných pigmentov sa potvrdil len v kombináciách Ni + Mn, Mo + Cu a Mo + Mn vzhľadom na Ni a Mo. Kombinácia Mn + Mo recipročne zvyšovala nepriaznivý účinok oboch kovov na tvorbu chlorofylu *a* i chlorofylu *b*. Z uvádzaných výsledkov sa dá konštatovať, že Mn zvyšoval nepriaznivý účinok Mo a Ni a vystupoval vzhľadom na tieto kovy synergicky. Vzhľadom na tvorbu fotosyntetických pigmentov nevchádzal do interakcií s Mo a Ni, ale vystupoval ako antagonista Mn. Vo vzťahu k Cu zvyšoval V jej inhibičný účinok na tvorbu karotenoidov, znižoval nepriaznivý účinok Cu na tvorbu chlorofylu *b* a bol indiferentný vo vzťahu k Cu a tvorbe chlorofylu *a*.

Kľúčové slová: fotosyntetické pigmenty; kombinácie kovov; interakcie; *Sinapis alba*; meď; molybdén; nikel; vanád; mangán

INTRODUCTION

Over the last few years heavy metals had received considerable attention as a consequence of the increased environmental pollution from industrial, agricultural, energetic and municipal sources. They function in the soil as stress factors causing physiological disorders after having been absorbed by the root system which results in decreased vigor of a plant and retardation of its growth

(Masarovičová et al., 1998). Physiological response of plants to a toxic metal treatment is not only growth inhibition, but also changes in various biochemical characteristics (Cook et al., 1997; Vassilev et al., 1998). Long-term exposure of whole plants to enhanced metal concentrations may affect chlorophyll synthesis and thus have an important role in both the chloroplast development in young leaves and in the inhibition of photosynthesis (Boddi et al., 1995). Decrease in production of photosyn-

thetic pigments is an early symptom of metal toxicity (Singh et al., 1996; Masarovičová, Holubová, 1998). The chlorophyll content is one of the most investigated physiological (but not specific) characteristics used for identification of physiological disturbance owing to the consequence of emission impact (Masarovičová et al., 1998). It was established that some metals decreased chlorophyll content in many plant species (Cook et al., 1997; Vassilev et al., 1998; Masarovičová, Holubová, 1999).

The majority of toxicity studies involve only one substance at a time. However, toxic occurrences in the real world usually involve combinations or mixtures of chemicals. Reasons for toxicity studies being performed as singular compounds are due to simplicity, ease of experimentation methodology and cost, compared to mixture studies. Resultant outcomes from multiple toxicants can have a dramatically varying influence on an ecosystem or organism compared to the individual components alone (Fargašová, Beinrohr, 1998). Elements with similar physico-chemical properties compete for absorption, transport and accumulation processes. They replace each other in enzymatic pathways and receptor proteins (Friberg et al., 1986). Interactions between toxic elements and essential elements in biochemical steps cause crop losses, accumulation in plant tissues and food chains, and exert harmful effects on human health.

The purpose of this study was to examine whether sensitive reactions in chlorophylls and carotenoids biosynthesis could be considered as primary events in the general toxicity of metals and their combinations to plants.

MATERIAL AND METHODS

Seeds of mustard (*Sinapis alba*) were germinated in Petri dishes with 14-cm diameter and filter paper on the bottom. The paper was sacked with tap water and 50 healthy looking and similar size seeds were evenly spread on the surface of the filter. Petri dishes were situated in the dark thermostat ($t = 25\text{ }^{\circ}\text{C}$; air humidity 80%).

After 72 h period the germinated seeds were transferred on the plastic nets and the seedlings were grown in 500 ml dark plastic containers flushed with hydroponic solution (distilled water) with the following chemical substances ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 0.8; KH_2PO_4 0.2; KNO_3 0.2; $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2; KCl 0.2; FeSO_4 0.01; $\text{pH} = 5.2$. Experiments were conducted under standard conditions: $25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 80% relative air humidity and light intensity $2000\text{ cd}\cdot\text{m}^{-2}$. Each container contained 50 seedlings. Pigment analysis has been done in cotyledonous leaves after 8-day growth period. Pigment content (chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total carotenoids $x + c$) was determined in 95% ethanol extract measuring absorbance at 665, 649 and 470 nm by spectrophotometer (Fargašová, 1998b). Chlorophyll *a*, *b*, $a + b$ and carotenoids $x + c$ contents were calculated according to Lichtenthaler, Wellburn (1983).

The tested metals were: Cu – $\text{CuSO}_4\cdot 5\text{ H}_2\text{O}$; Ni – $\text{NiSO}_4\cdot 7\text{ H}_2\text{O}$; Mn – $\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$; Mo – $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{ H}_2\text{O}$; V – V_2O_5 (MERCK, Darmstadt, FRG) and their following combinations: V + Ni, V + Mo, V + Cu, V + Mn, Ni + Mo, Ni + Cu, Ni + Mn, Mo + Cu, Mo + Mn, Mn + Cu. Each metal was used in the concentration corresponding with calculated EC_{50} value for root growth inhibition (Fargašová, 1998b) ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$): Cu – 4.3, Mn – 13.0, Mo – 6.1, Ni – 11.5, V – 15.8.

All experiments were set up in a completely randomized design with three replicates. For statistical evaluation of the results ADSTAT 2.0 program has been used.

RESULTS

Pigment analysis confirmed that photosynthetic pigment content in cotyledonous leaves decreased after the treatment with individual metals (Tab. I). The greatest decrease was found in Chl *b* content. Very strong inhibitory effect on production of all three determined pigments had in used concentration, especially Mn. No significant differences in comparison with control were determined for Ni and Mo and Chl *a*, Chl $a + b$ and carotenoids content (Tab. I). In the presence of Ni and Mo only Chl *b* amount rapidly decreased. Because Chl *b* con-

I. Changes in the levels of chlorophylls and total carotenoids and pigment ratios in cotyledonous leaves of *Sinapis alba* seedlings treated with individual metal ions; mean of three determinations, standard deviation 6% or less; pigment content in $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ dry weight

Pigment	Control	Mn	V	Cu	Ni	Mo
Chlorophyll <i>a</i>	140.5	87.1*	104.4*	103.5*	134.0	131.1
Chlorophyll <i>b</i>	50.2	24.9*	28.4*	23.3*	41.6*	37.83*
Chlorophyll $a + b$	190.7	103.0*	132.8*	126.8*	175.53	168.9
Carotenoids $x + c$	28.0	16.7*	20.7*	20.8*	27.52	29.7
Pigments ratios						
<i>a/b</i>	2.80	3.5*	3.7*	4.4*	3.2	3.6*
$(a + b)/(x + c)$	6.81	6.2*	6.4	6.1*	6.4	5.7*

* significant differences between the control and metal treated seedlings ($P < 0.05$)

tent decreased after metal treatment faster than Chl *a* content, the values for Chl *a*/Chl *b* ratio were higher than those for the control. The carotenoids content decreased nearly on the same level as Chl *a* + *b* content and so no great differences in $(a + b)/(x + c)$ ratio in comparison with control were confirmed. Only Mo slightly increased production of carotenoids in comparison with the control and that was resulted in significant decrease of $(a + b)/(x + c)$ ratio.

Changes in the levels of photosynthetic pigments in cotyledonous leaves of seedlings grown in hydroponic solution with metal combinations are introduced in Tab. II. When these results are compared with pigment amounts in cotyledones from seedlings treated only with individual metals (Tab. I), the differences were confirmed. Metal-metal interactions could be expressed as antagonism, synergism or indifference. What kind of relation between metals could be introduced depends on metal to which statistic evaluation is done. For example, Cu came up antagonistic with regard to Mn and synergistic to Mo for all determined pigments. But Mn appeared to have an indifferent effect on Cu and Chl *a* and carotenoids content and enhanced (synergistic effect) Cu inhibitory ef-

fect on Chl *b* production. However, Mo had to Cu an indifferent effect on Chl *a* and Chl *b* production and antagonistic effect on carotenoids content (Tab. III). In general, it can be stated that in major combinations an unfavorable effect of single metals was reduced or unchanged. In the combinations primarily an antagonistic or indifferent effect between metals was confirmed mutually (Tab. III). For all three determined pigment contents indicated synergism only combinations Ni + Mn, Mo + Cu and Mo + Mn with aspect to Ni and Mo.

Whereas metal pairs Mo + Mn, V + Mn, Mn + Cu and Ni + Mn decreased Chl *b* content faster than Chl *a* content the values for Chl *a*/Chl *b* ratio were higher than that for control seedlings. For other combinations the inhibition of Chl *b* production was lower or on the same level as that for Chl *a* and the ratio Chl *a*/Chl *b* was lower or nearly the same as for the control. That indicates indifferent or antagonistic effect of metals in combinations on Chl *a* + *b* production. Because production of chlorophylls was not retarded to a higher extent than that of total carotenoids for majority combinations, no significant differences were confirmed in the ratio $(a + b)/(x + c)$. This pigment ratio exhibited values by about 6.8, which is normal for fully

II. Changes in the level of chlorophylls and total carotenoids and pigment ratios in cotyledonous leaves of *Sinapis alba* seedlings treated with metal combinations; mean of three determinations, standard deviation 6% or less; pigment content in $\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ dry weight

Pigment	Control	V + Ni	V + Mo	V + Cu	V + Mn	Mn + + Cu	Ni + + Mo	Ni + Cu	Ni + + Mn	Mo + + Cu	Mo + + Mn
Chl <i>a</i>	140.5	130.2	127.3	112.6	110.8	96.7	130.6	129.0	99.7	102.9	77.8
<i>I</i> ₁ (%)		7.4	9.4	19.8*	21.7*	31.2*	7.1	8.2	29.2*	26.7*	44.6*
<i>I</i> ₂ (%)		+24.7*	+22.0*	+7.9	+6.2	+11.0*	2.5	3.7	25.6*	21.5*	40.6*
<i>I</i> ₃ (%)		2.8	2.9	+8.8	+27.2*	6.6	0.4	+24.7*	+14.5*	0.5	10.6*
Chl <i>b</i>	50.2	48.8	52.4	44.8	34.7	27.0	50.3	52.4	31.9	43.1	21.0
<i>I</i> ₁ (%)		2.8	5.8	10.8	30.8*	46.2*	+0.1	+4.4	36.4*	14.2*	58.2*
<i>I</i> ₂ (%)		+27.1*	+36.4*	+16.6*	+22.2*	+8.4	+20.8*	+26.0*	23.2*	25.5*	44.4*
<i>I</i> ₃ (%)		+17.3*	9.5	+13.4*	+36.5*	15.9*	13.1*	+32.7*	+6.4	+9.0	15.7*
Chl <i>a</i> + <i>b</i>	190.7	179.0	179.7	157.4	145.5	123.7	181.8	181.5	131.6	146.0	98.8
<i>I</i> ₁ (%)		6.1	5.8	17.5*	23.7*	35.1*	4.7	4.9	31.0*	23.4*	48.2*
<i>I</i> ₂ (%)		+25.9*	+25.9*	+10.2*	+9.6	+20.0*	+3.6	+3.4	25.0*	22.7*	41.4*
<i>I</i> ₃ (%)		+1.9	4.9	+10.1*	+41.3*	2.5	3.8	+26.9*	+12.4*	2.1	4.1
Carotenoids <i>x</i> + <i>c</i>	28.0	26.9	28.3	24.0	23.8	20.4	27.7	28.3	20.4	22.8	18.6
<i>I</i> ₁ (%)		4.0	+1.2	14.3*	15.0*	27.1*	+1.1	+1.1	27.2*	18.5*	40.8*
<i>I</i> ₂ (%)		+29.7*	+36.8*	+15.8*	+15.0*	+21.9*	+0.7	+2.9	25.9*	23.3*	37.6*
<i>I</i> ₃ (%)		2.3	4.7	31.1	+42.5*	1.6	6.7	+36.7*	+21.7*	+10.0*	+10.9*
Pigments ratios											
Chl <i>a</i> /Chl <i>b</i>	2.80	2.7	2.4	2.5	3.2*	3.6*	2.6	2.5	3.1*	2.4	3.7*
$(a + b)/(x + c)$	6.80	6.7	6.3	6.6	6.1*	6.0*	6.6	6.4	6.5	6.4	5.3*

*I*₁ – percentage of inhibition in comparison with the control

*I*₂ – percentage of inhibition in comparison with the first metal in combination

*I*₃ – percentage of inhibition in comparison with the second metal in combination

+ enhancement of pigments content

* significant difference in comparison with the control, first or second metal in combination ($P < 0.05$)

III. Interactions between metals expressed through the photosynthetic pigment content in *Sinapis alba* seedlings

Metal	Effect	Interactive ions		
		chlorophyll <i>a</i>	chlorophyll <i>b</i>	carotenoids (<i>x</i> + <i>c</i>)
V	<i>S</i>			
	<i>A</i>	Ni, Mo	Ni, Mo, Cu	Ni, Mo, Cu, Mn
	<i>I</i>	Cu, Mn	Mn	
Ni	<i>S</i>	Mn	Mn	Mn
	<i>A</i>		Mo, Cu	
	<i>I</i>	Mo, Cu, V	V	Mo, Cu, V
Mo	<i>S</i>	Cu, Mn	Cu, Mn, Ni	Cu, Mn
	<i>A</i>			
	<i>I</i>	Ni, V	V	Ni, V
Mn	<i>S</i>	Mo	Mo	
	<i>A</i>	V, Ni, Cu	V, Cu	Ni, V, Cu, Mo
	<i>I</i>		Ni	
Cu	<i>S</i>		Mn	V
	<i>A</i>	Ni	Ni, V	Ni, Mo
	<i>I</i>	Mn, Mo, V	Mo	Mn

S – synergism (the interactive ion increased the inhibitory effect of metal introduced in the first column)

A – antagonism (the interactive ion decreased the inhibitory effect of metal introduced in the first column)

I – indifference (the interactive ion did not influence the inhibitory effect of metal introduced in the first column)

Interactive ion–ion which influence the effect of metal introduced in the first column of the table

green plant tissue. Carotenoids production was stronger inhibited only in combinations Mo + Mn, Ni + Mn and Mn + Cu on 40.8, 27.2 and 27.1%, respectively. The $(a + b)/(x + c)$ ratio was significantly decreased only for combinations Mo + Mn, Mn + Cu and V + Mn.

DISCUSSION

The effect of metals on physiological activity of plants is usually introduced as the effect upon the photosynthetic apparatus (Šeršeň et al., 1997) and chlorophyllase activity (Abdelbasset et al., 1995). In the presence of some metals (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+}) and their mixtures the activity of chlorophyllase enzyme increased and decomposition of Chl *a* is more rapid than decomposition of Chl *b* (Abdelbasset et al., 1995). However, during our tests this statement was not confirmed as for Mn as for Ni. Both these metals reduced more production of Chl *b* than that of Chl *a* in *S. alba* seedlings. From the obtained results it can be concluded that Mo did not influence the production of the determined photosynthetic pigments. As described Singh et al. (1996), metals affect generally chlorophylls more than carotenoids, and

this statement agrees with our results obtained for Ni but not for other tested metal ions. When the effect of Cu on pigments production was compared with effects of other metals tested, no significant differences were confirmed between Cu and V effect. In comparison with Mn, Cu unfavorable effect was significantly lower for all determined pigments, and in comparison with Ni and Mo significantly stronger, except Chl *b* content.

The metal–metal interactions in biological systems are focused especially on the joined influence on the growth and survival (Fargašová, 1998a; Fargašová, Beinrohr, 1998). Some combinations of metal ions can be synergistic for one organism and antagonistic for another and vice versa. Numerous studies have greatly increased the present knowledge of Cu forms and behavior in plants (Masarovičová, Holubová, 1998, 1999). Very commonly observed interactions are those of Cu–Zn (Graham, 1981). Cu–Mo interactions are closely related to N metabolism. The mutual antagonism existing between these elements is highly dependent on plant species and kind of a nutrition (Olsen, 1972). For pigments production Mo was determined during out tests as antagonist to Cu only for carotenoids production. For chlorophyll contents Mo effect to Cu was indifferent. In opposite Cu had synergistic effect to Mo for production of all determined pigments. Mo is an essential micronutrient, but the physiological requirement for this element is relatively low. Several complex interactions between Mo and other elements are observed within plant tissues and also in the external root media. Mo–Mn antagonism resulting from soil acidity influences the availability of these elements, therefore, liming can correct both Mo deficiency and Mn toxicity (Olsen, 1972). For photosynthetic pigments production between Mo and Mn we confirmed interaction resulting in mutual synergism. The only exception was carotenoids production when Mo reduced Mn unfavorable effect and increased carotenoids content. Synergism was also confirmed for Mo to Mn when accumulation of these metals in combination was determined in the roots and cotyledones of *S. alba* seedlings (Fargašová, Beinrohr, 1998). In opposite, Mn decreased Mo accumulation in both plant's parts and that resulted in antagonistic interaction (Fargašová, Beinrohr, 1998). Mo–V metabolic interactions are not precluded, since a substitution is possible between these elements in biochemical processes (Olsen, 1972). For pigments production V effect was on Mo indifferent and V did not increase low unfavorable effect of Mo on all determined pigments. In opposite, Mo decreased strong inhibitory effect of V on pigments production and acted as antagonist to V. As described Fargašová, Beinrohr (1998), Mo enhanced accumulation of V in the roots of *S. alba* but decreased V accumulation in above-ground parts of seedlings. On the contrary, V decreased accumulated amount of Mo in whole plant and indicated antagonistic effect.

All plants have a specific requirement for Mn and apparently the most important Mn function is related to the oxidation-reduction process. The functions of Mn in

plants have been widely reviewed by Mengel, Kirkby (1978). Mn is known to be involved in both biological and geochemical interactions. Interactions between Mn and other heavy metals are not confirmed, although there are reports of either antagonistic or synergistic effects of Mn on the uptake of some metals (Loneragan et al., 1982). During our tests Mn indicated antagonistic effect only on V and carotenoids production. Synergism was confirmed in relation to Cu and Chl *b* production and to Mo and Ni for production of all determined pigments.

There is no evidence of an essential role of Ni in plant metabolism, although the reported beneficial effects of Ni on plant growth have stimulated speculation that this metal may have some functions in plants (Mengel, Kirkby, 1978). The interaction between Ni and other trace metals, Fe in particular, is believed to be a common mechanism involved in Ni toxicity. Both antagonistic and synergistic interactions have been observed between Ni and several trace metals (Khalid, Tinsley, 1980; Fargašová, Beinrohr, 1998). During our tests the prevailing interaction between Ni and other tested metals for pigments production was antagonism. Synergism was confirmed only in combination with Mo for Chl *b* and indifference for Mo and Chl *a* and carotenoids content and for Mn and Chl *b* content.

The effect of V on living organisms has received little attention. The evidence that V is essential for the growth of higher plants is not yet conclusive, while the essentiality of this element for alga species is unquestionable and V is known to stimulate photosynthesis in these organisms (Plispanen, Lähdesmäki, 1983; Fargašová, 1998a). For plants phytotoxicity of V chlorosis and dwarfing may appear in some plants (Davis et al., 1978). Fargašová, Beinrohr (1998) introduced that accumulation of V in *S. alba* cotyledones in the presence of Ni, Mo, Mn and Cu increased. That indicates good penetration of V into the above-ground parts of *S. alba* from the roots. However, the unfavorable effect of V on photosynthetic pigments production in the presence of mentioned metals during our tests decreased. That represents prevailing metal-metal interaction as antagonism.

Presented results confirmed the existence of different interactions between trace metals. What kind of interaction will express depends as on observed parameter as on used plant species. The study suggests that multiple methodologies should be used to evaluate combination data for determining the type and significance of interactions. Further investigations of chemical interaction for different types of chemicals are needed to clarify mixtures and elucidate other interactive outcomes.

Acknowledgements

The study has been done with the support of the VEGA grant No. 1/7346/20 and COST Action 837.

REFERENCES

- Abdelbasset R., Issa A. A., Adam M. S. (1995): Chlorophyllase activity – effects of heavy metals and calcium. *Photosynthetica*, 31: 421–425.
- Boddi B., Oravec A. R., Lehoczki E. (1995): Effect of cadmium on organization and photoreduction of protochlorophyllide in dark-grown leaves and etioplast inner membrane preparations of wheat. *Photosynthetica*, 31: 411–420.
- Cook C. M., Kostidou E., Vardaka E., Lanaras T., (1997): Effects of copper on the growth, photosynthesis and nutrient concentrations of *Phaseolus* plants. *Photosynthetica*, 34: 179–193.
- Davis R. D., Beckett P. H. T., Wollan E. (1978): Critical levels of twenty potentially toxic elements in young spring barley. *Pl. Soil*, 49: 395–406.
- Fargašová A. (1998a): Accumulation and toxic effects of Cu^{2+} , Cu^+ , Mn^{2+} , VO_4^{3-} , Ni^{2+} and MoO_4^{2-} and their associations: influence on respiratory rate and chlorophyll *a* content of the green alga *Scenedesmus quadricauda*. *J. Trace Microprobe Techn.*, 16: 481–490.
- Fargašová A. (1998b): Root growth inhibition, photosynthetic pigments production, and metal accumulation in *Sinapis alba* as the parameters for trace metals effect determination. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 61: 762–769.
- Fargašová A., Beinrohr E. (1998): Metal-metal interactions in accumulation of V^{3+} , Ni^{2+} , Mo^{6+} , Mn^{2+} and Cu^{2+} in under- and above-ground parts of *Sinapis alba*. *Chemosphere*, 36: 1305–1317.
- Friberg L., Nordberg G. F., Vouk W. B. (1986): Handbook of the toxicology of metals. Amsterdam, New York, Oxford, Elsevier.
- Graham R. D. (1981): Absorption of copper by plant roots. In: Loneragan J. F., Robson A. D., Graham R. D. (eds.): Copper in soils and plants. New York, Acad. Press.
- Khalid B. Y., Tinsley J. (1980): Some effects of nickel toxicity on ryegrass. *Pl. Soil*, 55: 139–144.
- Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R. (1983): Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.*, 603: 591–592.
- Loneragan J. F., Grunes D. L., Welch R. M., Aduayi E. A., Tengah A., Lazar V. A., Cary E. E. (1982): Phosphorus accumulation and toxicity in leaves in relation to zinc supply. *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 46: 345–353.
- Masarovičová E., Cicák A., Štefančík I. (1998): Plant responses to air pollution and heavy metal stresses. In: Pesarakli M. (ed.): Handbook of plant and crop stress. New York, Basel, Hong Kong, Marcel Dekker Inc.: 569–598.
- Masarovičová E., Holubová M. (1998): Effect of copper on growth and chlorophyll content of some herbs. *Rostl. Vyr.*, 44: 261–265.
- Masarovičová E., Holubová M. (1999): Intraspecific tolerance of some herbs to the copper effect. *Rostl. Vyr.*, 45: 473–476.
- Mengel K., Kirkby E. A. (1978): Principles of plant nutrition. Worblaufen-Bern, Int. Potash Inst.

- Olsen R. S. (1972): Micronutrient interactions. In: Mortvedt J. J., Giodano P. M., Lindsay W. L. (eds.): Micronutrients in agriculture. Madison, Wis., Soil Sci. Soc. Amer.
- Plispanen R., Lähdesmäki P. (1983): Effect of vanadium on some water plants. Geol. Fören. Stockholm Förh., 105: 23–30.
- Singh R. P., Dabas S., Choudhary A. (1996): Recovery of Pb^{2+} caused inhibition of chlorophyll biosynthesis in leaves of *Vigna radiata* (L.) Wilczek by inorganic salts. Indian J. Exp. Biol., 34: 1129–1132.
- Šeršeň F., Kráľová K., Bumbálová A., Švajlenová O. (1997): The effect of Cu(II) ions bound with tridentate Schiff base ligands upon the photosynthetic apparatus. J. Pl. Physiol., 151: 299–305.
- Vassilev A., Berowa M., Zlatev Z. (1998): Influence of Cd^{2+} on growth, chlorophyll content, and water relations in young barley plants. Biol. Plant., 41: 601–606.

Received on February 18, 2000

Corresponding author:

Doc. RNDr. Agáta Fargašová, PhD., Chemickotechnologická fakulta, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava, Slovenská republika, tel.: + 421 7 59 32 52 32, fax: + 421 7 52 49 31 98, e-mail: agata@chtf.stuba.sk

DIGITONIN JAKO MODELOVÝ BIOLOGICKY AKTIVNÍ SAPONIN VYTVÁŘEJÍCÍ SPECIFICKÉ VLASTNOSTI U *DIGITALIS* SP. V TESTECH *IN VITRO*

DIGITONIN AS A MODEL BIOLOGICALLY ACTIVE SAPONIN FORMING SPECIFIC QUALITY OF *DIGITALIS* SP. IN BIOASSAYS *IN VITRO*

M. Pavlík¹, M. Váňová², V. Laudová¹, J. Harmatha¹

¹*Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, Czech Republic*

²*Faculty of Sciences, Charles University in Prague, Czech Republic*

ABSTRACT: Polygenic system of heredity of resistance responds to production of broad complex of biological active substances. These compounds have different effect against pathogens. Basic importance of digitonin is of course in its participation in active defensive mechanisms of plants against pest organisms. Fungitoxicity of digitonin is well-known when fungi are cultivated *in vitro*. Therefore digitonin was used as a model substance for investigation of its effect on phytopathogenic fungi cultivated *in vitro*. At the same time we presented routine bioassay for testing of potential fungicidal biologically active natural substances. The microscopic filamentous fungi *Fusarium culmorum* (FC), *Fusarium solani* (FS), *Cladosporium herbarum* (CH), *Alternaria alternata* (AA) and *Botrytis cinerea* (BC) were used to bioassay of toxicity. One ml of 2° liquid malt, 1 ml of suspension of the fungi and water solution of the tested substance (digitonin and different pesticides) was successively added into test tubes. The fungi were cultivated in the dark in thermostat at 25 °C. The evaluations of a mycelial growth of the investigated clone fungal cultures by four level of scale were performed in five days and then in 10 to 14 days for each treatment of the testing substances. Results are described in Tabs. II to VI. We used bioassay to test fungicidal attributes of natural substance in conditions *in vitro* in comparison with pesticides. We used determined toxicity of substances to verify this investigated method, too. We selected among insecticides Actellic 50 EC with an active ingredient (a. i.) pirimiphos-methyl (without important fungicide effect), of fungicides Impact 125 EC with a. i. flutriafol, Tilt 250 EC with a. i. propiconazole, Tilt CB FW with a. i. carbendazim and propiconazole and of biological active natural substances digitonin. We showed advantage to compare toxicity of pesticides to determined toxicity of natural substances. We see advantage of comparison there, that commercial producer already determined toxicity of used pesticides against fungi. These compounds, at which important fungicidal effect was found, were used as fungicides. Concentration of 25 µg of digitonin on 1 ml of media manifested significant toxic effect on tested fungi. The effective concentration of digitonin was lower than the usual concentration of digitonin in seeds of *Digitalis* sp. (Bylka et al., 1976; Czabajska et al., 1980). This method demonstrated a higher sensitivity of the toxic effect of digitonin on fungi comparing with the results described in papers by Wolters (1968). Toxicity of digitonin was significantly higher in comparison with the toxicity of insecticide Actellic. Also the fungicide Impact showed a lower toxicity than digitonin. The toxicity of digitonin was in a close relation with toxicity of Tilt 250 and Tilt CB. Triazole fungicides, that inhibit the biosynthesis of sterols, were also compared with digitonin known to form a specific complex with sterols. The negative interaction of these substances is thus expressed in the metabolism of sterols.

Keywords: pirimiphos-methyl; fungicides; triazoles; flutriafol; propiconazole; carbendazim; saponins; digitonin; *Digitalis* sp.; fungi; *in vitro*; bioassay; toxicity

ABSTRAKT: Je prezentována rutinní testovací metoda pro potenciální fungicidní biologicky aktivní přírodní látky. Metodika umožňuje charakterizovat i původní rostlinné extrakty. Koncentrace 25 µg digitoninu na 1 ml média vykazuje toxické účinky na testované houby. Digitonin v porovnání s fungicidy má fungitoxické účinky na testované houby. Efektivní koncentrace digitoninu při testech na houby byla nižší než obvyklá koncentrace digitoninu v semenech rodu *Digitalis* sp.

Klíčová slova: pirimiphos-methyl; fungicidy; triazoly; flutriafol; propiconazol; carbendazim; saponiny; digitonin; *Digitalis* sp.; houby; *in vitro*; biozkušky; toxicita

ÚVOD

Sekundárními metabolity indukovaná obrana rostlin proti přirozeným patogenům je podmíněna velkým počtem genů. Polygenně založený systém dědičnosti odpovídá za tvorbu velkého komplexu biologicky aktivních látek s nejrůznějšími účinky včetně účinků proti patogenům. A právě tento velký komplex především nespecificky působících biologicky aktivních látek se podílí na provázané ekologické rovnováze rostlin a patogenů v přírodě. Při narušení exprese genů, odpovídajících za produkci těchto biologicky aktivních rostlinných látek, se snižuje jejich hladina v rostlinné buňce. Následně pak v důsledku adaptability patogenů může dojít k negativním projevům v ekologické rovnováze rostlin s patogeny. Nikoliv jedna biologicky aktivní rostlinná látka, ale celý variabilní komplex těchto aktivních látek je důležitý pro vytvoření provázaného vztahu rostlin a patogenů (spíše než gen × gen jde o vztah genotyp × genotyp).

S tím souvisí i regulace exprese daného genu odpovídajícího za tvorbu biologických látek v rostlině. Tvorbu těchto látek lze např. rozdělit do dvou základních skupin. První skupinu tvoří fytoalexiny. Úroveň jejich hladiny se v buňce dramaticky zvýší po iniciaci jak biotickými, tak abiotickými elicitory. Druhou skupinou jsou látky (jako např. vicin a digitonin), jejichž biosyntéza je regulována nezávisle na výskytu stresových elitorů. Zajímavým problémem je i stabilita biologicky aktivních rostlinných látek, jež mohou působit proti potenciálním biotickým patogenům přímo, nebo nepřímo, tj. pomocí svých produktů, které vznikají v buňce oxidací vzdušným kyslíkem po porušení buněčné stěny nebo působením UV světla. Všechny tyto aspekty je nutné brát v úvahu při výzkumu a praktické využitelnosti těchto biologicky aktivních látek u stávajících odrůd rostlin.

Nesmíme však zapomenout, že biologicky aktivní látky mají širokou spektrální aktivitu. Na jedné straně je snaha získat potraviny či krmivo bez toxinů, které snižují jejich nutriční hodnotu, na druhé straně chceme získat odrůdy rezistentní proti patogenům (např. bakteriím, houbám) či škůdcům, tudíž obsahující toxiny, které by však nebyly toxické vůči hospodářským zvířatům a člověku.

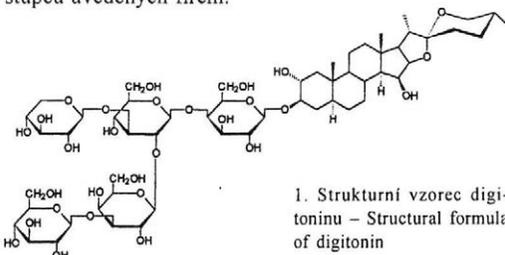
Digitonin se vyskytuje v léčivých rostlinách *Digitalis purpurea* L. (náprsník červený) nebo *D. lanata* Ehrh. (náprsník vlnatý). Význam digitoninu pro rostlinu je zřejmý (Harmatha, 2000). Studován je však především jeho

specifický vliv na metabolismus lipidů a sterolů u živočichů, např. u krysu (Kintja et al., 1981; Ulloa, Nervi, 1985) a u člověka (Tabacik et al., 1983).

Stěžejní význam digitoninu je ovšem v jeho spolupodílení se na obranných schopnostech rostlin. Podílí se na polygenně založených obranných vlastnostech *D. purpurea* nebo *D. lanata*. Chceme ukázat jeho vliv na fytopatogenní houby kultivované *in vitro*. V biologických testech porovnáваме fungitoxicitu digitoninu s toxicitou pesticidních xenobiotik. Zároveň představujeme rutinní testovací metodu pro potenciální fungicidní biologicky aktivní přírodní látky. Porovnáním s komerčními látkami, u kterých je jejich fungitoxicity již zjištěna a často i využívána, chceme poukázat na význam takovýchto testů pro ontogenetický vývoj rostliny, aniž by bylo nutné provádět náročné a v těchto případech i problematické polní zkoušky.

MATERIÁL A METODA

Digitonin ((2 α , 3 β , 5 α , 15 β , 25R)-2,15-dihydroxyspirostan-3-yl O- β -D-glukopyranosyl-(1 \rightarrow 3)-O- β -D-galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 2)-O- β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3))-O- β -D-glukopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-galaktopyranosid) na obr. 1, který jsme použili k testování, jsme izolovali CC z komerčního digitoninu, který na TLC ukazoval skvrny dvou látek. Kolonu jsme naplnili silikagelem (firmy Herrmann) ve směsi chloroform + MeOH + voda (14 + 6 + 0,5). Digitonin jsme detegovali jak standardem na TLC (silikagel se sádrou firmy Stahl), tak fyzikálně chemickými metodami (IR, MS, NMR). Pro TLC jsme použili eluční činidlo chloroform + MeOH + voda (14 + 6 + 1). Digitonin jsme detegovali postřikem kyseliny sírové s následným přímým ohřátím plamenem. Digitonin použitý v testech byl v čistotě vyšší než 96 %. Použité pesticidy (tab. I) jsme získali od zástupců uvedených firem.



I. Charakteristika testovaných pesticidů a jejich aktivních látek – Characterization of testing pesticides and their active ingredients

Pesticidy ¹	Actellic 50 EC	Impact EC	Tilt 250 EC	Tilt CB FW*
Výrobce ²	Zeneca	Zeneca	Ciba-Geigy AG	Ciba-Geigy AG
Aktivní látka ³	pirimiphos-methyl	flutriafol	propiconazol ⁵	carbendazim a propiconazol
CAS RN	29232-93-7	76674-21-0	60207-90-1	10605-21-7
Obsah ⁴	50 %	125 g/l	250 g/l	25 %, 12,5 %

* údaje jsou uvedeny pouze pro první aktivní látku – data are described only for first active ingredient

CAS RN = chemické abstrakty registrační číslo – chemical abstract registry number

¹pesticides, ²producer, ³active ingredient, ⁴content, ⁵propiconazole

K testování toxicity jsme použili mikroskopické vláknité houby ze sbírky kultur hub (CCF) katedry botaniky, Přírodovědecké fakulty UK: *Fusarium culmorum*, CCF 1839 (FC), *Fusarium solani*, CCF 1333 (FS), *Cladosporium herbarum*, CCF 1699 (CH), *Alternaria alternata*, CCF 2672 (AA), *Botrytis cinerea*, CCF 2361 (BC) a *Fusarium* sp. (dále jako Fu).

Houby jsme kultivovali na 2% sladidlovém agarovém živném médiu. Pro vlastní test jsme odebrali určité množství mycelia nakultivované houby a zředili v 50 ml sterilní vody. Test byl prováděn ve zkumavkách, do kterých jsme postupně odměřili 1 ml 2° (hustota cukru) tekuté želatiny, 1 ml houbové suspenze a určité množství roztoku testovaného pesticidu nebo přírodní látky, které byly rozpuštěny v destilované vodě. Houby jsme kultivovali ve tmě v termostatu při 25 °C. Jednotlivé testované aplikované dávky jsou uvedeny v tab. II až VI.

Vlastní vyhodnocení růstu hyf sledovaných kmenů hub pro jednotlivé varianty koncentrací testovaných látek bylo prováděno nejprve po pěti a dále po 10 až 14 dnech, a to pomocí čtyřúrovňové stupnice.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky pokusu jsou uvedeny v tab. II až VI. Testování fungicidních vlastností přírodních látek bylo realizováno v podmínkách *in vitro* na základě srovnání s pesticidy. Z pesticidů byly vybrány jak insekticidní (bez významných fungicidních vlastností), tak i fungicidní přípravky a z biologicky aktivních látek rostlinného původu digitonin. Výhodou vybraných fungicidů bylo, že komerční firmy již u těchto látek stanovily jejich fungitoxicitu, s níž bylo možné pak porovnat toxicitu digitoninu. Metodika umožňuje charakterizovat původní rostlinné extrakty, separované frakce i jednotlivé látky z nich izolované a následně též diskutovat potenciální fungicidní význam látek pro danou rostlinu, ve které se nalézají. Koncentraci obsahové látky v rostlině lze zároveň porovnat s toxickou koncentrací testované látky v testu *in vitro*.

II. Dávky pirimiphos-methylu (Actellic 50 EC) a výsledky biozkoušky – Doses of pirimiphos-methyl (Actellic 50 EC) and results of bioassay

Actellic 50 EC	Dávky pirimiphos-methylu v médiu ¹	
Houby ²	1000 µg	100 µg
FC	+–	++
AA	+–	++
CH	+–	++
BC	+–	++

+– hyfy rostou slabě na dně – hyphae slightly grow on the bottom

++ hyfy rostou masivně – hyphae grow massively

¹doses of pirimiphos-methyl in medium, ²fungi

III. Dávky flutriafolu (Impact 125 EC) a výsledky biozkoušky – Doses of flutriafol (Impact 125 EC) and results of bioassay

Impact 125 EC	Dávky flutriafolu v médiu ¹		
Houby ²	2500 µg	250 µg	25 µg
FC	*	–	+
AA	*	–	+
CH	–	+–	++
BC	*	–	+

– hyfy nerostou – hyphae do not grow

+– hyfy rostou slabě na dně – hyphae slightly grow on the bottom

+ hyfy rostou slabě – hyphae grow slightly

++ hyfy rostou masivně – hyphae grow massively

* test nebyl proveden – test was not conducted

¹doses of flutriafol in medium, ²fungi

Pro testy byl vybrán insekticid Actellic 50 EC s aktivní složkou (= *active ingredients* a. i.) pirimiphos-methyl, který se používá k ochraně rostlin proti hmyzu. Nepoužívá se komerčně k ochraně proti houbovým rostlinným patogenům, protože je relativně netoxický pro houby. Jeho potenciální fungitoxické účinky by měly být proto nižší, než mají testované přírodní rostlinné látky s potenciálním fungicidním významem pro rostliny. Dále byly použity triazolové fungicidy Impact 125 EC s a. i. flutriafol, Tilt 250 EC s a. i. propiconazol, Tilt CB FW s a. i. carbenazim a propiconazol, které inhibují tvorbu sterolů. V zahraničí se tyto fungicidy používají pro ošetření různých plodin vůči řadě potenciálních patogenů (Tomlin, 1994). Pro uvedené fungicidy jsme se rozhodli vzhledem k tomu, že v naší zemědělské praxi jsou registrovány pouze na několik plodin a proti úzké skupině rostlinných patogenů (Kužma et al., 1997). Další důvod pro výběr těchto fungicidních triazolových přípravků byl, že inhibují biosyntézu sterolů, tvořených ve všech živých buňkách. Svým účinkem jsou proto triazoly relativně univerzálními přípravky. U nás se však aplikují jen na velmi úzký okruh houbových rostlinných patogenů. Při širokém používání fungicidů může teoreticky dojít postupně k rezistenci houbového agens na tyto přípravky.

Digitonin s jeho relativně známou fungitoxicitou byl vhodný jako modelová přírodní rostlinná látka. Toxicita digitoninu ve srovnání s toxicitou vybraných pesticidů posloužila k ověření použité metody. Velmi zajímavé je srovnání toxicity digitoninu a triazolových fungicidů. Podobně jako triazoly i digitonin ovlivňuje sterolový metabolismus buňky. Jestliže triazoly inhibují základní enzym ve sterolovém metabolismu, pak do digitoninu se sorbují sterolové sloučeniny. Digitonin tvoří se steroly specifické komplexy. Nejvíce je známý komplex s cholesterolem, který podrobně popisují např. Takagi et al. (1982) a je využíván jak pro stanovení cholesterolu z buněk, tak i v selektivní chromatografii (Jagobin et al., 1987; Micich et al., 1992). Digitonin, který zasahuje do metabolismu steroidních látek, způsobuje jejich relativní

IV. Dávky propiconazolu (Tilt 250 EC) a výsledky biozkoušky – Doses of propiconazole (Tilt 250 EC) and results of bioassay

Tilt 250 EC	Dávky propiconazolu v médiu ¹				
Houby ²	500 µg	50 µg	5 µg	0,5 µg	0,05 µg
FC	–	+	*	*	*
AA	*	–	–	+	++
CH	*	–	–	+	+
BC	*	–	–	++	++

– hyfy nerostou – hyphae do not grow
 + hyfy rostou slabě – hyphae grow slightly
 ++ hyfy rostou masivně – hyphae grow massively
 * test nebyl proveden – test was not conducted
¹doses of propiconazole in medium, ²fungi

V. Dávky carbendazimu a propiconazolu (Tilt CB FW) a výsledky biozkoušky – Doses of carbendazim and of propiconazole (Tilt CB FW) and results of bioassay

Tilt CB FW	Dávky carbendazimu a propiconazolu v médiu ¹				
Houby ²	500 a 250 µg	50 a 25 µg	5 a 2,5 µg	0,5 a 0,25 µg	0,05 a 0,025 µg
FC	+–	+–	+–	++	++
AA	*	–	+–	+	++
CH	*	–	–	+	++
BC	*	–	–	–	+

– hyfy nerostou – hyphae do not grow
 +– hyfy rostou slabě na dně – hyphae slightly grow on the bottom
 + hyfy rostou slabě – hyphae grow slightly
 ++ hyfy rostou masivně – hyphae grow massively
 * test nebyl proveden – test was not conducted
¹doses of carbendazim and of propiconazole in medium, ²fungi

nedostatek v buňce. Nedostatek těchto životně důležitých látek se nejprve projeví ve větší energetické náročnosti metabolismu buňky a vede až k odumření buňky. Nicméně digitonin kromě tvorby již zmíněných komplexů se váže i na vnitřní membrány buňky. Kromě změny per-

meability membrány ovlivňuje i množství vázaných a volných enzymů v buňce. Následně proto zasahuje i do celkového metabolismu buňky (Kauss, 1982; Eilenberg et al., 1989; Cunningham et al., 1993). Známé je i působení digitonin-sterolového komplexu v chemické interakci rostlin a hmyzu, projevujícího se v narušení biosyntézy svlékacího hormonu ekdysonu u herbivorního hmyzu (Arnault, Mauchamp, 1985).

VI. Dávky digitoninu (rostlinná látka, saponin) a výsledky biozkoušky – Doses of digitonin (plant substance, saponin) and results of bioassay

Saponin (rostlinná látka ³)	Dávky digitoninu v médiu ¹			
Houby ²	500 µg	50 µg	10 µg	1 µg
FC	+–	+–	++	++
AA	*	–	+–	+
CH	*	–	+–	++
BC	*	–	+	++

– hyfy nerostou – hyphae do not grow
 +– hyfy rostou slabě na dně – hyphae slightly grow on the bottom
 + hyfy rostou slabě – hyphae grow slightly
 ++ hyfy rostou masivně – hyphae grow massively
 * test nebyl proveden – test does not used
¹doses of digitonin in medium, ²fungi, ³plant substance

Působení digitoninu bylo testováno i na samotných rostlinách. Bylo zjištěno, že digitonin spouští fytoalexinovou reakci u rostlin, ve kterých se nevyskytuje (Bonhoff, Grisebach, 1988). Jev je o to zajímavější, že jako elicitory fytoalexinové reakce jsou popisovány především živé fytopatogenní houby a bakterie nebo látky izolované z hub, ale také mastné kyseliny vznikající po destrukci buněčné stěny. Méně známé jsou elicitory abiotické (UV záření, některé ionty) a také vlastní rostlinné látky (digitonin), které nejsou charakterizovány jako fytoalexiny.

Koncentrace 25 µg na 1 ml média vykazuje mykotoxické účinky na testované houby. Podle našich zjištění má digitonin významnější fungicidní účinky na testované houby v porovnání s výsledky z literatury (Wolters, 1968). Hyfy mycelia nerostou u AA, CH a BC. U Fu, FS

a FC vyrostlo jen několik hyf, které ve zkumavce zůstaly na dně, aniž došlo k dalšímu růstu. Efektivní koncentrace digitoninu při testech na houby byla nižší než obvyklá koncentrace digitoninu v semenech *Digitalis purpurea* L. (Czabajska et al., 1980). Tyto účinné koncentrace v semenech rodu *Digitalis* sp. se pohybují v intervalu od $4,38 \pm 0,42$ % do $6,67 \pm 0,49$ % (Bylka et al., 1976).

Toxicita digitoninu ve srovnání s insekticidním přípravkem Actellic byla řádově vyšší. Oproti tomu Impact vyzkazoval nižší toxicitu než digitonin. Toxicita digitoninu v porovnání s ostatními fungicidy (Tilt 250 a Tilt CB) je relativně podobná.

Digitonin slouží jako příklad, proč nelze jednoduchým způsobem zkoušet izolované přírodní rostlinné látky v polních testech, jak to bývá např. u pesticidů. Digitonin je velmi špatně rozpustný ve vodě. Rozpustnost aglykonu, který vzniká po hydrolyze glykosidické vazby digitoninu, je podobně jako u digitoninu nízká. Je proto velmi problematické domnívat se, že by digitonin mohl procházet přes kutikulu nebo buněčnou stěnu. Digitonin je tvořen uvnitř rostlinných buněk a není důvod, aby procházel buněčnou stěnou ven či dovnitř buňky. Jsou to obranné látky tvořené vlastní buňkou a jsou připraveny uvnitř buňky reagovat vůči vnějším negativním biotickým faktorům. Domníváme se, že náš test umožňuje dobře rozpoznat specifické vlastnosti přírodních obsahových látek. Porovnáním jejich toxicity s pesticidními přípravky můžeme lépe charakterizovat jejich specifické účinky.

Poděkování

Za identifikaci digitoninu fyzikálně chemickými metodami děkujeme dr. Kohoutové (MS), dr. Vašíčkové (IR) a dr. Masojádkové (NMR).

LITERATURA

- Arnault C., Mauchamp B. (1985): Ecdysis inhibition in *Ae-rolepiopsis assectella* larvae by digitonin: antagonistic effect of cholesterol. *Experientia*, *41*: 1071–1077.
- Bonhoff A., Grisebach H. (1988): Elicitor-induced accumulation of glyceollin and callose in soybean roots and localized resistance against *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*. *Plant Sci.*, *54*: 203–209.
- Bylka W., Ellmain-Wotaszek M., Kowalewski Z., Skrzycka-kowa L. (1976): Zawartosc digitoniny w nasionach niekto-rych gatunków rodzaju *Digitalis*. *Herba Pol.*, *22*: 239–242.
- Cunningham H. B., Yazaki P. J., Domingo R. C., Oades K. V., Bohlen H., Sabbadini R. A., Dahms A. S. (1993): The skeletal muscle transverse tubular Mg-ATPase: Identity with Mg-ATPases of smooth muscle and brain. *Arch. Biochem. Biophys.*, *303*: 32–43.
- Czabajska W., Dedio I., Maciolska-Udowicz E. (1980): Effect of the phase of *Digitalis purpurea* L. seed ripeness on the value of the crude drug. *Herba Pol.*, *26*: 111–117.
- Eilenberg H., Klinger E., Przedeci F., Shechter I. (1989): In-activation and activation of various membranal enzymes of the cholesterol biosynthetic pathway by digitonin. *J. Lipid Res.*, *30*: 1127–1135.
- Harmatha J. (2000): Chemo-ecological role of saponin in the interaction between plants and insect. In: Oleszek W., Marston A.: Saponins in food, feedstuffs and medical plants. *Proc. Phytochem. Soc. Eur.*, *44*, Hardbound.
- Jagobin G. A., Jurtovej J. V., Gyseva T. V. (1987): Izvlečenie komponentov lipoproteidov emulzijami. *Vopr. Med. Chim.*, *33*: 66–69.
- Kauss H. (1982): Volume regulation: Activation of a mem-brane-associated cryptic enzyme system by detergent-like action of phenothiazine drugs. *Plant Sci. Lett.*, *26*: 103–109.
- Kintja P. K., Vasiljenko J. K., Gorjanu G. M., Bobejko V. A., Sujetina I. V., Maščenko N. J. (1981): Poisk gipcholesterinemičeskich sredstv v rjadu steroidnych glikozidov. *Chim.-Farm. Ž.*, *15*: 55–60.
- Kužma et al. (1997): Seznam registrovaných prostředků na ochranu rostlin. Praha.
- Micich T. J., Foglia T. A., Holsinger V. H. (1992): Polymer-supported saponins: An approach to cholesterol removal from butteroil. *J. Agric. Food Chem.*, *40*: 1321–1325.
- Tabacik C., Aliau S., Crastes de Paulet A. (1983): Digitonin-precipitable sterols as a measure of cholesterol biosynthesis: Contradictory results. *Lipids*, *18*: 641–649.
- Takagi S., Otsuka H., Akiyama T., Sankawa U. (1982): Digi-tonin-cholesterol complex formation: Effects of varying the length of the side-chain. *Chem. Pharm. Bull.*, *30*: 3485–3492.
- Tomlin C. (1994): The pesticide manual. Incorporating the agrochemicals handbook. Cambridge, Brit. Crop Protec. Coun. Surv. Roy. Soc. Chem.
- Ulloa N., Nervi F. (1985): Mechanism and kinetic characteristics of the uncoupling by plant steroids of biliary cholesterol from bile salt output. *Biochim. Biophys. Acta*, *837*: 181–189.
- Wolters B. (1968): Saponine als pflanzliche Pilzabwehrstoffe. Zur antibiologischen Wirkung von Saponinen. III. *Planta*, *79*: 77–83.

Došlo 9. 3. 2000

Kontaktní adresa:

Ing. Milan Pavlík, CSc., Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Flemingovo nám. 2, 160 00 Praha 6-Dejvice, Česká republika, tel.: + 420 2 20 18 33 20, fax: + 420 2 24 31 00 90, e-mail: mpavlik@uochb.cas.cz

Změna publikačního jazyka ve vědeckých časopisech ČAZV

Předsednictvo České akademie zemědělských věd přijalo na zasedání dne 6. 4. 2000 usnesení, kde mj. doporučuje změnu publikačního jazyka ve vědeckých časopisech vydávaných pod gescí ČAZV. Předsednictvo navrhuje Vydavatelské radě ČAZV zavést angličtinu jako jediný jazyk ve všech vědeckých časopisech od 1. 1. 2001. Redakce časopisu Rostlinná výroba přijímá od 1. 7. 2000 příspěvky psané pouze v angličtině.



A change of publication language in Scientific Journals of the Czech Academy of Agricultural Sciences

At its session on the 6th April 2000, the Presidium of the Czech Academy of Agricultural Sciences adopted a resolution recommending, among other things, to change the publication language in scientific journals published under the Academy patronage. The Presidium proposes to the Publishing Board of the Academy to introduce English as the only language in all scientific journals from the 1st January 2001. The papers written exclusively in English are accepted by the editor's office of the journal Rostlinná výroba (Plant Production) from the 1st July 2000.

ZATÍŽENÍ ZEMĚDĚLSKÝCH PŮD POLYCHLOROVANÝMI DIBENZO-P-DIOXINY A DIBENZOFURANY

CONTAMINATION OF AGRICULTURALLY USED SOILS WITH POLYCHLORINATED DIBENZO-P-DIOXINES AND DIBENZOFURANS

E. Podlešáková¹, J. Němeček², R. Vácha¹

¹Research Institute for Soil and Water Conservation, Prague, Czech Republic

²Czech University of Agriculture in Prague, Czech Republic

ABSTRACT: We are publishing the first information concerning the polychlorinated-p-dioxines (PCDD) and dibenzofurans (PCDF) content in soils of rural areas in the Czech Republic. Because of high expenses analyses of only 20 samples were performed. In these samples 17 PCDD/F congeners and 12 PCB congeners were determined. Samples were selected on sites with indicated loads with hazardous trace elements, PAHs and PCBs in the vicinity of industrial and combustion facilities, on flooded areas and on sites with sewage sludge disposal in comparison with clean regions. The highest PCDD/F contents and toxic equivalents (PCDD/F + PCB) 2.5 ng.kg⁻¹ I-TEQ were found on sites with sewage sludges disposal. Increased contents were detected in the neighbourhood of chlorine industry enterprises. No increased values were found nearby combustion facilities. A special case is the site of increased PCDD/F content in the clean area of Šumava mountains. The German I-TEQ limit of hazardousless agriculture 5 ng.kg⁻¹ has been never surpassed. For rural areas the reference background limit 1 ng.kg⁻¹ I-TEQ can be recommended.

Keywords: PCDD/F; PCB; agriculturally used soils

ABSTRAKT: Jsou uvedeny první informace o zastoupení polychlorovaných dibenzo-p-dioxinů (PCDD) a dibenzofuranů (PCDF). Vzhledem k vysokým nákladům na rozborů bylo dosud analyzováno 20 vzorků. V těchto vzorcích bylo stanoven 17 kongenerů PCDD/F a 12 kongenerů PCB. Vzorky byly vybrány na stanovištích s indikovanou výraznější zátěží (stopové prvky, PAU, PCB) z průmyslu, spaloven a z oblastí záplav a aplikace kalů do půdy. Takto zatížená stanoviště byla porovnávána s čistými lokalitami. Nejvyšší obsahy PCDD/F a toxické ekvivalenty PCDD/F spolu s PCB (2,5 ng.kg⁻¹ I-TEQ) byly nalezeny na lokalitách s aplikací kalů do půdy. Zvýšené obsahy byly zjištěny i v okolí závodů produkujících chlorované organické látky. Zvýšení nebylo identifikováno v okolí spalovny Malešice. Zvláštností jsou zvýšené obsahy na lokalitě v čisté oblasti Šumavy. Nikde nebyl překročen německý limit 5 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro bezrizikové zemědělství. Pro zemědělské oblasti je možné doporučit jako referenční hodnoty pozadí 1 ng.kg⁻¹ I-TEQ PCDD/F.

Klíčová slova: PCDD/F; PCB; zemědělské půdy

ÚVOD

V ČR byla perzistentním organickým látkám v půdě věnována značná pozornost. Soustředila se hlavně na monocyklické, zejména však polycyklické, aromatické uhlovodíky a nepolární látky, indikující ropné uhlovodíky. Z chlorovaných uhlovodíků byla vedle DDT a jeho metabolitů sledována suma významných kongenerů polychlorovaných bifenylů (PCB). Pro tyto látky byly odvozeny (průměrné a referenční, tj. svrchní hranice pozadí) antropicko-difuzní hodnoty pozadí. V relaci k těmto hodnotám pozadí zemědělské krajiny byla charakterizována zátěž nejkritičtějších oblastí ČR (Podlešáková et al., 1998).

Vysoké náklady na analýzy uvedených kontaminantů bránily rozšíření souboru o ještě nákladnější stanovení

dioxinů a dioxifuranů (PCDD/F). Na základě finančních prostředků poskytnutých MZe byla provedena první série stanovení významných kongenerů PCDD/F a PCB na vybraných stanovištích orných půd. Stanoviště byla zvolena na základě údajů Monitoringu zemědělských půd ČR ve vazbě na ochranu potravního řetězce, prováděného Ministerstvem zemědělství ČR.

Dioxiny představují společný název pro skupinu toxických látek, které vznikají jako nežádoucí vedlejší produkt spalováním odpadů z nejrůznějších chemických výrobníků, ale i přirozenou cestou v přírodních podmínkách. Počet chlorů vázaných na molekule se může měnit od 1 do 8, což dává možnost vzniku 75 izomerů PCDD a 135 izomerů PCDF. Jednotlivé izomery se liší svojí toxicitou. Obecně platí, že sloučeniny obsahující 1 až 3 atomy chloru se

vyznačují nižší toxikologickou významností než ty, které obsahují 4 až 8 atomů chloru. Za nejtoxičtější je považován tetrachlor dibenzodioxin (2,3,7,8-TCDD). V životním prostředí a v potravních řetězcích se dibenzo-p-dioxiny a dibenzofurany vyskytují ve směsích (Bezačinský et al., 1991). Proto bylo přistoupeno k vyjadřování jejich toxicity pomocí toxického ekvivalentu, přičemž za jednotku byl vzat 2,3,7,8-TCDD. Pro 16 nejtoxičtějších dibenzo-p-dioxinů a dibenzofuranů byla vypracována řada faktorů ekvivalentní toxicity, kterými se násobí koncentrační zastoupení jednotlivých kongenerů a jejichž součet pak vyjadřuje hodnotu toxického ekvivalentu (TEQ). Původně byl koncept TEQ vypracován pro odhad potenciální toxicity směsi PCDD a PCDF, vztažených ke kongeneru TCDD, substituovanému v polohách 2,3,7,8 pro biologický materiál. Nyní je však tento přístup rutinně vztahován i na ostatní matrice životního prostředí, jako je půda a jako jsou kaly a emise, a stává se základem pro legislativní kontrolu. Je třeba poznamenat, že různé státy a mezinárodní agencie přijaly rozličná schémata TEQ, v nichž jsou faktorům ekvivalentní toxicity přisuzovány různé hodnoty. Nejrozšířenější je systém navržený komisí NATO a CCMS, který je označován jako I-TEQ (International Toxic Equivalent Factor). Tento systém zahrnuje faktory ekvivalentní toxicity pro 17 kongenerů (Jones, Sewart, 1995). Stejný faktor I-TEQ byl zvolen k hodnocení 12 kongenerů PCB (non-ortho, mono-ortho a di-ortho), u kterých byla zjištěna podobná toxicita jako u dibenzodioxinů a dibenzofuranů.

Dioxiny a furany, které se vyskytují ve všech složkách životního prostředí, vznikají především ze spalování látek, a to i takových látek, které je původně neobsahovaly. Za jejich hlavní zdroj je považováno spalování městských, nemocničních a nebezpečných odpadů, dále pak chemický průmysl, jako je výroba pesticidů, ochranných prostředků na dřevo, textilní a papírenský průmysl a další. Limitované množství studií prokázalo, že úroveň dioxinů v půdě nedosahuje běžně úrovně vyvolávající zdravotní rizika. V půdě jsou dioxiny málo mobilní a jejich vyplavování je pod hranici detekce. Proto se dioxiny mohou udržovat na povrchu půdy po dlouhou dobu, pokud nejsou orbou zapraveny do spodnějších vrstev (EPA, 1997).

V případě expozice lidí dioxinům byly zjištěny signály a symptomy dioxinové otravy, která u lidí může vyvolávat chlorakné a poškození kůže, rakovinu (u lidí ne zcela prokázanou), poškození jater, zeslabení imunitního systému, deformace plodu, snížení počtu spermií, bolesti hlavy, nervozitu, demenci, depresi, nespavost a impotenci. PCDD, PCDF jsou považovány za aktuálně i chronicky toxické, některé z nich jako látky karcinogenní, imunotoxické, endokrinní disruptory či teratogeny (EPA, 1999).

Při velké pozornosti, která jim byla věnována v posledním desetiletí, se ukazuje, že proklamované chování není zcela jednoznačně podchyceno. Platí to i pro nejpodstatnější vlastnost, tj. toxicitu pro člověka, analyzovanou po havárii v Sevesu. Nicméně denní dávka 1 pg TCDD na 1 kg váhy člověka za den představuje limit zaručující bez-

pečnost. Veřejnost je zatížena názorem, že nejnebezpečnějším zdrojem jsou spalovny. Proti tomu stojí údaje, že dobré spalovny výrazně redukují emise dioxinů a nejhroší nepřekračují svými emisemi inputy ve spalovacích složkách. Vážná je i skutečnost, že např. recyklovaný papír akumuluje více dioxinů než běžný. Pro zemědělství je nejzávažnějším poznatkem, že v kalech, které mají být aplikovány do půdy, je nezanedbatelné množství dioxinů. Vstupy do půdy čistírenskými kaly jsou v zemědělských oblastech daleko větší než z imisí. Často doporučené kompostování kalů má za následek až trojnásobnou akumulaci rezistentních PCDD/F (Jones, Sewart, 1995).

Byly vyvráceny názory, že PCDD/F jsou pouze produktem civilizacího vývoje. Byly produktem dávných lesních požárů, lze je dokázat v kůře tisíciletých stromů, byly prokázány v lidské kostě staré šest tisíc let, byly stanoveny v jílových břidlicích starých miliony let. Jsou prokazovány biologické cesty tvorby PCDD/F při trouchnivění stromů. Soudí se, že některé dřevokazné houby používají organochlorované sloučeniny, ze kterých mohou při produkci H_2O_2 bakteriemi vznikat dioxiny. Tím se zdůvodňuje výrazné zastoupení organochlorovaných sloučenin v okolí zetlelých stromů v míře převyšující sedmkrát nizozemskou normu. Vysoké množství dioxinů v nadložním humusu lesních půd tedy není důsledkem relativní koncentrace škodlivin v pouze několika cm mocném horizontu Of a Oh, zvyšovaným procesem specifické kumulace imisí v lese (Aufkammung). Nicméně antropický vstup PCDD/F do půdy je dominantní a obsahy > 1 ng.kg⁻¹ I-TEQ v půdách zemědělských oblastí (pozadí) si vynucují zabránění úmyslných (kaly) vstupů (Hagenmaier et al., 1992; Rappe et al., 1994; Hansen, O'Keefe, 1996; Rosa et al., 1997; Schuhmacher et al., 1997; UNEP, 1999).

Významná pozornost byla dioxinům a dioxifuranům věnována v Německu (Schulz, 1993; B Bod Sch G, 1998; Lenz et al., 1998; Bod Sch V, 1998, 1999). Polychlorované dibenzodioxiny (PCDD) a dibenzofurany (PCDF) byly studovány ve svrchních horizontech půd různého využití, v různých imisních situacích a při různých vstupech kontaminantů ze záplav a z aplikace kalů do půdy v Bavorsku (Joneck, Prinz, 1991) a v Baden-Württembersku (LfU, 1995). Uvedené práce ukazují všudypřítomnost těchto kontaminantů v nízkých koncentracích. Byla odvozena limitní hodnota 5 ng.kg⁻¹ I-TEQ, umožňující neomezené zemědělské využití. Zvýšené koncentrace nalézáme na menších plochách, ovlivněných bezprostřední blízkostí vstupů. Primární vstupy pocházejí z řady industriálních procesů, zejména z tzv. chlorové chemie a z termických spalovacích procesů. Druhými zdroji kontaminace jsou hlavně čistírenské kaly, aplikované do půd. Vykazovaly střední obsah 35 až 60 ng.kg⁻¹ I-TEQ. Údaje z jiných zemí zaznamenávají koncentrační rozpětí 20 až 80 (200) ng.kg⁻¹ I-TEQ, např. Hagenmaier et al. (1992), kteří analyzovali 13 kalů ze SRN, uvádějí rozmezí Σ TEQ 20 až 177 ng.kg⁻¹ s mediánem 37 a průměrem 47. Rappe et al. (1994) analyzovali 30 vzorků švédských kalů

a zjistili, že koncentrace PCDD/F byla vyšší v kalech z urbánních oblastí než ze zemědělských a koncentrace PCDD/F se pohybovala mezi 6 až 4100 ng.kg⁻¹ s mediánem 54 a průměrem 357. Ve všech případech dominovaly octa- a hepta-CDD. Jones, Sewart (1995) uvádějí obsah Σ TEQ PCDD/F v rozmezí 10 až 200 ng.kg⁻¹.

PCDD a PCDF jsou v půdě jen velmi pozvolna rozkládány. Půdní organismy jsou jimi ovlivněny až při vysokých obsazích > 1000 ng.kg⁻¹ I-TEQ. Jejich transfer do rostlin je velmi nízký. Významnější je kontaminace povrchu rostlin (imise, záplavy, aplikace).

Kritické hodnoty PCDD/F navrhované pro zemědělské využití (Schulz, 1993), tj. 5 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro neomezené zemědělské využití a 40 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro omezené zemědělské využití, nebyly do zákona o ochraně půdního fondu SRN včleněny. V nařízení k zákonu z roku 1999 jsou zahrnuty tyto limity opatření:

- 100 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro dětská hřiště
- 1000 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro obytné areály
- 1000 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro parky a rekreační areály
- 10.000 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro průmyslové areály

Pozadí zemědělských oblastí v půdě činí v Holandsku 5 až 9 ng.kg⁻¹ I-TEQ, v UK 3 ng.kg⁻¹ I-TEQ. Ve zprávě UNEP (1999) jsou uvedeny kritické hodnoty (v ng.kg⁻¹ I-TEQ sušiny) pro Německo (viz výše), Švédsko (10 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro senzitivní využití a 250 ng.kg⁻¹ I-TEQ pro nesenzitivní využití) a Holandsko. V Japonsku byla za kritickou hodnotu pro půdy přijata koncentrace PCDD/F 1.000 ng.kg⁻¹. Tato hodnota je kritizována jako příliš vysoká.

MATERIÁL A METODY

Analytické postupy, stanovené látky

Pro stanovení POP byly odebrány půdní vzorky z orniční vrstvy (Ap horizontu). Reprezentativní vzorek se skládal z přibližně 10 samostatných odběrů z plochy 200 m². Analýzy perzistentních látek provedla ekologická laboratoř Axys Varilab, s. r. o., metodami, které podrobně uvádějí Jech et al. (1999). Pro stanovení PCDD/F a PCB a non-orto substituovaných PCB byly na vzorky naneseny izotopově značené vnitřní standardy, organické látky byly ze vzorku extrahovány toluenem v Soxhletu. Zjišťované látky byly z extraktu izolovány chromatografií na sloupcích silikagelu, aluminu a aktivního uhlí. Po zkoncentrování byla provedena GC-MS analýza – v případě non-orto PCB na přístroji Saturn 1, v případě PCDD/F na vysoko rozlišujícím hmotnostním spektrometru Ultima 2. Stanovení PCB 77, 126 a 169 bylo provedeno metodou HR GC-MS na přístroji VG Ultima 2. Přesnost výsledků je ±20 % výsledné hodnoty + detekční limit vzorku. Byly stanoveny tyto významné kongenery: PCDD (2,3,7,8 TeCDD; 1,2,3,7,8 PeCDD; 1,2,3,4,7,8 HxCDD; 1,2,3,6,7,8 HxCDD; 1,2,3,7,8,9 HxCDD; 1,2,3,4,6,7,8 HpCDD; OCDD), PCDF (2,3,7,8 TeCDF; 1,2,3,7,8 PeCDF; 2,3,4,7,8 PeCDF; 1,2,3,4,7,8 HxCDF;

1,2,3,6,7,8 HxCDF; 1,2,3,7,8,9 HxCDF; 2,3,4,6,7,8 HxCDF; 1,2,3,4,6,7,8 HpCDF; 1,2,3,4,7,8,9 HpCDF; OCDF), PCB (PCB 77; PCB 126; PCB 169; PCB 105; PCB 114; PCB 118 + 123; PCB 156; PCB 157; PCB 167; PCB 189; PCB 170; PCB 180). Byla vypočtena suma PCDD, PCDF, PCB a jejich toxický ekvivalent (I-TEQ).

V půdách jednotlivých lokalit byly k identifikaci stanoveny obsahy 13 významných rizikových prvků (celkový obsah a výluh v 2M HNO₃) v centrálních laboratořích VÚMOP. Perzistentní organické látky (PAU, MAU, ChU, nepolární znečištění) v půdách stanovila laboratoř Aquatest, a. s., běžně používanými metodami.

Výběr vzorků

Vzhledem k vysokým nákladům na rozborů byly výběr vzorků proveden velmi pečlivě na základě dosavadních poznatků o kontaminaci půd perzistentními organickými polutanty (POP) a rizikovými prvky (RP) a lokalizace stanovišť aplikace kalů za pomoci ÚKZÚZ. Podle potenciálních vstupů byla stanoviště předběžně kategorizována:

1. aplikace kalů (Brno-Chrlice, Zlín)
2. imise průmyslu (Neratovice, Brná n. L., Štětí, Kralupy n. V., Ostrava-Hlučín, Malé Žernoseky)
3. imise z dopravy velkoměsta (Praha-Letná)
4. imise ze spalovny odpadů (Praha-Štěrboholy)
5. čisté oblasti s historickou zátěží (Kubova Huť)
6. čisté oblasti (Přimda, Churáňov, Třebětín, Horní Vidim, Chlum, Dobřichov, České Žleby, Černá v Pošumaví, Jenišovice)

Pedologická charakteristika stanovišť je uvedena v tab. I. Výsledky studia zátěží sledovaných stanovišť zjištěné v minulosti prokazují zvýšenou kontaminaci POP u výše uvedených kategorií I až 5, charakterizovaných zvýšeným obsahem PAU, a navíc u jednotlivých stanovišť specifickou skladbou zatížení, a to DDT a metabolity (Neratovice), monoaromatickými uhlovodíky apod. Zajímavé je stanoviště Kubova Huť s významnou historickou zátěží PAU (a Cd).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Hodnocení zátěže půd dioxiny a furany podle toxického ekvivalentu (I-TEQ PCDD/F) ukazuje (obr. 1), že nejvyšší hodnoty byly nalezeny:

- na stanovišti, kde byly aplikovány do půdy čistírenské kaly (černozem, Brno-Chrlice), a to 2,5 ng.kg⁻¹ I-TEQ, a na dalším stanovišti s aplikací kalů na fluvizemi ve Zlíně 2,51 ng.kg⁻¹ I-TEQ; tato stanoviště jsou charakterizována i nejvyšším obsahem dioxinů i dioxifuranů;
- na imisně zatížených stanovištích v blízkosti Neratovic (2,17 ng.kg⁻¹ I-TEQ), Kralupy n. V. (1,76), Brné n. L. (1,75) a Ostravy-Hlučína (1,58); na dalších lokalitách této kategorie se předpokládaná zátěž neprojevila a na lokalitě Malé Žernoseky a především Štětí byla hodnota I-TEQ PCDD/F nízká (0,79, resp. 0,18);

– na lokalitě Praha-Letná zatížené imisemi z dopravy (0,92 ng.kg⁻¹ I-TEQ) při nízkém toxickém ekvivalentu PCB.

Nejvyšší celkový obsah PCB byl zjištěn na lokalitě Brno-Chrlice, Zlín a Kralupy n. V., přičemž nejvyšší toxicita (I-TEQ PCB) byla stanovena na lokalitách Kralupy n. V., Neratovice a Brná n. L. (obr. 1 a 2).

Paradoxně bylo zjištěno zvýšené zatížení lokalit Šumavy na Přimdě (1,32 ng.kg⁻¹ I-TEQ) a Churáňově (1,27 ng.kg⁻¹ I-TEQ) a v zemědělské oblasti na lokalitě Třebětin (1,08 ng.kg⁻¹ I-TEQ) s převahou PCDF nad PCDD bez akumulace PCB a s nízkým toxickým ekvivalentem (I-TEQ PCB). Na ostatních lokalitách se I-TEQ pohyboval mezi 0,1 a 0,6 ng.kg⁻¹, a to dokonce na lokalitě Praha-Štěrboholy v blízkosti spalovny odpadů (0,21 ng.kg⁻¹ I-TEQ) a na lokalitě Kubova Huť (0,55 ng.kg⁻¹ I-TEQ), kde byly nalezeny nejvyšší koncentrace PAU ze sledovaného souboru lokalit.

a Σ PCDD/F 48 ng.kg⁻¹. Z nevelkého počtu pozorování lze zatím odvodit, že limit antropicko-difuzního pozadí PCDD/F, vyjádřený v toxickém ekvivalentu, by měl ležet kolem hodnoty 1 ng.kg⁻¹ I-TEQ, jak uvádějí holandské materiály (EPA, 1999). V každém případě lze konstatovat, že nikde, včetně lokalit s aplikací kalů ČOV, nebyl překročen limit pro bezrizikové zemědělské využití německých pramenů 5 ng.kg⁻¹ I-TEQ PCDD/F (EPA, 1999).

Dále byla věnována pozornost jednotlivým kongenerům PCDD/F a PCB, jejich sumám, jakož i vztahům k ostatním POP. Srovnání kongenerů PCDD/F ukazuje nejvýraznější zvýšení kongenerů hexa-, a zejména hepta- a okta-chlorovaných PCDD/F, především na obou stanišcích s aplikací kalů do půdy a na industriálně silně zatíženém stanovišti Ostrava. Tyto poznatky jsou v souladu s údaji, jež publikovali Rapp et al. (1994), kteří uvádějí demonstraci uvedených kongenerů jako cha-

I. Lokality odběru vzorků zemědělských půd – Sampling sites on agricultural lands

Lokalita ¹	Okres ²		Půda ³	Substrát ⁴
Zlín	Zlín	FLm	eutric Fluvisol	nivní sediment ⁵
Brno-Chrlice	Brno	CEm	calcic Chernozem	spraš na slínu ⁶
Neratovice		FLq	gleyic Fluvisol	nivní sediment
Kralupy n. V.		FLm	eutric Fluvisol	nivní sediment
Horní Vidím	Mělník	HNm	orthic Luvisol	spraš ⁷
Jenišovice		CEm	calcic Chernozem	spraš
Brná n. L.	Ústí n. L.	KAe	eutrophic Cambisol	čedič ⁸
Ostrava-Hlučín	Ostrava	LMq	glossaquic Luvisol	sprašová hlína ⁹
Přimda	Tachov	KAd	hyperdystric Cambisol	rula ¹⁰
Churáňov		PZk	cambic Podzol	rula
Kubova Huť	Prachatice	PZk	cambic Podzol	rula
České Žleby		KAg	stagnic Cambisol	polygenetická hlína ¹¹
Třebětin	Kutná Hora	KAa	dystric Cambisol	rula
Praha-Letná		ANm	Anthrosol	antropický materiál ¹²
Praha-Štěrboholy	Praha	CCp	pelic Phaeozem	polygenetická hlína
Malé Žemoseky	Litoměřice	KAr	arenic Cambisol	šterkopisková terasa ¹³
Štětí		CEm	calcic Chernozem	spraš
Chlum	Benešov	PGm	orthic Stagnosol	polygenetická hlína
Dobříchov	Kolín	CEm	calcic Chernozem	spraš
Černá v Pošumaví	Český Krumlov	KMd	dystric Cambisol	rula

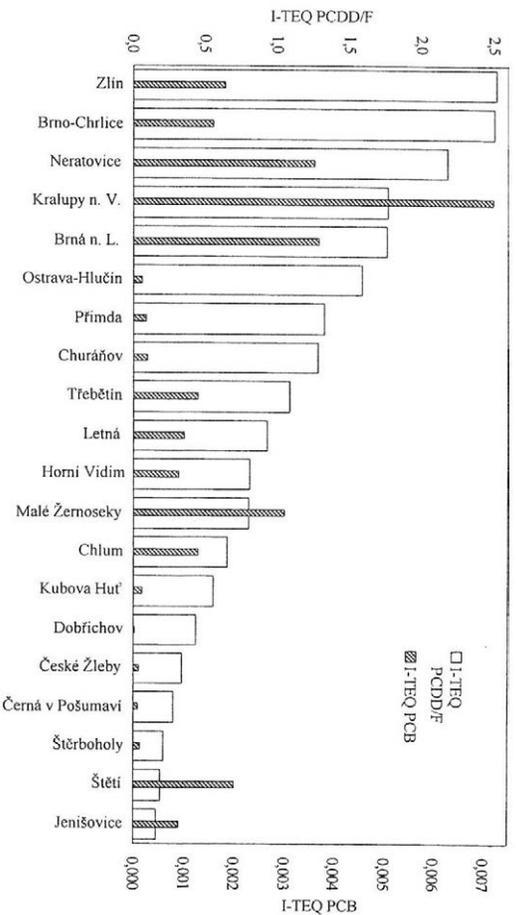
¹site, ²district, ³soil, ⁴parent material, ⁵alluvial sediments, ⁶loess on marls, ⁷loess, ⁸basalt, ⁹loesslike deposits, ¹⁰gneiss, ¹¹polygenetic loams, ¹²anthropogenic material, ¹³sandy-gravelly terraces

Rozdílná maxima a toxicita PCB, PCDD/F a PAU potvrdily výsledky (Jech et al., 1999), které prokázaly, že tyto látky nepocházejí ze stejného zdroje. Dlouhodobým měřením POP v ovzduší se zjistilo, že obsah PCB je vyšší v letních měsících než v zimních a že v případě PCDD/F a PAH je tomu opačně.

Při hodnocení souboru zátěže zemědělských půd PCDD/F, s vyloučením lokalit, kde byly aplikovány kaly, byl zjištěn geometrický průměr 0,68 ng.kg⁻¹ I-TEQ

rakteristickou pro stanoviště zatížená výrazně kaly a průmyslovými imisemi. Zmíněná stanoviště se vyznačují i největšími sumami PCDD/F. Významnější zastoupení vysoce chlorovaných PCDD/F se projevuje i v okolí chemických závodů v Kralupech n. V. a Lovosicích. Výrazněji se uplatňuje u PCDD než u PCDF.

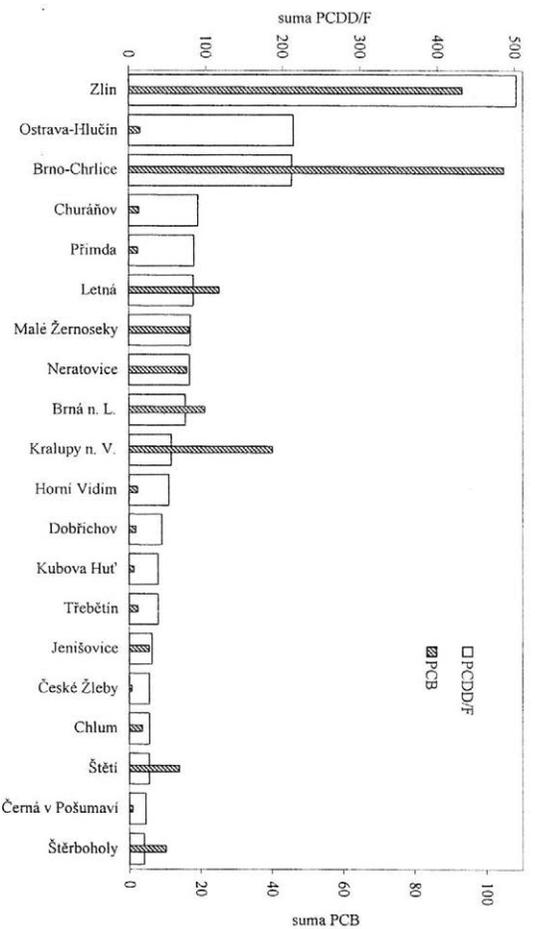
Při sledování zastoupení PCDD/F a souboru jejich kongenerů byla věnována pozornost vztahům k PCB a jejich kongenerům (obr. 2). Z kongenerů PCB převládají PCB



1. I-TEQ PCDD/F a I-TEQ PCB ($\mu\text{g kg}^{-1}$) ve sledovaných lokalitách – I-TEQ PCDD/Fs and PCBs ($\mu\text{g kg}^{-1}$) in investigated soils

170 a 180. Při srovnání celkových obsahů PCB se nejvíce shoda v nejvyšším zastoupení PCB a PCDD/F uplatňuje opět u obou stanovišť aplikace kalů do půdy a na lokalitách v blízkosti průmyslového podniku v Kralupích n. V., ale i Brané v okolí Ústí n. L. Při srovnání TEQ obou skupin látek (PCDD/F, PCB, obr. 1) zjistíme, že nejvyšší hodnoty TEQ PCB indikují spíše oblasti s chemickým průmyslem, zatímco nejvyšší hodnoty TEQ

PCDD/F aplikaci kalů a spalovací procesy (byť i historické). Z posouzení zastoupení vybraných toxických kongenerů PCB vyplývá, že nejtoxicitější kongener (P126 3',4,4',5-PeCB) a I-TEQ PCB je relativně zastoupen výrazněji ve vzorcích v blízkosti chemických závodů než ve vzorcích po aplikaci kalů. Stanoviště aplikace kalů mají nízké hodnoty PAU.



2. Suma PCDD/F a PCB ve sledovaných lokalitách – The sum of PCDD/Fs and PCBs in investigated soils

ZÁVĚR

Sledování z roku 1999 na omezeném souboru vybraných 20 lokalit prokázalo potřebu dále se věnovat problematice PCDD/F ze zemědělského hlediska, neboť jejich nejvyšší obsahy i toxické ekvivalenty byly zjištěny na stanovištích po aplikaci čistírenských kalů. Rovněž v blízkosti chemických průmyslových závodů byly nalezeny zvýšené hodnoty PCDD/F a vysoké hodnoty I-TEQ, a to jak PCDD/F, tak i PCB. Zatímco vliv Malešické spalovny se neprojevil, byly zjištěny historické zátěže v čisté oblasti Šumavy. Lze konstatovat, že nebyl překročen německý limit $5 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$ I-TEQ, který vymezuje bezrizikové zemědělství. Za referenční hodnotu pozadí ornice zemědělských půd ČR se na základě sledovaných souborů doporučuje stanovit hodnotu $1 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1}$ I-TEQ. Tento údaj je nezbytné prověřit na širším souboru vzorků. Vzhledem k prognóze zvýšeného využití kalů na zemědělské půdě a jejich potenciální zátěže PCDD/F (které se kompostováním zvyšuje) navrhuje ve sledování pokračovat.

LITERATURA

- Bezačinský M., Neubauerová L., Kočan A., Petrik J., Holoubek I., Holoubková I. (1991): Zdroje polychlorovaných organických látek v životním prostředí – dohady a skutečnost. *Ochr. Ovzd.*, 5: 136–140.
- Hagenmaier H., She J., Benz T., Dawidowsky N., Dusterhoft L., Lindig C. (1992): Analysis of sewage sludge for PCDD/Fs and diphenylethers. *Chemosphere*, 25: 1457–1462.
- Hansen L. G., O'Keefe P. W. (1996): Polychlorinated dibenzofurans and dibenzo-p-dioxins in subsurface soil, superficial dust and air extracts from a contaminated landfill. *Arch. Envir. Contam. Toxicol.*, 31: 271–276.
- Jech L. et al. (1999): Studie výskytu perzistentních organických látek v ovzduší a jejich depozice na území České republiky. [Závěrečná zpráva.]
- Joneck M., Prinz R. (1991): Dioxine in Böden Bayerns. GLA Fachber., (7).
- Jones K. C., Sewart A. P. (1995): Dioxins and furans in sewage sludges. [Report of a project commissioned by the DoE and UKWIR.] *Inst. Envir. Biol. Sci.*
- Lenz H., Bächle H., Schneider J., Thater M., Stahr K. (1998): Abschätzung erhöhter Bodenbelastungen mit polychlorierten Dibenzop-dioxinen und Dibenzofuranen bei der bodenkundlichen Geländeaufnahme. *Z. Pfl.-Ernähr. Bodenkde*, 161: 267–272.
- Podlešáková E., Němeček J., Vácha R., Pastuszková M. (1998): Contamination of soils with persistent organic xenobiotic substances in the Czech Republic. *Toxicol. Envir. Chem.*, 66: 91–103.
- Rappe C., Andersson R., Karlaganis G., Bonjour R. (1994): PCDDs and PCDFs in samples of sewage sludge from various areas in Switzerland. *Organohalogen Compounds*, 20: 79–84.
- Rosa Ch. T. de et al. (1997): Dioxin and dioxin-like compounds in soil, part I: ATSDR interim policy guideline. *Toxicol. Ind. Hlth*, 13: 759–768.
- Schuhmacher M., Xifró A., Llobet J. M., Kok H. A. M. de, Domingo J. L. (1997): PCDD/Fs in soil samples collected in the vicinity of a municipal solid waste incinerator: human health risks. *Arch. Envir. Contam. Toxicol.* 33: 239–246.
- Schulz D. (1993): PCDD/F – German policy and measures to protect man and the environment. *Chemosphere*, 27: 501–507.
- B Bod Sch G (1998): Gesetz zum Schutz des Bodens. BGB, I, G5702, Nr. 16 vom 24. 3. 98: 502–510.
- B Bod Sch V (1998): Regierungsentwurf, Verordnung zur Durchführung des Bundes- Bodenschutzgesetzes (Bodenschutz- und Altlastenverordnung) gemäß Beschluß Bundeskabinett vom 9. 9. 98 zur Zuleitung an den Bundesrat.
- B Bod Sch V (1999): Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung. *Bundesgesetzblatt Jahrgang, Teil I, Nr. 36.*
- EPA (1997): Working document: Dioxins – sources, levels and exposures in Denmark. *Danish. Envir. Protec. Ag.*
- EPA (1999): Rocky mountain arsenal – Facts about dioxin. EPA Region 8.
- Landesanstalt für Umweltschutz – LfU (1995): Dioxine in Böden Baden-Württembergs. *Materialein zum Bodenschutz. Landesanstalt für Umweltschutz.*
- UNEP (1999): Dioxin and furan inventories. *United Nations Environment Programme. Geneva, Switzerland.*

Došlo 30. 3. 2000

Kontaktní adresa:

Prof. RNDr. Jan Němeček, DrSc., Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika, tel.: + 420 2 24 38 27 52, fax: + 420 2 20 92 03 12, e-mail: nemecek.jan@af.czu.cz

EXTRAKCIA VÝMENNÉHO DRASLÍKA Z MONTMORILLONITU

EXTRACTION OF EXCHANGEABLE POTASSIUM FROM MONTMORILLONITE

A. Čumakov, K. Hrnčiarová

Institute of Inorganic Chemistry, Slovak Academy of Sciences, Slovak Republic

ABSTRACT: Potassium saturated $< 2 \mu\text{m}$ fraction of a bentonite was used in this study. Electro-ultrafiltration (EUF) method was applied for potassium extraction. This method allows to extract separately various potassium fractions, bound on the mineral with different strengths, by varying the extraction parameters (voltage and temperature). We have found that appropriate modification of the extraction procedure allows to extract subfractions of exchangeable potassium differently bound on the fine fraction of bentonite. Extractions were performed at various temperatures (20, 40, 80 °C) and voltages (from 50 to 400 V). Over 85% of total potassium present in the sample was extracted within 105 min. We have ascertained that potassium occurs in the $< 2 \mu\text{m}$ fraction dispersed in water in at least two subfractions. The most weakly bound potassium in position *p* is extracted at 20 °C in the voltage range from 50 to 350 V. Its amount extracted after 105 min covers about 27% of total potassium determined in the sample. Increase of voltage upto 400 V causes extraction of potassium from the position *i* requiring more aggressive extraction parameters. We have found that two subfractions, differing in the bond strength, can be distinguished also in this position. Due to the layer charge distribution, no sharp border exists between the potassium ions bound more and less strongly, thus potassium ions within the same subfraction differ slightly in the bond strength. EUF method allows extraction of potassium from different positions and consecutively then calculation of the amount of potassium released from these positions during a vegetation period, which provides basis for more precise calculation of K-fertilizers.

Keywords: electro-ultrafiltration; fractions and subfractions of potassium; montmorillonite

ABSTRAKT: V pokuse sme použili frakciu bentonitu pod $< 2 \mu\text{m}$ nasýtenú draslíkom a k extrakcii draslíka sme vybrali metódu elektroultrafiltrácie. Táto metóda umožňuje zmenou extrakčných parametrov (napätia a teploty) oddelene extrahovať viaceré frakcie draslíka, ktoré sú viazané rôznou silou. Zistili sme, že vhodnou úpravou extrakčného postupu sa môžu z použitej frakcie bentonitu vyextrahovať aj subfrakcie výmenného draslíka, ktoré sú viazané rôznou silou. Extrakciu draslíka sme vykonali pri rôznych teplotách (20, 40, 80 °C) a napätiach (od 50 do 400 V). Celkove sme po 105 min vyextrahovali viac ako 85 % draslíka prítomného vo vzorke. Overili sme, že draslík sa vo frakcii bentonitu dispergovaného vo vode nachádza minimálne v dvoch subfrakciách. Najslabšie viazaný draslík v polohe *p* sa extrahuje pri teplote 20 °C v rozpätí napätia od 50 do 350 V. Jeho množstvo po 105 min extrakcie predstavuje asi 27 % z celkového analyticky zisteného množstva. Po zvýšení napätia na 400 V sa už začína extrahovať draslík z polohy *i*, na uvoľnenie ktorého sú potrebné agresívnejšie extrakčné parametre. Zistili sme, že aj v tejto väzobnej polohe môžeme vyčleniť dve časti, ktoré sa od seba líšia silou väzby. V dôsledku distribúcie náboja neexistuje ostrá hranica medzi slabšie a silnejšie viazaným draslíkom, preto v oboch polohách väzby sa môžu ešte vyčleniť množstvá draslíka, ktorých väzba sa mierne líši. Metóda EUF umožňuje vyextrahovať draslík z jednotlivých väzobných polôh a následne aj vypočítať množstvo draslíka, ktoré sa bude uvoľňovať z týchto polôh v priebehu vegetácie, čo umožní spresniť výpočet dávok draselných hnojív.

Kľúčové slová: elektroultrafiltrácia; frakcie a subfrakcie draslíka; montmorillonit

ÚVOD

Analýzy ornice, ktoré v rámci agrochemického skúšania pôd (ASP) Slovenska pravidelne vykonáva ÚKSÚP, ukázali, že už v 80. rokoch mnohé polia mali veľmi vysoký obsah draslíka. Napriek tomu, že v niektorých prípadoch bolo množstvo prijateľného draslíka niekoľkonásobne

vyššie ako hranica vysokého obsahu, ďalej sa už táto kategória nečlenila.

Mikloš, Čičel (1993) zistili, že pri nadbytku draslíka v pôde dochádza k illitizácii montmorillonitu. V dôsledku toho sa znižuje sorpčná kapacita, zhoršuje sa štruktúra pôdy, častejšie sa objavuje prísušok, znižuje sa retenčná schopnosť pôd na vodu a následne sa znižuje aj úroda.

Zistili sme, že nadbytok draslíka v pôde bol aj príčinou objavenia sa nedostatku bóru u cukrovej repy, vzniku srdiečkovej hniloby, zníženia úrody buliev a obsahu sacharózy v bulvách (Hrnčiarová, Čumakov, 1993).

V snahe spresniť výpočet dávok K-hnojív do komplexnej metodiky hnojenia rastlín sa zaradila korekcia dávok K-hnojív v závislosti od pôdneho druhu. Pôdny druh sa však určuje na základe sumárneho množstva ílového podielu, ale o hodnote sorpčnej kapacity nerozhoduje iba celkové množstvo ílových minerálov, ale aj mineralogické zloženie, predovšetkým podiel kaolinitu k montmorillonitu. Preto táto korekcia nie vždy správne vystihovala skutočnú potrebu K-hnojiva.

Nedostatky chemických extrakčných metód si uvedomil autor metódy EUF (Németh, 1976, 1979; Németh, Wiklicky, 1980), ktorý zmenou extrakčných parametrov (elektrického napätia, teploty a doby extrakcie) navrhol oddelenú extrakciu dvoch hlavných frakcií živín, ktoré tvoria rastlinami prijateľnú formu v pôde. Pri použití miernejších extrakčných parametrov sa extrahuje aktuálna zásoba draslíka v pôde, predovšetkým frakcia vodorozpustného draslíka, ktorá je pohyblivá a rastlinami ľahko prijateľná. Pri agresívnejších extrakčných parametroch sa extrahuje draslík z potenciálnej zásoby, predovšetkým frakcia výmenného draslíka, ktorý je sorpčne viazaný, prípadne sa nachádza v ťažšie rozpustných anorganických zlúčeninách.

Hlavnou prednosťou metódy EUF je to, že postupným zvyšovaním agresivity extrakčných parametrov umožňuje v analyzovanom materiále rozdeliť extrahovateľné množstvo draslíka na frakcie, prípadne aj subfrakcie podľa pevnosti ich väzby. Výhodou je tiež to, že pri extrakcii sa môže postupne zvyšovať iba jeden alebo viac parametrov – elektrické napätie, teplota alebo doba extrakcie. Podobný postup nie je možný pri použití chemických extrakčných metód, kde napr. pri zvýšení koncentrácie extrakčného roztoku sa súčasne mení pH, podiel aniónov a kationov. V priebehu extrakcie dochádza tiež k procesom rozpúšťania analyzovaného materiálu, do roztoku sa dostávajú ďalšie ióny, ktoré menia iónovú silu extrakčného roztoku apod. To pri metóde EUF nenastáva, lebo extrakčným roztokom je prevažne voda, extrahované ióny plynulo prechádzajú do eluátu a zvolené extrakčné parametre sa udržiavajú na rovnakej hodnote počas celej analýzy. Mení sa iba elektrický prúd, ktorý v dôsledku znížovania vodivosti extrahovaného roztoku (ióny prechádzajú do eluátov) postupne klesá.

Rastlinami prijateľná forma draslíka nepredstavuje v pôde homogénne viazanú živinu, ale tvoria ju minimálne dve frakcie živín. Ich pohyblivosť, a tým aj prijateľnosť rastlinami sa značne líšia. Pri chemických extrakčných metódach (Schachtschabel, Mehlich II) sa však tieto frakcie extrahujú súčasne.

Summer, Bolt (1962) zistili, že vymeniteľný draslík, ktorý sa nachádza v medzivrstviach illitu, analogicky aj montmorillonitu, t. j. dvoch najbežnejších pôdnych ílových minerálov, nie je viazaný rovnako pevne. Citovaní autori uvádzajú, že draslík sa môže viazať v troch rôznych po-

lohách, ktoré sa vzájomne líšia množstvom a silou väzby. Môže sa viazať v polohe p (na povrchu minerálov), v polohe e (na zlomových plochách) a v polohe i (v medzivrstvových priestoroch).

Z toho vyplýva, že interpretácia analýz pôd pre účely výživy rastlín nie je jednoduchá. K výpočtu požadovaného množstva K-hnojiva nestačí poznať iba celkové množstvo rastlinami prijateľného draslíka, ale je žiaduce poznať aj rozdelenie tohto množstva na frakcie (vodorozpustnú a výmennú), prípadne aj subfrakcie.

Cieľom našej práce bolo zistiť extrakčné parametre pre EUF experimenty, ktoré by umožnili vyextrahovať z K-frakcie bentonitu subfrakcie draslíka viazané v jednotlivých polohách.

MATERIÁL A METÓDY

Použili sme frakciu ílu pod $< 2 \mu\text{m}$, ktorý sme vyseparovali z bentonitu. Prevažnú časť tejto frakcie tvoril montmorillonit, ktorý bol stanovený röntgenovou analýzou. Táto frakcia bentonitu mala prirodzený obsah draslíka 0,16 %. Po jej nasýtení draslíkom a vymytí jeho nadbytku vzrástol obsah draslíka na 4,18 %.

K extrakcii draslíka sme použili model prístroja EUF 724 firmy VOGEL (SRN), ktorý sme upravili tak, aby bolo možné plynule odoberať eluáty v ľubovoľnom čase počas neobmedzenej doby extrakcie bez pridávania premyvacej vody, ktorá znižuje koncentráciu draslíka v eluátoch a sťažuje jeho následné analytické stanovenie. Miesto mechanického počítadla doby extrakcie sme použili elektronické počítanie. Draslík sme extrahovali pri teplotách 20, 40 a 80 °C pri postupne vzrastajúcom elektrickom napätí od 50 do 400 V v intervaloch po 50 V. Extrakcie trvali 105 min a eluáty sme odoberali každých 5 min.

Po každej zmene extrakčných parametrov (napätia a teploty) sme použili novú navážku 0,5 g. Počet opakovaní bol 5. Stredná chyba bola menšia ako $\pm 5 \%$ a zmenšovala sa vo smere od vyšších extrakčných parametrov k nižším.

Obsah draslíka v eluátoch sme stanovili emisnou atómovou spektrometriou na prístroji AAS-3 (Zeiss Jena, NDR).

K výpočtu maximálne desorbovateľného množstva draslíka d_m sme použili matematický model, ktorý navrhol Grimme (1979, 1980).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zistili sme, že s postupným zvyšovaním elektrického napätia a teploty prechádza postupne do výluhu stále väčšie množstvo draslíka, ktoré po 105 min extrakcie pri teplote 40 °C môže dosiahnuť až 85 % celkového množstva výmenného draslíka prítomného vo vzorke. Zvyšovanie množstva extrahovaného draslíka však nie je pravidelné, ale prebieha vo väčších alebo menších kvan-

titatívnych skokoch, ktoré môžu naznačovať prítomnosť viacerých frakcií, prípadne subfrakcií draslíka.

Výsledky extrakcie draslíka z montmorillonitu pri napätíach od 50 do 400 V a teplotách 20, 40 a 80 °C sú uvedené v tab. I. Súčasne sú uvedené hodnoty získané po 105 min extrakcie, údaje o maximálne desorbiteľnom množstve draslíka a percentuálne vyjadrenie hodnoty d_m k celkovému analyticky stanovenému množstvu draslíka v montmorillonite.

Nakoľko rozloženie záporného náboja nie je rovnaké, existuje distribúcia pevností väzieb, preto sa subfrakcie draslíka z jednotlivých polôh neextrahovali naraz pri jednom napätí, ale v priebehu širšieho rozpätia napätia. Subfrakciu môžeme teda definovať ako množstvo draslíka (v našom prípade), ktoré sa v dôsledku distribúcie náboja v danej polohe extrahuje pri rovnakej teplote extrakcie, ale v širšom rozpätí elektrického napätia. V dôsledku toho sa extrakcia draslíka z jednotlivých polôh prekrýva. Predpokladáme, že pri rovnakých extrakčných parametroch môže končiť extrakcia draslíka z polohy, kde sila väzby je nižšia, a súčasne sa začína extrahovať draslík z polohy, kde sila väzby je silnejšia. Rozpätie napätia, pri ktorom sa súčasne extrahujú dve subfrakcie podľa našich výsledkov, môže byť v rozmedzí 50 až 100 V.

Výsledky, ktoré sú uvedené v tab. I, ukázali, že pri teplote 20 °C a 105 min extrakcie sa najväčšie množstvo draslíka extrahuje už pri počiatočnom napätí 50 V (6,61 mg K.g⁻¹). Po ďalšom zvyšovaní napätia sa už množstvo extrahovaného draslíka znižuje. V rozpätí od 100 do 300 V sa vyextrahuje už iba 4,85 mg K.g⁻¹ a rozdiel v extrahovanom množstve draslíka rozmedzí 300 až 350 V je minimálny. Predpokladáme, že pri týchto extrakčných parametroch sa končí extrakcia draslíka s najslabšou silou väzby

z polohy p . Po zvýšení napätia na 400 V sa už začína množstvo extrahovaného draslíka opäť zvyšovať, čo poukazuje na to, že sa začína extrahovať draslík z polohy so silnejšou väzbou.

Po použití matematického modelu, ktorý navrhol Grimme (1979, 1980), sme zistili, že pri teplote 20 °C v rozpätí napätí od 50 do 400 V sa množstvo maximálne desorbovaného draslíka pohybuje od 11,09 do 14,91 mg K.g⁻¹t. j. od 26,5 do 35,7 % z celkového desorbiteľného množstva draslíka. Aj z týchto výsledkov vyplýva, že extrakcia draslíka z polohy s najslabšou silou väzby končí pri napätí 350 V. Preto môžeme považovať hodnotu d_m vypočítanú pre toto napätie za údaj, ktorý zodpovedá celkovému množstvu draslíka, ktorý sa nachádza v polohe p . Po zvýšení napätia z 350 na 400 V sa pozoruje väčší kvantitatívny skok, zvýšenie extrakcie o 1,13 mg K.g⁻¹, t. j. o 2,7 %, preto predpokladáme, že do eluátu začína už prechádzať draslík z polohy, kde jeho väzba je silnejšia. K extrakcii draslíka z tejto polohy už bolo potrebné zvýšiť teplotu extrakcie, lebo použitý prístroj EUF umožňuje zvyšovať napätie iba po 400 V.

Summer, Bolt (1962) vo svojej práci s illitom uvádzajú subfrakciu e , ktorá je silnejšie viazaná ako subfrakcia p . Pomer medzi frakciami p a e je závislý od jemnosti analyzovaného materiálu. Ak sú kryštály väčších rozmerov, prevláda množstvo draslíka v polohe p nad polohou e . Ak je analyzovaný materiál veľmi jemný, potom môže byť pomer draslíka v oboch subfrakciách približne rovnaký. Ak je analyzovaný materiál zrnitostne nevyrovnaný, potom prechod medzi týmito polohami je nezreteľný.

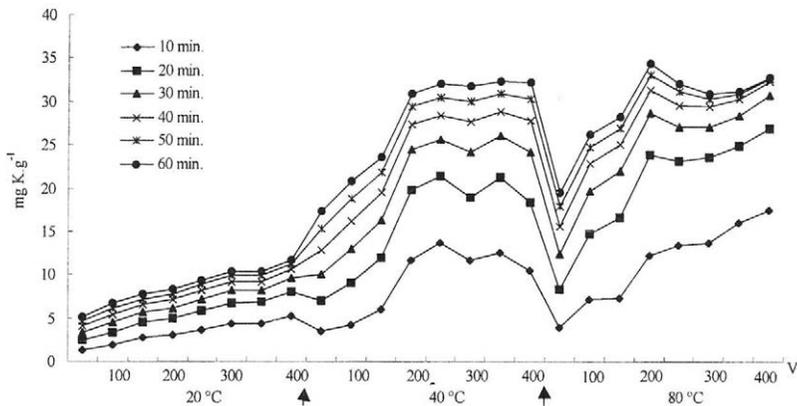
V našej vzorke sa subfrakcia draslíka v polohe e (Summer, Bolt, 1962) nachádza na zlome medzivrstvového priestoru. To znamená, že tento draslík je prakticky súčasťou predovšetkým draslíka v polohe i . Preto sila väz-

I. Extrakcia draslíka z montmorillonitu – Extraction of potassium from montmorillonite

Napätie ¹ (V)	20 °C			40 °C			80 °C		
	d_{105}	d_m	%	d_{105}	d_m	%	d_{105}	d_m	%
50	6,61	11,09	26,5	23,58	52,08	124,6	24,83	43,40	103,8
100	8,05	12,21	29,2	26,38	53,05	126,9	30,06	39,50	94,5
150	9,23	12,32	29,4	28,48	44,68	106,9	31,27	38,50	92,1
200	9,66	12,54	30,0	34,72	43,16	103,3	32,68	37,69	90,2
250	10,30	12,93	30,9	35,60	42,83	102,5	33,12	36,78	88,0
300	11,30	13,57	32,5	35,40	44,84	107,3	31,59	34,12	81,6
350	11,46	13,78	33,0	35,98	43,76	104,7	31,62	36,20	86,6
400	12,69	14,91	35,7	35,30	45,87	109,7	33,08	35,30	84,4

d_{105} = množstvo draslíka v mg K.g⁻¹ extrahované po 105 min – amount of potassium in mg K.g⁻¹ extracted after 105 min
 d_m = maximálne desorbiteľné množstvo draslíka v mg K.g⁻¹ – maximum desorbic amount of potassium in mg K.g⁻¹
 % = d_m v pomere k celkovému množstvu draslíka (41,8 mg K.g⁻¹) – d_m in ratio to total analytically determined amount of potassium (41.8 mg K.g⁻¹)

¹voltage



1. Priebeh extrakcie draslíka z montmorillonitu – The course of potassium extraction from montmorillonite

by draslíka v polohe *e* a *i* by sa nemala vo väčšom rozsahu meniť. Náš predpoklad potvrdili aj získané analytické výsledky.

Po zvýšení teploty extrakcie z 20 na 40 °C sa pri 50 V a dobe 105 min vyextrahovalo 23,58 mg K.g⁻¹. Nakoľko sme pri každej zmene napätia a teploty extrakcie použili novú navážku montmorillonitu, do výluhu prechádza množstvo draslíka, ktoré sme stanovili pri nižších parametroch, a k tomu aj množstvo draslíka, ktoré sa extrahuje pri zvýšených parametroch. Predpokladáme preto, že do výluhu prešlo celé množstvo draslíka z polohy *p* a časť draslíka z polohy *i*. Po odpočítaní d_m draslíka, ktorý sa nachádzal v polohe *p*, sme zistili, že z polohy *i* sme vyextrahovali 8,67 mg K.g⁻¹ (23,58 – 14,91 = 8,67).

Extrakcia draslíka z polohy *i* v menšej miere pokračuje aj pri napätí 100 a 150 V. Extrahované množstvo sa však postupne znižuje. Po zvýšení napätia na 200 a 250 V sa množstvo draslíka v eluáte opäť mierne zvyšuje. Po zvýšení napätia na 300 V a vyššie sa už extrakcia draslíka prakticky nezvyšuje.

Výsledky získané pri teplote 40 °C ukázali, že pri zvyšovaní napätia sa množstvo extrahovaného draslíka zvyšuje v dvoch kvantitatívnych skokoch. To svedčí o tom, že aj v medzivrstvovom priestore, podobne ako na povrchu kryštálu, nie je distribúcia náboja rovnaká. Preto sme draslík, ktorý do eluátu prešiel pri napätí od 50 do 150 V, označili ako draslík v i_1 a draslík, ktorý prešiel do eluátu v rozpätí napätí 150 až 200 V, ako draslík i_2 . Aj tu sa dá predpokladať, že medzi jednotlivými väzbami neexistuje presné rozhranie, preto extrakcia draslíka z i_1 a i_2 sa môže prelínať.

Výpočet hodnoty d_m pri teplote 40 °C ukázal, že pri napätí 50 a 100 V je táto hodnota značne vyššia ako skutočné, analyticky zistené množstvo draslíka. Predpokladáme, že vyššie výsledky boli spôsobené tým, že autor matematického modelu výpočtu d_m (Grimme, 1979, 1980) uvažoval s extrakciou draslíka iba z jednej frakcie, prípadne

polohy. V našich experimentoch sa však draslík extrahoval súčasne z dvoch polôh (subfrakcií), v ktorých bol viazaný rôznou silou. Preto matematicky získané výsledky nevystihovali skutočnosť. Potvrdili to aj výsledky, ktoré sme získali pri napätiach, kedy sa už extrahuje draslík prevažne iba z jednej subfrakcie. V tých prípadoch sme výpočtom získali hodnoty d_m , ktoré sa približovali analyticky zistenému celkovému množstvu výmenného draslíka.

Po zvýšení extrakčnej teploty na 80 °C sa množstvo extrahovaného draslíka pri napätiach od 50 do 400 V už nezvyšuje, ale naopak znižuje. Pri vysokej teplote a spolupôsobení elektrického napätia dochádza ku kolapsu medzivrstvového priestoru, v dôsledku čoho sa znižuje prechod draslíka do eluátu.

Výpočet hodnoty d_m pri teplote extrakcie 80 °C s výnimkou napätia pri 50 V tiež potvrdil, že táto hodnota vo všetkých sledovaných variantoch napätia sa výrazne znižuje, čím sa potvrdzuje náš predpoklad o kolapse medzivrstvového priestoru.

Po vyhodnotení analytických výsledkov sme prišli k záveru, že ako Summer, Bolt (1962), ktorí pracovali s illitom, môžeme aj my u montmorillonitu vyčleniť viacero polôh väzby draslíka.

Aby bolo možné sumárne posúdiť všetky získané analytické výsledky, zostavili sme graf na obr. 1. Na osi x sú uvedené jednotlivé sledované napätia, rozdelené podľa teplôt. Na osi y sú uvedené množstvá draslíka, ktoré pri daných extrakčných parametroch prešli do eluátu, získané v 5 min intervaloch odberu eluátu. Získali sme 21 spojnic bodov, reprezentujúcich rôzne časy extrakcie v intervale po 5 min, ktorých priebeh umožnil presnejšie vysvetlenie desorpcie draslíka v čase v závislosti od teploty a napätia.

Rozdiely v sile väzby draslíka medzi jednotlivými subfrakciami sú natoľko rozdielne, že je možné na grafe vyčleniť oblasti napätia a teploty extrakcie, v ktorých

dochádza k prechodu jednotlivých subfrakcií draslíka do eluátu, a vyčleniť oblasti (napätia a teploty), kedy dochádza k dokončovaniu extrakcie subfrakcie so slabšou silou väzby a začína extrakcia subfrakcie so silnejšou silou väzby. Tieto výsledky potvrdili, že sme správne vyčlenili oblasti napätia a teploty, kedy dochádza k extrakcii jednotlivých subfrakcií draslíka.

Z údajov uvedených na obr. 1 je zrejmé, že extrakcia draslíka z polohy p pri 20 °C sa končí približne pri napätí 350 V. Pri 400 V už začína extrakcia draslíka z ďalšej polohy so silnejšou väzbou. K extrakcii draslíka v polohe so silnejšou väzbou je potrebné pôsobenie agresívnejších parametrov.

Po zvýšení teploty extrakcie na 40 °C sa v rozpätí napätia od 50 do 200 V pozorujú dva kvantitatívne skoky. Ide o draslík z polohy i , ale v dôsledku rôznej distribúcie náboja na vrstvách sa množstvo draslíka rozdelilo na dve časti. Extrakcia slabšie viazaného draslíka sa pozoruje už pri napätí 50 V, túto polohu väzby sme označili ako i_1 . Silnejšie viazaný draslík prechádza do eluátu v rozpätí napätia od 150 do 200 V. Túto polohu väzby sme označili ako i_2 . Pri napätí nad 200 V sa extrahované množstvo draslíka už nezvyšuje.

Získané výsledky ukázali, že použitá extrakčná metóda umožňuje presnejšie rozdeliť množstvo draslíka, ktoré je sorbované montmorillonitom. Zistili sme, že metodika extrakcie sa môže aplikovať aj pri štúdiu desorpcie ďalších katiónov. Súčasne sa ukázalo, že je potrebné upraviť metodiku extrakcie pre poľnohospodárske účely, lebo pri teplote 80 °C dochádza ku kolapsu medzivrstvového priestoru.

PodĎakovanie

Autori ďakujú grantovej agentúre VEGA za finančnú podporu (grant 2/4042/99).

LITERATÚRA

- Grimme H. (1979): The use of rate equations for a quantitative description of K desorption from soil in external electric field (EUF). *Z. Pfl.-Ernähr. Bodenkde*, 142: 57–68.
- Grimme H. (1980): The effect of field strength on the quantity of K desorbed from soil by electro-ultrafiltration. *Z. Pfl.-Ernähr. Bodenkde*, 143: 98–106.
- Hrnčiarová K., Čumakov A. (1993): Vplyv draselných iónov na fixáciu bóru. *Rostl. Výr.*, 39: 29–302.
- Mikloš D., Čičel B. (1993): Development of interstratification in K- and NH₄-smectite from Jelšovský Potok (Slovakia) treated by wetting and drying. *Clay Miner.*, 28: 435–443.
- Németh K. (1976): Die effektive und potentielle nährstoffverfügbarkeit im boden und ihre bestimmung mit elektro-ultrafiltration (EUF). Giessen, Justus-Liebig Univ.
- Németh K. (1979): The availability of nutrients in the soil as determined by electro-ultrafiltration (EUF). *Adv. Agron.*, 31: 155–18.
- Németh K., Wiklicky L. (1980): Erfahrungen mit der EUF-Methode bei der Düngénberatung. *Kali-Brief*, 15: 15–21.
- Summer M. E., Bolt G. H. (1962): Isotopic exchange of potassium in an illite under equilibrium condition. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 26: 541–544.

Došlo 24. 1. 2000

Kontaktná adresa:

Ing. Alexander Čumakov, DrSc., Ústav anorganickej chémie, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 842 36 Bratislava, Slovenská republika, tel.: + 421 7 59 41 04 33, fax: + 421 7 59 41 04 44, e-mail: uachcumo@savba.sk

GRASS – ITS PRODUCTION AND UTILIZATION

TRÁVY – ICH PRODUKCIA A VYUŽITIE

A. Hopkins (ed.)

Oxford, UK, Blackwell Science 1999. 440 s., 70 tab., 64 obr.

Už pri prvom pohľade na tretie vydanie jednej z najpopulárnejších publikácií o trávach v anglosaských krajinách je zrejmé, že ide o nové a prepracované vydanie. Zmenil sa jednak editor (A. Hopkins miesto prof. W. Holmesa), ako aj kolektív spoluautorov. Oproti predchádzajúcim dvom vydaniam (a dvom reedíciám) je publikácia doplnená o nové kapitoly, resp. problematiky, ktoré sa stali aktuálnymi v posledných dvoch desaťročiach.

Publikácia obsahuje celkove pätnásť kapitol, pričom z pôvodných vydání sú prepracované kapitoly o klasifikácii trávnych porastov (na podmienky Veľkej Británie), ďalej o produkcii trávnej hmoty, nutričnej hodnote a konzervácii tráv a tiež časti týkajúce sa aspektov pasenia hospodárskych zvierat.

Za základnú sa dá považovať kapitola o rastu a produkčných procesoch tráv a ďatelinovín, s dôrazom na podmienky pasenia. Úplne nové sú kapitoly o semenárstve krmovín, burinách, chorobách a škodcoch trávnych

porastov. (Táto problematika u nás v podstate absentuje.) Za veľmi aktuálne sa dajú považovať časti o hospodárení na trávnych porastoch s dôrazom na zachovanie životného prostredia. Záujemcov o mimoprodukčné využitie tráv poteší kapitola venovaná trávníkom (zakladanie, udržiavanie).

Na súčasné trendy v západoeurópskom lúkárstve a pasienkárstve poukazujú dve časti publikácie, venované používaniu organických hnojív živočíšneho charakteru a aspektom využívania trávnych porastov v organickom hospodárení.

O úspešnosti tejto publikácie svedčí už jej tretie vydanie, pričom nový obsah odráža najnovšie pohľady na využívanie tráv a trávnych porastov v súčasnosti. Táto kniha je bezpochyby nevyhnutnou učebnou pomôckou študentom univerzít a rukoväťou začínajúcim výskumným pracovníkom lúkárskeho výskumu a predstava je aj nepostrádateľnú príručku pre farmárov.

Doc. Ing. Norbert Gáborčík, CSc.

EFFICIENCY OF INOCULATION AND DIFFERENT NITROGEN FERTILIZATION ON SMALL-GRAINED BEAN QUALITY AND YIELD

ÚČINNOST INOKULACE A DUSÍKATÉHO HNOJENÍ NA KVALITU A VÝNOS DROBNOZRNÉHO BOBU

Z. Milaković, S. Brkić, Ž. Bukvić, I. Bogut, D. Horvat

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

ABSTRACT: Influence of seed inoculation by nodule bacteria biopreparation *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* and fertilization of 0, 20 and 60 kg N/ha on grain yield, dry matter yield, thousand-grain weight, nodules dry weight, protein content in above-ground weight of plants and grains as well as bean grain concentration of phosphorus and potassium were observed on two soil types (meadow-loessive and cambisol; humogley) during three investigation years. The highest values with all investigated indicators were achieved in inoculated variants. Influence of nitrogen fertilization depended on locality, i.e. chemical soil properties. Most of the investigated indicators obtained highest values at fertilization with 60 kg N/ha on meadow-loessive and cambisol soil where humus amounted to 1.78%. The highest values on humogley (humus content 2.25%) were achieved with fertilization of 20 kg N/ha.

Keywords: inoculation; nitrogen fertilization; *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*; bean; *Phaseolus vulgaris*; grain yield; protein content; nodules dry weight

ABSTRAKT: V průběhu tří let jsme na dvou půdních typech (luční sprašová a hnědá půda; humózní glej) sledovali vliv inokulace osiva biopreparátem z hlízkotvorných bakterií *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* a hnojení dávkami 0, 20 a 60 kg N/ha na výnos zrna, výnos sušiny, hmotnost tisíce zrn, hmotnost sušiny hlízek, obsah bílkovin v nadzemních částech rostlin a v zrnech, jakož i na koncentraci fosforu a draslíku v zrnech bobu. Nejvyšší hodnoty všech sledovaných ukazatelů jsme zaznamenali na inokulovaných variantách. Vliv dusíkatého hnojení závisel na lokalitě, tj. na chemických vlastnostech půdy. Většina sledovaných ukazatelů vykazovala nejvyšší hodnoty při hnojení dávkou 60 kg N/ha na luční sprašové a hnědé půdě, kde množství humusu činilo 1,78 %. Nejvyšších hodnot na humózním gleji (obsah humusu 2,25 %) bylo dosaženo po aplikaci dávky 20 kg/ha.

Klíčová slova: inokulace; dusíkaté hnojení; *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli*; bob; *Phaseolus vulgaris*; výnos zrna; obsah bílkovin; hmotnost sušiny hlízek

INTRODUCTION

The main goal in our country is to produce food as much as possible with least energy use. Thus fossil fertilizers are replaced by renewed energy sources wherever it is possible. Nitrogen presents a special problem since it has been a restrictive factor in achieving crops high yields and the most expensive energy at the same time. Leguminose seed inoculation by compatible nodule bacteria strains enables preserving such precious yield-making element. Thus nitrogen fertilizers application is reduced to the lowest extent.

From ecological aspect it is very important since ground water eutrophication occurs due to nitrogen nitrate forms leaching which is not the case with biologically fixed atmospheric nitrogen.

Numerous authors claim that inoculation of leguminose seed succeeds to preserve and even increase yield compared to the variant fertilized by mineral nitrogen fertilizers (Kálalová, Šimon, 1993; Dobereiner et al., 1995). Nutman (1976) stated that bean fixes 25 to 120 kg N/ha in symbiosis with compatible nodule bacteria strains.

It was determined that less amount of applied nitrogen had positive effect on nodulation and nitrogen fixation which is reflected to yield whereas larger amounts of nitrogen with soil richer in humus decreased nodules weight.

Lie (1974) stated that small amount of nitrate (20 to 30 kg N/ha) support nodulation in early phases of a plant growing. Above these concentrations nodules weight is inversely proportional to nitrate level in the middle (McNeil, 1982).

However, series of factors affect nodulation. Sangakka-ra et al. (1996) determined positive potassium effect on bean nitrogen nodulation and fixation, whereas Scherer, Lange (1996) determined the same for sulphur.

It is very important to mention that nodule bacteria *R. leguminosarum* are able to release phosphorus from hard-soluble compounds (Mikanová et al., 1995). Thus, phosphorus fertilization was slightly lower compared to bean conventional fertilization that was not inoculated by nodule bacteria biopreparation.

MATERIAL AND METHODS

The experiment was set up by completely randomized design in four replicates and six various variants of inoculation and fertilization. Variety of small-grained bean Biser was used on both soil types in three investigation years (1996, 1997 and 1998).

Elements of the investigation were as follows: seed inoculation (control + seed inoculation; 20 kg N/ha + seed inoculation; 60 kg N/ha + seed inoculation), nitrogen fertilization (control; 20 kg N/ha; 60 kg N/ha) and locality (meadow-loessive and cambisol soil 1.78% of humus; humogley 2.25% of humus).

An experiment on influence of small-grained bean seed inoculation by a nodule bacteria biopreparation *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* D-344 (produced by the Faculty of Agronomy in Zagreb; counts of rhizobium cells per 1 g inoculant = $1 \cdot 10^{10}$) and various nitrogen fertilization on bean grain yield and quality was set up on two soil types (meadow-loessive and cambisol soil; humogley). Chemical properties of the above quoted soils were presented in Tab. I.

The bean was sown by hands with row spacing of 40 cm and a space within a row of about 8 cm. Stand density was 30 plants/m², i.e. 300 000 plants per hectare. Sowing depth was 4 to 6 cm. The experimental plot was sprayed by a herbicide Galex 500 EC (51/ha) after sowing but prior to crops emerging. The basic plot was 4 m².

Seed inoculation was carried out by nodule bacteria biopreparation *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* by dry treatment during the sowing which was the main reason why sowing was performed out by hand.

Nitrogen was applied in urea form. Apart from nitrogen fertilization, phosphorus and potassium fertilizations were carried out in doses of 100 kg P₂O₅ and 80 kg K₂O per hectare. Phosphorus was applied in triplex form (threefold superphosphate in concentration of 45% P₂O₅) and potassium in form of 60% KCl.

Hoing was done three times in the growing season period. First hoeing was carried out in 2 to 3 real leaves phase with thinning at the same time in order to achieve favourable stand. Insignificant thinning aimed to achieve complete identical number of plants per 1 m². The second hoeing was performed two weeks after the first one whereas the third one had been done before plants covered inter-row space.

I. Chemical soil properties per localities

Investigated properties in a field	Locality	
	meadow, loessive and cambisol	humogley
Layer (0–30 cm)		
pH (H ₂ O)	6.24	7.25
pH (KCl)	5.60	6.28
Humus (%)	1.78	2.25
P ₂ O ₅ (mg/100 g soil)	31.7	22.75
K ₂ O (mg/100 g soil)	34.3	21.65

Fungicide protection by Sandofan M-8 in a dose of 2.5 kg/ha was carried out at the very beginning of blooming in order to control bean rust. Insecticide Sonet 100 EC (0.2 l/ha) was applied for bean weevil control. Nodule weight per 10 plants and dry matter yield were determined in the blooming stage. Dry matter yield, in this case, means above-ground portions yield taken in the blooming phase and dried in a drier at a temperature of 105 °C until reaching constant weight.

Bean harvesting was carried out by hand whereas grain yield and thousand-grain weight were also determined. Protein concentrations of above-ground portions and of grain were determined by Kjeldahl method. Phosphorus was determined spectrophotometrically by a blue method and potassium by emission at atomic absorbing spectrophotometer with 404.4 nm. Obtained experiment results were processed by a computer applying common statistical methods (Tab. II).

RESULTS AND DISCUSSION

All investigated indicators achieved the highest values in inoculated variants. The highest grain yield was achieved in inoculated seed variants on a humogley soil (humus 2.25%) type with fertilization of 20 kg N/ha (Tab. III) in all three years. All other variants achieved very significantly ($P < 0.01$) lower grain yield at this locality.

In the first investigation year the highest grain yield was also achieved in the variant of inoculated seed with fertilization of 20 kg N/ha on meadow, loessive and cambisol soil (humus 1.78%) whereas in the second and third years the highest yields were accomplished in inoculated variant with fertilization of 60 kg N/ha.

The achieved results are in accordance with investigation results of numerous authors who claimed that bean seed inoculation increased grain yield of compatible strains *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* considerably (Uribe et al., 1990; Salez et al., 1992; Dobreiner et al., 1995; Thies et al., 1995).

As for non-inoculated variants in the three investigated years, the highest yields were achieved with fertilization of 60 kg N/ha on both soil types. Similar results were

II. LSD test values at investigated indicators

I. P.	Seed inoculation					
	1996		1997		1998	
	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$	$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
A	56.840	78.320	61.190	84.310	48.500	60.160
B	40.230	55.430	32.300	44.510	39.180	51.210
C	14.880	20.500	8.950	12.330	11.620	17.500
D	0.130	0.180	0.110	0.150	0.140	0.190
E	0.500	0.690	0.350	0.480	0.310	0.520
F	0.410	0.570	0.320	0.440	0.340	0.590
G	0.008	0.011	0.006	0.009	0.009	0.013
H	0.035	0.048	0.038	0.053	0.041	0.057

stated by Uribe et al. (1990) who obtained yield of 1290 kg/ha with fertilization of 70 kg N/ha, whereas non-inoculated variants yield ranged from 590 to 950 kg/ha. Similar to grain yield, considerable higher dry matter yield was attained by inoculated plants.

Inoculation is known to stimulate plant organic matter synthesis, thus, some plant parts weight as well as complete plant differentiate in inoculated plants compared to non-inoculated ones.

It is evident that grain yield and dry matter yield were in high positive correlation in all three investigation years that is in accordance with the investigations carried out by Salisbury, Ross (1991).

However, dry matter yield is in positive correlation with nodules dry matter. Above-ground portions weight provide photosynthates for normal nodules nitrogen fixation process which in turn stimulates above-ground portions growth. Arrangement of photosynthates in successful symbiotic communities enables successful nitrogen fixation that directly affect above-ground portions weight.

The highest dry matter yields were accomplished on humogley in inoculated seed variants with fertilization of 20 kg N/ha in all investigation years. They were statistically significantly higher ($P < 0.01$) compared to dry matter yield of all other experiment variants.

The highest dry matter yields were also achieved in inoculated seed variants with 60 kg N/ha on meadow, loessive and cambisol soil in all three investigation years. In 1996 and 1998 the above mentioned variants as well as inoculated seed variants did not vary statistically significantly ($P > 0.05$) with 20 kg N/ha. However, all other variants achieved significantly ($P < 0.01$) lower grain yields.

Obtained results are in accordance with Drevon et al. (1986) and Fuhrmann (1990) statements who claimed that dry matter yield was always higher than dry matter yield of non-inoculated plants in successful symbiotic communities.

As for non-inoculated plants in all three investigated years the highest yield was accomplished in nitrogen fertilization variants in a dose of 60 kg N/ha being in accordance with the investigations conducted by the

authors (Uribe et al., 1990; Babiker et al., 1995) who pointed out stimulative nitrogen fertilization effect on dry matter yield.

All inoculated seed variants had significantly ($P < 0.01$) higher thousand-grain weight averages compared to non-inoculated variants, whereas fertilization depended on soil type.

Thousand-grain weight with inoculated plants was on the average by 12 to 15% higher compared to thousand-grain weight obtained in non-inoculated plants which is in accordance with statement that thousand-grain weight is always higher with inoculated plants stated on soybean by Redžepović et al. (1985).

In all three investigation years the highest yields of nodule dry weight on meadow, loessive and cambisol soil (1.78% of humus) were achieved in inoculated seed variants with fertilization of 60 kg N/ha. However, the highest nodule dry matter yields on humogley (2.25% of humus) were accomplished in inoculated seed variants with fertilization of 20 kg N/ha.

Presumable reason for that is higher organic matter content on humogley, thus high dose nitrogen fertilization did not give positive effect. El Behidi et al. (1985) and Redžepović et al. (1985) stated that small nitrogen doses stimulate nodulation, whereas large ones have negative effect on nodulation and nitrogen fixation.

Average nodule dry matter in inoculated variants was by 62.5% higher compared to average nodule dry matter in non-inoculated variants in the first investigation year. This difference amounted to 84% in the second investigation year and 61.1% in the third one.

Numerous authors proved, by results of their investigations, that inoculation stimulated nodulation (Redžepović et al., 1985; Uribe et al., 1990; Vargas et al., 1991; Salez et al., 1992).

The highest average values of protein concentrations in above-ground plant weight were achieved in inoculated seed variants with fertilization of 20 kg N/ha in all three investigation years. However, the highest values were accomplished in inoculated variants with fertilization of 60 kg N/ha on meadow, loessive and cambisol soil in the

III. Average values of investigated parameters

I. P.	Soil type	1996						1997						1998					
		seed inoculation																	
		non-inoculated seed			inoculated seed			non-inoculated seed			inoculated seed			non-inoculated seed			inoculated seed		
		nitrogen fertilization																	
		0	20	60	0	20	60	0	20	60	0	20	60	0	20	60	0	20	60
A	1	1125.00	1210.00	1547.50	1577.50	2147.50	1497.50	895.00	1010.00	1177.50	1167.50	1197.50	1357.50	1080.50	1128.20	1360.00	1370.40	1490.60	1510.80
	2	1111.30	1581.00	1696.30	2027.50	2332.50	1823.80	1008.80	1092.50	1312.50	1347.50	1635.00	1510.00	1318.10	1420.50	1508.00	1560.70	1750.00	1580.20
B	1	337.50	420.00	483.80	570.00	722.50	723.80	435.00	471.30	557.50	635.00	773.80	792.50	415.50	478.20	550.70	670.00	798.10	830.40
	2	450.00	585.00	731.30	952.50	1173.80	743.80	415.00	480.00	488.80	581.30	766.30	743.80	605.50	714.15	808.00	991.40	1195.50	1009.10
C	1	269.75	279.25	294.75	306.50	328.75	315.50	245.00	248.50	250.75	292.50	300.25	304.00	276.15	294.30	299.80	318.60	333.50	351.00
	2	261.75	282.00	293.25	306.50	311.00	343.75	235.50	248.25	253.25	291.25	302.00	289.25	219.50	238.20	264.50	291.00	328.40	325.95
D	1	1.09	1.42	1.78	2.21	2.62	2.74	0.84	1.13	1.66	2.01	2.67	2.79	1.26	1.38	1.61	2.19	2.30	2.55
	2	1.41	1.80	1.98	2.39	2.97	2.68	1.26	1.56	1.74	2.25	2.76	2.61	1.81	1.96	2.14	2.56	2.89	2.87
E	1	18.53	20.88	23.51	24.06	25.01	24.66	17.53	18.18	18.76	20.34	20.79	22.93	17.95	18.19	19.65	21.85	23.05	24.90
	2	18.18	20.58	21.18	23.05	25.00	20.58	18.27	19.28	21.62	21.54	23.76	20.85	17.80	19.90	21.10	23.15	25.10	24.85
F	1	26.30	29.23	30.74	30.56	32.47	31.64	24.62	25.03	25.72	26.04	29.50	29.77	24.10	25.80	28.60	29.90	31.20	31.45
	2	25.65	28.70	30.04	30.05	32.93	30.66	25.42	26.52	27.75	28.75	30.45	27.75	26.40	27.35	28.10	29.20	32.60	30.80
G	1	0.73	0.74	0.72	0.73	0.74	0.74	0.71	0.72	0.72	0.72	0.74	0.73	0.71	0.73	0.74	0.73	0.73	0.74
	2	0.61	0.62	0.59	0.62	0.63	0.65	0.58	0.62	0.63	0.61	0.63	0.64	0.61	0.63	0.62	0.67	0.65	0.69
H	1	1.51	1.72	1.76	1.83	1.87	1.74	1.44	1.48	1.57	1.80	1.79	1.90	1.65	1.79	1.78	1.82	1.88	1.91
	2	1.38	1.44	1.66	1.75	1.78	1.68	1.40	1.58	1.51	1.73	1.76	1.78	1.49	1.54	1.61	1.62	1.65	1.79

Investigated parameter (I.P.):

A = grain yield (kg/ha)

B = dry matter yield (kg/ha)

C = thousand-grain weight (g)

D = nodules dry weight (g/10 plants)

E = % of proteins in above-ground plant weight

F = % of grain proteins

G = % of grain phosphorus

H = % of grain potassium

1 = meadow, loessive and cambisol soil

2 = humogley

second and third investigation year. In all investigation years protein concentration in inoculated plants was higher by 14.5 to 24.7% compared to protein content in non-inoculated plants.

By analogy with above-ground plant weight protein concentration, considerably higher grain protein concentration was achieved by variants inoculated with biopreparation *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* (Tab. III). The highest values on both soil types were obtained by fertilization variants of 20 kg N/ha.

There were no statistically significant differences ($P > 0.05$) between inoculated variants fertilized with 20 and 60 kg N/ha on meadow, loessive and cambisol soil (1.78% of humus) in the second and third investigation year. Grain protein concentrations in inoculated plants were by 10.35 to 15.46% higher compared to grain protein concentration in non-inoculated plants.

Babiker et al. (1995) stated that soybean bacterization by various Hup⁺ strains *Bradyrhizobium japonicum* increased total protein content (by 8.9%) significantly in many years' field experiments in Oregon (USA).

Furthermore, from the achieved results it could be seen that there was significant difference in protein content of above-ground weight and grain per individual experimental year. The lowest protein content values of the above-ground portions and grain were attained in the second investigation year (1997). However, grain and dry matter yield as well as nodule dry weight of that very year were lower compared to first and third experimental year. The reasons were likely unfavourable weather conditions for bean growing that resulted in all investigated parameters.

Plant and grain protein concentrations in inoculated plants are in positive correlation with nodule dry matter weight which is in accordance with Vikman, Vessey (1993) who stated that protein percentage depends on nitrogenase activity which is in direct correlation with nodules number and activities.

Average grain phosphorus concentrations ranged from 0.665 to 0.675% with non-inoculated variants, whereas in inoculated ones they were somewhat higher and ranged from 0.679 to 0.703%.

Achieved results are in accordance with Kastoria statement (1983) who claimed that leguminose plant grain contains large portion of phosphorus (about 0.6%) which was proved by this investigation.

The highest grain potassium concentration was obtained in inoculated seed variants with fertilization of 20 kg N/ha on both soil types in 1996. In the second and third investigation year the highest potassium contents were also achieved in inoculated variants but with fertilization of 60 kg N/ha.

Average bean grain potassium concentration in non-inoculated variant (1.54%) was by 14.03% lower compared to inoculated variants (1.79%). Somewhat higher values for bean grain potassium were achieved by Bergman (1983) which ranged from 2.0 to 3.0%.

CONCLUSION

On the basis of obtained results from a three year investigation a conclusion could be drawn that nitrogen fertilization could be reduced by seed inoculation with a nodule bacteria biopreparation *R. leguminosarum* bv. *phaseoli*. At the same time values of yield elements and bean quality can be increased. This is very important in terms of economics and ecology aspect.

REFERENCES

- Babiker E. E., El-Sheikh E. A. E., Osman A. J., El-Tinay A. H. (1995): Effect of nitrogen fixation, nitrogen fertilization and viral infection on yield, tannin and protein contents and *in vitro* protein digestibility of soybean. Pl. Fds Hum. Nutr. (Dordrecht), 47: 257–263.
- Bergmann W. (1983): Ernährungsstörungen bei Kulturpflanzen. Entstehung und Diagnose. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag.
- Dobereiner J., Urguiaga S., Boddey R. M. (1995): Alternatives for nitrogen nutrition of crops in tropical agriculture, Fertil. Res., 42: 339–346.
- Drevon J. J., Kalia V. C., Heckmann M. O., Salsac L. (1986): Influence of the *Bradyrhizobium japonicum* hydrogenase on the growth of *Glycine* and *Vigna* species. Appl. Envir. Microbiol., 53: 610–612.
- El-Behidi M. A., Gad A. A., El-Savah M. H., El-Hady H. M. (1985): Effect of inoculation with *Rhizobium leguminosarum* and nitrogen fertilization on pea plants. Growth and plant chemical composition. Zöldségterm. Kut. Intéz. Bull., 18: 17–25.
- Fuhrmann J. (1990): Symbiotic effectiveness of indigenous soybean *Bradyrhizobium* related to serological, morphological, rhizobitoxine and hydrogenase phenotypes. Appl. Envir. Microbiol., 56: 224–229.
- Káralová S., Šimon T. (1993): Efficiency of commercial inoculants for soybean. Rostl. Vyr., 39: 827–834.
- Kastori R. (1983): Uloga elemenata u ishrani bilja. Novi Sad, Matica srpska.
- Lie T. A. (1974): Environmental effects on nodulation and symbiotic nitrogen fixation. The biology and nitrogen fixation. New York.
- McNiel D. L. (1982): Variation in ability of *Rhizobium japonicum* strains to nodulate soybeans, and maintain fixation in the presence of nitrate. Appl. Envir. Microbiol., 44: 647–652.
- Mikanová O., Kubát J., Vofíšek K., Randová D. (1995): The capacity of the strains *Rhizobium leguminosarum* to make phosphorus available. Rostl. Vyr., 41: 423–425.
- Nutman P. S. (1976): IBP field experiments on nitrogen fixation by nodulated legumes. Symbiotic nitrogen fixation in plants.
- Redžepović S., Strunjak R., Varga B., Heneberg R., Slamić F., Bašić F., Šeput M., Puhalo D., Dušanić B. (1985): Prvi rezultati bakterizacije soje s Hup⁺ sojem *Bradyrhizobium japonicum* u SR Hrvatskoj. Agron. Glas., (1–2): 3–11.

- Salez P., Scaglia J. A., Saint Macary H. (1992): Effect of inoculation and phosphorus on nodulation and yield of beans in Cameroon and Rwanda. *Agron. Trop.*, *46*: 203–210.
- Salisbury F. B., Ross C. W. (1991): *Plant physiology*. 4th ed. California, Belmont.
- Sangakkara R., Hartwig U. A., Nosberger J. (1996): Growth and symbiotic nitrogen fixation of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* as affected by fertiliser potassium and temperature. *J. Sci. Fd Agric.*, *70*: 315–320.
- Scherer H. W., Lange A. (1996): N-2 fixation and growth of legumes as affected by sulphur fertilization. *Biol. Fertil. Soils*, *23*: 449–453.
- Thies J. E., Singleton P. W., Bohlool B. B. (1995): Phenology, growth, and yield of field-grown soybean and bush bean as a function of varying modes of N nutrition. *Soil Biol. Biochem.*, *27*: 575–583.
- Uribe L., Acuña O., Hernandez G. (1990): Response of *Phaseolus vulgaris* cv. Negro Huasteco to inoculation with three *Rhizobium* strains under minimum cultivation conditions at three locations in Costa Rica. *Agron. Costarric.*, *14*: 201–205.
- Vargas A. A. T., Silveira J. S. M., Athayde J. T., Pacova B. E. V. (1991): Comparison of bean genotypes for nodulation capacity and yield with rhizobial inoculation and/or application of mineral N. *Revta Bras. Cieñ. Solo*, *15*: 267–272.
- Vikman P. A., Vessey J. K. (1993): Ontogenetic changes in root nodule sub populations of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Nitrogenase activity and respiration during podfilling. *J. Exp. Bot.*, *44*: 563–569.

Received on November 16, 1999

Corresponding author:

Prof. Zlata Milaković, DrSc., University of J. J. Strossmayer, Faculty of Agriculture, Trg Sv. Trojstva 3, 31 000 Osijek, Croatia, tel.: + 385 31 22 42 52, fax: + 385 31 20 70 17, e-mail: zлата.milakovic@suncokret.pfos.hr

VLIV KREVNÍHO HYDROLYZÁTU NA VÝNOS A KVALITU CHMELE

THE EFFECT OF BLOOD HYDROLYSATE ON THE YIELD AND QUALITY OF HOP

J. Šnobl

Czech University of Agriculture in Prague, Czech Republic

ABSTRACT: In Mutějovice stand, district Rakovník, the efficacy of application of blood hydrolysate (commercial name Synergin) was studied during the years 1995 to 1997 in production hop-fields on yield and quality of strobils. The blood hydrolysate made from cattle blood contained free amino acids, peptidic grafts, calcic and ammonium nitrate, and porphyrins. It was applied, diluted in 1500 to 2000 l of water, by spraying in July in one term (half July, i.e. at the onset of anthesis) and in two terms (at the end of first decade of July and at the end of July). The dose of blood hydrolysate was graded (1, 2, 3, 4, 6 l/ha). The results of the harvest in Tab. II confirmed a positive influence on yield of the strobils. The yield escalated in relation with increased dose from 1 to 6 l/ha (increment from 5.02 to 13.33%); the highest increment by split application was reached by the application of 3 l/ha (17.28%). The actual increment of the yield was influenced by the year and the weather – particularly in July and August (Tab. I). The highest efficacy was achieved during the year 1995 – the year with less favourable course of weather in second half of the growing season. According to Tab. III, the variant treated with blood hydrolysate achieved approximately the same content of alfa bitter acids in strobils as the control variant. The positive business evaluation of strobils in case of variants treated with hydrolysate was influenced mainly by better colour of strobils.

Keywords: hop; plant growth regulators; yield and quality of strobils; Synergin

ABSTRAKT: V tříletých přesných polních pokusech (1995 až 1997) byl sledován účinek krevního hydrolyzátu krve skotu na výnos a jakost hlávek chmele. Hydrolyzát byl aplikován zředěný vodou (1 : 1500 až 2000) postřikem rostlin v červenci při dávkách 1, 2, 3, 4, 6 l/ha a v kombinaci s dvěma variantami termínu aplikace – jednorázově (polovina července) a děleně (konec první dekády července a ke konci července). Výnos hlávek se při jednorázové aplikaci postupně zvyšoval až do dávky 6 l/ha (přírůstek 13,33 %), při dělené aplikaci byl největší přírůstek (17,28 %) dosažen již při dávce 3 l/ha. Obsah hořkých látek v hlávkách nebyl aplikací hydrolyzátu výrazně ovlivněn, obchodní kvalita hlávek se zlepšila.

Klíčová slova: chmel; regulátory růstu; výnos a jakost hlávek; Synergin

ÚVOD

Český chmel poskytuje hlávky velmi kvalitní, avšak v porovnání se zahraničními odrůdami jsou jeho výnosy i obsah alfa hořkých kyselin nižší. Hlavní měrou se na této skutečnosti podílí typ dosud převážně pěstovaného chmele, tj. Žatecký poloraný červeňák. Určitý vliv představují i specifické podmínky českých chmelařských oblastí, a to zejména pěstitelské oblasti Žatecko, kde je v rámci ČR pěstováno nejvíce chmele. Nižší výnosy pak významně ovlivňují i rentabilitu jeho pěstování. Byly proto ve chmelařské praxi hledány další intenzifikační faktory, zejména nadstavbového charakteru, které by mohly tuto skutečnost pozitivně ovlivnit. Mělo by jít především o opatření méně nákladná, šetrnější vůči rostlině a životnímu prostředí. Jedním ze způsobů ovlivnění výnosu a kvality u polních plodin je i používání regulátorů

růstu. Představují významný nadstavbový faktor, který se však může výrazně uplatnit až po dodržení základních pěstitelských zásahů, tj. agrotechnických, výživářských i ochranných. Možnostem využití regulátorů růstu při pěstování chmele je věnován tento příspěvek.

Regulátory růstu jsou látky velmi rozmanitého složení, působí na rostliny a jejich orgány v různém stupni růstu a vývoje, ovlivňují výnos a kvalitu produkce. Jak uvádí Kutina (1988), jejich použití je mnohostranné. V minulosti se aplikovaly převážně u polních plodin, ovoce, zeleniny a květin. U chmele byla realizována jen díleč sledování a v podstatě až zhruba před 20 lety se začaly zkoumat jejich účinky. Zprvu byly regulátory ověřovány převážně při pěstování kořenáčů v kořenáčových školkách, později při pěstování chmele v produkčních chmelnicích. Pozitivních výsledků bylo dosaženo použitím kyseliny beta-indolylmásečné a beta-indolyloctové. Rovněž apli-

kace humusového koncentrátu Humex (Kopecký, Lišťanský, 1990), resp. přípravků Atonik, Racine, Relan PGR, Noxamol (Šnobl et al., 1991) a Bioalgen S 90, Sviton, Cultar, Micro-mist 100 (Šnobl, Makovcová, 1992, 1993) měla příznivé účinky. U produkčních chmelnic lze uvést dobré výsledky s přípravky Vegaflor, MKH-18, Harmavit, Fytovit (speciální kapalná hnojiva obsahující základní živiny, stopové prvky a stimulatory růstu). Jako samostatné přípravky vykazovaly pozitivní výsledky Bioalgen S 90 (Mařátka, 1992), Micro-mist 100 (Šnobl, Rosa, 1994), Atonik (Kopecký, 1995). Ve všech případech šlo o postřik rostlin během vegetace zředěnými roztoky.

MATERIÁL A METODY

Cílem pokusu bylo ověřit účinnost regulátoru růstu – krevního hydrolyzátu (obchodní označení Synergín) na výnos a kvalitu chmelových hlávek, a to s ohledem zejména na termín a počet aplikací, resp. dávku přípravku na 1 ha. Pokusy byly založeny na chmelnicích obchodní společnosti Chmel Rosa a spol. s r. o. Mutějovice v okrese Rakovník. Stanoviště leží v řepašském výrobním typu, subtýpu pšeničném, převládají hnědé půdy. Průběh teplot a srážek ve sledovaných letech je uveden v tab. I.

Krevní hydrolyzát krve skotu je látka tmavě hnědé barvy, s obsahem sušiny 250 g/l. Obsahuje přibližně 20 % volných aminokyselin, 65 % peptidických štěpů, 10 % dusičnanu vápenatého a dusičnanu amonného, zbytek tvoří porfyriny a některé další živiny. Účinnost se projevuje především tím, že cyklické aminokyseliny (hlavně tryptofan) slouží jako prekurzory pro tvorbu rostlinných růstových hormonů (auxinů a cytokininů) pozitivně působících na růst rostlin. Stimuluje se tvorba chlorofylu a chloroplastů a dělení buněk, je podporován růst ve stresových obdobích, zvyšuje se efektivnost fyziologického aparátu, rostliny mají vyšší obranyschopnost, oddaluje se stárnutí asimilačních ploch.

Ověřování hydrolyzátu probíhalo v letech 1995 až 1997. Byl sledován jeho vliv na výnos a kvalitu hlávek. Termín aplikace byl volen tak, aby zapadal do období ochrany chmele proti chorobám a škůdcům a též do optimálního růstového a vývojového stadia chmele vhodného pro aplikaci (červenec). Hydrolyzát byl aplikován postřikem chmelovým rosičem zředěný vodou v dávkce vody odpovídající potřebě ochrany chmele v prováděném období (1500 až 2000 l/ha). Byly vzájemně porovnávány dvě varianty termínu aplikace: jedenkrát přibližně v polovině července a dvakrát na konci první dekády července a dále za 14 až 16 dnů (tj. ke konci července). Obě varianty termínu aplikace byly kombinovány s odstupňovanou dávkou hydrolyzátu (1, 2, 3, 4, 6 l/ha). Každá varianta měla velikost jednoho samostatného sloupového pole ve chmelnici (přibližně 0,40 ha), rozděleného na čtyři opakování. Pokusy probíhaly s odrůdou Zatecký poloraný červeňák. K porovnání účinnosti jednotlivých variant sloužila kontrolní varianta (pouze postřik vodou). Byly hodnoceny výnos i kvalita sklizených hlávek.

VÝSLEDKY A DISKUSE

V klimaticky odlišných letech 1995 až 1997 (tab. I) byla sledována účinnost hydrolyzátu na výnos i kvalitu chmelových hlávek. Byly vzájemně porovnávány dvě varianty termínu aplikace a odstupňovaná dávka přípravku na 1 ha. Výsledky sklizně (tab. II) prokázaly, že při jednorázové aplikaci se výnos postupně zvyšoval se zvyšující dávkou přípravku. Mnohem výhodnější však byla dělená aplikace, u níž nejvyššího přírůstku výnosu bylo dosaženo při dávkce 2 až 3 l/ha při každé aplikaci. Dělená aplikace v červenci měla větší účinek na zvýšení výnosu, kterého bylo dosaženo i při menší nebo stejné celkové dávkce přípravku na 1 ha. Ve sledovaném pokuse byl však zaznamenán i rozdíl v účinnosti přípravku mezi jednotlivými ročníky, který se projevil odlišnou výší přírůstku výnosu po aplikaci, jenž byl ovlivněn zejména

I. Průběh počasí během vegetace v pokusných letech 1995 až 1997; průměrná měsíční teplota vzduchu (°C) a měsíční úhrn srážek (mm) – The course of weather during the growing season of experimental years 1995 to 1997; average month temperature (°C) and monthly sum of precipitations (mm)

Měsíc ¹	Teplota ² (°C)			Srážky ³ (mm)				
	dlouhodobý průměr ⁴	1995	1996	1997	dlouhodobý průměr	1995	1996	1997
4.	8,4	9,9	9,1	6,0	33	41,1	22,8	22,8
5.	13,2	13,9	13,7	14,5	53	87,4	54,5	26,8
6.	16,5	16,0	17,3	15,9	55	114,5	120,3	44,8
7.	18,2	21,4	17,0	18,0	64	76,7	64,3	77,2
8.	17,9	19,0	17,6	18,9	56	58,9	118,2	39,4
Průměrná teplota ⁵ Úhrn srážek ⁶	14,8	16,0	14,9	14,7	261	378,6	373,9	211,0

¹month, ²temperature, ³precipitations, ⁴normal, ⁵average temperature, ⁶sum of precipitations

II. Výnos chmelových hlávek (kg syrového chmele z jedné rostliny, % vůči kontrole); průměr čtyř opakování – Yield of hop strobils (kg of wet hop from one plant, % towards the control variant); average of four repetitions

Varianta ¹	1995		1996		1997		Průměr ² 1995–1997	
	kg	%	kg	%	kg	%	kg	%
1 × 11	1,377	112,22	1,281	100,86	1,170	101,91	1,276	105,02
1 × 21	1,419	115,64	1,295	101,96	1,192	103,83	1,302	107,60
1 × 31	1,467	119,55	1,309	103,07	1,210	105,40	1,328	109,30
1 × 41	1,508	122,90	1,327	104,48	1,229	107,05	1,354	111,44
1 × 61	1,556	126,81	1,336	105,19	1,241	108,10	1,377	113,33
2 × 11	1,526	124,36	1,330	104,72	1,238	107,83	1,364	112,26
2 × 21	1,580	128,76	1,349	106,22	1,275	111,06	1,401	115,30
2 × 31	1,604	130,72	1,360	107,08	1,311	114,19	1,425	117,28
2 × 41	1,508	122,90	1,337	105,27	1,270	110,62	1,371	112,83
2 × 61	1,467	119,55	1,334	105,03	1,255	109,32	1,352	111,27
Kontrola ³	1,227	100,00	1,270	100,00	1,148	100,00	1,215	100,00

¹variant, ²average, ³control

průběhem počasí v červenci a srpnu (tab. I). V roce 1996 (červenec a srpen teplotně zhruba normální) bylo dosaženo maximálního přírůstku v porovnání s kontrolní variantou o 7,08 %, zatímco v roce 1995 (teplotně nadnormální červenec i srpen, červenec +3,2 °C nad dlouhodobým normálem) činil přírůstek až 30,72 %. A právě v těchto stresových stavech rostlin se vliv hydrolyzátu na zvýšení výnosu projevil účinněji než v ročních s normálním průběhem počasí. V tomto směru byly potvrzeny i poznatky většiny citovaných autorů, že účinnost stimulatorů je výrazně ovlivněna řadou faktorů

včetně průběhu počasí a může být mezi jednotlivými ročníky rozdílná. Statistické zhodnocení výsledků sklizně analýzou variance ANOVA Excel 97 potvrdilo ve všech třech letech průkazný rozdíl mezi kontrolní variantou a variantami ošetřenými hydrolyzátem. Kvalita sklizených hlávek (tab. III) byla hodnocena chemickým rozborom a obchodním posudkem. Obsah alfa hořkých kyselin se pohyboval u všech ošetřených variant přibližně na stejné úrovni a nebyl výrazně odlišný od kontrolní varianty. Neprokázal se tedy v našem sledování výrazný pozitivní vliv na zvýšení procentuálního obsahu hořkých

III. Kvalita chmelových hlávek – The quality of strobils

Varianta ¹	Obsah alfa hořkých kyselin (% hmotnosti) ²				Obchodní posouzení celkem bodů ³ (\bar{x} 1995–1997)
	1995	1996	1997	\bar{x} 1995–1997	
1 × 11	2,6	4,2	3,8	3,53	42,0
1 × 21	2,5	4,3	3,9	3,56	43,4
1 × 31	2,6	4,2	3,6	3,47	44,5
1 × 41	2,5	4,2	3,7	3,46	45,1
1 × 61	3,1	4,1	3,7	3,53	45,6
2 × 11	3,1	4,3	3,8	3,73	43,0
2 × 21	2,8	4,5	3,8	3,70	44,5
2 × 31	2,5	4,2	3,9	3,53	45,4
2 × 41	2,6	4,1	3,8	3,50	46,0
2 × 61	2,5	4,1	3,8	3,47	46,3
Kontrola ⁴	2,5	4,2	3,7	3,47	41,1

* Smyslové hodnocení vnějších znaků chmelových hlávek dle ČSN 46 2520 – Zkoušení chmele (barva, poškození škodlivými činiteli, stavba hlávky, tvar hlávky, celkový vzhled) – Sensoric evaluation of external values of hop strobils measured according to the Czech Government Norm 46 2520 – Hop testing (colour, damage by harmful factors, texture of the strobil form of strobil, visual aspect)

¹variant, ²content of alfa bitter acids (in % of the weight), ³business evaluation sum of points, ⁴control

látek v hlávkách, jak by se dalo podle některých literárních pramenů očekávat. Při obchodním hodnocení vykazovaly ošetřené varianty vyšší bodové ohodnocení než kontrolní varianta. Týkalo se to zejména znaku barva hlávek, u kterého vykazovaly hlávky lepší barvu i lesk.

LITERATURA

- Kopecký J. (1995): Aplikace přípravku Atonik. Chmelařství, (4).
- Kopecký J., Lišřanský J. (1990): Vliv přípravku Humex na růst a vývoj kořenáčů. Chmelařství, (5): 67.

- Mařátko J. (1992): Ověřování přípravku Bioalgen S-90 u chmele. Chmelařství, (7): 53.
- Kutina J. (1988): Regulátory růstu a jejich využití v zemědělství a zahradnictví. Praha, SZN.
- Šnobl J., Kounovský J., Zelenka P. (1991): Stimulátory růstu v kořenáčových školkách. Chmelařství, (3): 37.
- Šnobl J., Makovcová H. (1992, 1993): Vliv bioregulátorů růstu na kvalitu chmelových kořenáčů. [Výroční zpráva.] Praha, AF VŠZ.
- Šnobl J., Rosa Z. (1994): Bioregulátory růstu. Chmelařství, (7): 83.

Došlo 8. 3. 2000

Kontaktní adresa:

Doc. Ing. Josef Šnobl, CSc., Česká zemědělská univerzita v Praze, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika,
tel.: + 420 2 24 38 25 33, fax: + 420 2 24 38 25 35, e-mail: snobl@af.czu.cz

VPLYV VYBRANÝCH FAKTOROV NA ÚRODU A KVALITU CUKROVEJ REPY

THE EFFECT OF SELECTED FACTORS ON THE YIELD AND QUALITY OF SUGAR BEET

V. Pačuta, I. Černý, M. Karabínová

Slovak Agricultural University in Nitra, Slovak Republic

ABSTRACT: In the years 1996 to 1998 we carried out the field trial with sugar beet. The influence of weather condition, varieties (Intera, Hilma, Monriz), different fertilizing (0 – without fertilization, A – cattle manure, B – cattle manure + NPK, C – cattle manure + NPK + potassium humate, D – cattle manure + NPK + Mikrobion) and sowing spacing (157 mm, 210 mm) on the sugar beet root yield, digestion and polarised sugar yield was studied. Mikrobion (product of industrial microbiology) was applied on the stubble after preceding crop harvesting in the total rate 25 l.ha⁻¹. The NPK rate was calculated on the basis of agrochemical analysis of soil as affected on the root yield 50 t.ha⁻¹. Weather conditions of experimental years influenced highly significantly root yield, digestion and yield of polarised sugar. In the years with more favourable precipitation and temperature (1996, 1997) were reached higher values in all parameters comparing to 1998 (the year in which weather condition especially in the critical period of growth-months May, June, July was less favourable). In 1998 we found out lower root yield -7.42 t.ha⁻¹ (rel. 10.35%), digestion -1.03 °S (rel. 7.14%) and polarised sugar yield -1.28 t.ha⁻¹ (rel. 13.44%) comparing to average of years 1996 and 1997. Good adaptability of Intera variety (Slovak provenance) on the warm and temperate arid maize-growing region resulted into higher root yield comparing to Monriz variety +4.2 t.ha⁻¹ (rel. 6.05%) and to Hilma variety +9.28 t.ha⁻¹ (rel. 14.41%). The highest digestion reached Hilma variety 15.69 °S. The difference to Intera was +0.69 °S (rel. 4.6%) and to Monriz +1.03 °S (rel. 7.02%). Both differences were statistically significant. The Intera cultivar also reached the highest values in polarised sugar yield with differences +1.10 t.ha⁻¹ (rel. 11.09%) to Hilma and +1.54 t.ha⁻¹ (rel. 16.26%) to Monriz. The influence of fertilizing on all investigated parameters was statistically significant. We found out positive effect (statistically significant) of Mikrobion and potassium humate on the root yield which increased +10.27 t.ha⁻¹ (rel. 16.44%), resp. +10.01 t.ha⁻¹ (rel. 16.08%) comparing to variant without fertilizing. In both variants (with Mikrobion and potassium humate) were reached higher root yields (statistically no significant) comparing to variants with only cattle manure and cattle manure + NPK. The highest digestion was found out on the variant with only cattle manure application 15.53 °S. The differences in digestion values comparing to the others variants were statistically highly significant: A/0 +0.38 °S (rel. 2.58%), A/B +0.45 °S (rel. 2.98%), A/C +0.65 °S (rel. 2.98%), A/D +4.6 °S (rel. 4.02%). The differences in digestion between other variants were not significant. The highest polarised sugar yield was reached in variant with Mikrobion. In all fertilized variants were higher values of polarised sugar yield comparing to variant without fertilization. The effect of sowing spacing on all parameters was not statistically significant. The positive difference was found out in root yield +2.99 t.ha⁻¹ (rel. 4.42%) on sowing spacing 157 mm. The digestion and polarised sugar yield values were equal in both 157 mm and 210 mm sowing spacing.

Keywords: weather conditions; variety; fertilizing; Mikrobion; potassium humate; sowing spacing; root yield; digestion; yield of polarised sugar

ABSTRAKT: V poľných pokusoch s cukrovou repou bol v rokoch 1996 až 1998 sledovaný vplyv poveternostných podmienok, odrody, hnojenia a výsevnej vzdialenosti na úrodu buliev (\bar{U}_b), digesciu (Dg) a úrodu polarizačného cukru (\bar{U}_{pc}) cukrovej repy. Poveternostné podmienky pokusných rokov ovplyvnili vysokopreukazne \bar{U}_b , Dg, aj \bar{U}_{pc} . V roku 1998, ktorý bol z hľadiska priebehu zrážok a teplôt menej priaznivý, bola dosiahnutá nižšia priemerná \bar{U}_b o 7,42 t.ha⁻¹ (rel. 10,35 %), nižšia Dg o 1,03 °S (rel. 7,14 %) a nižšia \bar{U}_{pc} o 1,28 t.ha⁻¹ (rel. 13,44 %) v porovnaní s priemerom rokov 1996 a 1997. Zo sledovaného biologického materiálu dosiahla najvyššiu \bar{U}_b odroda Intera, pričom rozdiel oproti odrode Monriz bol +4,2 t.ha⁻¹ (rel. 6,05 %) a oproti odrode Hilma +9,28 t.ha⁻¹ (rel. 14,41 %). Najvyššiu Dg dosiahla odroda Hilma pri rozdieloch oproti odrode Intera +0,69 °S (rel. 4,6 %) a Monriz +1,03 °S (rel. 7,02 %). Najvyššie hodnoty \bar{U}_{pc} boli dosiahnuté pri odrode Intera: +1,10 t.ha⁻¹ (rel. 11,09 %) v porovnaní s odrodou Hilma a +1,54 t.ha⁻¹ (rel. 16,26 %) oproti odrode Monriz. Vplyv variantov hnojenia na všetky sledované parametre bol štatisticky preukazný. Pôdna aplikácia mikrobiologického prípravku

Mikrobionu, rovnako ako humátu draselného pozitívne ovplyvnili \dot{U}_b , aj \dot{U}_{pc} v porovnaní s nehnojším variantom. Uvedené prípravky sa však pozitívne neprejavili na hodnotách Dg. Najvyššiu hodnotu Dg sme zistili na variante s aplikáciou iba maštaľného hnoja 15,53 °S. Rozdiely oproti ostatným variantom hnojenia boli štatisticky vysokopreukazné. Vplyv výsevnej vzdialenosti (157 a 210 mm) na \dot{U}_b , Dg a \dot{U}_{pc} nebol štatisticky významný.

KLúčové slová: poveternostné podmienky; odroda; hnojenie; Mikrobion; humát draselný; výsevna vzdialenosť; úroda buliev; digescia; úroda polarizačného cukru

ÚVOD

Cukrová repa predstavuje plodinu, ktorá je schopná v podmienkach mierneho pásma na úrodných pôdach a pri dostatočne dlhej vegetačnej dobe dosahovať dobré úrody koreňa i cukru (Bajči et al., 1997; Švachula, 1999). K najvýznamnejším faktorom ovplyvňujúcim výslednú úrodu a kvalitu cukrovej repy patria poveternostné podmienky v interakcii s výživou a hnojením. Viacerí autori uvádzajú významný podiel počasia, hlavne v období kritickom pre rast a vývin, na výslednej tvorbe úrody a jej technologickej kvality (Vrkoč, 1971; Strnad, 1978; Lacko-Bartošová, Líška, 1987; Vrkoč, Suškevič, 1990; Černý, Pačuta, 1998; Pačuta et al., 1999a, b). Podľa údajov uvedených autorov môžu poveternostné podmienky pestovateľského ročníka ovplyvniť úrodu v rozsahu 15 až 40 %.

V rámci agrotechnických opatrení je v technológii pestovania cukrovej repy dôležitá správna výživa a hnojenie, ktorému je v odbornej literatúre venovaná značná pozornosť (Chochola, 1981, 1990; Zahradníček et al., 1982; Bizík, 1989; Bajči, 1990; Vrkoč, Suškevič, 1990; Pačuta et al., 1998a, b).

Riník, Šanta (1995) uvádzajú zvýšenie úrody buliev na nivnej pôde glejovej vplyvom hnojenia o 13 až 15 t.ha⁻¹. Vysoká ponuka prístupných živín v pôde však môže mať za následok výrazný pokles technologickej kvality v dôsledku zvýšeného obsahu melasotvorných zložiek, hlavne jednomocných kationov a alfa-aminodusíka, a tým aj celkovo nižšiu produkciu cukru (Chochola, 1981; Bajči, 1990; Slowinski et al., 1995; Muchová et al., 1998).

Pulkrábek (1987) sledoval vplyv stupňovaných dávok dusíka pri rôznej vzdialenosti jednotenia na technologicкую kvalitu buliev cukrovej repy. Najvýraznejší pokles kvality zistil v riedkych porastoch, čo potvrdili aj Minx, Rikanová (1987) a Minx (1990, 1992), resp. v prehnojených porastoch, pri ktorých poklesla digescia o 2,25 % a stúpol obsah alfa-aminodusíka a popola, čo sa prejavilo aj v poklese úrody bieleho cukru o 1,33 t.ha⁻¹.

V posledných rokoch sa v súvislosti s výživou a hnojením cukrovej repy stále viac uplatňujú a využívajú aj tekuté hnojivá, vyrobené na báze bioaktívnych prírodných látok, resp. rôzne preparáty a stimulatory rastu (Pulkrábek et al., 1998, 1999; Šoltysová, 1998; Hudec et al., 1999; Pačuta et al., 1999a, b; Zahradníček et al., 1999). Bioaktívne prírodné látky, napr. humáty, aplikované vo forme zálievky pred sejbou (alebo na list), podporujú činnosť pôdných mikroorganizmov, zlepšujú podmienky výživy cukrovej repy na úrovni iónových a molekulárných procesov, čím stimulujú regeneráciu rastlinných buniek,

pričom dochádza k intenzívnejšiemu rastu rastlín, čo sa v konečnom dôsledku môže pozitívne prejavovať aj na výslednej úrode a jej kvalite.

Kompletnosť porastov a rovnomerné rozmiestnenie rastlín na ploche patria k základným predpokladom dobrej úrody cukrovej repy a jej technologickej kvality (Minx, 1990, 1992). Pre pestovateľa je preto veľmi dôležité správne zvoliť výsevnu vzdialenosť v riadku v závislosti od dobre odhadnutej poľnej vzhádzavosti.

V našej práci sme spracovali výsledky nášho výskumu v spomínaných oblastiach so snahou o doplnenie informácií v odbornej a vedeckej literatúre o vplyve poveternostných podmienok, hnojenia a výsevnej vzdialenosti v riadku na úrodu buliev, digesciu a úrodu polarizačného cukru pri cukrovej repe.

MATERIÁL A METÓDY

V podmienkach poľných pokusov s cukrovou repou, uskutočnených na pokusnej báze AF SPU v Nitre, sme sledovali vplyv poveternostných podmienok, biologického materiálu, rôzneho hnojenia a výsevnej vzdialenosti na úrodu buliev (\dot{U}_b), digesciu (Dg) a úrodu polarizačného cukru (\dot{U}_{pc}). Pokus, ktorý bol založený na pôdnom type hnedozem (bez výskytu BNYVV) metódou delení dielcov (Dubovský et al., 1969) s tromi opakovaniami a veľkosťou pokusnej parcely 45,5 m² (7 × 6,5 m), bol realizovaný v rokoch 1996 až 1998. Charakteristika pokusného miesta z hľadiska poveternostných podmienok je uvedená v tab. I a z hľadiska pôdných podmienok v tab. II. V pokuse boli použité tri odrody cukrovej repy: Intera (N/C-typ, Selekt, a. s., Bučany), Hilma (N-typ, Hilleshog) a Monriz (U-typ, Selekt, a. s., Bučany, tolerantná voči rizománii); päť variantov hnojenia: variant 0 – bez hnojenia, A – len maštaľný hnoj (MH), B – MH + priemyselné hnojivá (PH), C – MH + PH + Humix univerzál (humát draselný), D – MH + PH + Mikrobion (výrobok priemyselnej mikrobiológie, ktorý podporuje tvorbu humusu v pôde a zvyšuje sorpčnú a vodnú kapacitu pôdy); dve výsevne vzdialenosti: 157 mm a 210 mm. Maštaľný hnoj bol použitý v dávke 25 t.ha⁻¹. Mikrobion bol každoročne aplikovaný na strnisko po zbere predplodiny v celkovej dávke 25 l.ha⁻¹ a Humix univerzál bol aplikovaný na jar pred sejbou vo forme zálievky v dávke 20 l.ha⁻¹. Dávka NPK bola vypočítaná na základe agrochemických rozborov pôdy na úrodu buliev 50 t.ha⁻¹. Analýzy buliev pre zistenie digescie boli urobené na rozborovacej linke Venema v Selekte VŠÚ, a. s., Bučany. Úrodu polarizačného cukru sme vypočítali zo vzťahu

I. Priebeh poveternostných podmienok – The pattern of weather conditions

Mesiac ¹	Úhm mesačných zrážok ² (mm)				Priemerné mesačné teploty ³ (°C)			
	1996	1997	1998	30ročný priemer ⁴	1996	1997	1998	30ročný priemer
4.	103,3	30,1	46,7	43,0	11,0	7,6	12,0	10,1
5.	143,0	43,5	33,1	55,0	16,4	15,9	15,3	14,8
6.	49,8	61,3	28,8	70,0	19,2	18,6	19,6	18,3
7.	69,4	117,2	64,1	64,0	18,3	19,0	21,0	19,7
8.	59,4	13,4	31,2	58,0	19,4	20,8	20,9	19,2
9.	78,1	27,9	149,6	37,0	11,9	15,3	15,1	15,4
10.	33,0	31,5	77,9	41,0	10,5	7,3	10,7	10,1
Úhm	536,0	324,9	431,4	368,0	106,7	104,5	114,6	107,6
Priemer	76,0	46,41	61,63	52,6	15,2	14,9	16,4	15,4

¹month, ²sum of monthly precipitation, ³average monthly temperatures, ⁴30-year average

II. Agrochemický rozbor pôdy (mg.kg⁻¹) – Agrochemical soil analysis (mg.kg⁻¹)

Rok ¹	N _{an}	P	K	Mg	Zn	% humusu ²	pH/KCl
1996	18,9	42	195	200	4,6	1,89	5,88
1997	12,5	86	227	270	15,0	2,10	5,54
1998	13,2	72	212	261	7,2	2,15	5,95

¹year, ²of humus

$\bar{U}_{pc} = 0,01(\bar{U}_b \cdot Dg)$. Pokus bol štatisticky vyhodnotený analýzou rozptylu a preukaznosť rozdielov v rámci faktorov bola testovaná Tukey HSD testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Úroda buliev

Dosiahnuté výsledky v úrode buliev za trojročné obdobie pokusu sú uvedené v tab. III. Zo štatistického hodnotenia (tab. VI) je zrejmy vysokopreukazný vplyv poveternostných podmienok na výslednú úrodu. Najpriaznivejšie zrážkové a teplotné podmienky pre rast a vývin cukrovej repy sme zaznamenali v roku 1996, čo sa prejavilo aj na celkove najvyššej \bar{U}_b v priemere odrôd za sledované obdobie. Rozdiel oproti roku 1997 bol +6,42 t.ha⁻¹, rel. 9,38 % a oproti roku 1998 +10,63 t.ha⁻¹, rel. 16,55 %. Celkový úhm zrážok a hlavne ich veľmi priaznivé rozloženie v roku 1996 a čiastočne aj v roku 1997, kedy v období intenzívneho rastu repy (6., 7. a 8. mesiac) spadlo 206,9 mm, resp. 191,9 mm pri relatívne nižších priemerných denných teplotách (19,1 °C, resp. 19,5 °C) oproti roku 1998, sa výrazne podieľali na konečnej \bar{U}_b . Naše výsledky sú v súlade so závermi z literatúry (Vrkoč, 1971;

Strnad, 1978; Vrkoč, Suškevič, 1990; Bajči et al., 1997; Pačuta et al., 1999a, b a i).

Zo sledovaného genetického materiálu sme zistili najvyššie \bar{U}_b pri odrode Intera, čo korešponduje aj s výsledkami získanými v predchádzajúcom období výskumu (Pačuta et al., 1999a). V priemere troch rokov bol rozdiel v úrode koreňa v porovnaní s odrodou Monriz +4,2 t.ha⁻¹, rel. 6,05 % a odrodou Hilma +9,28 t.ha⁻¹, rel. 14,41 %. Najvyššie \bar{U}_b pri odrode Intera v sledovanom období je možné zdôvodniť jej dobrou adaptabilitou na pestovateľské podmienky mierne teplej kukuričnej výrobnej oblasti. Odroda Monriz, ktorá je tolerantná voči rizománii, dosiahla v daných pôdno-klimatických podmienkach bez výskytu vírusu BNYVV v pôde v priemere troch pestovateľských rokov porovnateľnú, resp. vyššiu \bar{U}_b oproti normálnej odrode Hilma (N-typ) pri rozdiel 5,08 t.ha⁻¹, rel. 7,89 %. Pri hodnotení variability \bar{U}_b v rámci interakcie ročník x odroda sme zistili najvyššiu variabilitu pri odrode Intera pri rozdiel v úrode 20,28 t.ha⁻¹, rel. 30,67 %. Naopak, ako najvyrovnanejšia z hľadiska stability úrody sa prejavila odroda Monriz pri rozdiel v úrode 2,78 t.ha⁻¹, rel. 4,09 %.

Vplyv variantov hnojenia na \bar{U}_b bol štatisticky preukazný (tab. VI). V rámci testovania kontrastov medzi variantmi sme však preukazný rozdiel zistili iba medzi variantmi

III. Úroda buliev cukrovej repy (t.ha⁻¹) – The sugar beet root yield (t.ha⁻¹)

Odroda	Výsevová vzdialenosť ² (mm)	Roky ³	Varianty hnojenia ⁴					\bar{x}
			0	A	B	C	D	
Intera	157	1996	56,30	77,04	81,06	82,01	83,28	75,94
		1997	85,08	79,05	89,74	80,84	81,69	83,28
		1998	64,23	67,72	60,52	76,39	68,99	67,56
		\bar{x}	68,53	74,60	77,10	79,74	77,99	75,59
	210	1996	86,14	84,34	92,48	99,05	122,33	96,87
		1997	44,44	49,31	56,93	58,10	60,00	53,76
		1998	53,96	66,24	68,46	75,44	59,36	64,69
		\bar{x}	61,51	66,63	72,62	77,53	80,56	71,77
Hilma	157	1996	96,19	94,71	90,16	51,00	60,53	78,52
		1997	54,29	71,96	66,45	68,68	65,40	65,36
		1998	62,64	48,56	59,04	64,43	71,21	61,17
		\bar{x}	71,04	71,74	71,88	61,37	65,71	68,35
	210	1996	45,50	48,68	66,66	80,42	69,10	62,07
		1997	62,54	62,22	65,82	75,87	77,25	68,74
		1998	42,43	46,55	56,40	56,82	50,68	50,57
		\bar{x}	50,16	52,48	62,96	71,03	65,67	60,46
Monriz	157	1996	74,92	90,21	61,38	73,33	78,84	75,74
		1997	55,55	73,33	76,75	60,21	68,04	66,78
		1998	43,38	64,54	49,30	77,56	74,28	61,81
		\bar{x}	57,95	76,02	62,48	70,37	73,72	68,11
	210	1996	51,11	54,48	58,20	75,66	61,16	60,12
		1997	60,53	84,44	78,41	67,62	73,12	72,82
		1998	81,68	74,81	84,12	77,56	79,88	79,61
		\bar{x}	64,44	71,24	73,57	73,61	71,38	70,85
\bar{x}			62,27	68,79	70,10	72,28	72,51	

¹variety, ²sowing spacing, ³years, ⁴variants of fertilizing

0/C, resp. 0/D. Priaznivý vplyv Mikrobionu, ktorý sa podieľal na zintenzívnení procesov mineralizácie organickej hmoty v pôde, sa prejavil na zvýšení \bar{U}_0 o 10,27 t.ha⁻¹, rel. 16,44 % oproti kontrole (0). Rovnako pozitívny vplyv sme zistili pri pôdnej aplikácii humátu draselného (Humix univerzál, C-variant), ktorý pôsobí stimulačne na činnosť pôdnych mikroorganizmov a zvyšuje celkovú využiteľnosť príjmu živín z pôdy: zvýšenie úrody o 10,01 t.ha⁻¹, rel. 16,08 % v porovnaní s nehnojeným variantom (0). Porovnaním variantov s Mikrobionom (D) a humátom draselným (C) k variantu B, na ktorom bol aplikovaný maštalný hnoj a priemyselné hnojivá, sme zistili tieto prírastky na úrode v prospech variantov D, C: D/B +2,41 t.ha⁻¹, rel. 3,43 %; C/B +2,18 t.ha⁻¹, rel. 3,11 %, pričom uvedené rozdiely neboli štatisticky významné. Naše výsledky s použitím mikrobiologického preparátu Mikrobionu potvrdili závery z predchádzajúceho výskumu (Pačuta et al., 1998a, b, 1999a, b). Priaznivý vplyv obidvoch prípravkov na zvýšení \bar{U}_0 naznačil ďalšie možnosti ich využitia pri pestovaní cukrovej repy.

Vplyv vzdialenosti výsevu na \bar{U}_0 nebol štatisticky preukazný (tab. VI). Aj napriek tomu sme vyššie úrody v priemere pokusu zistili pri výseve na 157 mm v riadku. Rozdiel oproti výsevu na 210 mm bol +2,99 t.ha⁻¹, rel. 4,42 %.

Digescia

Poveternostné podmienky sa vysokopreukazne podieľali aj na formovaní digescie cukrovej repy (Vrkoč, Suškevič, 1990; Riník, Šanta, 1995; Pačuta et al., 1999a). Získané hodnoty Dg v priebehu pokusného obdobia sú uvedené v tab. IV. Vyššie hodnoty Dg sme zistili v poveternostne priaznivejších rokoch 1996 a 1997. Rozdiel medzi obidvooma rokmi bol prakticky zanedbateľný (0,08 °S). Štatisticky významné však boli rozdiely v porovnaní s rokom zrážkovo a teplotne menej priaznivým 1998: +1,07 °S, rel. 7,41 %; +0,99 °S, rel. 6,86 %. O technologickej kvalite buliev cukrovej repy

IV. Digestia cukrovej repy (°S) – Digestion of sugar beet (°S)

Variant hnojenia ¹	Rok ²									
	1996		1997		1998		\bar{x}		x odrody ⁴	
	výševná vzdialenosť ³ (mm)									
	157	210	157	210	157	210	157	210	157	210
Intera										
0	15,03	15,88	15,75	16,15	11,94	13,85	14,28	15,29	14,79	
A	15,95	16,33	16,27	16,25	14,01	14,81	15,41	15,80	15,61	
B	15,45	15,45	15,47	15,09	14,77	14,29	15,23	14,94	15,09	
C	15,74	15,43	15,06	13,83	13,37	14,39	14,72	14,55	14,64	
D	16,32	15,19	14,87	14,21	13,94	14,81	15,04	14,73	14,89	
\bar{x}	15,70	15,66	15,48	15,11	13,61	14,43	14,94	15,06	15,00	
Hilma										
0	14,94	17,32	17,79	16,34	13,44	14,32	15,39	15,99	15,69	
A	14,67	17,06	16,68	16,70	15,07	15,20	15,48	16,32	15,90	
B	16,42	16,28	16,20	14,98	15,64	14,56	16,09	15,27	15,68	
C	15,76	16,37	16,77	15,16	15,46	14,97	16,00	15,50	15,75	
D	15,66	15,86	15,87	15,71	14,89	14,60	15,46	15,39	15,43	
\bar{x}	15,49	16,58	16,66	15,78	14,90	14,73	15,68	15,69	15,69	
Monriz										
0	14,88	15,68	16,16	15,50	12,98	14,57	14,67	15,25	14,96	
A	14,52	14,07	15,68	15,01	15,45	15,66	15,22	14,92	15,07	
B	15,08	14,27	14,87	13,16	14,32	15,05	14,76	14,16	14,46	
C	14,39	14,08	14,18	14,59	13,84	14,53	14,13	14,40	14,27	
D	15,24	15,49	14,38	13,55	13,90	14,31	14,51	14,47	14,49	
\bar{x}	14,82	14,72	15,05	14,36	14,10	14,82	14,66	14,64	14,65	
\bar{x} výševnej vzdialenosti ³	15,34	15,65	15,73	15,08	14,20	14,66	15,09	15,13	15,11	

¹variant of fertilizing, ²year, ³sowing spacing, ⁴variety

rozhoduje priebeh zrážok a teplôt hlavne v druhej polovici vegetácie, resp. v mesiacoch september, október. Nadmerné množstvo zrážok v septembri 1998 (149,6 mm) a relatívne vyššia priemerná denná teplota (10,7 °C) spôsobili tzv. retrovegetáciu cukrovej repy, čo vyústilo do nižšej výslednej Dg (Bajčí et al., 1997).

Vplyv odrody na Dg bol tiež štatisticky vysokopreukazný. Zo sledovaného biologického materiálu sme najvyššie hodnoty Dg zistili pri odrode Hilma. Rozdiel oproti odrode Intera bol +0,69 °S, rel. 4,6 % a oproti odrode Monriz +1,03 °S, rel. 7,02 %. Obidva kontrasty boli vysokopreukazné. Rovnako vysokopreukazný bol aj vplyv interakcie odroda x ročník. Najvyššiu variabilitu v rámci uvedenej interakcie sme zistili pri odrode Intera 1,66 °S, rel. 11,84 %. Najnižšiu variabilitu v Dg, ale aj najnižšie hodnoty tohto ukazovateľa sme zistili pri odrode Monriz (0,31 °S, rel. 2,14 %).

Variety hnojenia ovplyvnili hodnoty Dg štatisticky vysokopreukazne (tab. VI). Pri posudzovaní kontrastov vo vnútri faktora aj napriek určitým rozdielom v Dg medzi variantmi boli štatisticky významné iba rozdiely oproti

variantu A (aplikovaný len MH), na ktorom sme v sledovanom období zistili najvyššiu hodnotu Dg: A/0 +0,38 °S, rel. 2,58 %; A/B +0,45 °S, rel. 2,98 %; A/C +0,65 °S, rel. 2,98 %; A/D +4,6 °S, rel. 4,02 %. Na variantoch s humátom draselným (C) a Mikrobiomom (D) sme zistili v podstate rovnaké hodnoty Dg. Varianty hnojenia v interakcii s ročníkom, odrodou a vzdialenosťou výševu ovplyvnili Dg štatisticky vysokopreukazne.

Rozdiel v hodnote Dg medzi sledovanými vzdialenosťami výševu bol minimálny (+0,04 °S, rel. 0,26 %) a štatisticky nepreukazný.

Úroda polarizačného cukru

Výsledky v úrode polarizačného cukru sú uvedené v tab. V a ich štatistické hodnotenie v tab. VI a VII. Vplyv poveternostných podmienok na \bar{U}_{pc} bol v sledovanom období vysokopreukazný. V rokoch zrážkovo a teplotne priaznivejších (1996, 1997) sme zistili aj vyššie hodnoty (štatisticky preukazné) tohto

V. Úroda polarizačného cukru (t.ha⁻¹) – Polarised sugar yield (t.ha⁻¹)

Variant hnojenia ¹	Rok ²								
	1996		1997		1998		\bar{x}		\bar{x} odrody ⁴
	výsevňá vzdialenosť ³ (mm)								
	157	210	157	210	157	210	157	210	
Intera									
0	8,46	13,68	13,40	7,18	7,67	7,47	9,84	9,43	9,64
A	12,29	13,77	12,84	8,02	9,49	9,81	12,04	10,53	11,29
B	12,52	14,29	13,88	8,59	8,94	9,79	11,78	10,88	11,33
C	12,91	13,09	12,18	8,03	10,22	10,86	11,75	10,66	11,21
D	13,59	16,93	12,14	8,53	9,62	8,79	11,79	11,42	11,61
\bar{x}	11,95	14,35	12,89	8,07	9,19	9,35	11,44	10,58	11,02
Hilma									
0	10,80	7,88	9,65	10,21	8,42	6,08	9,62	8,43	9,03
A	13,89	8,30	12,00	10,39	7,32	7,09	11,07	7,48	9,28
B	14,80	10,85	10,77	9,87	9,23	8,21	11,60	9,65	10,63
C	8,04	13,16	11,51	11,50	9,97	8,50	9,84	11,06	10,45
D	9,48	10,96	10,38	12,13	10,60	7,39	10,11	10,16	10,16
\bar{x}	11,40	10,23	10,86	10,82	9,11	7,45	10,46	9,36	9,91
Monriz									
0	8,86	8,91	8,98	9,40	5,63	11,90	7,82	10,07	8,95
A	9,55	10,27	11,53	12,74	9,97	11,72	10,36	11,57	10,97
B	7,66	7,19	11,41	10,31	8,76	12,66	8,24	10,05	9,15
C	5,46	7,79	8,53	9,86	10,74	12,27	7,19	9,64	8,42
D	9,00	8,89	9,79	9,92	10,33	11,43	9,70	10,08	9,89
\bar{x}	8,11	8,61	10,05	10,45	9,09	12,00	8,66	10,28	9,48
\bar{x} výsevnej vzdialenosti ³	10,49	11,06	11,27	9,78	9,13	9,60	10,19	10,07	10,13

¹variant of fertilizing, ²year, ³sowing spacing, ⁴variety

VI. Analýza rozptylu – Analysis of variance

Zdroj variability ¹	Stupne voľnosti ⁹	Sledovaný ukazovateľ ¹⁰		
		úroda buliev ¹¹	digescia ¹²	úroda polarizačného cukru ¹³
		<i>F</i> -vypočítané hodnoty ¹⁴		
Rok ²	2	9,262**	134,303**	11,331**
Odroda ³	2	5,791**	105,170**	8,473**
Hnojenie ⁴	4	2,653*	14,074**	3,864**
Výsevňá vzdialenosť ⁵	1	1,606	0,708	0,232
Opakovanie ⁶	2	0,679	0,128	0,009
Nekontrolovateľný faktor ⁷	212			
Celkom ⁸	269			

¹source of variability, ²year, ³variety, ⁴fertilizing, ⁵sowing spacing, ⁶replication, ⁷uncontrollable factor, ⁸total, ⁹degrees of freedom, ¹⁰studied parameter, ¹¹root yield, ¹²digestion, ¹³polarised sugar yield, ¹⁴*F*-calculated values

Faktor ¹	Hd (hraničná diferencia ⁶)	Úroda buliev ⁷	Digestia ⁸	Úroda polarizačného cukru ⁹
Rok ²	0,05	6,127	0,170	0,797
	0,01	7,645	0,213	0,994
Odroda ³	0,05	6,127	0,170	0,797
	0,01	7,645	0,213	0,994
Hnojenie ⁴	0,05	9,221	0,257	1,199
	0,01	11,047	0,308	1,437
Výsevová vzdialenosť ⁵	0,05	–	–	–
	0,01	–	–	–

¹factor, ²year, ³variety, ⁴fertilizing, ⁵sowing spacing, ⁶limit values, ⁷root yield, ⁸digestion, ⁹polarised sugar yield

ukazovateľa v porovnaní s rokom 1998, kedy boli podmienky pre rast a vývin cukrovej repy menej priaznivé (Bajčí et al., 1997). Pri hodnotení jednotlivých rokov boli rozdiely v \dot{U}_{pc} takéto: 1996/1998 1,44 t.ha⁻¹, rel. 15,04 %; 1997/1998 1,11 t.ha⁻¹, rel. 11,84 %.

Aj vplyv odrody na \dot{U}_{pc} bol preukazný. Najvyššie hodnoty sme zistili pri odrode Intera. Rozdiel oproti odrode Hilme bol 1,10 t.ha⁻¹, rel. 11,09 % a oproti odrode Monriz 1,54 t.ha⁻¹, rel. 16,26 %. Štatisticky vysokopreukazný vplyv na \dot{U}_{pc} mala aj vzájomná interakcia ročníka a odrody. Odroda Intera sa v sledovanom období vyznačovala najvyššou variabilitou v \dot{U}_{pc} , a to 3,88 t.ha⁻¹, rel. 41,86 % (Hilma 2,54 t.ha⁻¹, rel. 30,67 %, Monriz 2,19 t.ha⁻¹, rel. 26,20 %).

Vplyv variantov hnojenia na \dot{U}_{pc} bol celkovo vysokopreukazný. Na všetkých hnojených variantoch sme zistili vyššie hodnoty tohto ukazovateľa ako na kontrolnom nehnojenom variante. Z hnojených variantov sme najvyššiu \dot{U}_{pc} zistili na variante D, kde bol aplikovaný preparát Mikrobion: D/0 1,35 t.ha⁻¹, rel. 14,67 %, D/B 0,18 t.ha⁻¹, rel. 1,74 %, D/C 0,53 t.ha⁻¹, rel. 5,29 % (preukazný bol iba rozdiel D/0). Rovnaké tendencie sme zaznamenali aj pri hodnotení interakcie odroda × hnojenie.

Vplyv výsevnej vzdialenosti na \dot{U}_{pc} nebol štatisticky preukazný. Pri oboch vzdialenostiach sme zistili prakticky rovnaké hodnoty. Určité rozdiely boli v rámci interakcie s odrodou. Pri odrodách Intera a Hilma bola vyššia \dot{U}_{pc} pri výseve na 210 mm v riadku a pri odrode Monriz pri výseve na 157 mm.

LITERATÚRA

- Bajčí P. (1990): Vzťahy medzi obsahom minerálneho dusíka v pôde, úrodou a cukrnatosťou cukrovej repy. Rostl. Vyr., 36: 1041–1052.
- Bajčí P., Pačuta V., Černý I. (1997): Cukrová repa. I. vyd. Nitra, ÚVTIP.
- Bízík J. (1989): Podmienky optimalizácie výživy rastlín dusíkom. I. vyd. Bratislava, Veda.
- Dubovský J., Čermín L., Derco M., Hraška Š. (1969): Poľné pokusy. I. vyd. Bratislava, Príroda.
- Černý I., Pačuta V. (1998): Analýza vplyvu a podielu niektorých pestovateľských faktorov na úrodu cukrovej repy. Listy cukrov. řepář., 114: 112–115.
- Hudec J., Bystrická J., Musilová J. (1999): Synergický efekt kvapalného hnojiva s morforegulačnými účinkami Avit 35 na úrodu repy cukrovej. In: Zbor. 3. Ved. Celoslov. Repár. Konf. Agrotár, Nitra: 209–210.
- Chochoła J. (1981): Vliv stupňovaného hnojení dusíkem na výnos a jakost cukrovky. Rostl. Vyr., 27: 693–706.
- Chochoła J. (1990): Vliv termínu a způsobu aplikace dusíku na výnos a jakost cukrovky. Rostl. Vyr., 36: 1061–1067.
- Lacko-Bartošová M., Liška E. (1987): Termodynamické podmienky pestovania cukrovej repy vo vybraných okresoch Západoslóvenského kraja. Rostl. Vyr., 33: 1001–1008.
- Minx L. (1990): Vliv organizace porostu na jakost cukrovky. Listy cukrov. řepář., 106: 13–15.
- Minx L. (1992): Výnosové využití vzdálenosti v řádku rostlinami cukrovky. Rostl. Vyr., 38: 511–515.
- Minx L., Rikanová J. (1987): Deprese výnosu cukrovky podmíněné mezerovitostí porostu vysévaných v různé době. Rostl. Vyr., 33: 959–964.
- Muchová Z., Frančáková H., Slamka P. (1998): Vplyv obrábania pôdy a hnojenia na kvalitu cukrovej repy. Rostl. Vyr., 44: 167–172.
- Pačuta V., Černý I., Karabínová M. (1999a): Stosowanie nawozów nalistnych na bazie substancji organicznych na burak cukrowy (*Beta vulgaris* provar. *altissima* Doell). In: Środowiskowe i agrotechniczne uwarunkowania jakości plodów rolnych, Fund. Rozw. Warszawa, SGGW: 194–197.
- Pačuta V., Černý I., Poláček M. (1998a): Pestovanie poľných plodín. I. vyd. Nitra, ÚVTIP.
- Pačuta V., Karabínová M., Černý I. (1998b): Vplyv poveternostných podmienok a antropogénnych faktorov na vybrané ukazovatele kvality cukrovej repy. In: Zbor. Konf. Řepářství, Praha, ČZU: 133–138.

- Pačuta V., Karabínová M., Černý I. (1999b): Kvantita a kvalita úrody cukrovej repy vo vzťahu k vybraným pestovateľským faktorom. *Rostl. Výr.*, 45: 61–67.
- Pulkrábek J. (1987): Vliv hustoty porostu a dávky dusíku na jakost sklizně cukrovky. *Rostl. Výr.*, 33: 937–948.
- Pulkrábek J., Novák D., Šroller J. (1998): Influence of foliar application by means of active matters on sugar beet and its technological quality. In: *ESA Short Commun. Vol. I, Nitra*: 253–254.
- Pulkrábek J., Šroller J., Jozefyová L., Novák D. (1999): Wpływ regulatorów wzrostu na tworzenie plonu buraka cukrowego. In: *Šrodowiskowe i agrotechiczne uwarunkowania jakości plodów rolnych, Fund. Rozw. Warszawa, SGGW*: 198–205.
- Riník E., Šanta I. (1995): Zmeny produkčných a kvalitatívnych parametrov cukrovej repy vplyvom foriem a dávok hnojív. *Rostl. Výr.*, 41: 129–133.
- Slowinski H., Prošba-Bialczyk U., Pytlarz-Kozicka M. (1995): Wpływ nawożenia na plon buraka cukrowego. *Zesz. Nauk. Akad. Roln. Wrocław, LXIII*: 45–54.
- Strnad P. (1978): Vztah hydrotermického koeficientu k výnosu a kvalitě cukrovky. *Rostl. Výr.*, 24: 931–937.
- Šoltysová B. (1998): Vplyv aplikácie biologicky aktívnych látok na efektívnosť pestovania cukrovej repy. In: *Zbor. Ved. Prác, Michalovce, OVÚA*: 101–111.
- Švachula V. (1999): Zmírňování nepříznivých vlivů počasí na produkci cukrovky. *Listy cukrov. řepař.*, 115: 46–47.
- Vrkoč F. (1971): Příspěvek ke studiu tvorby výnosu cukrovky ve vztahu k průběhu počasí. *Listy cukrov. řepař.*, 87: 28–32.
- Vrkoč F., Suškevič M. (1990): Podíl některých regulovatelných a neregulovatelných faktorů na výnosu cukrovky. *Rostl. Výr.*, 36: 1019–1024.
- Zahradníček J., Ondráček M., Jarý J., Staněk J., Heřmánková V. (1982): Topografie a technologická jakost cukrovky pod vlivem diferencované dávky dusíku. *Listy cukrov. řepař.*, 98: 62–65.
- Zahradníček J., Pokorná A., Pulkrábek J., Šroller J., Švachula V. (1999): Vliv biostimulátoru Synergin na cukrovku. *Listy cukrov. řepař.*, 115: 165–166.

Došlo 23. 12. 1999

Kontaktná adresa:

Doc. Ing. Vladimír Pačuta, CSc., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, tel.: + 421 87 51 17 51, fax: + 421 87 41 14 51, e-mail: pacuta@afnet.uniag.sk

MONOLAYER MOISTURE CONTENT OF SOME LEGUME SEEDS

OBSAH OBALOVÉ MONOVRSTVY VODY U SEMEN VYBRANÝCH LEGUMINÓZ

N. D. Menkov

Higher Institute of Food and Flavour Industries, Plovdiv, Bulgaria

ABSTRACT: The equilibrium moisture contents (dry weight basis) in legume seeds (common bean, broad bean, lentil, chickpea and vetch) were determined using the gravimetric static method at 5, 20, 40 and 60 °C over a range of relative humidities from 0.110 to 0.450. The monolayer moisture content (MMC) of the seeds is obtained by the BET (Brunauer-Emmett-Teller) and modified BET model. The MMC decreased with the increase in temperature. The modified BET model includes the effect of temperature. The seeds have a monolayer moisture content when stored at relative humidity from 0.160 to 0.235 regardless of the temperature.

Keywords: BET model; equilibrium moisture content; temperature

ABSTRAKT: U semen leguminóz (fazolu, čočky, cizrny a vikve) byl rovnovážný obsah vody (vztažený na sušinu) stanoven pomocí gravimetrické statické metody při 5, 20, 40, 60 °C v rozsahu relativních vlhkostí od 0,110 do 0,450. Obsah obalové monovrstvy vody (MMC) semen byl stanoven pomocí BET (Brunauer-Emmett-Teller) a modifikovaného BET modelu. Obsah obalové monovrstvy vody se snižoval se zvyšující se teplotou. Upravený BET model zahrnuje vliv teploty. Jestliže byla semena skladována při relativních vlhkostech od 0,160 do 0,235, klesl v nich obsah vody právě na hodnotu odpovídající obalové monovrstvě vody nezávislé na teplotě.

Klíčová slova: BET model; rovnovážný obsah vody; teplota

INTRODUCTION

The legumes are a valuable foodstuff and forage due to their high content of plant protein with essential amino acids (Aydogdu, Acikgöz, 1995; Clemente et al., 1998; Jood et al., 1998; Rincon et al., 1998; Casañas et al., 1999; Kmiecik et al., 1999; Lisiewska et al., 1999). The legume seeds meant for food or sowing are a product which is subjected to long-term storage. During that time, important physicochemical and biological changes take place with a strong impact on the nutrient properties. To a large extent, these changes depend on the moisture content of the seeds (Burr et al., 1968; Moscoso et al., 1984; Garcia-Vela, Stanley, 1989; Hentges et al., 1991). The storage conditions of the legume seeds have a substantial influence on their germination and longevity (Roberts, 1972; Ellis et al., 1988; Ellis et al., 1990; Vertucci et al., 1994).

The value of the monolayer moisture content (MMC) is critical to a number of processes which directly affect the stability of the dehydrated biological products (Karel, Yong, 1981). The water in the monolayer is tightly bound to the hard skeleton (Vertucci, Leopold, 1987), it is inaccessible for reactions and a considerable amount of additional energy is needed for its release (Labuza et al., 1970). It can be determined from the

equilibrium sorption isotherms by means of the two-parameter BET (Brunauer-Emmett-Teller) equation (Brunauer et al., 1938), valid for relative humidity $Rh < 0.5$ (Labuza et al., 1970):

$$\text{BET } M = \frac{M_m C(Rh)}{[1 - (Rh)][(1 - (Rh) + C(Rh))]} \quad (1)$$

where: M is the equilibrium moisture content (% dry basis, d.b.), M_m is the MMC (% d.b.), Rh is the relative humidity (decimal), C is constant. The M_m values diminish with the increase in temperature (Iglesias, Chirife, 1976; Iglesias, Chirife, 1984). Menkov et al. (1999) have established for a large number of biological products that the dependence between M_m and temperature is well described by a linear equation. In other words, the BET model can be transformed to:

$$\text{Modified BET } M = \frac{(A + Bt)C(Rh)}{[1 - (Rh)][(1 - (Rh) + C(Rh))]} \quad (2)$$

$$M_m = A + Bt \quad (3)$$

where: t is the temperature (°C), A and B are coefficients independent on temperature.

The object of the present study is the obtaining and comparison of the monolayer moisture contents of legume seeds by BET and modified BET equations at several temperatures.

MATERIAL AND METHODS

Material

The common bean (*Phaseolus vulgaris* L.), broad bean (*Vicia faba* L.), lentil (*Lens culinaris* L.), chickpea (*Cicer arietinum* L.) and vetch (*Vicia sativa* L.) seeds (provided by the Agricultural University, Plovdiv, Bulgaria and Institute for Plant Genetic Resources, Sadovo, Bulgaria, 1998) were tested. The seeds had been gathered six months in advance. After harvest they were sundried to approximately 10% d.b. and kept in a dry place ($Rh < 0.55$) at room temperature. For the adsorption process, seeds were dehydrated in a desiccator with P_2O_5 at room temperature 20 days prior to the beginning of the experiment (initial moisture content $< 1\%$ d.b.). Desorption equilibrium moisture content was determined on samples hydrated in a glass jar over distilled water at 4 °C to approximately 30% d.b.

Procedure

The equilibrium moisture content (EMC) of the legume seeds was determined at 5, 20, 40 and 60 °C. The static gravimetric method was applied (Spiess, Wolf, 1987). Samples were weighed in weighing bottles. The weighing bottles were then put in hygrostats with four saturated salt solutions ($LiCl$, CH_3COOK , $MgCl_2$, K_2CO_3), used to obtain constant Rh environments (Greenspan, 1977). The hygrostats were kept in thermostats at 5, 20, 40 and 60 ± 0.2 °C. Samples were weighed (balance, sensitivity ± 0.1 mg) every three days. Equilibrium was acknowledged when three consecutive measurements showed a difference less than 1 mg. The moisture content of each sample was determined by the vacuum oven method (AOAC, 1990) by means of triplicate measurements.

Analysis of data

The MMC values of the seeds were calculated by the BET and modified BET equations:

- For each temperature from equation 1, following standard procedure described previously (Iglesias, Chirife, 1976; Menkov et al., 1999).
- From equations 2 and 3. The coefficients of equation 2 were determined using a nonlinear, least squares regression program on the basis of experimental data (all replications).

RESULTS AND DISCUSSION

The obtained mean EMC values (M) and the standard deviations (sd) based on the triplicate measurements for the respective Rh and temperature are presented in Tabs. I to V. The EMC values decreased with an increase in the temperature at constant Rh . Similar trends for many seeds and food materials have been reported in the literature (Labuza, 1968; Menkov, 1997; Walters, Hill, 1998). The hysteresis effect was distinctly expressed at lower temperatures. At 60 °C the difference between the experimental data obtained after adsorption and desorption are not statistically significant (level of significant $P \leq 0.05$) for the most experimental points. The one-way analysis of variance showed that the statistical hypothesis $H_0: M_1 = M_2 = M_3 = M_4 = M_5$ should be rejected for the most Rh and temperatures ($P \leq 0.05$, degrees of freedom $m_1 = 4$, $m_2 = 10$). Nevertheless, the EMC values of the investigated legume seeds are similar.

The coefficients of equations 2 and 3 are presented in Tab. VI for adsorption and in Tab. VII for desorption. The MMC values obtained by equation 1 and by equations 2 and 3 at different temperatures are shown and compared in Fig. 1. The MMC decreased with an increase in temperature from $\sim 8\%$ d.b. to $\sim 4\%$ d.b. There is

I. Equilibrium moisture content (M , % d.b.) obtained by adsorption (a) and desorption (d) at different relative humidities (Rh as decimal) and temperatures for common bean seeds

Process	5 °C			20 °C			40 °C			60 °C		
	Rh	M^*	sd^{**}	Rh	M	sd	Rh	M	sd	Rh	M	sd
a	0.113	4.92	0.09	0.113	4.47	0.07	0.112	3.04	0.05	0.110	2.92	0.12
d		5.34	0.16		4.95	0.19		3.78	0.14		3.00	0.10
a	0.245	7.50	0.18	0.231	6.96	0.04	0.201	4.66	0.10	0.160	3.35	0.08
d		8.61	0.14		7.26	0.09		5.58	0.13		3.73	0.12
a	0.336	9.25	0.13	0.331	8.36	0.15	0.316	5.42	0.08	0.293	4.73	0.16
d		9.46	0.09		8.81	0.11		6.75	0.13		5.09	0.10
a	0.431	10.33	0.04	0.432	9.30	0.11	0.432	7.75	0.13	0.432	6.35	0.13
d		10.66	0.17		9.83	0.11		8.81	0.12		6.36	0.11

* mean of $n = 3$ replications

** standard deviations based of $n = 3$ replications

II. Equilibrium moisture content (M , % d.b.) obtained by adsorption (a) and desorption (d) at different relative humidities (Rh as decimal) and temperatures for broad bean seeds

Process	5 °C			20 °C			40 °C			60 °C		
	Rh	M^*	sd^{**}	Rh	M	sd	Rh	M	sd	Rh	M	sd
a	0.113	4.26	0.20	0.113	3.72	0.15	0.112	2.59	0.12	0.110	2.13	0.09
d		6.20	0.07		4.72	0.16		3.07	0.13		2.51	0.04
a	0.245	7.24	0.07	0.231	6.63	0.05	0.201	4.63	0.14	0.160	2.89	0.05
d		8.24	0.08		6.58	0.10		4.82	0.18		3.03	0.09
a	0.336	8.77	0.15	0.331	7.62	0.10	0.316	5.93	0.06	0.293	4.15	0.10
d		8.57	0.06		8.53	0.11		6.80	0.08		4.29	0.14
a	0.431	10.60	0.10	0.432	9.05	0.03	0.432	7.13	0.17	0.432	5.74	0.01
d		10.46	0.04		9.17	0.08		7.96	0.10		5.74	0.09

* mean of $n = 3$ replications

** standard deviations based of $n = 3$ replications

III. Equilibrium moisture content (M , % d.b.) obtained by adsorption (a) and desorption (d) at different relative humidities (Rh as decimal) and temperatures for lentil seeds

Process	5 °C			20 °C			40 °C			60 °C		
	Rh	M^*	sd^{**}	Rh	M	sd	Rh	M	sd	Rh	M	sd
a	0.113	6.36	0.11	0.113	4.61	0.10	0.112	3.39	0.02	0.110	3.10	0.08
d		7.58	0.03		5.73	0.05		4.30	0.05		3.80	0.08
a	0.245	8.30	0.18	0.231	5.93	0.16	0.201	5.07	0.10	0.160	4.36	0.12
d		10.20	0.12		8.05	0.06		6.10	0.17		4.86	0.10
a	0.336	8.86	0.05	0.331	8.04	0.20	0.316	6.45	0.16	0.293	5.95	0.25
d		11.29	0.08		9.62	0.07		8.10	0.22		5.84	0.14
a	0.431	10.64	0.04	0.432	9.15	0.22	0.432	7.79	0.14	0.432	7.13	0.06
d		13.24	0.15		11.83	0.08		9.58	0.04		7.24	0.10

* mean of $n = 3$ replications

** standard deviations based of $n = 3$ replications

IV. Equilibrium moisture content (M , % d.b.) obtained by adsorption (a) and desorption (d) at different relative humidities (Rh as decimal) and temperatures for chickpea seeds

Process	5 °C			20 °C			40 °C			60 °C		
	Rh	M^*	sd^{**}	Rh	M	sd	Rh	M	sd	Rh	M	sd
a	0.113	4.94	0.12	0.113	4.58	0.07	0.112	3.27	0.11	0.110	3.08	0.10
d		6.58	0.11		4.40	0.06		3.71	0.08		3.25	0.17
a	0.245	7.20	0.14	0.231	6.67	0.05	0.201	4.99	0.08	0.160	4.13	0.03
d		8.73	0.14		7.26	0.09		5.72	0.19		4.18	0.06
a	0.336	8.16	0.18	0.331	7.62	0.06	0.316	5.57	0.05	0.293	5.37	0.10
d		9.63	0.11		9.05	0.21		6.74	0.14		5.19	0.17
a	0.431	9.22	0.08	0.432	8.88	0.14	0.432	7.48	0.19	0.432	6.84	0.06
d		10.66	0.12		10.12	0.12		8.53	0.10		6.64	0.18

* mean of $n = 3$ replications

** standard deviations based of $n = 3$ replications

V. Equilibrium moisture content (M , % d.b.) obtained by adsorption (a) and desorption (d) at different relative humidities (Rh as decimal) and temperatures for vetch seeds

Process	5 °C			20 °C			40 °C			60 °C		
	Rh	M^*	sd^{**}	Rh	M	sd	Rh	M	sd	Rh	M	sd
a	0.113	5.23	0.06	0.113	4.82	0.10	0.112	4.12	0.08	0.110	3.56	0.05
d		6.52	0.09		5.50	0.14		4.48	0.16		3.66	0.06
a	0.245	7.74	0.22	0.231	7.55	0.11	0.201	5.51	0.13	0.160	4.62	0.10
d		9.75	0.07		8.00	0.20		6.44	0.13		4.72	0.18
a	0.336	9.24	0.17	0.331	8.79	0.19	0.316	7.66	0.18	0.293	5.79	0.08
d		10.80	0.18		9.83	0.13		7.76	0.21		6.04	0.20
a	0.431	10.64	0.08	0.432	10.25	0.21	0.432	8.39	0.24	0.432	7.29	0.24
d		12.16	0.16		11.07	0.12		9.77	0.02		7.75	0.07

* mean of $n = 3$ replications

** standard deviations based of $n = 3$ replications

also a hysteresis effect with respect to the MMC (exception for broad bean and common bean). It can be seen from the Fig. 1 that in the most cases the equations 2 and 3 provides a very good description of the MMC values obtained by standard procedure.

The relative humidity of the air at which the monolayer moisture content was obtained was determined by the equation 2 after putting $M = M_m = A + Bt$ (Iglesias, Chirife, 1976):

$$(Rh)_m = \frac{\sqrt{C} - 1}{C - 1} \quad (4)$$

Since the coefficient C is independent on temperature, the seeds stored at $(Rh)_m$ should have a moisture content equal to the monolayer one over the whole interval under study. The $(Rh)_m$ values are presented in Tabs. VI and VII. Despite the hysteresis effect, the $(Rh)_m$

values obtained are close. The seeds have a monolayer moisture content when stored at relative air humidity from 0.160 to 0.235 regardless of the temperature.

CONCLUSIONS

The sorption capacity and monolayer moisture content of legume seeds decreased with an increase in temperature.

The modified BET model is suitable for describing the relationship between the monolayer moisture content and temperature for the seeds under study.

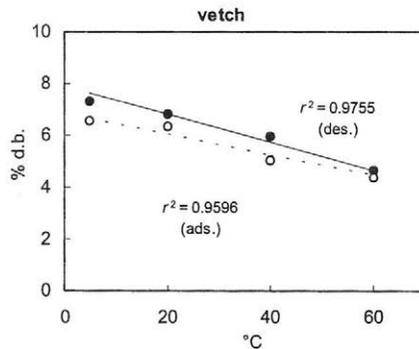
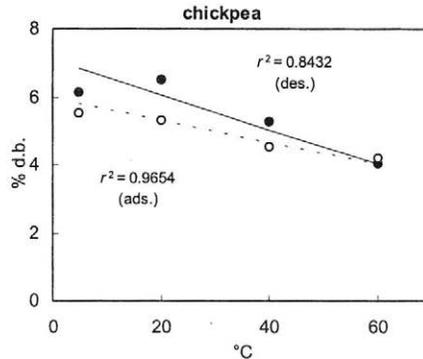
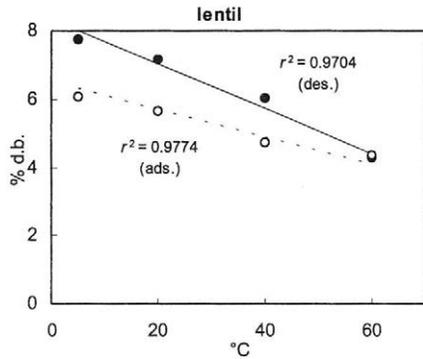
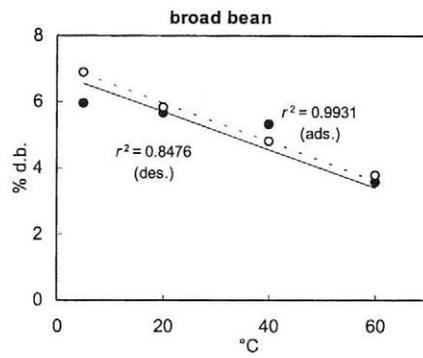
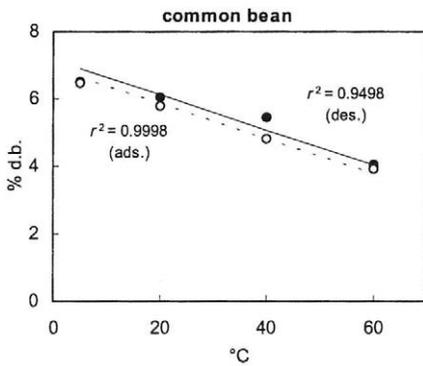
The legume seeds have a monolayer moisture content when stored at $0.160 < Rh < 0.235$ regardless of the temperature.

Coefficient	Common bean	Broad bean	Lentil	Chickpea	Vetch
A	6.88738	7.12110	6.51866	5.95890	6.84745
B	-0.0515	-0.0583	-0.0402	-0.0322	-0.0397
C	15.67036	10.57589	25.16693	23.13263	21.18896
$(Rh)_m$	0.202	0.235	0.166	0.172	0.178

VI. Estimated values of coefficients (A , B , C) of modified BET model and monolayer relative humidity $(Rh)_m$ for adsorption

Coefficient	Common bean	Broad bean	Lentil	Chickpea	Vetch
A	7.13298	6.82158	8.335770	7.106501	7.913220
B	-0.0513	-0.0568	-0.0654	-0.0514	-0.0542
C	20.03869	24.34612	27.72288	25.66617	24.12337
$(Rh)_m$	0.183	0.169	0.160	0.165	0.169

VII. Estimated values of coefficients (A , B , C) of modified BET model and monolayer relative humidity $(Rh)_m$ for desorption



- ads. eqn. 1
- ads. eqn. 2 and 3
- des. eqn. 1
- - - des. eqn. 2 and 3

1. Monolayer moisture content of some legume seeds obtained by equation 1 and equations 2 and 3

Acknowledgments

This study was conducted with the kind support of the National Research Fund – Bulgaria.

REFERENCES

AOAC (1990): Official method of analysis of the association of official analytical chemists. 15th ed. AOAS, Washington, CD.

Aydogdu L., Acikgöz E. (1995): Effect of seedling rate on seed and hay yield in common vetch (*Vicia sativa* L.). *J. Agron. Crop Sci.*, 174: 181–187.

Brunauer S., Emmett P. H., Teller E. (1938): Adsorption of gases in multimolecular layers. *J. Amer. Chem. Soc.*, 60: 309–319.

Burr K. H., Kon S., Morris H. J. (1968): Cooking rates of dry beans as influenced by moisture content and temperature and time of storage. *Fd Technol.*, 22: 336–338.

Casañas F., Bosch L., Pujola M., Sanches E., Sorribas X., Baldi M., Nuez F. (1999): Characteristics of a common bean

- landrace (*Phaseolus vulgaris* L.) of great culinary value and selection of a commercial inbred line. *J. Sci. Fd Agric.*, 79: 693–698.
- Clemente A., Sanchez-Vioque R., Vioque J., Bautista J., Millan F. (1998): Effect of cooking on protein quality of chickpea (*Cicer arietinum*) seeds. *Fd Chem.*, 62: 1–6.
- Ellis R. H., Agrawal P. K., Roos E. E. (1988): Harvesting and storage factors that affect seed quality in pea, lentil, faba bean and chickpea. In: Summerfield R. J. (ed.): *World crops: Cool season food legumes*. Boston, Kluwer Acad. Publ.: 303–329.
- Ellis R. H., Hong T. D., Roberts E. H., Tao K. L. (1990): Low moisture content limits to relations between seed longevity and moisture. *Ann. Bot.*, 65: 493–504.
- Garcia-Vela L. A., Stanley D. W. (1989): Protein denaturation and starch gelatinization in hard-to-cook beans. *J. Fd Sci.*, 54: 1284–1292.
- Greenspan L. (1977): Humidity fixed point of binary saturated aqueous solutions. *J. Res. Nat. Bur. Stand. A. Phys. Chem.*, 81A: 89–96.
- Hentges D., Weaver C. M., Nielsen S. S. (1991): Changes of selected physical and chemical components in development of the hard-to-cook bean defect. *J. Fd Sci.*, 56: 436–442.
- Iglesias H. A., Chirife J. (1976): B.E.T. Monolayer values in dehydrated foods and food components. *Lebensm.-Wiss. Technol.*, 9: 107–113.
- Iglesias H. A., Chirife J. (1984): Correlation of BET monolayer moisture content in foods with temperature. *J. Fd Technol.*, 19: 503–506.
- Jood S., Bichnoi S., Sharma A. (1998): Chemical analysis and physico-chemical properties of chickpea and lentil cultivars. *Nahrung*, 42: 71–74.
- Karel M., Yong S. (1981): Autoxidation-initiated reactions in foods. In: Rockland L. B., Stewart G. F. (eds.): *Water activity: influences on food quality*. London, Acad. Press: 511–529.
- Kmiecik W., Lisiewska Z., Gebczynski P. (1999): Content of amino acids in fresh and frozen and cooked broad bean seeds (*Vicia faba* var. *maior*) depending on cultivar and degree of maturity. *J. Sci. Fd Agric.*, 79: 555–560.
- Labuza T. P. (1968): Sorption phenomena in foods. *Fd Technol.*, 22: 263–272.
- Labuza T. P., Tannenbaum S. R., Karel M. (1970): Water content and stability of low-moisture and intermediate-moisture foods. *Fd Technol.*, 24: 543–549.
- Lisiewska Z., Kmiecik W., Gebczynski P. (1999): Effect of cultivar and seed maturity on amino acid content in fresh and canned broad bean (*Vicia faba* var. *maior*). *Nahrung*, 43: 95–99.
- Menkov N. D. (1997): Einfluss der Temperatur auf die Gleichgewichtsfeuchte bei konstanter relativer Luftfeuchte. *Nahrung*, 41: 349–351.
- Menkov N. D., Paskalev H. M., Galyazkov D. I., Kerezieva-Rakova M. (1999): Applying the linear equation of correlation of Brunauer-Emmett-Teller (BET)-monolayer moisture content with temperature. *Nahrung*, 43: 118–121.
- Moscoso W., Bourne M. C., Hood L. F. (1984): Relationships between the hard-to-cook phenomenon in red kidney beans and water absorption, puncture force, pectin, phytic acid and minerals. *J. Fd Sci.*, 49: 1577–1583.
- Rincon F., Martinez B., Ibanez M. V. (1998): Proximate composition and antinutritive substances in chickpea (*Cicer arietinum* L.) as affected by the biotype factor. *J. Sci. Fd Agric.*, 78: 382–388.
- Roberts E. H. (1972): Storage environment and the control of viability. In: Roberts E. H. (ed.): *Viability of seeds*. London, Chapman and Hall: 14–58.
- Spieß W. E. L., Wolf W. (1987): Critical evaluation of methods to determine moisture sorption isotherms. In: Rockland L. B., Beuchat L. R. (eds.): *Water activity: Theory and applications to food*. New York, Marcel Dekker: 215–233.
- Vertucci C. W., Leopold A. C. (1987): Water binding in legume seeds. *Pl. Physiol.*, 85: 224–231.
- Vertucci C. W., Roos E. E., Crane J. (1994): Theoretical basis of protocols for seed storage III. Optimum moisture contents for pea seeds stored at different temperatures. *Ann. Bot.*, 74: 531–540.
- Walters C., Hill L. M. (1998): Water sorption isotherms of seeds from ultra dry experiments. *Seed Sci. Res.*, 8: 69–73.

Received on September 20, 1999

Corresponding author:

Dr. Nikolay Menkov, Higher Institute of Food and Flavour Industries, 26, Maritza Blv., BG-4000 Plovdiv, Bulgaria, e-mail: nimenkov@hiffi-plovdiv.acad.bg

POKYNY PRO AUTORY

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

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

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

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

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

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

Název práce (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů. Jsou vyloučeny podtitulové články.

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

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

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

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

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

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

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

Literatura by měla sestávat hlavně z lektorovaných periodik. Citace se řadí abecedně podle jména prvních autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSC, číslem telefonu a faxu, popř. e-mail.

Rukopis nebudou redakci přijímat k evidenci, nebudou-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

Fargašová A.:	
Trace metal interactions expressed through photosynthetic pigment contents in <i>Sinapis alba</i> seedlings	
Interakcie stopových kovov vyjadrené pomocou obsahu fotosyntetických pigmentov v semenáčkách <i>Sinapis alba</i>	337
Pavlík M., Váňová M., Laudová V., Harmatha J.:	
Digitonin jako modelový biologicky aktivní saponin vytvářející specifické vlastnosti u <i>Digitalis</i> sp. v testech <i>in vitro</i>	
Digitonin as a model biologically active saponin forming specific quality of <i>Digitalis</i> sp. in bioassays <i>in vitro</i>	343
Podlešáková E., Němeček J., Vácha R.:	
Zatížení zemědělských půd polychlorovanými dibenzo-p-dioxiny a dibenzofurany	
Contamination of agriculturally used soils with polychlorinated dibenzo-p-dioxines and dibenzofurans	349
Čumakov A., Hrnčiarová K.:	
Extrakcia výmenného draslíka z montmorillonitu	
Extraction of exchangeable potassium from montmorillonite	355
Milaković Z., Brkić S., Bukvić Ž., Bogut I., Horvat D.:	
Efficiency of inoculation and different nitrogen fertilization on small-grained bean quality and yield	
Účinnost inokulace a dusíkatého hnojení na kvalitu a výnos drobnozrného bobu	361
Šnobl J.:	
Vliv krevního hydrolyzátu na výnos a kvalitu chmele	
The effect of blood hydrolysate on the yield and quality of hop	367
Pačuta V., Černý I., Karabínová M.:	
Vplyv vybraných faktorov na úrodu a kvalitu cukrovej repy	
The effect of selected factors on the yield and quality of sugar beet	371
Menkov N. D.:	
Monolayer moisture content of some legume seeds	
Obsah obalové monovrstvy vody u semen vybraných leguminóz	379
RECENZE – REVIEW	
Gáborčík N.:	
A. Hopkins (ed.): Grass – its production and utilization (Trávy – ich produkcia a využitie)	360