

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

ZAHRADNICTVÍ

HORTICULTURAL SCIENCE



4

ROČNÍK 20 (XXIII)
PRAHA 1993
CS ISSN 0862-867X

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADÉMIA PÔDOHOSPODÁRSKYCH VIED

0862-867X

ZAHRADNICTVÍ

HORTICULTURAL SCIENCE

VOLUME 20 (1993)

The journal is for scientific, pedagogic and technical workers in horticulture. The published original scientific papers cover all these sectors of horticulture: fruit-growing, vegetable-growing, wine-making and vine-growing, growing of medicinal and aromatic herbs, floriculture, ornamental gardening, garden and landscape architecture. The subjects of articles include both basic disciplines - genetics, physiology, biochemistry, phytopathology, and related practical disciplines - plant breeding, seed production, plant nutrition, technology, plant protection, post-harvest processing of agricultural products and economics. The journal is excerpted in Horticulturae Abstracts.

Editorial Board - Redakční rada

Chairman - Předseda

Doc. Eva Pekárková-Troníčková, CSc. - Vegetable growing

Members - členové

Ing. Jan Blažek, CSc. - Fruit growing

Ing. Michal Duda, CSc. - Vegetable growing

Ing. Eva Dušková, CSc. - Phytopathology

Prof. ing. Jan Goliáš, CSc. - Post-harvest Processing

Prof. ing. Karel Kopec, DrSc. - Post-harvest Processing

Prof. ing. František Kobza, CSc. - Floriculture

Prof. ing. Jiří Mareček, CSc. - Garden Architecture

Ing. Dušan Papánek, CSc. - Floriculture

Ing. Jaroslav Rod, CSc. - Phytopathology

Ing. Irena Spitzová, CSc. - Medicinal Herbs

Doc. ing. Zdeněk Vachůn, DrSc. - Fruit growing

Ing. Anton Valachovič, CSc. - Viticulture

Editor-in-Chief - Vedoucí redaktorka

Ing. Zdeňka R a d o š o v á

OBSAH TOMATINU VE VYBRANÝCH ODRŮDÁCH RAJČAT

P. Kalač jr., M. Voldřich, J. Dobiáš

KALÁČ, P. jr. - VOLDŘICH, M. - DOBIÁŠ, J. (Ústav konzervace potravin a technologie masa, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha): *Obsah tomatinu ve vybraných odrůdách rajčat*. Zahradnictví, 20, 1993 (4): 193-199.

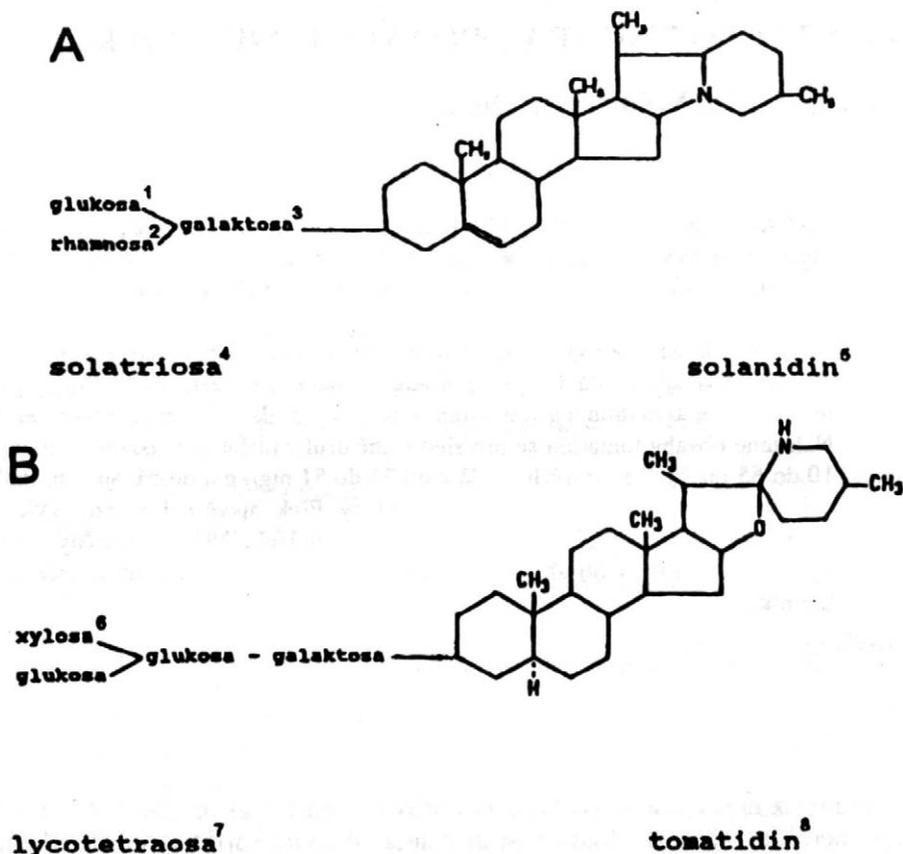
Ve vzorcích osmi odrůd rajčat o různém stupni zralosti byl analyzován obsah steroidních glykoalkaloidů. Obsah alkaloidů byl stanoven spektrofotometricky po kyselé hydrolyze tomatinu na tomatidin a po jeho reakci s bromthymolovou modří. Nalezené obsahy tomatinu se pro sledované druhy rajčat pohybovaly v rozmezí od 10 do 65 mg/kg u nezralých plodů a od 21 do 81 mg/kg u dozrávajících. Prakticky nulové hodnoty byly zjištěny pro zralé plody. Překvapivě byl nalezen vyšší obsah tomatinu v dozrávajících rajčatech než v nezralých. Nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v obsahu alkaloidů v rajčatech pěstovaných na záhoně a ve fóliovníku.

rajčata; odrůdy; stupeň zralosti; tomatin

Jednou z nejvýznamnějších skupin přirozených toxických látek v potravinách jsou steroidní glykoalkaloidy rostlin čeledi lilkovité (*Solanaceae*). Hlavní pozornost je v závislosti na objemu produkce a spotřeby věnována glykoalkaloidům brambor. Jejich významným zdrojem však mohou být i zelená rajčata. Zatímco problematika glykoalkaloidů brambor je poměrně dobře prozkoumána, o obsahu a reakcích glykoalkaloidů v rajčatech je známo poměrně málo (G e l d e r , 1990).

Převládajícími glykoalkaloidy v plodech i dalších částech rostlin rajčat jsou α -tomatin a α -solanin (obr. 1). Obsah tomatinu je tři- až čtyřikrát vyšší než obsah solaninu (K y z l i n k a j . , 1981), někteří autoři uvádějí pouze obsah tomatinu (J a d h a v a j . , 1981). Uváděné celkové obsahy glykoalkaloidů se obvykle pohybují u zelených plodů od 30 do 150 mg/kg čerstvé hmotnosti. Dozráváním se obsah alkaloidů snižuje, prakticky až na nulovou hodnotu (R o d d i c k , 1974).

Glykoalkaloidy a jejich aglykony (tomatidin, solanidin a další) přijímané potravou mohou být pro člověka toxické. V literatuře je uváděno několik desítek smrtelných otrav a celá řada otrav méně závažných po požití brambor s vysokým obsahem glykoalkaloidů (M o r r i s a L e e , 1984). Značná pozornost byla věnována rovněž karcinogenitě a teratogenitě těchto alkaloidů. V minulosti byla publikována celá řada prací přisuzujících mutagenní a teratogenní účinky zvláště tomatinu, nejnovější práce však tuto hypotézu vyvracejí (G e l d e r , 1990). Přesto se konzumace zelených rajčat a výrobků z nich, zvláště během těhotenství, nedoporučuje.



1. Struktura α -tomatinu (A) a α -solaninu (B) – The structure of α -tomatine (A) and α -solanine (B)

¹glucose, ²rhamnose, ³galactose, ⁴solatriose, ⁵solanidine, ⁶xylose, ⁷lycotetraose, ⁸tomatidine

Výzkumy toxicity glykoalkaloidů brambor vedly ke stanovení přípustného obsahu všech glykoalkaloidů 200 mg/kg čerstvé hmoty při jednorázovém požití (Riedl a Vondráček, 1980). Na základě hypotézy o kumulaci alkaloidů v organismu byl jinými autory navrhnut limit pouze 50 - 70 mg/kg (Rossaj, 1978). Pro alkaloidy rajčat nejsou limity stanoveny, lze však předpokládat, že by měly být přibližně stejné jako pro brambory (Gelder, 1990).

Poznávání steroidních glykoalkaloidů úzce souvisí s rozvojem účinných analytických metod. Nejstarší metody stanovení se skládaly obvykle z extrakce a vážkového stanovení. V poslední době se stanovení celkového obsahu glykoalkaloidů provádí titračně nebo spektrofotometricky. Velký význam pro kvalitativní poznání glykoalkaloidů má užití chromatografických metod. Užívány jsou prakticky

všechny běžné druhy, od chromatografie na tenké vrstvě až po chromatografii plynovou a kapalinovou (K a l a č jr. a V o l d ř i c h , 1994).

Steroidní glykoalkaloidy nejsou toxické jen pro člověka a vyšší živočichy. Působí rovněž antagonisticky proti hmyzu, mikroorganismům a plísním, v rostlině plní funkci přirozeného pesticidu (R o d d i c k , 1974). Tento aspekt je důležitý zejména v souvislosti s hledáním rezistentních odrůd pro alternativní zemědělství a zhodnocení případných zdravotních rizik. Cílem předkládané práce bylo monitorovat obsah steroidních glykoalkaloidů v několika běžně pěstovaných odrůdách rajčat v závislosti na stupni zralosti a některých podmínkách pěstování.

MATERIÁL A METODA

Vzorky rajčat osmi odrůd byly vypěstovány na pokusných políčkách VŠZ v Praze - Tróji. Žádný ze vzorků nebyl mechanicky poškozen, ani nevykazoval známky nemoci či napadení škůdci. Rajčata byla sklizena na počátku srpna 1992 a asi 90 minut po sklizni byla zmrazena. Ve zmraženém stavu byly vzorky skladovány při teplotě $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ až do analýzy. Ke kvantitativnímu stanovení celkového obsahu steroidních glykoalkaloidů, stanovených jako tomatidin (aglykon α -tomatinu), byla použita spektrofotometrická metoda podle B a j a j e aj. (1988).

Vzorky zmražených rajčat byly rozmrazeny 4 - 5 min (podle velikosti) v mikrovlnné troubě a ihned zhomogenizovány v mixéru. Navážka 10 g homogennátu pak byla vyluhována 100 ml destilované vody za stálého míchání (10 min). Výluh byl zfiltrován. K filtrátu bylo přidáno 42 ml 10% roztoku kyseliny sírové a směs byla zahřívána ve vodní lázni při teplotě $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu dvou hodin. pH hydrolyzátu bylo upraveno roztokem NaOH ($c = 10\text{ mol/l}$) na 10 (alkalické srážení glykoalkaloidů) a po zchlazení byl roztok ponechán v chladničce ($4\text{ }^{\circ}\text{C}$) do druhého dne.

Druhý den byl supernatant extrahován třikrát 10 ml trichlormethanu, sušen bezvodým síranem sodným a dosucha odpařen ve vakuové rotační odparce. Odparek byl poté rozpuštěn v 10 ml dichlormethanu, případně při očekávané vysoké koncentraci tomatidinu, dva- až třikrát zředěn. 10 ml roztoku v dichlormethanu pak bylo třepáno s 5 ml bromthymolové modři ($c = 2 \cdot 10^{-4}\text{ mol/l}$ v borátovém pufru o $\text{pH} = 8$) v dělicí nálevce. Po rozdělení fází byla spodní (dichlormethanová) vrstva oddělena a byl do ní přidán 1 ml 0,01 molárního roztoku NaOH v methanolu. Koncentrace tomatidinu odpovídající vzniklému modrému zbarvení byla odečítána spektrofotometricky při 620 nm. Kvantitativní stanovení glykoalkaloidů bylo prováděno metodou kalibrační přímky pro tomatidin. Celkový obsah glykoalkaloidů vyjádřený jako α -tomatin byl vypočítán ze vztahu:

$$c_{\text{tomatin}} = c_{\text{tomatidin}} \cdot \frac{M_{\text{tomatin}}}{M_{\text{tomatidin}}}$$

kde: c = koncentrace [mg/ml]

M = molární hmotnost [g/mol]

Celkový obsah glykoalkaloidů ve vzorku byl vypočítán ze vztahu:

$$m_{\text{tomatin}} = c_{\text{tomatin}} \cdot V \cdot k \cdot f$$

kde: m_{tomatin} = koncentrace tomatinu v mg na kg čerstvé hmoty

V = analyzovaný objem CH_2Cl_2 -roztoku [ml]

k = konstanta vyjádření na kilogram vzorku

f = faktor odpovídající případnému naředění

VÝSLEDKY A DISKUSE

Vzorky rajčat byly před analýzou zakonzervovány zmražením. K vyloučení vlivu tohoto kroku byl před zahájením pokusů nejprve sledován vliv zmražení a doby skladování na změny obsahu tomatinu. K experimentu byla použita zelená rajčata nespécifikované odrůdy. Z výsledků, které jsou uvedeny v tab. I je patrné, že žádný významný vliv doby skladování na syntézu či degradaci tomatinu nebyl pozorován. I když nelze vyloučit odlišné chování u jiných odrůd, dá se předpokládat, že zmražení vzorků významněji neovlivnilo výsledky analýzy. Zároveň z těchto výsledků vyplývá, že při případném skladování zmrazených nezralých rajčat jako suroviny či polotovaru je třeba počítat s udržením obsahu glykoalkaloidů.

I. Změny obsahu tomatinu během skladování zmrazených rajčat – Changes in tomatine content within storage of freezing tomatoes

| | | | | | |
|---------------------------------------|----|------|----|----|----|
| Doba skladování [měsíce] ¹ | 0 | 1 | 2 | 3 | 5 |
| Obsah tomatinu [mg/kg] ² | 48 | 46,5 | 47 | 49 | 48 |

¹time of storage [months], ²tomatine content [mg/kg]

Zjištěné obsahy steroidních glykoalkaloidů v osmi odrůdách rajčat jsou uvedeny v tab. II. U všech vzorků se pro zelené plody obsah alkaloidů pohyboval spíše v nižší oblasti obvykle uváděných obsahů, pro rajčata zralá byl prakticky rovný nule.

Překvapující byl v některých případech nižší obsah alkaloidů u malých zelených rajčat oproti rajčatům dozrávajícím. Tento jev nelze vysvětlit různými fyziologickým stavem rostlin, protože se jednalo o vzorky rajčat ze stejné nebo blízké sousedící rostliny, bez viditelných stop poškození či nemoci. Glykoalkaloidy však plní v nezralých rajčatech ochrannou funkci vůči napadení hmyzem a dalšími predátory. V dozralých plodech, kdy jsou semena zralá, je biologicky žádoucí, aby došlo k jejich šíření živočichy. Plod se proto vybarvuje, mění se poměr sacharidů a kyselin, ochranné látky, jejichž úloha skončila, se odbourávají. Fáze dozrávání rajčat představuje přechodné období, kdy semena nejsou ještě zcela zralá, ale plod se již stává atraktivním pro predátory. Za těchto podmínek lze ještě očekávat vysoký

II. Obsah steroidních glykoalkaloidů vyjádřených jako tomatin v osmi odrůdách rajčat – Survey of steroidal glycoalkaloids contents (determined as a tomatine content) in eight cultivars of tomatoes

| Odrůda ¹ | Stupeň zralosti ² | | | | | |
|---------------------|------------------------------|-----|-------------------------|------|--------------------|-------|
| | nezralá ³ | | dozrávajcí ⁴ | | zralá ⁵ | |
| | F | Z | F | Z | F | Z |
| Start | 28 | - | 25,5 | - | 0 | - |
| Domino | 45 | - | 81 | - | > 0,5 | - |
| Luca | 34 | 31 | 42 | 21 | 0 | 0 |
| Tornádo | 10 | 65 | 34 | 37,5 | 0 | 0 |
| Stupické | 22 | - | 55,5 | - | 0 | - |
| Imun | 32 | 15* | - | - | 0 | 1* |
| Dusia | - | 42 | - | - | - | > 0,5 |
| Julie | - | 32 | - | - | - | > 0,5 |

Obsah tomatinu je vyjádřen v mg na kilogram čerstvé hmotnosti; uvedená hodnota je průměrem tří stanovení, přičemž relativní směrodatná odchylka nepřesáhla 8% – Tomatine content is expressed in mg per kg of fresh weight; the value presented is an average for three determinations while relative standard deviation did not exceed 8 %

Stupeň zralosti – Degree of maturity:

nezralá = rajčata malá, zcela zelená – unripen = small tomatoes, completely green

dozrávajcí = konečná velikost, místy mléčně zelené nebo s oranžovou skvrnou – ripening = final size, here and there milky green or with orange patch

zralá = konzumní zralost, plně červené (žluté) zbarvení – ripened = consumer maturity, full red (yellow) coloration

F = rajčata vypěstovaná ve fóliovníku – tomatoes cultivated in greenhouse

Z = rajčata vypěstovaná na záhonu – tomatoes cultivated in the bed

¹ cultivar, ² degree of maturity, ³ unripen, ⁴ ripening, ⁵ ripened

obsah glykoalkaloidů. Tím lze také vysvětlit vyšší obsah alkaloidů u rajčat dozrávajících.

Vliv podmínek pěstování nebyl rovněž pozorován, i když u odrůd Imun a Luca je obsah alkaloidů vyšší při pěstování ve fóliovníku než na záhoně; u odrůdy Tornádo je tomu výrazně naopak.

ZÁVĚR

V rajčatech osmi odrůd, různého stupně zralosti, vypěstovaných ve fóliovnících a na záhoně, byl stanoven obsah celkových glykoalkaloidů, vyjádřený jako tomatin. Obsah alkaloidů byl prakticky nulový ve zralých plodech, v nezralých se pohyboval

mezi 10 - 65 mg/kg a v dozrávajících mezi 21 - 81 mg/kg. Nebyly zjištěny významné rozdíly v obsahu alkaloidů rajčat vypěstovaných ve fóliovníku a na záhoně. Obsah alkaloidů zůstal stabilní během pěti měsíců uložení při teplotě -18 °C.

Obsahy glykoalkaloidů analyzovaných odrůd vyhovují doporučeným zahradnickým hygienickým limitům a rajčata jsou použitelná jako konzervařenská surovina.

Poděkování

Děkuji prof. ing. Josefu Duffkovi, CSc., vedoucímu katedry zahradnictví Vysoké školy zemědělské v Praze, za poskytnuté vzorky rajčat.

Literatura

BAJAJ, K. L. - KAUR, P. P. - SHARMA, O. N.: Absorptiometric determination of α -tomatidine in tomato fruits. *Analysis*, 116, 1988, s. 194-195.

GELDER, W. M. J. van : Chemistry, toxicology, and occurrence of steroidal glycoalkaloids: potential contaminants of the potato (*Solanum tuberosum* L.). In: ABDEL-FATTAH M. RIZK (ed.). Poisonous plant contamination of edible plants. Boca Raton, CRC Press 1990, s. 117-156.

JADHAV, S. J. - SHARMA, R. P. - SALUNKHE, D. K.: Naturally occurring toxic alkaloids in foods. *CRC Crit. Rev. Toxicol.*, 9, 1981, s. 21-104.

KALAČ, P. jr. - VOLDŘICH, M.: Metody stanovení obsahu steroidních glykoalkaloidů v potravinách a potravinářských surovinách. *Potr. Vědy*, 12, 1994, v tisku.

KYZLINK, V. - MÍKOVÁ, K. - JELÍNEK, R.: Tomatine, solanine and embryotoxicity of unripe tomatoes. *Sbor. Vys. Šk. chem.-technol., Ser. E* 511, 1981, s. 69-83.

MORRIS, S. C. - LEE, T. H.: The toxicity and teratogenicity of Solanoceae glycoalkaloids, particularly those of the potato (*Solanum tuberosum* L.): a review. *Food Technol. Aust.*, 36, 1984, s. 118-124.

RIEDL, O. - VONDRÁČEK, V.: *Klinická toxikologie*. 5. vyd., Praha, Avicenum 1980. 820 s.

RODDICK, J. G.: The steroidal glycoalkaloid α -tomatine. *Phytochemistry*, 13, 1974, s. 9-25.

ROSS, H. - PASEMANN, P. - NITSCHKE, W.: Der Glykoalkaloidgehalt von Kartoffelsorten in seiner Abhängigkeit von Anbauort und-jahr und seiner Beziehung zum Geschmack. *Z. Pfl.-Zücht.*, 80, 1978, s. 64-79.

Došlo 14. 7. 1993

KALAČ, P. jr. - VOLDŘICH, M. - DOBIÁŠ, J. (University of Chemical Technology, Department of Food Preservation and Meat Technology, Prague): *The content of α -tomatine in selected tomato cultivars*. *Zahradnictví*, 20, 1993 (4): 193-199.

The α -tomatine content changes in tomato fruits of different stages of maturity were studied. The growing conditions of tomato plants - cultivation in a plastic house and outside in the field were compared.

α -tomatine was extracted by dichloromethane after hydrolysis of α -tomatidine in aqueous infusion of tomato fruit. It was then quantitatively determined by developing a blue colour complex with bromothymol blue (sodium salt), which is read at 620 nm.

No significant differences between the eight analyzed cultivars of tomatoes were found. The average glycoalkaloids content of green tomatoes ranged within 10 to 81 mg/kg of fresh weight (below the limit value used for potatoes, which is 200 mg/kg). The greenhouse cultivation did not also affect the tomatine content of fruits.

Compared with the published data, the unexpected higher contents of tomatine were found in the bigger green tomatoes, than in small ones.

tomatoes; cultivars; degree of maturity; tomatine

Adresa autorů:

Ing. Pavel K a l a č , ing. Michal V o l d ř i c h , CSc., ing. Jaroslav D o b i á š ,
CSc., Ústav konzervace potravin a technologie masa, Vysoká škola chemicko-techno-
logická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA

ZASEDÁNÍ OVOCNÁŘSKÉ SEKCE EUCARPIA

Ve dnech od 29. srpna do 3. září 1993 se konalo ve švýcarském městečku Einsiedeln sympóziu ovocnářské sekce evropského sdružení šlechtitelů EUCARPIA. Pořadatelem této akce byla Výzkumná stanice pro pěstování ovoce, vinné révy a zahradnictví ve Wädenswilu. Předcházející zasedání této sekce se konalo v roce 1987 v Hradci Králové a pořadatelem byl Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský v Holovousích. Další řádné zasedání bylo naplánováno do Jugoslávie (Novi Sad) v roce 1991, avšak bohužel se neuskutečnilo z důvodu válečných událostí v této zemi.

Sympózia v Einsiedelnu se zúčastnilo přes 90 šlechtitelů a výzkumníků zabývajících se šlechtitelským výzkumem ovocných plodin. Celkem zde bylo prezentováno 44 referátů a 54 vývěskových sdělení. Kromě toho byly jistě velmi cenné pro všechny účastníky dvě čtyřhodinové neformální panelové diskuse, do kterých se aktivně zapojila většina přítomných. První téma se týkalo stability rezistence proti chorobám a druhé výsledků a současných trendů v oblasti biotechnologií. Jinak asi polovina prezentovaných příspěvků pojednávala o klasických šlechtitelských postupech nejčastěji u jabloní, ale i u dalších ovocných druhů (hrušní, peckovin, jahodníků). Z biotechnologických témat převažoval výzkum genových markerů, problematika identifikace odrůd pomocí biochemických metod a také byly zveřejněny první praktické výsledky postupů tzv. genového inženýrství u ovocných plodin.

Z bohaté diskuse vyplynul závěr, že oba hlavní výzkumné směry, tj. klasický a biotechnologický, mohou nejvíce přispět k dalšímu pokroku celého odvětví, pokud budou navzájem úzce propojeny. První praktické výsledky genového inženýrství se týkají rezistence proti bakteriální spále u jabloní a hrušní a indukce rezistence vůči virové šarce u peckovin.

Mezi nejvýznamnější, zcela nové informace z tohoto sympózia, patří bezesporu sdělení o vzniku nové rasy původce strupovitosti jabloní - houby *Venturia inaequalis*, která překonává rezistenci podmíněnou genem Vf od *Malus floribunda* 821, jenž je součástí naprosté většiny rezistentních odrůd jabloní vyšlechtěných ve světě během posledních 20 let. První výskyt této nové rasy výše uvedené houby se projevil v oblasti Altes Land (SRN), avšak byl potvrzen i francouzskými výzkumníky v Angers. V široké diskusi k tomuto problému se nejčastěji hovořilo o nutnosti co nejvíce omezit šíření této nové rasy patogena, nezvyšovat podíl rezistentních odrůd na bázi Vf v nových výsadbách a další šlechtění větší měrou orientovat na jiné zdroje rezistence, a to především na zdroje polygenního typu.

Během sympózia, na zvláštní schůzce členů EUCARPIA, byl zvolen nový prezident sekce, kterým se stal Dr. M. K e l l e r h a l s ze stanice ve Wädenswilu (odborný garant tohoto sympózia). Dále bylo určeno místo dalšího zasedání sekce, kterým bude Mezinárodní výzkumný ústav v East Malling (Anglie), pravděpodobně v roce 1996. Odborným garantem dalšího sympózia byl zvolen dr. K. T o b u t t z tohoto ústavu.

*Ing. Jan Blažek, CSc.,
Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský, Holovousy*

NOVÁ METODA IZOLACE A STANOVENÍ ÉTERICKÝCH OLEJŮ KOŘENÍ A JEJICH SLOŽEK

M. Jankovský, D. Peřinová, J. Petr

JANKOVSKÝ, M. - PEŘINOVÁ, D. - PETR, J. (Vysoká škola zemědělská, Praha-Suchdol): *Nová metoda izolace a stanovení éterických olejů koření a jejich složek* Zahradnictví, 20, 1993 (4): 201-212.

Pro izolaci a stanovení obsahu éterických olejů koření byla zkoušena metoda kontinuální destilace a extrakce (KDE) na Likens-Nickersonově přístroji (L-N) s následující analýzou plynovou chromatografií. Po orientačních pokusech na řadě koření byly izolovány a stanoveny obsahy éterických olejů některých koření. Byla ověřena optimální doba extrakce původního i drčeného kmínu. Metoda vykazuje vhodnou přesnost, správnost a reprodukovatelnost výsledků a poskytuje mnohem více informací o zkoumaném materiálu než metody používané.

esenciální oleje; koření; kmín; stanovení složek; plynová chromatografie; extrakce Likens-Nickerson

Těkávé, obvykle senzorycky účinné látky obsažené v tkáních živých organismů jsou u některých zemědělských produktů rozhodujícím kritériem kvality. Je tomu např. u kmínu, anýzu a jiných koření. U nich tvoří těkávé látky převážnou většinu hmoty tzv. esenciálních (nebo éterických) olejů.

Při pokusech o objektivizaci jejich hodnocení se obvykle rozlišují tři stránky:

a) Digitální - číselné vyjádření hedonických vlivů na člověka je dosud neuskutečnitelné.

b) Kvalitativní hodnocení, původně založené jen na senzoryckém základě, je v současnosti obohacováno „aromátogramem“, záznamem analýzy oleje plynovou chromatografií. Při použití systému GC - MS jsou výsledkem jak údaje o počtu složek oleje, tak i o jejich kvalitě. Vzhledem k synergismu složek při subjektivním působení jsou však vztahy mezi výsledky přístrojové analýzy oleje a jeho senzoryckým hodnocením velice složité.

c) Kvantitativní hodnocení obsahu esenciálního komplexu je dosud propracováno a používáno jen na úrovni starších analytických metodik.

Jedna z možností jak získat objektivní, především kvantitativní údaje o složení silice, je využití výsledků analýzy plynovou chromatografií. Ze zjištěných rozdílů mezi surovinami různé proveniencí je možno pak dedukovat vlivy vnějšího prostředí, výživy a jiných faktorů, podléjících se na změnách v komplexu biochemických reakcí, jimiž složky esenciálních olejů vznikají. Z těchto vlivů (kromě odrůdové odlišnosti mnohokrát prokázané, např. T r e u t n e r , 1987) jsou to zejména

intenzita výživy rostliny, intenzita a doba slunečního svitu, zálaha, způsob a místo pěstování (S i n e , 1993).

V ČR je standardní metodou destilace vodní parou (ČSN 58 0110).

V uvedené normě je popsána (vedle dalších fyzikálních a chemických zkoušek) jako rozhodčí destilace vodní parou s následující oxidací kyselinou chromovou - tedy po izolaci silice stanovení odměrně - analytické. Rozdílnost složení izolovaných silic je vyjádřena přepočtovými koeficienty (0,350 - 0,700), zachycujícími různý podíl oxidovatelných složek v jednotlivých silicích.

Druhou rozhodčí metodou je stanovení silice gravimetricky po extrakci do rozpouštědla. Metoda (s přesností 0,2 %) se nehodí pro ty druhy koření, které obsahují lehčeji těkavé složky.

Třetí standardní metodou je destilace vodní parou s odečtem objemu izolovaného oleje. Ta je součástí Českoslov. lékopisu (III, s. 93-95) pro hodnocení obsahu silic v drogách, využívaných farmaceuticky.

Normované metody nepostihují kvalitu získávané silice, což je kompenzováno kritérii pro hodnocení produkované či vykupované suroviny (napadení škůdci, kontaminace plevele či jejich semeny (ČSN 58 0515, ČSN 56 9801 a normy oborové). Přepočtové koeficienty mohou být v případě nových odrůd s částečně pozměněným spektrem silice příčinou vnášení systematické chyby do výsledku analýzy.

V této práci byla zkoušena metodika stanovení éterického oleje spolu se stanovením jeho složek metodou KDE s GC koncovkou.

Metoda KDE využívá Likens-Nickersonova přístroje (L i k e n s a N i c k e r s o n , 1964). Intenzivní mísení par umožňuje vysokou rychlost extrakce do malého objemu rozpouštědla a extrahované podíly jsou vystaveny nadále pouze teplotě bodu varu extrakčního činidla (35 - 45 °C). Uzavřený parní prostor snižuje možnost sekundární oxidace. Použití topných hnízd umožňuje přesně reprodukovat podmínky extrakce, což bylo potvrzeno při výzkumu těkavých složek kuřecího masa, kdy reprodukovatelnost byla uspokojivá (M i l f a i t a J a n k o v s k ý , 1991). Analýza koncentrovaného extraktu GC s vnitřním standardem umožňuje získat i kvantitativní údaje.

Z rozsáhlých literárních údajů o analýzách éterických olejů koření uvádíme jen některé klíčové práce a prameny z posledních let.

Ještě z dob „před plynovou chromatografií“ je např. možno citovat práci M a l é h o (1953), který se zabýval esenciálními oleji plodů koření z hlediska zastoupení látek s různými funkčními skupinami. Již on potvrdil, že při izolaci nemá teplota přestoupit 180 °C, dnešní kritéria jsou podstatně přísnější. Zájem byl zejména o fyzikální charakteristiku olejů (L a F a c e , 1957). Současně byla studována optimalizace metody izolace oleje, kde za významnou lze považovat práci autorů H e e g e r (1955) a T r e b s (1965), kde je systematicky použito destilace vodní parou. Pro identifikaci složek byly velmi rychle aplikovány chromatografické metody (R i g a n e s i s , 1956; T e i t e l b a u m , 1957a, b; E l - D e e b , 1962), objevily se první kvantitativní údaje (S t r a u s s , 1977).

Obdobné tematicke se věnoval A n o n (1965), který specifikoval ve své práci hlavní standardizované postupy GC analýz, včetně analýzy esenciálních olejů. H e f e n d e h l (1962) analyzoval pomocí GC esenciální olej máty peprné. Popsal teoretické a praktické aspekty aplikace GC a jednotlivé metody identifikace píků.

Využití GC v kosmetice ke kontrole kvality esenciálních olejů a k identifikaci neznámých látek se zabýval W h e a t l e y (1963). V pracích finských autorů (H a l v a e et al., 1986) jsou sledovány vedle tĕkavých vonných látek i glukosinoláty kmínu a koriandru.

Rešerše z posledních let (Agris) již nezaznamenává základní analytické, zejména kvalitativní údaje o složení silic v ČSN uvedených základních typů kořenů. Byl zjištěn značný podíl prací zabývajících se peprmintovou esencí, skořicí a mnohými tropickými, méně běžnými surovinovými zdroji (levandule, citrusové plody, eukalyptová silice). Vedle japonských, egyptských a francouzských prací jsou to zejména práce autorů z Jugoslávie, (např. G o r u n o v i c a L u k i c (1984).

V roce 1985 vyjádřilo zasedání mezinárodního kongresu o současném stavu na trhu aromanostných rostlin (C o l l o m b , 1985) snahu vrátit se v produkci hlavních vonných látek a kompozic pouze k přírodním zdrojům (F r a n z , 1986) a postupně i k podmínkám alternativního pěstování. Je to dáno i chemotaxonomickým aspektem olejů (T e t e n y i , 1986).

Pro tři z hlediska použití základní suroviny k pokusům jsou ilustrativní následující práce:

Esenciální olej kmínu: Jeho obsah je podle autorů různý. Polský kmín obsahoval 5,8 - 10,33 % oleje (T u m i l o w i c z , 1958) kmín z východního Pákistanu 3,3 - 3,5 % (W a h i d , 1960), K a r o w (1969) uvádí 3 - 6 %, pobaltský kmín (J u k n e v i c i e n e et al., 1977) má 4,25 % oleje. Identifikací složek esenciálního oleje pomocí TLC se zabývali např. E l - D e s h et al. (1962), kteří jako hlavní složky popsali karvon, limonen, felandren a alfa terpinen. K a r t n i g a S c h o l z (1969) našli stigmasterol, kumariny, bergapten, umbeliferon a scopoletin. Podle K a r o w a (1969) karvon představuje 50 - 60 % (vedle dihydrocarvonu, d-limonenu a linaloolu), podle J u k n e v i c i e n e et al. (1977) 59,5 %, majoritní karvon potvrzují F a r a g et al. (1989). Velice obsáhlý soubor údajů o obsahu esenciálního oleje a karvonu v kmínu podává souhrnná zpráva UKZUZ (S i n e , 1993).

Anýz: Jedna ze souhrnných prací o éterickém oleji anýzu (D e w e i n , 1955) se stala základem dalších výzkumů. Za standardní je považován asi 3,5% obsah oleje v plodech, egyptské prameny uvádějí až 5,5 % (E l - H a m i d i a E l - G a n g h i n i , 1962), pakistánské 0,55 % (E f r a n A l i et al., 1967). Jeho majoritní složkou je anetol, jak uvádí např. K a r o w n (1968) a B e c k e r (1970a, b), který separoval 11 složek oleje.

Fenykl: Od určení základních fyzikálních a chemických konstant (K l i m e k , 1951) se obohatily poznatky o složení oleje fenyklu o mnoho. Společně s anýzem obsahuje anetol, felandren, fenchon, estragol (C o s t a , 1958), metylchavikol (S o l o w i t s c h a C h i k e t i , 1963) i řadu monoterpenů (R a v i d et al., 1984). Celkový obsah tĕkavého oleje činí asi 3,5 %. Často je uváděn obsah 19 %, ale ten náleží extrahovatelným lipidickým látkám spolu s éterickým olejem (H a d d a d , 1965).

MATERIÁL A METODY

Pokud bylo použito komerčních zdrojů koření (většina pokusů), byly nakoupené suroviny sesypány a promísleny. Ze vzorku uloženého v lednici byly kvartací odebrány podíly ke stanovení.

Použité chemikálie byly čistoty puriss, rozpouštědla sušena síranem sodným (Labora Praha) a destilována přes 30 cm Virgreuxovu kolonu. Odparek o objemu 0,5 ml ze 100 ml vykázal při plynově chromatografické analýze přítomnost stop chlorovaných metanů a etanů, resp. vyšších alkanů.

Likens-Nickersonův přístroj by vyroben ve sklářských dílnách Tesla - Vakuová elektrotechnika podle nákresu. Parní prostor činí 400 ml, separační prostor má objem 10 ml. Minimální objem extrakčního činidla je 15 ml.

Plynově chromatografické analýzy byly provedeny na přístroji CHROM 5 (Laboratorní přístroje, Praha) osazeném skleněnou náplňovou kolonou o délce 3 m a vnitřním průměru 3 mm. Jako náplně bylo použito Chromatonu AW - DCMS (80 - 100 mesh) se zakotvenými polárními fázemi (modelově 5 % CWX 20 M, XE 60, OV 225). Teplotní program 70 °C po dobu 4 min, vzestup 3 °C za min do 150 °C, vzestup 4 °C za min do 225 °C, prodleva 6 minut.

Pro získání kvantitativních údajů byly vzorky obohaceny majoritní složkou (je uvedena v části diskuse) nebo izomerem majoritní složky. Použití jiného standardu je jmenovitě uvedeno.

ROSTLINNÉ MATERIÁLY

Bazalka (*Ocimum gratissimum* L.). Pro stanovení byl použit sušený rostlinný materiál ze školního pozemku. Navážka 47,5 g byla extrahována celkem 14 hodin. Jako vnitřní standard byl výjimečně použit naftalen, který neinterferoval se žádnou složkou.

Fenykl (*Foeniculum vulgare* Mill.). Vzorky fenýklu byly komerční, nakoupené v maloobchodě. Navážka 25 g byla extrahována 15 hodin. Jako rozpouštědla bylo použito 30 ml směsi dichlormetanu a chloroformu v poměru 1 : 1.

Hřebíček (*Syzygium aromaticum* L.). I vzorky hřebíčku byly komerčního původu, zakoupené v maloobchodě, bez určení provenience. Navážka 25 g byla extrahována po dobu 13 hodin s použitím rozpouštědla dichlormetanu a chloroformu v poměru 1 : 1.

Muškatový oříšek *Myristica fragrans* Houtt L.). Pět kusů muškátových oříšků bylo zakoupeno v běžné obchodní síti. Navážka 9,3 g drceného materiálu byla extrahována celkem 15 hodin. Použité rozpouštědlo: dichlormetan a chloroform v poměru 1 : 1.

Kmín (*Carum carvi* L.). Vzorky pro analýzy kmínu byly dvojí provenience. Počáteční a orientační pokusy byly provedeny s komerčním kmínem (Balírný obchodu, Praha), další vzorky poskytl prof. Petr. Pro srovnání byl analyzován i vzorek komerčního drceného kmínu. Navážka kolem 25 g kmínu byla extrahována 10 hodin, pokud není uvedeno jinak. Jako extrakčního činidla bylo použito směsi

petroléteri a dichlormetanu v poměru 3 : 1, směsi petroléteri a dietyléteri (1 : 1), směsi dichlormetanu a chloroformu (1 : 1) a samotného dichlormetanu.

Anýz (*Pimpinella anisum* L.). Vzorky koření měly komerční původ stejně jako kmín. Jako rozpouštědlo byl zvolen dichlormetan.

STANOVENÍ OBSAHU SILICE PODLE ORIENTAČNÍ METODY ČSN 58 0110

Silice (souhrn éterického oleje) byla získána přesným provedením podle normy. Objem získaného éterického oleje byl po vynásobení předpokládanou měrnou hmotností (pro kmín 908 kg/m^3) přepočten na hmotnost a je uveden jako údaj obsahu silice. Pro kontrolu byla silice vypuštěna i s vrstvou vody do dělicí nálevky, přístroj i dělicí nálevka byly opláchnuty 20 ml petroléteri o bodu varu $24 - 32 \text{ }^\circ\text{C}$ a spojené petroleterové roztoky silic byly zahřáty po dobu 10 min ve vodní lázni $50 \text{ }^\circ\text{C}$ teplé, aby se odpařil petroléter. Extrakční zbytek - silice - pak byla přímo vážena. Obě stanovení poskytla prakticky totožné výsledky.

EXTRAKCE NA L-N PŘÍSTROJI

Rostlinný materiál byl odvážen do litrové baňky, přelit 300 ml vody a zahříván v topném hnízde k varu. Současně byla na druhé hrdlo přístroje připojena 50 ml baňka s 30 ml extrakčního činidla v termostatované vodní lázni zahřívaná k varu. Specifikace extrakčního činidla je uvedena u jednotlivých pokusů. Za ustáleného stavu (asi 5 ml destilátu vody i rozpouštědla za minutu) bylo pokračováno v destilaci po udanou dobu.

V pokusech při stanovení dynamiky extrakce bylo po zvolené době destilace zahřívání přerušeno a extrakční činidlo vyměněno za čerstvý podíl.

Jednotlivé extrakty byly přesušeny síranem sodným, extrakt opatrně odlit a síran sodný byl promyt 3 x 5 ml extrakčního činidla. Spojené extrakty byly zakoncentrovány oddestilováním extrakčního činidla přes Vigreuxovu kolonu a ke zbylému objemu asi 0,5 ml byl připipetován přesný objem roztoku standardu.

Koncentrace roztoku standardu činila obvykle cca 4 mg/ml, stanovená přesně. Vhodný se ukázal citronelal nebo myrcen, snadno dostupný je čistý karvon nebo anetol. Výjimečně byl použit roztok naftalenu o stejné koncentraci s použitím příslušných přepočtových koeficientů (1,8 resp. 2,0 vůči karvonu nebo anetolu).

IDENTIFIKACE SLOŽEK

Identifikace jednotlivých složek silice byla provedena kochromatografií autentických složek jen pro několik látek, vysoce majoritní složky byly v souladu s literárními údaji považovány za hlavní udávané látky dané silice.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Souhrnné výsledky úvodních pokusů jsou uvedeny v tab. I.

Dlouhá extrakční doba, volená pro první „informativní“ sérii pokusů měla zajistit úplnou extrakci těkavých složek. Pro omezení vzniku artefaktů a vyšší

I. Obsah silice v modelových matriálech – Essential oil content in model materials

| Materiál ¹ | Extrakční činidlo ² | Doba extrakce ³ (h) | Obsah silice podle L-N ⁴ (%) | Obsah silice standardní metodou ⁵ (%) |
|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---|--|
| Bazalka (sušená) ⁶ | D : P 1 : 1 | 14 | 0,944 - 0,968 | 0,880 |
| Fenykl ⁷ | D : C 1 : 1 | 15 | 4,216 - 4,228 | 4,20 |
| Hřebíček ⁸ | D : C 1 : 1 | 13 | 8,88 - 9,66 | 9,15 |
| Muškatový oříšek ⁹ | D : C 1 : 1 | 15 | 5,49 - 6,71 | 6,60 |
| Kmín ¹⁰ | D : C 1 : 1 | 15 | 4,39 - 4,42 | 4,40 |
| Anýz ¹¹ | D : C 1 : 1 | 12 | 2,975 - 3,020 | 3,050 |

D = dichlormetan – dichlormethane

P = pentan – pentane

C = chloroform – chloroform

E = dietyler – diethylether

¹material, ²extracted agent, ³time of extraction, ⁴essential oil content according to L-N, ⁵essential oil content by standard method, ⁶basil (dried), ⁷fennel, ⁸clove, ⁹nutmeg, ¹⁰caraway seed, ¹¹anise

expeditivnost metodiky bylo třeba extrakci zkrátit. Proto byla provedena řada pokusů, ve kterých byla sledována dynamika extrakce, a to u anýzu, fenyklu a kmínu (tab. II).

Protože délka extrakce 10 hodin, která se ukázala jako dostačující, je pro praktické provádění příliš dlouhá, bylo v dalších pokusech přistoupeno k mechanickému drcení plodů s cílem ověřit, zda nutná doba extrakce bude nižší. Pokusy s drceným materiálem se omezily pouze na kmín (tab. III).

Pro ověření byla provedena další série pokusů s drceným kmínem, kdy byly porovnány hodnoty jak částečné extrakce, tak výsledky koncové, uvedené v tab. IV.

PRVNÍ ORIENTAČNÍ VÝSLEDKY

Bazalka: Bylo separováno a vyhodnoceno 25 složek, majoritní složkou byl eugenol - 55,2 %, tj. 530 mg/kg. Z toho bylo dedukováno, že se jednalo o bazalku eugenolového chemotypu - *Ocimum gratissimum*. Celkový obsah těkavých složek byl 960 mg/kg.

Fenykl: Bylo separováno a vyhodnoceno 33 složek, majoritní byl anetol - 58,6 %, tj. 24,70 g/kg ze stanoveného obsahu těkavých látek 42,00 g/kg.

Hřebíček: Bylo separováno a vyhodnoceno 20 složek, hlavní složkou by eugenol - 67,9 %, tj. 63,00 g/kg ze stanoveného obsahu těkavých látek 92,70 g/kg.

Muškatový oříšek: Bylo separováno a vyhodnoceno 33 složek s majoritním eugenolem - 59,8 %, tj. 36,50 g/kg ze stanoveného obsahu těkavých látek 61,00 g/kg.

Kmín: Bylo separováno a vyhodnoceno 24 složek, dominantní složkou byl karvon - 61,1 %, tj. 26,90 g/kg pro stanovený obsah těkavých látek 44,05 g/kg.

II. Průběh (dynamika) extrakce anýzu, fenyklu a kmínu – Pattern (dynamics) of anise, fennel and caraway seed extraction

| Materiál ¹ | Extrakční činidlo ² | Izolováno silice (%) od - do hodin ³ | | | | | Silice celkem ⁴ |
|-----------------------|--------------------------------|---|-------|---------|---------|--------|----------------------------|
| | | 0 - 1 | 1 - 2 | 2 - 3,5 | 3,5 - 5 | 5 - 10 | |
| Anýz ⁵ | D | 1,757 | 0,522 | 0,469 | 0,195 | 0,010 | 2,953 |
| Anýz | D | 1,528 | 0,643 | 0,439 | 0,274 | 0,117 | 3,001 |
| Fenykl ⁶ | D | 2,893 | 1,068 | 0,185 | 0,107 | - | 4,253 |
| Kmín ⁷ | P : D 3 : 1 | 3,131 | 0,693 | 0,306 | 0,172 | 0,058 | 4,360 |
| Kmín* | P : D 2 : 1 | 3,108 | 0,345 | 0,085 | 0,096 | - | 3,634 |
| Kmín** | P : E 1 : 1 | 3,143 | 0,519 | 0,477 | 0,363 | 0,097 | 4,600 |
| Kmín** | D : C 1 : 1 | 3,316 | 0,586 | 0,392 | 0,228 | 0,111 | 4,633 |
| Kmín** | D | 3,274 | 0,491 | 0,512 | 0,300 | 0,076 | 4,653 |
| Kmín** | D | 3,485 | 0,455 | 0,089 | 0,018 | 0,014 | 4,061 |
| Kmín** | D | 3,686 | 0,295 | 0,088 | 0,095 | 0,051 | 4,215 |

*, ** = dva vzorky nekomerčního kmínu, poskytnuté prof. Petrem – Two samples of non-commercial caraway seeds provided by prof. Petr

For 1 - 2 see Tab. I; ³essential oil isolated (%) from to hours, ⁴total essential oil, ⁵anise, ⁶fennel ⁷caraway seeds

III. Dynamika extrakce drceného kmínu do dichlometanu – Pattern of extraction of crushed caraway seeds into dichlormethane

| Číslo pokusu ¹ | Navážka kmínu ² (g) | Izolováno silice (%) od - do hodin ³ | | | | Silice celkem ⁴ (%) |
|---------------------------|--------------------------------|---|-------|---------|---------|--------------------------------|
| | | 0 - 1 | 1 - 2 | 2 - 3,5 | 3,5 - 5 | |
| 1 | 25,0 | 3,902 | 0,500 | 0,260 | 0,085 | 4,747 |
| 2 | 25,0 | 4,217 | 0,518 | 0,134 | 0,038 | 4,907 |
| 3 | 15,2 | 3,645 | 0,360 | 0,193 | 0,047 | 4,253* |
| 4 | 23,9 | 1,005 | 0,041 | 0,019 | 0,021 | 1,086** |

* = pokus proveden s odstupem 50 dní, kdy byl drcený materiál uložen v uzavřené nádobě v laboratoři – the trial conducted with an interval of 50 days when crushed material was stored in closed vessel in the laboratory

** = jako materiál byl použit komerční drcený kmín; pro vysokou rozdílnost výsledků oproti kmínu drcenému v laboratoři byl pokus třikrát opakován – the trial was replicated three times for high difference of results compared with caraway seeds

¹trial No., ²weighed amount of caraway seeds, ³essential oil isolated (%) from to hours, ⁴total essential oil

IV. Průběh (dynamika) extrakce těkavých látek - drcený kmín – Pattern of extraction of volatile substances - crushed caraway seeds

| Číslo pokusu ¹ | Izolováno silice (%) od - do hodin ² | | | | | Silice celkem ³ (%) |
|---------------------------|---|-------|---------|---------|--------|--------------------------------|
| | 0 - 1 | 1 - 2 | 2 - 3,5 | 3,5 - 5 | 5 - 10 | |
| 1 | 3,599 | 0,391 | 0,154 | 0,146 | - | 4,290 |
| 2 | 3,443 | 0,519 | 0,134 | 0,078 | 0,097 | 4,271 |
| 3 | 3,130 | 0,692 | 0,153 | 0,171 | 0,058 | 4,204 |
| 4 | 3,683 | 0,295 | 0,088 | 0,099 | 0,088 | 4,253 |
| 5 | 3,555 | 0,455 | 0,089 | 0,018 | 0,013 | 4,130 |
| 6 | 3,608 | 0,345 | 0,085 | 0,096 | - | 4,134 |

Pro ilustraci reprodukovatelnosti navrhované metodiky byla při zachování plné homogenity materiálu provedena šestinásobná extrakce vzorků v co nejkratším rozmezí od doby rozmělnění (drcení) materiálu, při jeho dočasném uchování v temnu a chladu lednice. Pro analýzu fenyklu byla získána tato data: maximum 3,579 %; minimum 3,402 %; průměr 3,4605 %; rozpětí 0,177 %; variační koeficient 0,0206; směrodatná odchylka 0,0714; přípustná chyba 0,075; chyba průměru 0,0291; interval spolehlivosti 3,3899 - 3,5311 – To exemplify reproducibility of proposed methodology six-fold extraction of samples in as much as shortest interval from the time of crushing the material while keeping full homogeneity of material and ephemeral storing in dark and cold place (refrigerator). The following data were obtained for analysis of fennel: maximum 3.579 %; minimum 3.402 %; average 3.4605; range 0.177 %; variation coefficient 0.0206; standard deviation 0.0714; admissible error 0.075; error of mean 0.0291; interval of reliability 3.3899 - 3.5311

¹trial No., ²essential oil isolated (%) from to hours, ³total essential oil

Analýza: Bylo separováno a vyhodnoceno 35 složek, dominantní anetol - 51,3 %, tj. 15,30 g/kg při celkovém obsahu 29,95 g/kg těkavých látek.

DYNAMIKA EXTRAKCE

Při hodnocení průběhu extrakce bylo zjištěno, že v prvních dvou hodinách extrakce na L-N přístroji je získáno téměř 80 % silice, po 3,5 hodinách více než 91 %. Vyšší hodnoty extrakce na L-N přístroji jsou zřejmě způsobeny lepší extrakcí do rozpouštědla oproti separaci silice od vodného prostředí. Nárůst obsahu extrahovaných látek kolem 5. hodiny extrakce, který se jevil u některých pokusů, se nepodařilo vysvětlit.

Srovnání extrakce na L-N přístroji se standardními normovanými metodami vykazuje vysokou shodu výsledků, které jsou u L-N přístroje většinou o málo vyšší. Rozdíl činí s výjimkou bazalky méně než 1,5 %. U bazalky je rozdíl dán nízkou hmotností získané silice, která má za následek nižší přesnost standardní metodiky.

Podle výsledků extrakce různými činidly se nedá rozhodnout, které poskytují lepší výsledky. Od zkoušených směsí je vhodné ustoupit, neboť je jednodušší použít CH₂Cl₂, který se dá připravit v reprodukovatelné kvalitě.

VÝSLEDKY EXTRAKCE DRCENÉHO MATERIÁLU

Z výsledných hodnot vyplývá, že drcením se dynamika extrakce urychlí. Během prvních dvou hodin je extrahováno více než 95 % celkové sumy silice. Naopak i při vyhovujícím uložení drceného materiálu, dochází ke snižování obsahu silice a metoda by musila respektovat pro srovnatelné výsledky délku doby a podmínky skladování. Nepřímým dokladem toho je i zjištěný nízký obsah silice u komerčního drceného kmínu. Proto není vhodné materiál dřit s časovým předstihem před zpracováním. Extrakční dobu je možno drcením zkrátit na tři hodiny.

NÁVRH METODY

Izolace éterického oleje koření

Vzorek koření o hmotnosti 15 - 25 g, získaná kvartací z původního množství, se po přesném odvážení vnese do 1000 ml baňky Likens-Nickersonova přístroje a přelije se 600 ml destilované vody. Vzorek je možno krátce před navážením semlít na zrnitost, odpovídající asi 1/3 velikosti semene.

Do extrakční 50 ml baňky přístroje vlijeme 35 - 40 ml vhodného extrakčního činidla kontrolovaného na přítomnost vyšších složek v 0,5 ml odparku ze 100 ml. Vhodným činidlem je dichlormetan, pentan, dietyléter nebo jejich směsi.

Obě baňky přístroje se umístí do topných hnízd a po uvedení obou kapalin do varu se seřídí intenzita zahřívání tak, aby rychlost destilace vody i rozpouštědla činila asi 2 - 3 kapky za sekundu.

Extrakci provádíme po dobu 5 hodin, u mletých vzorků nejméně 3,5 hodiny.

Po skončení extrakce převedeme extrakt do 100 ml destilační baňky a destilaci přes kolonu o nejméně čtyřech teoretických patrech ho zahustíme (max. teplota 70 °C) na objem 3 - 5 ml.

Stanovení obsahu éterického oleje a jeho složek

Vzorek nyní podrobíme plynově chromatografické analýze za podmínek uvedených níže a podle chromatogramu zvolíme nástřík a citlivost. Sejmeme optimální chromatogram. Pak se do zakoncentrovaného vzorku vnese vhodný standard o hmotnosti odpovídající asi 5 % předpokládané hmotnosti izolovaného oleje. Standard je třeba volit nejlépe jako izomer majoritní složky a použít roztoku standardu ve stejném extrakčním činidle, jakým byla extrakce provedena. Ještě před přidáním standardu do vzorku je třeba provést chromatografii roztoku standardu, aby poloha píku standardu (pokud není použito obohacení vzorku již přítomnou složkou) v chromatogramu byla jednoznačně identifikována.

Vzorek se standardem se podrobí plynově chromatografické analýze nejlépe na polární náplni (XE-60, CWX 20 M apod.) s programovanou teplotou. Podmínky analýzy je třeba optimalizovat. doporučené podmínky jsou počáteční teplota 60 až 70 °C, prodleva 3 - 4 min, vzestup 2 - 3 °C za minutu do 220 °C. Průtok dusíku asi 7 ml/s. Nastavení integrátoru je třeba volit tak, aby byly eliminovány pík(y) extrakční směsi. Hodnoty ploch píků a standardu (s případným přepočtovým

koeficientem) udávají poměr hmotností složek a standardu. Ze vztahu plochy pŕku standardu a složek se vypočtou konečné údaje.

L i t e r a t u r a

ANON, K.: Gas chromatographic analytical methods - Essential Oil Association of USA. J. Gas Chromatog., 3 1965, 102-104.

BECKER, H.: Comparative studies of the components of essential oils of the origin of *Pimpinella anisum*. Planta med. 18, 1970, s. 336-346.

BECKER, H.: Formation of volatile substances in plant tissue cultures. Biochem. A. Physiol. Pfl., 161, 1970b, s. 425-441.

COLLOMB, A.: Medicinal and aromatic plants. Situation as whole and prospects for the future. In: Conference monograph ao Congress on the environment and the quality of medicinal (and aromatic plants. Dijon, 17 - 19 April 1985, s. 23-32.

COSTA, A. F.: Materials for the study of aromatic Portuguese plants. Volatile oil of *Foeniculum vulgare*. Bol. Esc. farm., niv. Coimbra, 18, 1958, s. 1-13.

ČSN číslo 58 0110: Stanovení obsahu etherických olejů. Stanovení dest. s H₂O parou přímo, nebo extrakcí petroletherem, resp. oxidimetricky CrO₃. 1983.

ČSN číslo 58 0515: Kvalita semen anýzu, kmínu a koriandru. 1988.

ČSN číslo 56 9801: Obecná ustanovení ke kvalitě kořenů. 1974.

DEWEIN, H.: Investigations of absinthe substances (6-methoxy and 6-ethoxy-2-methylcoumarone). Seifen-Öle-Fette-Wachse, 81, 1955, s. 547-548.

EFRAN ALI, M. - MALEK, A. - HANAN, A.: Chemical investigation on *Pimpinella anisum* L.: Constituents of seed, root and stem. Sci. Res. (Daces, Pakistan)), 4, 1967, s. 105-110.

EL-DEEB - KARAWYA, M. S. - WABBA, S. K.: Chromatographic identification and separation of constituents of essential oils. J. pharm. Sci., U. Arab. Rep., 3, 1962, s. 41-61.

EL-DESH, S. R. - KARAWYA, M. S. - WABBA, S. K.: Chemical analysis of caraway oil. J. pharm. Sci. U. Arab. Rep., 3, 1962, s. 81-84.

EL-HAMIDI, A. - EL-GANGHINI, S.: Comparative studies of *Pimpinella anisum* of different origins grown in UAR. Egypt. pharm. Bull., 44, 1962, s. 43-46.

FARAG, R. S. - DAW, Z. Y. - ABO-RAYA, S. H.: Influence of some spice essential oils on *Aspergillus parasiticus* growth and production of aflatoxins in a synthetic medium. J. Fd Sci., 54, 1989, s. 74-76.

FRANZ, B.: Progress in essential oils. Perfum. and flavorist, 10, 1986, s. 43-51.

GORUNOVIC, M. - LUKIC, P.: Drogues aromatiques et huiles essentielles en Yougoslavie (Pharmacopee yougoslavie). Plantes Med. Phytother., 18, 1984, s. 80-86.

HADDAD, S. M.: Phytochemical investigation offruits of *Foeniculum capillaceim* var. dulce grown in Egypt. J. pharm. Sci. U. Arab. Rep., 5, 1964, (pub. 1965), s. 55-63.

HALVAE, S. - HIRVI, T. - HONKANEN, E.: Yield and glucosinolate of mustard seeds and volatile oils of caraway seeds (*Carum carvi*). J. Agric. Sci. Finland, 58, 1986, s. 163-167.

HEEGER, H. D.: Obtaining some valuable grain drugs by the use of modern procedures. Proc. Univ. Leipzig, Math Naturwiss, Riehe, 4, 1955, s. 293-299.

HEFENDEHL, K.: The use of GC for the analysis of the essential oil of *Mentha piperita*. J. Planta med., 10, 1962, s. 179-207.

- JUKNEVICIENE, G. - DAGYTE, S. - STANKEVICIENE, N.: Biological properties and essential oils of some spice plants grown at the Kaunas Botanical Garden. 2. Liet. TSR Mokslu Darb., Ser. C, 1977, (3), s. 9-16.
- KAROW, H.: Quality determining components of some spices. Riech. Aromen, Körperphlegen, 19, 1969, s. 60-62, 65-66.
- KAROW, H.: Stable component of some spices. Riech. Aromen, Körperphlegen, 18, 1968, s. 428, 430-432.
- KARTNIG, T. - SCHOLZ, G.: Component lipids of the fruits of *Pimpinella anisum* and *Carum carvi*. Fette, Seife, Anstrichm, 71, 1969, s. 276-280.
- KLIMEK: Properties of essential oils from Polish plants II. Roczn. Pantw. Zakl. Hig., 2, 1951, s. 91-100.
- LA FACE, D.: Some oils of wild plants of Lucania. Riv. ital. essenze, profumi, 39, 1957, s. 21-25.
- LIKENS, S. T. - NICKERSON, G. H.: Amer. Soc. Rew. Chem. Proc., 5, 1984.
- MALÝ, E.: The analysis of essential oils. Farmácia, 22, 1953, č. 1, s. 12-15, č. 2, s. 4-12.
- MILFAIT, R. - JANKOVSKÝ, M.: Příspěvek k izolaci těkavých látek kuřecího masa. Sbor. Vys. šk. zeměd., Fak. agron., řada A-C, 53, 1991, s. 49-59.
- Oborová norma 56 9740: Aromatické výtažky. 1977.
- Oborová norma 56 9744: Aromové oleje. 1981.
- Oborová norma 56 9745 a 56 9780: Vydutnost zdrojů aromat. olejů. 1984 a 1981.
- RAVID-UZI-POTIEVSKY-ELI-SNIR: The volatile components of oleoresins in the essential oils of *Foeniculum vulgare* in Israel. J. Nat. Prod., 46, 1983, s. 348-351. Chem. Abstr. 100, 13, 0999192, 1984.
- RIGANESIS, U.: Chromatographic methods for analysis of essential oils and their constituents. Essenze deriv. agrumari, 26, 1956, s. 29-61.
- SOLOWITSCH-CHIKETY: GC for fast analysis of ethereal oils in cultivation work. Compt. Rend. Acad. Bulgare Sci., 16, 1963, s. 661-664.
- SINE: Kmín 92. Výsledky státních odrůdových zkoušek. Brno, ÚKZUZ, 1993, s. 32.
- STRAUSS, D.: The essential oil content in ground spices. Dtsch. Lebensm.-Rdsch., 73, 1977, s. 332-334.
- TEITELBAUM, H.: New analytical techniques for essential oil and flavor research. Amer. perfu. Aromat. 67, 1957a, s. 28-30.
- TEITELBAUM, H.: Gas - partition chromatography applications to essential oils and other volatile materials. J. Soc. Cosmet. Chem., 8, 1957b, s. 316-327.
- TETENYI, P.: Chemotaxonomic aspects of essential oils. Herbs, spices and medicinal plants. Rec. advanc. Bot. Hort. Pharm., 1, 1986, s. 11-32.
- TREBS, A.: Valuations of crude drugs. Pharm. Pras. Beil. Pharm., 1965, č. 8, s. 189-190.
- TREUTNER, R.: Těkavé látky vybraných odrůd česneku setého (*Allium sativum* L.). [Kandidátská dizertace.] Praha 1986, 80 s. -Agronomická fakulta VŠZ.
- TUMILOWICZ, H.: Investigation on caraway seed. Acta Polon. Pharm., 15, 1958, s. 371-381.
- WAHID, I.: Standardisation of some local aromatic herbs. Pakistan. J. Sci. Ind. Res., 4, 1960, s. 40-41.
- WHEATLEY: Some applications of GC to cosmetology. Amer. perfum. Cosmet., 78, 1963, s. 27-30, 32-33.

Došlo 28. 7. 1993

JANKOVSKÝ, M. - PEŘINOVÁ, D. - PETR, J. (University of Agriculture, Praha-Suchdol): *A new method of isolation and determination of ethereal oils in spices and of their components*. *Zahradnictví*, 20, 1993 (4): 201-212.

Continuous distillation extraction method (CDE) of ethereal oils was tested with several types of spices using the LIKENS-NICKERSON apparatus. The method, together with the Gas chromatographic analysis (GC), provides quantitative data about the content of ethereal oils and its components and thereby gives information about the ethereal oil quality.

Ethereal oils content of sweet basil, fennel, nutmeg, cloves, caraway seed and anise was determined using CDE, as well as GC. When compared to other methods commonly used for ethereal oils determination, no substantial differences were found. Moreover, CDE with GC provided quantitative values as to the dominant compound and other ethereal oil components.

Using caraway seed, an extraction time of five to six hrs yielded more than 95% of ethereal oils. Extraction of four hrs may be sufficient for crushed materials. It is important, however, to extract the crushed raw material as soon as possible.

The conditions and reproducibility of the method were determined by repeated experiments. The optimal starting weight of the material, the optimal extraction agent, the conditions and rapidity of recirculation of solvents during the extraction and the conditions of quantitative analysis utilizing internal standard are proposed.

Experiments using other materials are in progress in order to verify the suitability and precision of the method. The method suggested is open to discussion.

ethereal oils; spices; caraway seed; determination of components; gas chromatography; Likens-Nickerson extraction

Adresa autorů:

Doc. ing. Miroslav Jankovský, CSc., ing. Dana Peřinová, prof. ing. Jiří Petr, CSc., Vysoká škola zemědělská, 160 21 Praha 6-Suchdol

ORGANOGENEZE VÝHONKŮ MALINÍKU (*RUBUS IDAEUS* L.) Z LISTOVÝCH DISKŮ

M. Janečková, J. Myslivečková, D. Čapková

JANEČKOVÁ, M. - MYSLIVEČKOVÁ, J. - ČAPKOVÁ, D. (Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský, Holovousy): *Organogeneze výhonků maliníku (Rubus idaeus L.) z listových disků*. Zahradnictví, 20, 1993 (4): 213-216.

In vitro regenerační technika listových disků byla aplikována na osm odrůd maliníku (Algonquin, Bulharský Rubín, Findus, Granát, Haida, Ljulin, Rutrago) a jedno novošlechtění LS 32/11. Všechny odrůdy a LS 32/11 maliníku, s výjimkou odrůdy Rutrago, která nebyla testována, byly negativní v testech na šťávu přenosné viry (ArMV, SLRV, ApMV, RRV a TomRSV). Odrůdy Bulharský Rubín reagovala nejrychleji v časovém intervalu za 34 - 35 - 38 - 51 dnů prorůstáním výhonků z listových disků. Relativně shodně odpověděly prorůstáním výhonků na listových discích odrůdy Granát a Algonquin v časovém intervalu 39 - 106 dnů. Pomaleji odpovídala odrůda Haida, která vytvořila výhonky na listových discích za 51 - 66 dnů. NŠ 32/11 odpovědělo tvorbou výhonků na listových discích za 78 dnů. Odrůdy Findus, Ljulin reagovaly pouze tvorbou mikrokalusů. Listové disky odrůdy Rutrago ztratily chlorofyl a nereagovaly vůbec.

Rubus idaeus L.; organogeneze; listové disky

In vitro regenerací maliníku z listových disků a osních segmentů se výzkumně zabývali Mc Nicol a Graham (1991). *In vitro* regenerační techniky listových disků využili pro zavedení transformačního systému pro maliník, ostružník a pro ostružino-maliník, který využívá binární vektorový systém *Agrobacterium tumefaciens* pro inzerci exogeních genů do rostlin (Graham aj., 1990).

Cílem práce byla aplikace *in vitro* regenerační techniky listových disků na odrůdy maliníku (*R. idaeus* L.). Spojení *in vitro* regeneračního systému listových disků s transformačními technikami nám umožní získat transformované rostliny maliníku.

MATERIÁL A METODY

Pro aplikaci *in vitro* regenerační techniky listových disků bylo použito osm odrůd a jedno novošlechtění maliníku (tab. I). Všechny odrůdy maliníku pocházely z ozdravovacího programu, s výjimkou odrůdy Rutrago, a byly testovány na přítomnost šťávu přenosných virů bylinnými testy a metodou ELISA (ArMV, SLRV, ApMV, RRV, TomRSV). Jejich reakce byly negativní.

Listové disky maliníku byly odebírány v termínech 4. 1., 25. 3., 20. 5. a 21. 5. 1991. Byly vyříznuty v podmínkách sterilního boxu BSB 3 GELAIRE za pomoci pinzety a skalpelu na Petriho miskách ze střední partie středně starých listů meristémových kultur, které byly ve fázi multiplikace. Skalpelem byly naříznuty

I. Odrůdy a novošlechtění maliníku použité pro regenerační techniku listových disků – Varieties and new selection of raspberry used for the regeneration technique of leaf discs

| Odrůda ¹ | Primární nasazení ² LD | Počet ³ LD | Počet ³ EBm |
|---------------------|-----------------------------------|-----------------------|------------------------|
| Rutrigo | 4. 1. 1991 | 6, 6 | 2 |
| Algonquin | 20. 5. 1991 | 6, 6 | 2 |
| Bulharský Rubín | 20. 5. 1991 | 6, 9 | 2 |
| Granát | 20. 5. 1991 | 6, 9 | 2 |
| NŠ LS 32/11 | 20. 5. 1991 | 6, 9 | 2 |
| Haida | 20. 5. 1991 | 6, 6, 7 | 3 |
| Bulharský Rubín | 21. 5. 1991 | 6, 6 | 2 |
| Findus | 21. 5. 1991 | 7, 7 | 2 |
| Ljulin | 21. 5. 1991 | 9, 7, 6 | 3 |
| Celkem ⁴ | | 135 | 20 |

Vysvětlivky – Explanations:

LD = listové disky – leaf discs

EBm = Erlenmayerova baňka malá – small Erlenmayer flask

¹variety, ²primary setting, ³number, ⁴total

silnější žilky nervatury listových disků. Vyříznuté listové disky maliníku by primárně nasazeny na pevné regenerační médium A-33 do Erlenmayerových baněk (EBm) tak, aby jejich vrchní strany byly v kontaktu s médiem.

Listové disky maliníku v EBm byly kultivovány 3 - 4 týdny v podmínkách tmy při teplotě 26 °C v biologickém termostatu BT 120 (Laboratorní přístroje, Praha).

Po 3 - 4 týdenní kultivaci ve tmě byly v EBm přeneseny na čerstvém regeneračním médiu A-33 do upraveného biologického termostatu BT 120, kde byly pěstovány při teplotě 26 °C v režimu 16 hodin světla a 8 hodin tmy.

VÝSLEDKY

Listové disky maliníku odpovídaly, obvykle v závislosti na odrůdě, nejdříve tvorbou mikrokalusů lokalizovaných na okraje disků a na silnější žilky nervatury. Barva listových disků maliníku se měnila v průběhu kultivace a subpasáží od zelené přes světlezelenou, zelenožlutou, béžovou, světle hnědou až po hnědou. Rovněž barva mikrokalusů se měnila od bílé, béžové, zelené přes světle hnědou až po hnědou.

Na listových discích odrůd Bulharský Rubín, Algonquin (nová kanadská odrůda, Mr. Daubeny), Granát, Haida a novošlechtění maliníku LS 32/11 (ŠS Velké Losiny) se vytvořily výhonky v časovém intervalu 34 - 35 - 38 - 39 - 51 - 66 - 78 - 106 dnů po primárním nasazení. Listové disky odrůd Findus a Ljulin reagovaly pouze mikrokalusy, odrůdy Rutrigo ztratily chlorofyl a nereagovaly.

Somaklonální variabilita listových disků osmi odrůd a jednoho novošlechtění maliníku je uvedena v tab. II.

II. Výsledky organogeneze maliníku. Somaklony maliníku indukované *in vitro* regenerační technikou listových disků (LD) – Results of raspberry induced *in vitro* by regeneration technique of leaf discs (LD)

| Odrůda ¹ | Médium ² | Regeneranti (dny po primárním nasazení) ³ | Odpověď listových disků maliníku ⁴ | | | |
|----------------------|---------------------|--|---|---|---|---|
| | | | počet LD ⁵ | | | počet výhonků celkem ⁹ |
| | | | nasaze- ných ⁶ | s mikro- kalusy ⁷ | s regene- rujícími výhonky ⁷ | |
| Bulharský Rubín | A-33 | 34, 38 | 12 | 12 | 2 | 5 |
| Bulharský Rubín | A-33 | 35, 51 | 15 | 13 | 2 | 5 |
| Algonquin | A-33 | 39, 106 | 12 | 10 | 2 | 3 |
| Granát | A-33 | 39 | 15 | 14 | 1 | 1 |
| Haida | A-33 | 51 | 19 | 11 | 2 | 2 |
| LS 32/11 | A-33 | 78 | 15 | 14 | 1 | 1 |
| Findus | A-33 | 21 | 14 | 1 | 0 | 0 |
| Ljulin | A-33 | 21, 27 | 22 | 9 | 0 | 0 |
| Rutrigo | A-33 | 24 | 12 | bez reakce, ztráta chlorofylu ¹¹ | 0 | 0 |
| Celkem ¹⁰ | | 34-35-38- 39-51-78 | 136 | 84 | 10 | 17 |

A-33 medium (L a i m e r et al., 1988)

¹variety, ²medium, ³regenerants (days after primary setting), ⁴response of raspberry leaf discs, ⁵number of leaf discs, ⁶set, ⁷with microcalluses, ⁸with regenerating offshoots, ⁹total number of offshoots, ¹⁰total, ¹¹without reaction, loss of chlorophyll

V roce 1992 bylo připraveno 77 rostlin maliníku získaných meristémovou kulturou a technikou listových disků pro srovnávací testy na poli. Rozsah souborů je limitován ekonomicky.

Zvládnutí *in vitro* regenerační techniky listových disků, umožňuje poznání somaklonální variability maliníku a její potenciální využití při vnášení definované exogenní DNA do genomu maliníku.

Literatura

GRAHAM, J. - MC NICOL, R. J. - KUMAR, A.: Use of the GUS gene as a selectable marker for *Agrobacterium*-mediated transformation of *Rubus*. Pl. Cell. Tissue and Organ Cult., 20, 1990, s. 35-39.

Mc NICOL, R. J. - GRAHAM, J.: *In vitro* regeneration of *Rubus* from leaf and stem segments. Pl. Cell. Tissue and Organ Cult., 21, 1990, s. 45-50.

JANEČKOVÁ, M. - MYSLIVEČKOVÁ, J. - ČAPKOVÁ, D. (Research and Breeding Institute of Pomology, Holovousy): *Organogenesis of raspberry offshoots from leaf discs*. Zahradnictví, 20, 1993 (4): 213-216.

In vitro regeneration of leaf disc technique was applied on eight raspberry varieties (Algonquin, Bulharský Rubín, Findus, Granát, Haida, Ljulin, Rutrago) and one new selection LS 32/11. All raspberry varieties and new selection LS 32/11 were negative in tests for sap-transmissible viruses (ArMV, SLRV, ApMV, RRV and TomRSV) with Rutrago which was not indexed. Raspberry variety Bulharský Rubín reacted the fastest by shoot differentiation on leaf discs in time interval of 34 - 35 - 38- 51 days. Varieties Granát and Algonquin responded relatively identically by shoot differentiation on leaf discs in time interval of 39 - 106 days. The variety Haida responded slower by shoot differentiation on leaf discs in time interval 51 - 60 days. Raspberry new selection LS 32/11 reacted after 78 days through shoot differentiation on leaf discs. The varieties Findus and Ljulin answered by the formation of microcallus solely. Leaf discs of the variety Rutrago lost chlorophyll and did not react at all.

Rubus idaeus; leaf discs; organogenesis

Adresa autorek:

Ing. Marie Janečková, CSc., Jana Myslivečková, Dagmar Čapková, Výzkumný a šlechtitelský ústav ovocnářský, 507 51 Holovousy

CITLIVOST VYRAŠENÝCH PUPENŮ RÉVY VINNÉ K IMITACI JARNÍHO MRAZU V ZÁVISLOSTI NA PROSTŘEDÍ

M. Hubáčková

HUBÁČKOVÁ, M. (Výzkumná stanice vinařská, Karlštejn): *Citlivost vyrašených pupenů révy vinné k imitaci jarního mrazu v závislosti na prostředí. Zahradnictví, 20, 1993 (4): 217-222.*

Na konci zimy 1992 a 1993 jsme ve speciálních mrazicích komorách s regulovaným teplotním režimem stanovili citlivost vyrašených pupenů révy vinné vůči mrazu $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\pm 0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$), které byly bezprostředně před mrazovým stresem umístěny v průběhu dne po dobu 5 a dále 4, 8 a 11 dní ve venkovním a laboratorním prostředí. Pro hodnocení citlivosti jsme vybrali pupeny vyrašené na jednopupenových řízcích ve skleníku a nacházející se ve stejném stadiu vývoje. Získané výsledky naznačují, že vůči jarnímu mrazu jsou více citlivé ty vyrašené pupeny, které jsou před mrazovým stresem umístěny ve venkovním prostředí. Ve skleníku vyrašené a uměle infikované pupeny epifytními bakteriemi *Pseudomonas syringae* ($c = 10^{-7}$ c FV/ml) však neprokázaly vyšší citlivost vůči mrazu, než vyrašené pupeny stejného vývojového stadia bez umělé infekce.

réva vinná; vyrašené pupeny; venkovní a laboratorní prostředí; *Pseudomonas syringae*; imitace jarního mrazu; škody

Pro určení odolnosti odrůd révy vinné vůči zimním mrazům se v kontrolovaném prostředí používá, kromě jiných metod, hodnocení podle životnosti pupenů po stresech v mrazicích komorách s regulovaným teplotním režimem. Životnost pupenů se hodnotí buď podle zbarvení os na řezech pupenů, nebo podle podílu vyrašených pupenů na jednopupenových řízcích umístěných bazálním koncem ve vodě. Při druhém způsobu hodnocení životnosti se nabízí možnost využít rašící nepoškozené pupeny šlechtitelských forem révy vinné pro stanovení výše odrůdové citlivosti také vůči jarním mrazům.

Pro vypracování diagnostiky citlivosti révy vinné k jarním mrazům v kontrolovaném prostředí už v zimním období je možné použít uveřejněné experimentální údaje o účincích nukleárně aktivních bakterií a jiných nukleárních substantiv (L u i s e t t i, 1978; A n d e r s o n aj., 1982 a 1987; A s h w o r t h aj., 1985; L u i s e t t i aj., 1991 a další), chybí však dostatek podkladů o rozdílech v poškození rašících pupenů, když jsou před mrazovými stresey uchovávány v laboratorním a venkovním prostředí.

Předložená práce chce přispět k posouzení komplexního účinku faktorů dvou prostředí, laboratorního a venkovního, na výši destrukce rašících pupenů po imitaci jarních mrazů v kontrolovaném prostředí mrazicích komor.

MATERIÁL A METODY

Rašící pupeny révy vinné jsme pro stanovení rozdílů v citlivosti vůči jarním mrazům připravili následujícím způsobem: V polovině března 1992 jsme odřezali z keřů révy vinné odrůd Ryzlink rýnský, Müller-Thurgau a Sylvánské zelené jednoleté výhony průměrné síly, které jsme rozřezali na jednopupenové řízky a nechali v laboratoři vyrašit. V roce 1993 jsme stejným způsobem a ve stejné době připravili rašící pupeny odrůdy Ryzlink rýnský.

Z větších souborů rašících pupenů jsme 3. dubna 1992 z každé odrůdy vybrali 2 x 60 pupenů ve stejném stadiu, a to těsně před rozvinutím prvního lístku, které jsme rozdělili do čtyř stejně velkých opakování. Prvních 60 řízků s rašícími pupeny jsme nadále ponechali v laboratoři s teplotou 20 - 23 °C, druhých 60 rašících pupenů jsme pět za sebou následujících dní přenášeli na 4 - 6 hodin denně do venkovního prostředí. Potom jsme obě varianty rašících pupenů vložili do tmavé mrazicí komory vytemperované na teplotu -4 °C ± 0,3 °C na dobu čtyř hodin. Po uplynutí tohoto času jsme obě varianty přenesli do laboratoře a po 10 dnech jsme stanovili procento mrazem zničených rašících pupenů.

V následujícím roce jsme stejným způsobem stanovili citlivost rašících pupenů vůči jarním mrazům u odrůdy Ryzlink rýnský, které byly před expozicí v mrazu -4 °C ± 0,3 °C (4 hodiny) umístěny 4, 8 a 11 dní po dobu 6 - 8 hodin denně ve venkovním prostředí. Pro všechny varianty byly opět vybrány takové pupeny, které měly v den výběru (8. 4. 1993), den před expozicí ve venkovním prostředí, pupeny ve stadiu těsně před rozvinutím prvního lístku. Po 11 dnech expozice v laboratorním i venkovním prostředí měly rašící pupeny obou variant rozvinuté 2 - 3 lístky. V každé variantě bylo 60 vyrašených pupenů rozdělených po 15 pupenech do čtyř opakování. Životnost rašících pupenů po mrazovém stresu jsme vyhodnotili vždy za 10 - 12 dní ode dne, kdy byly vystaveny mrazovému stresu.

V zimě 1992 jsme v kontrolovaném prostředí určili také životnost pupenů vyrašených na jednopupenových řízcích ve skleníku, které jsme dva dny před expozicí v mrazu -4 °C ± 0,3 °C uměle infikovali bakteriemi *P. syringae* ($c = 10^{-7}$ c FV/ml) a životnost pupenů, které jsme den po infekci bakteriemi *P. syringae* stejné koncentrace ošetřili ještě 1% roztokem přípravku Frostgard a až potom vystavili působení mrazu -4 °C v mrazicí komoře na dobu čtyř hodin. Pupeny kontrolní varianty byly bez umělé infekce bakteriemi a bez ošetření přípravkem Frostgard. Pokus jsme opakovali ve třech termínech, a to 3., 4. a 5. března 1992 (termín mrazového stresu). Každá varianta zahrnovala 45 pupenů.

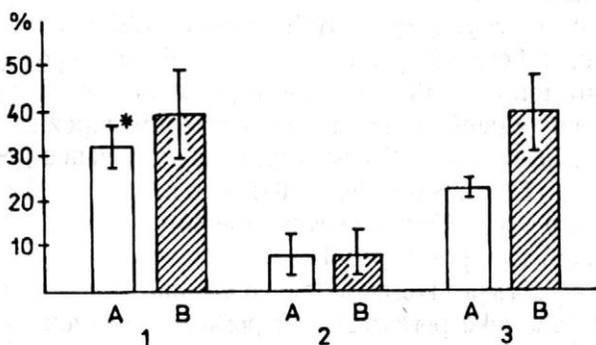
Jednopupenové řízky byly vždy, i v době mrazového stresu, ponořené bazálním koncem ve vodě v krabičkách z umělé hmoty. Pupeny byly nad hladinou vody udržovány nad krabičkou napnutou polyetylenovou fólií.

Průměrná denní maximální teplota byla v Karlštejně v roce 1992 v době pěti dní před mrazovým stresem (expozice pupenů ve venkovním prostředí) 11,8 °C, v dubnu 1993 v prvních čtyřech dnech před mrazovým stresem 16,3 °C, v 8 dnech 18,8 °C a 11 dnech 21,1 °C. V laboratoři v roce 1992 kolísala teplota od 20 do 23 °C, v roce 1993 od 22 do 26 °C.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky uvedené na obr. 1 naznačují, že mrazem $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ byly v regulovaném prostředí mrazicích komor více poškozeny rašící pupeny, které byly bezprostředně před mrazovým stresem udržovány alespoň část dne ve venkovním prostředí, než rašící pupeny umístěné v laboratoři. Větší rozdíly jsou u odrůd Sylvánské zelené a Ryzlink rýnský, u odrůdy Müller-Thurgau nebyl v podílu zničených pupenů obou skupin žádný rozdíl. Je možné předpokládat, že příčinou vyššího poškození rašících pupenů, které byly pět po sobě následujících dnů před mrazovým stresem na 4 až 6 hodin denně přenesené z laboratoře do venkovního prostředí, byl vyšší obsah nukleárně aktivních epifytních bakterií na povrchu os a lístků. Vyplývá to z příznivějších teplotních podmínek pro aktivitu bakterií vytvářejících nukleární jádra pro tvorbu ledových krystalů při nižších teplotách venkovního prostředí (Anderson aj., 1987). Ve venkovním prostředí byla v době pěti dnů před mrazovým stresem průměrná denní maximální teplota $11,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (od $6,3$ do $14,3\text{ }^{\circ}\text{C}$), zatímco průměrná denní teplota v laboratoři byla o $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ vyšší.

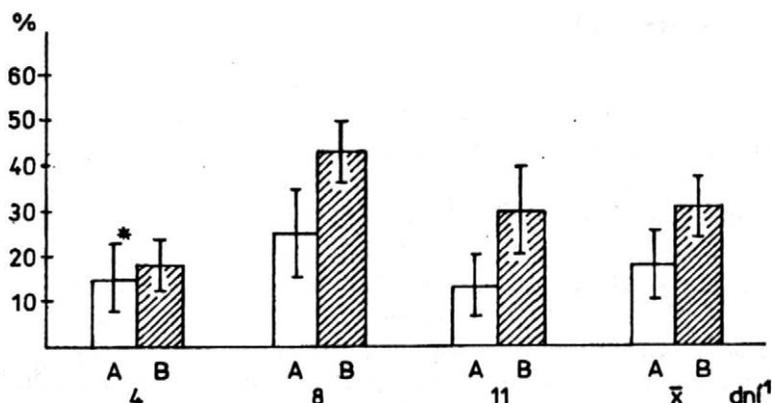
Stejně výsledky jsme získali i v roce 1993, kdy jsme sledovali citlivost rašících pupenů k mrazu pouze u odrůdy Ryzlink rýnský po třech expozicích venkovním podmínkám, a to 4, 8 a 11 dní 6 - 8 hodin denně. Mrazovým stresem bylo zničených nejvíce vyrašených pupenů, resp. mladých os s rozvíjejícími se lístky v té skupině, která byla denně přenášena do venkovního prostředí (obr. 2). nejmenší rozdíl mezi citlivostí vyrašených pupenů k mrazu umístěných před stresem v laboratorním i venkovním prostředí jsme zjistili ve variantách se čtyřdenní expozicí, tj. po



1. Průměrné procento v mrazicí komoře teplotou $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ zničených vyrašených pupenů tří odrůd révy vinné vystavených před působením mrazu 5 dní po dobu 4 - 6 hodin denně venkovním podmínkám (B) a umístěných jen v laboratoři (A). Mrazový stres 3. dubna 1993 – Mean percentage of damaged burst buds of 3 grapevine cultivars after frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in artificial conditions exposed before frost for 5 days during 4 - 6 hours to daily outdoor conditions (B) and laboratory conditions (A). Frost stress on April 3, 1993

1 = Ryzlink rýnský – Riesling Rhine,
2 = Müller-Thurgau,

3 = Sylvánské zelené – Grüner Silvaner,
* = $s\bar{x}$



2. Průměrné procento v mrazicí komoře teplotou $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ zničených vyrašených pupenů odrůdy Ryzlink rýnský umístěných před působením mrazu po dobu 4, 8 a 11 dní na 6 - 8 hodin denně ve venkovních podmínkách (B) a umístěných jen v laboratoři (A). Termín začátku expozice ve venkovním prostředí 8. dubna 1993 – Mean percentage of damaged burst buds after frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in freezing box in Riesling Rhine cultivar exposed 6 - 8 hours daily during 4, 8 and 11 days to outdoor conditions (B) and laboratory conditions (A). Time of exposure beginning to outdoor conditions - on April 8, 1993

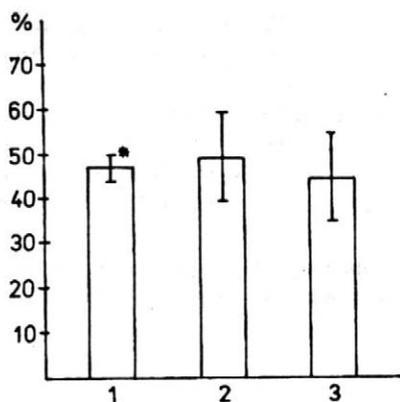
* = $s\bar{x}$

¹days

nejkratší sledované době. Po osmi dnech expozice venkovnímu prostředí byl celkový podíl mrazem zničených vyrašených pupenů vyšší u obou skupin, ale po 11 dnech jen u pupenů přenášených přes den do venkovního prostředí.

Jsmo si vědomi toho, že při uvedeném uspořádání pokusu byl celkový podíl mrazem zničených pupenů ovlivněn nejen trváním expozice ve venkovních podmínkách, ale také změnou citlivosti vůči mrazu vyvolanou postupným růstem vyrašeného pupenu (Johnson aj., 1981; Andrews, 1983; Vachůn, 1990; Hubáčková, 1993), zvyšováním teploty v laboratoři i ve venkovním prostředí a v té souvislosti pravděpodobně i s poklesem aktivity epifytních bakterií tvořících nukleární jádra pro tvorbu ledových krystalů (Anderson aj., 1987).

V zimě 1992 jsme také porovnali výši poškození mrazem $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$, resp. podíl zničených pupenů vyrašených na jednopupenových řízcích uměle infikovaných suspenzí bakterií *P. syringae*, bez umělé infekce (kontrola) a pupenů infikovaných bakteriemi a kromě toho ještě ošetřenými 1% přípravkem Frostgard (přípravek registrovaný na ochranu před jarními mrazy). Hodnoty $s\bar{x}$ v obr. 3 naznačují, že o málo vyšší podíl vyrašených pupenů ve variantě ošetřené suspenzí bakterií v porovnání se dvěma dalšími variantami není statisticky průkazný. Z těchto údajů je možné vyvodit, že expozice pupenů ve venkovním prostředí by pravděpodobně pro účely detekce citlivosti révy vinné k jarním mrazům v laboratorním prostředí ne-



3. Průměrné procento v mrazící komoře teplotou -4 °C zničených vyrašených pupenů odrůdy Ryzlink rýnský před mrazovým stresem ošetřených suspenzí bakterií *P. syringae* a suspenzí bakterií a postřikem přípravkem Frostgard (1%) – Mean percentage of damaged burst buds after frost -4 °C in Riesling Rhine cultivar before frost stress inoculated by *P. syringae* and beside inoculation by *Pseudomonas syringae* sprayed by Frostgard (1%)

1 = Kontrola - bez ošetření suspenzí *P. syringae* – Control - without inoculation by *P. syringae*

2 = Vyrašené pupeny před mrazovým stresem ošetřené suspenzí *P. syringae* ($c = 10^{-7}$ c FV/ml) – Burst buds before frost stress inoculated by *P. syringae* ($c = 10^{-7}$ c FV/ml)

3 = Vyrašené pupeny před mrazovým stresem ošetřené suspenzí *P. syringae* ($c = 10^{-7}$ c FV/ml) a 1% přípravkem Frostgard – Burst buds before frost stress inoculated by *P. syringae* ($c = 10^{-7}$ c FV/ml) and sprayed by Frostgard (1%)

* = \bar{x}

mohla být v dostatečné míře nahrazena umělou infekcí bakteriemi *P. syringae*, alespoň za podmínek popsaných v této práci.

Literatura

ANDERSON, J. A. - BUCHANAN, D. W. - STALL, R. E. - HAL, C. B.: Frost injury of tender plants increased by *Pseudomonas syringae* van Hall. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 107, 1982, č. 1, s. 123-125.

ANDERSON, J. A. - ASHWORTH, E. N. - DAVIS, G. A.: Nonbacterial ice nucleation in peach shoots. J. Amer. Soc. Hort., 112, 1987, č. 2, s. 215-218.

ANDREWS, P. K. - PROEBSTING, E. L. - GROSS, D. C.: Differential thermal analysis and freezing injury of deacclimating peach and sweet cherry reproductive organs. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 108, 1983, č. 5, s. 755-759.

ASHWORTH, E. N. - ANDERSON, J. A. - DAVIS, G. A.: Properties of ice nuclei associated with peach trees. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 110, 1985, č. 2, s. 287-291.

HUBÁČKOVÁ, M.: Citlivost révy vinné k jamám mrazům. Zahradnictví, 20, 1993, č. 2, s. 121-128.

JOHNSON, D. E. - HOWELL, G. S.: Factors influencing critical temperatures for spring freeze damage to developing primary shoots on Concord grapevines. Amer. J. Enol. Viticult., 32, 1981, č. 2, s. 144-149.

LUISETTI, M.: L'influence du gel sur le developement des phyto bacterioses. In: Lutte contre les gelées, Paris, INVUFLEC 1978, s. 89-98.

LUISETTI, J. - GAIGUARD, L. - DEVAUX, M.: *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* as one of factors affecting the ice nucleation of grapevine buds on controlled conditions. J. Phytopathol., 133, 1991, s. 334-344.

VACHŮN, Z.: Hodnocení odolnosti plodů nových hybridů meruněk k pozdním jarním mrazům v letech 1989 - 1990. Acta Univ. Agric. B, Fac. Hort., 5, 1990, č. 1, s. 15-26.

Došlo 23. 8. 1993

HUBÁČKOVÁ, M. (Research Station of Viticulture, Karlštejn): *Sensitivity of grapevine burst buds to spring frost imitation in dependence on exposure to environment*. Zahradnictví, 20, 1993 (4): 217-222.

The sensitivity of burst buds in laboratory on one-bud cuttings was determined in: 1. Riesling Rhine, Müller-Thurgau and Grüner Silvaner cultivars after exposure to frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4 hours) in programmable freezing chamber. The burst buds at the same developmental stage were before frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ exposed for 5 days during 4 - 6 hours daily to outdoor and a whole day to laboratory conditions; 2. Riesling Rhine cultivar after frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ in freezing chamber. The burst buds at the same developmental stage were before frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ exposed for 4, 8 and 11 days during 6 - 8 hours daily outdoor and whole day to laboratory conditions; 3. Riesling Rhine cultivar which was before frost stress $-4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,3\text{ }^{\circ}\text{C}$ (4 hours) inoculated with *P. syringae* ($c = 10^{-7}$ c FV/ml) and beside inoculation *P. syringae* sprayed by 1% Frostgard preparation. Results in Figs. 1 and 2 suggest that the burst buds removed daily under outdoor conditions are more sensitive to frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ in comparison with those kept in the laboratory all the time. We presupposed that it owing to the great number of ice nucleation bacteria in burst buds kept under outdoor conditions. But on the other side, in the glasshouse burst buds and before frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ infected by suspension of *Pseudomonas syringae* bacteria did not prove significantly higher sensitivity to frost $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$ than in burst buds of the same developmental stage without infection by suspension of *P. syringae* (Fig. 3).

grapevine; burst buds outdoor and laboratory medium; *Pseudomonas syringae*; imitation of spring frosts; damages

Adresa autorky:

Ing. Marta H u b á č k o v á , DrSc., Výzkumná stanice vinařská, 267 18 Karlštejn 98

THE USE OF SOME URBAN PARK WOODY SPECIES IN AN ESTIMATION OF AIR POLLUTION LEVEL. TOTAL LEAF PEROXIDASE AND CATALASE ACTIVITIES

I. Suchara

SUCHARA I. (Research Institute of Ornamental Horticulture, Průhonice): *The use of some urban park woody species in an estimation of air pollution level. Total leaf peroxidase and catalase activities.* Zahradnictví, 20, 1993 (4): 223-239.

Peroxidase and catalase activities in pine (*Pinus strobus*) and yew (*Taxus baccata*) one and two-year old needles were measured at 12 localities within Prague for 3 years. Average length of annual branch shoots of trees and shrubs under investigation was measured. Enzyme activities were found to be frequently the highest at intraurban localities while activities in outskirts were permanently lower. The enzymes in two-year old needles were significantly more active than in a year old needles. Peroxidase activities were higher in pine needles and in winter seasons than in yew needles and in summer seasons. Catalase was significantly less active in pine than in yew needles while seasonal differences were not substantial. Significant differences in peroxidase activities between couples of given localities were found for 19 pairs and in catalase for 8 couples. Good correlation between enzyme activities and air SO₂ concentrations were calculated for autumn and spring seasons. In winter and summer seasons the correlation was weak or even negative. This phenomenon may be explained by not fully synchronized natural course of enzyme activities during a year and seasonal SO₂ concentration course. Starch electrophoresis did not show any substantial differences in the number and activity of peroxidase isoenzymes in needles of investigated plants. Momentary leaf enzyme activities were found to be rather an indicator of suitability of the locality environment for given woody species than an indicator of SO₂ pollution load at the locality.

pollution; peroxidase; catalase; pine; yew; urban environment

Since the 1970s it has been suggested that activities of some leaf enzymes might be particularly useful as indicators of air pollution. From many enzymes the peroxidases and the catalase have been most investigated often.

The enzyme peroxidase (E.C. 1.11.1.7) consists of several (2 - 13) various forms (isoenzymes) which were found to be present in all parts of plant bodies (S t i c h e t E b e r m a n n , 1988). The enzyme may play diverse roles in plants and not all of its functions have been fully revealed. Peroxidase isoenzymes can decompose peroxide, take part in lignine formation in the form of polyphenol oxidase, and can oxidize IAA (G a s p a r e t a l . , 1982). Catalyzing oxidative reactions, various substrates such as phenolic compounds or aromatic amines as hydrogen donors are used by the isoenzymes (D a n g e r e t R e d d y , 1984).

Accelerated activity of total leaf peroxidase was observed under the influence of diverse pollutants such as fluorides (Keller et Schwager, 1971), ozone (Patton et Garraway, 1986), sulphur dioxide (Katainen et al., 1984; Horsman et Wellburn, 1975), exhaust gases (Flückiger et al., 1978), acid rain (Manes et al., 1987), nitrogen oxides (Horsman et Wellburn, 1977), hydrogen-chloride (Endress et al., 1980) etc. in both in single or in combinations. The mechanism of rising peroxidase activity under pollutant effects is not exactly known. The increased enzyme activity is most often explained, e.g. as an action of appeared air-borne gaseous H_2O_2 or hydrogen peroxide formed in plant tissues as a consequence of oxidizing pollutant actions (Slanina et al., 1985). Peroxidase isoenzymes are supposed to be activated during natural tissue senescence and during processes of recovering the plant parts injured either by pollutants or by herbivorous pests. It is also not evident if the accelerated enzyme activity is the result of the releasing of further inactive enzyme forms „hidden“ in cell structures till they are disrupted or if pollutants induce increased synthesis of the isoenzymes de novo. Whatever it may be, the accelerated activity of peroxidases is considered to be a timely marker of the action of pollutants even at a time when any visible injury of plants cannot be observed (Keller, 1974).

Increased leaf peroxidase activities under the influence of urban habitats was reported as well, e. g. in Zürich (Martin et Keller, 1974), Darmstadt (Höllwarth et Rump, 1979) and others. The effects of different levels of urbanization in the city of Oulu were indicated by peroxidase activity in fine roots of Scots Pine (Markkola et al., 1990).

In this country peroxidase activity has been used only rarely for the monitoring of air pollution levels (Penka et Čermáková, 1985; Polek et Frič, 1981).

The enzyme catalase (E.C. 1.11.1.6) is an oxidizing and reducing agent catalyzing the decomposition of H_2O_2 which is simultaneously both a donor of hydrogen and an acceptor of electrons. The enzyme is presumed to have appeared only in one isoenzyme (tetramer quaternary structure) located in a subcellular microbody (peroxisomes). The catalase behaves in many ways similar to the previous enzyme (De Filipe et al., 1988; Braber, 1980) but upon the action of pollutants it reacts much less distinctly. That is why it is scarcely used for the same purposes as is the peroxidase (Däsler et Ranft, 1967; Sarkar et al., 1986).

MATERIAL AND METHODS

Leaf enzyme activities were measured in woody species growing within the city of Prague at places of different assumed air pollution levels from 1986 until the beginning of 1989. Two species were investigated: white pine (*Pinus strobus*) and common yew (*Taxus baccata*). The former is believed to be very sensitive to all main air pollutants while the latter is rated to be resistant to the loads of urban habitat (Höllwarth, 1988; Sucoff et Bailey, 1971).

Within the city, 10 localities of pine trees and 12 of yew shrubs were chosen. Tab. I specifies the localities, the occurrence of woody species and lists the nearest station to the each chosen locality where SO₂ pollution was measured. The spreading of the localities and the annual pattern of average yearly SO₂ concentrations in Prague can be seen in Fig. 1. Localities 1 to 5 were laid out in the urban margin, the locality 6 was placed on a hill in the city centre, the localities 7 to 10 are intraurban parks, and the localities 11 and 12 represent an area where the environment of urban street dominates.

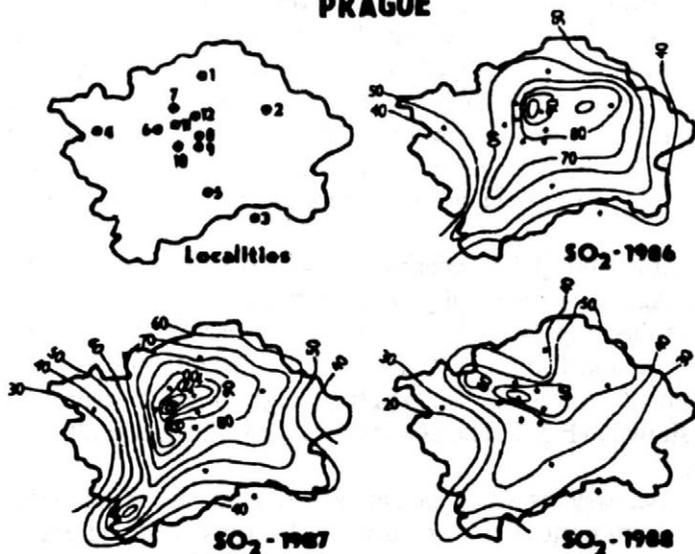
Pollution levels during a period of five years (1985 - 1989) show that, in the Prague's outskirts the average of average daily concentrations of sulphur dioxide was 40 µg/m³ and of flying dust was 60 µg/m³. In the central parts of the city the averages were 110 µg SO₂/m³ and 120 µg of flying dust/m³. The monthly average of SO₂ concentrations counted from daily averages (µg SO₂/m³) and measured in the monitoring points are shown in Fig. 2. The SO₂ levels indicate the total pollution loads at chosen localities.

End parts of twigs of chosen species were taken at individual localities quarterly. Specimens were collected from eastern sides of trees and shrubs at the height of 1.5 - 2.5 m above ground and the samples were taken between 7 - 11 a. m. The

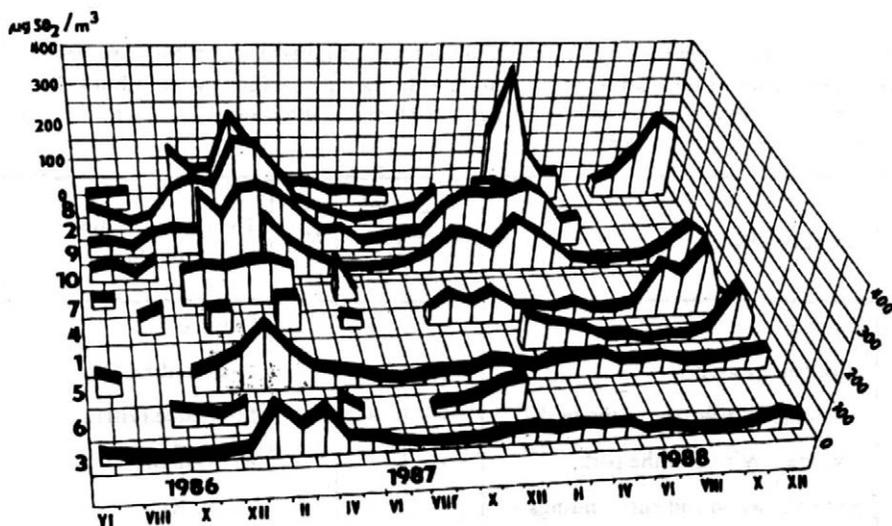
I. Chosen localities within the city of Prague, occurrence of investigated woody species on them, and the nearest stations measuring SO₂ pollution – Seznam a označení vybraných lokalit v Praze s výskytem sledovaných dřevin a seznam nejbližších stanic u vybraných lokalit (1-10), kde se měřily koncentrace SO₂ v ovzduší

| No. | Locality - Prague | Analysed species | | No. | The nearest station measuring SO ₂ |
|-----|--------------------------------------|------------------|-----|-----|---|
| | | Pine | Yew | | |
| 1 | Ďáblice - tree nursery | + | + | 1 | Ďáblice |
| 2 | Hloubětín - gardens | + | + | 2 | Poděbradská St. |
| 3 | Průhonice - NW part of the park | + | + | 3 | Modletice (village) |
| 4 | Hvězda - W part of the park | + | + | 4 | Alžírská St. |
| 5 | Krč - the wood and surroundings | + | + | 5 | Libuš, Krč |
| 6 | Petřín - E slopes of the hill | + | + | 6 | Vlašská st. |
| 7 | Stromovka - central part of the park | + | + | 7 | Svoboda Square |
| 8 | Riegrovy sady - the park | + | + | 8 | Makarenkova St., Italská St. |
| 9 | Havlíčkovy sady - the park | + | + | 9 | Šrobárova St. |
| 10 | Karlovo náměstí - the park | + | + | 10 | Karlov |
| 11 | Invalidovna - nearby a street | - | + | - | - |
| 12 | Jindřišská - street by a church | - | + | - | - |

PRAGUE



1. Locality distributions and patterns of isolines of average SO_2 concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) in Prague during the given years – Rozmístění lokalit a průběh izochar průměrných ročních koncentrací SO_2 v uvedených letech na území Prahy



2. Courses of average month SO_2 concentrations ($\mu\text{g}/\text{m}^3$), assume that they were measured at measuring places located in the vicinity of the locality 1-10 – Průběh průměrných koncentrací SO_2 v ovzduší ($\mu\text{g}/\text{m}^3$) na měřicích stanicích nejbližších k lokalitám (1-10), pokud měření probíhala

samples were stored with ice in vacuum flasks and analyzed the next day. One and two year old needles were homogenized and extracted in phosphate buffer. Catalase activity was determined directly in the extract and results were given in milimoles of decomposed H_2O_2 by enzyme from 1 g of fresh needles for 1 minute (P o č i n o k ,

1976). Total peroxidase activity was measured after centrifugation of the extracts and was given as a transmittance (absorbance) of the reaction mixture: crude enzyme, p-phenyldiamine, and H₂O₂ for 2 minutes. R a c z e k et S t o - l a r e k (1979) described the kept methods in details. The average of duplicate measuring of each sample was taken in the next count.

The starch electrophoresis was used to recognize the number of peroxidase isoenzymes and their activities in individual observed trees and shrubs at the localities. Several screening runs were carried out in Tris-citrate electrode and gel buffers. Isoenzyme band patterns were developed both by p-phenyldiamine and amino-ethylcarbasole staining solutions (W e n d e l et W e e d e n , 1989).

At the end of each year, the length of the end parts of twigs (spring shoots) were measured and the mean of 20 measurements for each species was calculated at individual localities.

The results were computed and analysed using variance and regression analysis.

RESULTS

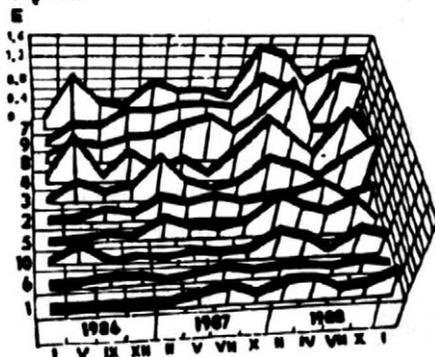
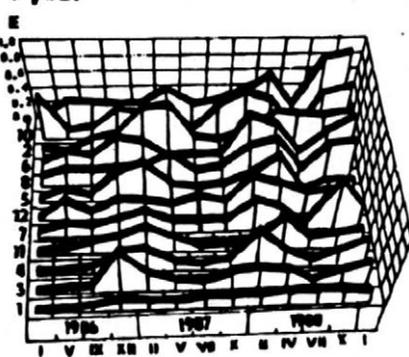
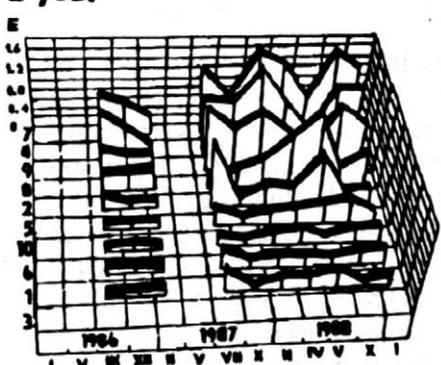
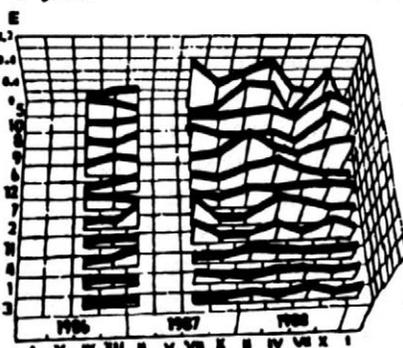
The course of total peroxidase activity in pine and yew needles can be seen in Fig. 3. It is recognizable that total peroxidase activity was higher in pine needles than in yew needles and in two year old needles than in one year old ones in both species. Peroxidase was found to be most active at the beginning of every winter and less active from the end of every spring to the beginning of every summer. Total peroxidase activity in both one and two year old pine needles was low at localities 1, 6, 10, 5, and 2. On the contrary, the highest activities were measured for one and two year old pine needles at localities 7, 9, 8 and 7, 4, 9, respectively.

Yew peroxidases in one and two year old needles were least active at localities 1, 3, 4, 11, 7 and 3, 1, 4, 11, 2, respectively, most active at localities 9, 10, 6 and 8, 5, 9, respectively.

Tab. II shows the results of the variance analysis. They revealed the significantly higher total peroxidase activity in pine needles than in yew ones, in two year old needles of both species against one-year old needles, in the winter as opposed to summer seasons, and in 1987 and 1988 compared to 1986. Nineteen combinations of localities which significantly differed in total peroxidase activities are listed in the table. Ecluding localities 3, 11, and 12 from the evaluation, they are discussed herein.

The linear model of regression analysis was applied to variables of peroxidase activities and to the average of SO₂ concentrations from a previous month period before peroxidase determination, provided that SO₂ pollution was recognized in that time. During the spring and autumn seasons, the dependence of total peroxidase activity was found to be tighter than during any other season (Tab. III).

The course of needle catalase activities in pines and yews is shown in Fig. 4. Catalase was the most active at the beginning of the winter until the end of spring, and it was the least active during the summer. Catalase activities were higher in yew needles than in pine ones and sometimes in younger needles than in older needles

PINUS - PRX.**1 year****TAXUS - PRX.****1 year****PINUS - PRX.****2 year****TAXUS - PRX.****2 year**

3. Courses of total peroxidase activities in pines and yews for one and two year old needles at localities 1-12 from 1986-1989 – Průběhy celkové aktivity peroxidázy v jedno- a dvouletých jehlicích borovice a tisů na lokalitách 1-12 za roky 1986 - 1989

as opposed to the peroxidase activities. The least active pine catalase in one and two-year old needles was found to be at localities 6, 1, 5, 7, 4 and 6, 7, 8, 1, 4, respectively. The most accelerated activities were measured at localities 2, 10, 9 and 9, 10, 2, respectively. Needle yew catalase was the least active at localities 11, 2, 6, 7, 4 and 11, 2, 7, 6, 3 in one and two year old needles, respectively. The most active catalase in one-year old needles was at localities 12, 10, 8 and in two year old needles at localities 12, 10, 8.

The results of variance analysis (Tab. IV) show that the catalase was significantly more active in yew needles than in pine ones, in two year old needles than in younger needles, in 1988 than in any other year. Significant differences in catalase activities between locality combinations were revealed for eight given couples.

II. Results of analysis of variance for total peroxidase activities in needles influenced by given factors – Výsledky analýzy rozptylu pro hodnoty celkové aktivity peroxidázy v jehlicích sledovaných dřevin pod vlivem uvedených faktorů (α - hladina významnosti nejméně 95%)

| Factors | | <i>n</i> | LS - means | Homogeneous groups | Significant differences (α) |
|----------------|--------|----------|------------|--------------------|--------------------------------------|
| Species | yew | 108 | 0.341 | a | yew - pine |
| | pine | 108 | 0.505 | b | |
| Years | 1986 | 72 | 0.279 | a | 1986 - 1987 |
| | 1987 | 72 | 0.516 | b | |
| | 1988 | 72 | 0.475 | b | 1986 - 1988 |
| Age of needles | 1-year | 108 | 0.386 | a | 1-year |
| | 2-year | 108 | 0.461 | b | 2-year |
| Seasons | summer | 108 | 0.347 | a | summer - - winter |
| | winter | 108 | 0.500 | b | |
| Localities | 1 | 24 | 0.194 | a | 10-8 9-5 1-2 |
| | 10 | 24 | 0.277 | a b | 10-9 9-1 1-4 |
| | 6 | 24 | 0.313 | a b c | 10-4 9-2 1-7 |
| | 5 | 24 | 0.369 | b c | 10-7 9-6 |
| | 2 | 24 | 0.408 | b c d | 8-5 5-1 |
| | 4 | 24 | 0.458 | c d e | 8-1 5-7 |
| | 8 | 24 | 0.533 | d e f | 8-7 4-7 |
| | 9 | 24 | 0.600 | e f | 8-6 2-7 |
| | 7 | 24 | 0.659 | f | |

Catalase activities were not significantly different in the summer and winter seasons.

Tab. V demonstrates the results of regression analysis for observed catalase activities and the average SO₂ concentrations from a previous month. The catalase activity was most dependent on SO₂ pollution levels in the spring and autumn seasons, and during other seasons was an opposite dependence (negative correlation coefficients).

Electrophoresis did not show any differences in the number of isoenzyme bands, and isoenzyme activities in individual trees and shrubs under investigation. The typical pattern of recognized bands for pine and yew peroxidases is given in Fig. 5.

There are average lengths of spring shoots for individual species and localities in Fig. 6. Obviously, longer shoots developed in 1987 due to favourably moist

III. Results of regression analysis, dependence of total needle peroxidase activities on air SO₂ concentrations during seasons, and correlation coefficients (*r*) – Výsledky regresní analýzy závislosti celkové aktivity peroxidázy v jehlicích na průměrné koncentraci SO₂ měřené na nejbližší stanici měsíc před stanovením aktivity enzymu a hodnoty korelačních koeficientů (*r*)

| Regression analysis, linear model $y = a + bx$ y - peroxidase activity x - SO ₂ concentration | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|------------|----------|----------------------|----------|----------|-----------------------|----------|----------|----------------------|----------|----------|-----------------------|----------|----------|-----------------------|----------|
| Species | needle age | spring | | | summer | | | autumn | | | winter | | | years | | |
| | | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>r</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>r</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>r</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>r</i> | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>r</i> |
| Pine | 1 | 0.078 | $7.93 \cdot 10^{-3}$ | 0.82 | -0.027 | 0.016 | 0.70 | 0.138 | $5.95 \cdot 10^{-3}$ | 0.64 | 0.568 | $-4.20 \cdot 10^{-4}$ | -0.08 | 0.337 | $2.12 \cdot 10^{-3}$ | 0.33 |
| | 2 | 0.380 | $3.61 \cdot 10^{-3}$ | 0.46 | 0.658 | $-3.86 \cdot 10^{-3}$ | -0.12 | 0.256 | $4.64 \cdot 10^{-3}$ | 0.42 | 0.582 | $-1.29 \cdot 10^{-3}$ | -0.19 | 0.515 | $-1.62 \cdot 10^{-4}$ | -0.02 |
| Yew | 1 | 0.164 | $3.11 \cdot 10^{-3}$ | 0.57 | 0.064 | $3.00 \cdot 10^{-3}$ | 0.51 | 0.187 | $1.11 \cdot 10^{-3}$ | 0.26 | 0.360 | $-2.03 \cdot 10^{-5}$ | 0.00 | 0.211 | $1.24 \cdot 10^{-3}$ | 0.38 |
| | 2 | 0.199 | $3.32 \cdot 10^{-3}$ | 0.55 | 0.317 | $2.37 \cdot 10^{-3}$ | -0.13 | 0.190 | $1.96 \cdot 10^{-3}$ | 0.31 | 0.304 | $3.08 \cdot 10^{-4}$ | 0.11 | 0.288 | $7.24 \cdot 10^{-4}$ | 0.19 |

V. Results of regression analysis, dependence of catalase activities on air SO₂ concentrations during seasons, and correlation coefficients (*r*) – Výsledky regresní analýzy závislosti aktivity katalázy v jehlicích na průměrné koncentraci SO₂ a hodnoty korelačních koeficientů (*r*)

| Regression analysis, linear model $y = a + bx$ y - catalase activity x - SO ₂ concentration | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Species | needle age | spring | | | summer | | | autumn | | | winters | | | years | | |
| | | <i>a</i> | <i>b</i> | <i>r</i> |
| Pine | 1 | 50.4 | 1.92 | 0.44 | 17.4 | 0.32 | 0.13 | 122.4 | 0.49 | 0.24 | 127.2 | -0.22 | -0.19 | 101.1 | 0.26 | 0.13 |
| | 2 | 460.1 | 0.22 | 0.59 | 258.5 | -0.58 | -0.05 | 387.9 | 0.03 | 0.01 | 359.9 | -0.85 | -0.43 | 357.5 | -0.48 | -0.20 |
| Yew | 1 | 108.3 | 2.17 | 0.36 | 345.0 | -2.08 | -0.13 | 396.6 | 0.52 | 0.15 | 457.8 | -1.24 | -0.53 | 355.1 | -0.39 | -0.12 |
| | 2 | 481.2 | 0.12 | 0.68 | 424.6 | -3.30 | -0.23 | 391.5 | 0.53 | 0.16 | 412.7 | -1.20 | -0.52 | 423.9 | -0.91 | -0.34 |

IV. Results of analysis of variance for catalase activities in needles influenced by given factors – Výsledky analýzy rozptylu pro hodnoty aktivity katalázy v jehlicích sledovaných dřevin pod vlivem uvedených faktorů (α - hladina významnosti nejméně 95%)

| Factors | | <i>n</i> | LS - means | Homogeneous groups | Significant differences (α) |
|----------------|--------|----------|------------|--------------------|--------------------------------------|
| Species | pine | 108 | 168.8 | a | pine - yew |
| | yew | 108 | 314.6 | b | |
| Years | 1986 | 72 | 222.4 | a | 1986 - 1988 , 1987 - 1988 |
| | 1987 | 72 | 208.7 | a | |
| | 1988 | 72 | 291.9 | b | |
| Age of needles | 1-year | 108 | 188.8 | a | 1-year |
| | 2-year | 108 | 294.6 | b | 2-year |
| Seasons | summer | 108 | 247.7 | a | |
| | winter | 108 | 235.6 | a | |
| Localities | 2 | 24 | 150.8 | a | 10 - 2 |
| | 6 | 24 | 209.8 | a b | 10 - 6 |
| | 7 | 24 | 226.2 | b c | 9 - 2 |
| | 1 | 24 | 244.5 | b c | 8 - 2 |
| | 5 | 24 | 258.0 | b c | 5 - 2 |
| | 9 | 24 | 260.8 | b c | 2 - 4 |
| | 4 | 24 | 262.5 | b c | 2 - 7 |
| | 8 | 24 | 268.0 | b c | 1 - 2 |
| | 10 | 24 | 294.7 | c | |

conditions during the vegetation period. The length growth was not essentially influenced by SO₂. The yews under proper care often showed longer shoots and lower enzyme activities than untreated shrubs.

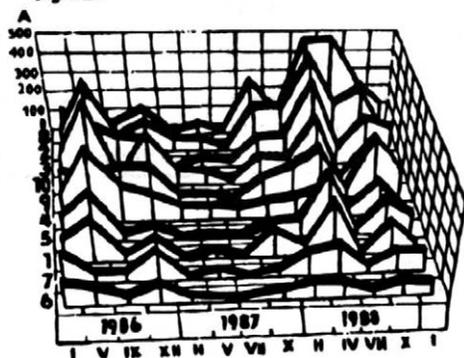
DISCUSSION

Higher peroxidase activities in older needles and higher or less catalase activities in them were found according to the latest authors' findings (e. g. B i r e c k a et al., 1979; P a t r a et al., 1978).

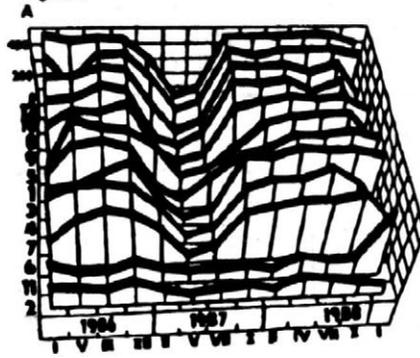
Increased SO₂ pollution in Prague was measured during 1987 but investigated enzyme activities did not seem to be influenced by the increased yearly average SO₂ concentration. Total peroxidases were most active in 1986 (average level of long-

PINUS - CAT.

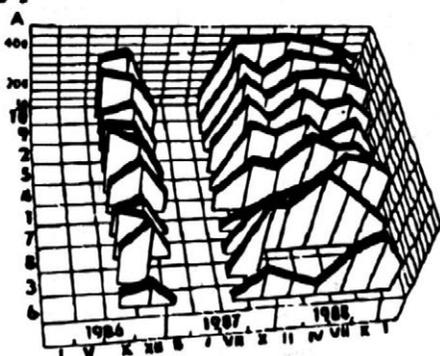
1 year

**TAXUS - CAT.**

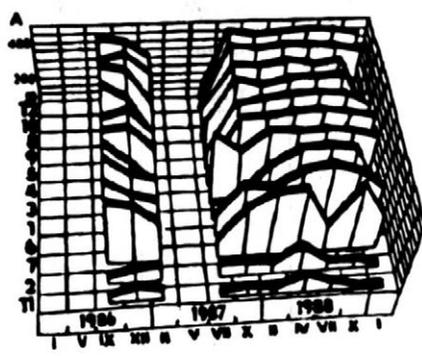
1 year

**PINUS - CAT.**

2 year

**TAXUS - CAT.**

2 year

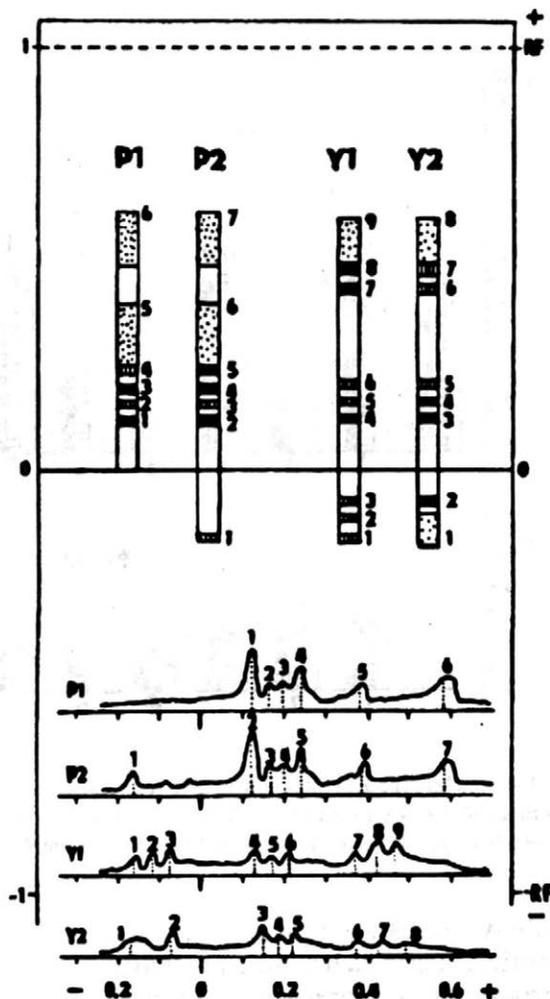


4. Courses of catalase activities in pines and yews at localities 1-12 for both one and two year old needles from 1986-1989 – Průběh aktivity katalázy v jedno- a dvouletých jehlicích borovice a tisů na lokalitách 1-12 za uvedené období

term SO_2 pollution), and catalase was even at its lowest yearly average SO_2 level in 1988.

Besides the papers describing the increase of peroxidase activities proportionally to SO_2 concentration and to the exposition time of plants (V arshney et V arshney 1985; B ender et al., 1990 etc.), there were published findings that peroxidase activity, at least in Scots pine needles, reacted only to higher SO_2 concentrations (K at a i n e n et al., 1984; J o k i n e n et al., 1983). That is why the indication of air pollution via the enzyme activity was recommended to run in winter seasons. N i e m t u r (1979) stated that peroxidase activities decreased under the specific conditions of individual pollution. The regression analysis between the enzyme activities and SO_2 concentrations, though they were not fully

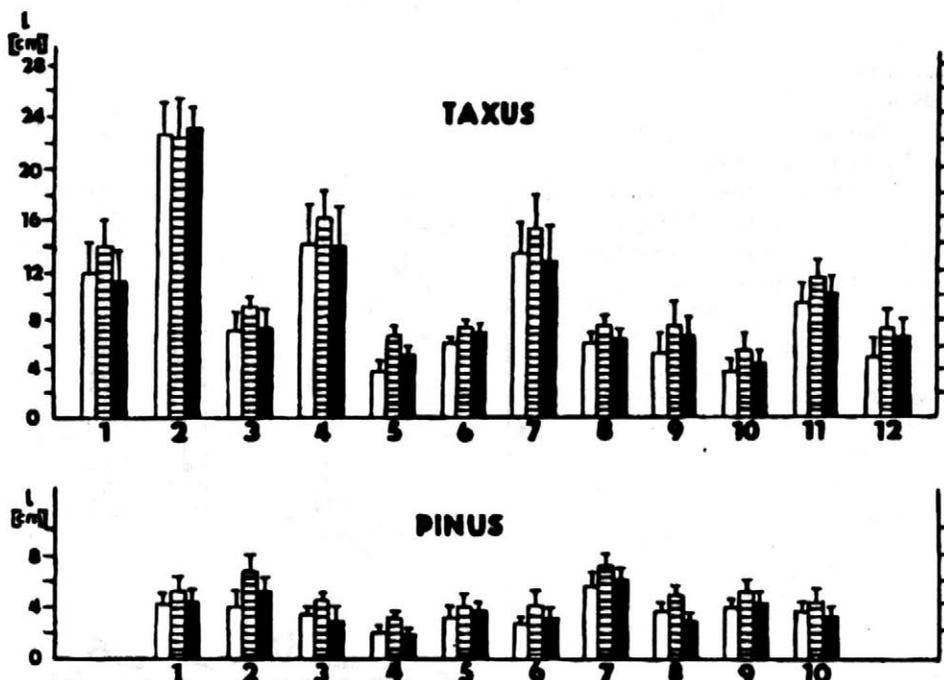
5. Typical pattern of pine (P1) and yew (Y1) needle peroxidase isozymes and the main observed irregularities (P2, Y2). Visible colour richness of bands decreased from the black to the oblique and vertical hatching marks, ill-defined bands dotted. At the bottom schematic densitometrical records of the bands above – Typické rozdělení isoenzymů peroxidázy z jehlic borovice (P1) a tisu (Y1) a hlavní pozorované odchylky (P2, Y2). Viditelná intenzita zbarvení pásem klesá od černého zbarvení přes šikmé a svislé šrafování, oblast nerozlišených pásem je tečkovaná. Výsledek densitometrického proměření uvedených pásem je schematicky znázorněn dole



representative of individual our localities, showed weak relationships between the variables in winter.

It is generally known that the activity of the leaf enzyme has a natural yearly course (Keller et Schwager, 1971; Raczek et Stolarek, 1979; Jokinen et al., 1983).

In Fig. 7, one can see the idealized periodical course of SO_2 air concentrations in the polluted city centre, in the suburb (background pollution levels), and the corresponding enzyme activities provided that SO_2 is the main ecological factor at the localities. The enzyme activities under the background pollution levels are close to the natural course of enzyme activities of given species. The natural enzyme activities must be controlled mainly by the climatological factors of individual seasons. We can say that only a part of air pollution and background enzyme

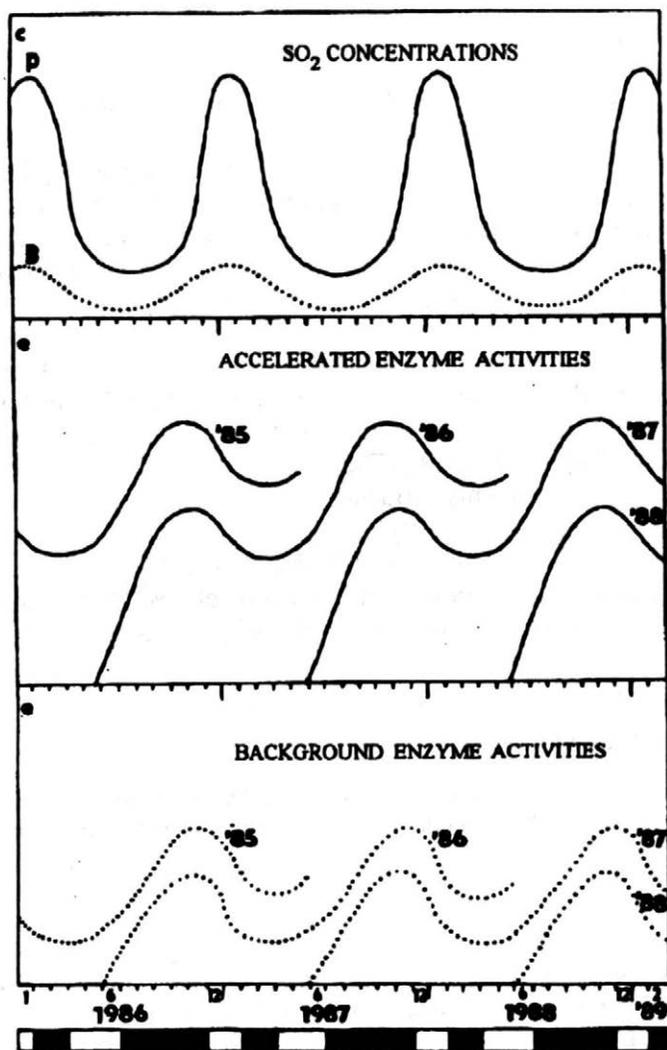


6. Average lengths and their confidence intervals of pine and yew top twig shoots at localities 1-12 from 1986-1988 – Průměry délek koncových letorostů na větévkách borovic a tisů z lokalit 1-12 v letech 1986 - 1988 a intervaly spolehlivosti průměrů

activity cycles are synchronized. During that time, the enzyme activities were positively correlated to the air pollution levels. In times of conflicting courses of the variables, a weak or negative correlation was found.

The current enzyme activity can be influenced also by other major environmental factors such as e.g. unfavourable soil properties, extreme climatic factors, damage caused by herbivorous pests, fungus or virus infections etc. (Petit, 1986; Grill et al., 1980; Feiler et Tescher, 1991). That is the reason why data from some localities were excluded from the statistical analysis (locality 3 - untimely felled older pine needles, 11 - shrubs were fertilized and irrigated at the locality, 12 - the shrubs suffered heavily from the yew aphids *Eulecanium corni-crudum* Green at the locality).

If enzyme activities are influenced by any harmful environmental loads and when reliable data about the real concentrations of pollutants are not for disposal, than the measured enzyme activities must be interpreted as an indicator of the quality of urbanized habitats as a whole. According to the results above, the urban environment is more unfavourable in the city centre than in urban margin for both investigated woody species.



7. Idealised yearly courses of SO_2 concentrations in polluted (P) and background (B) atmosphere, leaf enzyme activities influenced by SO_2 (full curves), and background (natural) leaf enzyme activities (dotted curves) in needles originated in given years. Parts of each year when the concentration of SO_2 and enzyme natural activity cycles were synchronized are marked in black at the bottom – Idealizované schéma průběhu koncentrací SO_2 ve znečišťované atmosféře (P) a při pozadovém znečištění (B), průběh aktivit listových enzymů pod vlivem SO_2 (plná čára) a pozadové (přirozené) aktivity enzymů (tečkovaně) jehlic za sledované časové období a uvedený ročník. Dole je černě vyznačena ta část roku, kdy se shodoval průběh znečištění SO_2 a přirozený průběh enzymatické aktivity

CONCLUSIONS

Activities of the leaf enzymes were found to be higher in two-year old needles than in one year old needles of the species.

Total peroxidase activity was significantly higher in pine needles than in yew needles, while activity of catalase was opposite to peroxidase activity.

The correlation between the enzyme activities and monthly average SO₂ concentrations differed in every season. It is because of the various degree of asynchronization between both the natural enzyme activity and the air pollution course in the seasons.

The significant difference in peroxidase activities among individual localities was more frequent than in catalase activities while at the same localities.

The activity of the enzymes in needles of investigated species ran usually faster in the city centre than in the city's outskirts. But increased enzyme activities should not be interpreted as being only influenced by air pollution but also by other major environmental factors of the locality.

Electrophoresis did not show any differences in isoenzyme patterns and activities in investigated species from the individual localities. Neither the spring shoot lengths of the woody species correlated with SO₂ average concentrations and the enzyme activities.

Acknowledgements

Author is indebted to H. Černá for her technical assistance in enzyme activity determinations and to ing. K. Vacková for her help in starch electrophoresis.

References

- BENDER, J. - MANDERSCHIED, R. - JÄGER, H. J.: Analyses of enzyme activities and other metabolic criteria after five years of fumigation. *Envir. Poll.*, 68, 1990: 331-343.
- BIRECKA, H. - CHASKES, M. J. - GOLDSTEIN, J.: Peroxidase and senescence. *J. Exp. Bot.*, 30, 1979: 565-573.
- BRABER, J. M.: Catalase and peroxidase in primary bean leaves during development and senescence. *Z. Pfl.-Physiol.*, 97, 1980: 135-144.
- DANGE, V. - REDDY, G. M.: Substrate specificity of peroxidase isozymes in rice (*Oryza sativa* L.). *Indian J. Pl. Physiol.*, 27, 1984: 271-275.
- DÄSSLER, H. G. - RANFT, H.: The ability of experimental tests of resistance to fume damage. *Arch. Forstwes.*, 16, 1967: 781-792.
- DE FILIPE, M. R. - LUCAS, M. M. - POZUELO, J. M.: Cytochemical study of catalase and peroxidase in the mesophyll of *Lolium rigidum* plants treated with isoproturon. *J. Pl. Physiol.*, 132, 1988: 67-73.
- ENDRESS, A. G. - SUAREZ, S. J. - TAYLOR, O. C.: Peroxidase activity in plant leaves exposed to gaseous HCl or ozone. *Environ. Pollut.* 22, 1980: 47-58.
- FEILER, S. - TESCHER, M.: Peroxidaseaktivität von Fichte bei Halliumaschbefall bzw. unter Immissionseinfluss - Versuch einer Differenzierung der Stressindikation. *Flora* 185, 1991: 47-54.

- FLÜCKIGER, W. - FLÜCKIGER-KELLER, H. - OERTLI, J. J.: Der Einfluss verkehrsbedingter Luftverunreinigungen auf der Peroxidase-aktivität, das ATP-Bildungsvermögen isolierter Chloroplasten und das Längenwachstum von Mais. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 85, 1978: 41-47.
- GASPAR, T. - PENEL, C. - THORPE, T. - GREPPIN, H.: Peroxidase 1970 - 1980. A survey of their biochemical and physiological roles in higher plants. Univ. de Genève, Centre de Bot., Genève, 1982: 324 pp.
- GRILL, D. - ESTERBAUER, H. - BIRKNER, M.: Einfluss von *Chrysomya abietis* und Abgasen auf die Peroxidase von Fichtennadeln. Z. Pfl.-Krankh. Pfl.-Schutz, 87, 1980: 236-243.
- HÖLLWARTH, M.: Bioindikation - Möglichkeiten und Grenzen. Jh. Gesell. Naturk de Württemberg, 143, 1988: 27-45.
- HÖLLWARTH, M. - RUMP, H. H.: Pflanzenphysiologische Parameter als Bioindikatoren zur Bewertung städtischen Standorte verschiedener Immissionsbelastung. In: Beiträge zur Immissionssituation in Hessen. Schr.-R. (Inst. Naturschutz Darmstadt), 11, 1979: 94-98.
- HORSMAN, D. C. - WELLBURN, A. R.: Synergistic effect of SO₂ and NO₂ polluted air upon enzyme activity in pea seedlings. Envir. Poll., 8, 1975: 122-133.
- HORSMAN, D. C. - WELLBURN, A. R.: Effect of SO₂ polluted air upon enzyme activity in plants originating from areas of different annual mean atmospheric SO₂ concentrations. Envir. Poll., 13, 1977: 33-39.
- JOKINEN, J. - KATALAINEN, R. - KULMALA, A.: Combined use of biological indicators and dispersion models in air pollution monitoring. Aquilo, ser. Bot., 19, 1983: 292-297.
- KATAINEN, H. S. - KARJALAINEN, R. - MÄKINEN, E. - JOKINEN, J. - KELLOMÄKI, S.: Effects of SO₂ on photosynthesis and peroxidase activity in Scots pine needles. Eur. J. For. Path., 14, 1984: 33-42.
- KELLER, T.: The use of peroxidase activity for monitoring and mapping air pollution areas. Eur. J. For. Path., 4, 1974: 11-19.
- KELLER, T. - SCHWAGER, H.: Der Nachweis unsichtbarer („physiologischer“) Fluor-Immissionsschädigungen an Waldbäumen durch eine einfache kolorimetrische Bestimmung der Peroxidase-Aktivität. Eur. J. For. Path., 1, 1971: 6-11.
- MANES, F. - ALTIERI, A. - BOFFA, A. - BRUNO, F. - FEDERICO, R.: Early diagnosis of injuries in *Pinus pinaster* Aiton treated with simulated acid rain. Annali di Bot., 45, 1987: 71-79.
- MARKKOLA, A. M. - OHTONEN, R. - TARVAINEN, O.: Peroxidase activity as an indicator of pollution stress in the fine roots of *Pinus sylvestris*. Water, Air, Soil Pollut., 52, 1990: 149-156.
- MARTIN, W. - KELLER, T.: Über den Einfluss verunreinigter Stadtluft auf die Vegetation. Umwelthygiene, 25, 1974: 221-227.
- NIEMTUR, S.: Influence of zinc smelter emissions on peroxidase activity in Scots pine needles of various families. Eur. J. For. Path., 9, 1979: 142-147.
- PATRA, H. K. - KAR, M. - MISHRA, D.: Catalase activity in leaves and cotyledons during plant development and senescence. - Biochem. Physiol. Pfl., 172, 1978: 385-390.
- PATTON, R. L. - GARRAWAY, M. O.: Ozone-induced necrosis and increased peroxidase activity in hybrid poplar (*Populus* sp.) leaves. Envir. Exp. Bot., 26, 1986: 137-141.
- PENKA, M. - ČERMÁKOVÁ, M.: Influence of SO₂ on peroxidase activity and chlorophyll content in adult individuals of Norway spruce (*Picea abies* L.) Karsten. Acta Univ. agric. (Brno), ser. C Fac. Silv., 54, 1985: 35-47.
- PETIT, J.: Influence du pH du sol colonisé sur l'activité des végétaux, utilisée comme indicateur biochimique de la pollution atmosphérique. Sci. Total Envir., 48, 1986: 95-107.
- POČINOK, CH. N.: Metody biochemičeskogo analiza rastenij. (Methods of biochemical analyses of plants. In Russia). Kiev, Izd. Nauk. Dumka, 1976. 334 pp.

- POLEK, B. - FRICĚ, F.: Vplyv imisíí na sezónne zmeny aktivity peroxidázy v listoch marhuľových stromov. (Influence of imissions on seasons' changes of apricot leaves peroxidase activity. (In Slovak). *Biológia (Bratislava)*, 36, 1981: 481-487.
- RACZEK, E. - STOLAREK, J.: Dynamika roczna aktywności peroksydazy i katalazy w liściach drzew wybranych gatunków iglastych i liściastych narażonych na oddziaływanie emisji przemysłowych. (Seasonal changes of peroxidase and catalase activities in leaves of several arborescent species subject to different industrial air pollutions in Upper Silesia. In Polish). *Acta Biol. (Katowice)*, Pr. Nauk. Uniw. Śląsk., 7, 1979: 149-159.
- SARKAR, R. K. - BANERJEE, A. - MUKHERJI, S.: Acceleration of peroxidase and catalase activities in leaves of wild dicotyledonous plants, as an indication of automobile exhaust pollution. *Envir. Poll.*, 42, 1986: 289-295.
- SLANINA, J. - MALLANT, R. K. A. M. - MASUCH, G. - KETTRUP, A.: The role of clouds, fog and dew in tree die-back. In: *Physicochem. Behaviour Atm. Pollut., Proc. COST 611 Meet., ENC Petten, The Neederlands*, 1985: 33-35.
- STICH, K. - EBERMANN, R.: Localization of peroxidase isoenzymes in different parts of some trees. *Phyton (Austria)*, 28, 1988: 109-114.
- SUCOFF, E. - BAILEY, W.: Relative tolerances of woody plants grown in Minnesota to five air pollutants - a compilation of ratings. *Minn. For. Res. Notes*, St. Paul, July 15, 1971. 4 pp.
- VARSHNE, Y. S. R. K. - VARSHNEY, C. K.: Response of peroxidase to low levels of SO₂. *Envir., Exp. Bot.*, 25, 1985: 107-114.
- WENDEL, J. F. - WEEDEN, N. F.: Visualization and interpretation of plant isozymes. In: SOLTIS, D. E. - SOLTIS, P. S. (eds.): *Isozymes in plant biology*. Portland, Discorides Press 1989: 5-45.

Arrived on 3. 5. 1993

SUCHARA, I. (Výzkumný ústav okrasného zahradnictví, Průhonice): *Využití některých druhů dřevin městských parků k odhadu úrovně znečištění ovzduší. Celková aktivita listových peroxidáz a katalázy*. *Zahradnictví*, 20, 1993 (4): 223-239.

Tři roky (1986 - 1988) byla sledována aktivita peroxidáz a katalázy v jehlicích borovice vejmutovky (*Pinus strobus*) na 10 lokalitách a tisu obecného (*Taxus baccata*) na 12 lokalitách v Praze (tab. I). První druh je považován za citlivý ke všem znečišťujícím látkám v ovzduší, druhý za odolný a vhodný pro městské prostředí. Zvolené lokality se lišily jak v průměrných ročních, tak i měsíčních koncentracích SO₂, které byly přebírány z měřicích stanic nejbližších daným lokalitám (obr. 1 a 2).

Průběh celkové aktivity peroxidázy (obr. 3) a katalázy (obr. 4) vykazoval roční chod a aktivita obou enzymů byla často vyšší na lokalitách v centru města než v okrajových částech Prahy. Analýzy variance ukázaly, že ve sledovaných letech aktivita enzymů byla průkazně vyšší ve dvouletých jehlicích obou druhů dřevin než u jednoletých jehlic, celková aktivita peroxidázy byla vyšší u borovice než u tisu, zatímco u katalázy tomu bylo naopak. Aktivity peroxidáz byly v zimních obdobích průkazně vyšší než v létě, ale rozdíly mezi zimní a letní aktivitou katalázy nebyly průkazné a celková aktivita peroxidáz byla vyšší v letech 1987 a 1988, katalázy v roce 1988 proti ostatním rokům. Průkazné rozdíly v aktivitě peroxidáz byly zjištěny pro 19 a katalázy pro 8 kombinací dvojic sledovaných lokalit (tab. II a IV). Tři lokality, kde byly zjištěny rušivé vlivy potenciálně ovlivňující výsledek měření, byly z hodnocení vyloučeny.

Lineární model regresní analýzy aplikovaný na enzymatickou aktivitu a průměrné koncentrace SO_2 zjištěné měsíc před stanovením aktivity enzymů ukázal (tab. III a V), že na podzim a na jaře existoval těsnější vztah mezi korelovanými proměnnými, zatímco ve zbylých obdobích roku byla závislost aktivity enzymů na koncentraci SO_2 slabá až negativní. To je vysvětlováno nesynchronním průběhem cyklu znečištění ovzduší (SO_2) a cyklu přirozené aktivity enzymů během roku. Chod znečištění ovzduší i chod aktivity enzymů, i když částečně modifikovaný vlivy prostředí, mají stejný trend právě jen v jarním a podzimním období (obr. 7).

Výsledky škrobové elektroforézy neukázaly podstatné rozdíly v počtu isoenzymů listových peroxidáz a v jejich aktivitě u jednotlivých stromů a keřů na lokalitách (obr. 5).

Průměrné délky letorostů u obou dřevin (obr. 6) byly ovlivněny především vlhkým průběhem roku 1987 a celkovými poměry na lokalitách, zatímco vliv SO_2 nebyl významný. Tisy s dlouhými přírůstky byly často zalévány a přihnojovány (předzahrádky) a jejich enzymatická aktivita byla nižší proti neošetřovaným keřům.

Momentální aktivita sledovaných enzymů může být ovlivněna celou řadou faktorů, proto celková aktivita peroxidáz a katalázy v jehlicích indikuje spíše míru vhodnosti komplexu stanovištních poměrů pro sledovaný druh dřeviny, než úroveň znečištění ovzduší na lokalitě, pokud znečištění není dominantním ekologickým faktorem. Přitom listové peroxidázy reagují na vlivy prostředí citlivěji, než je tomu u listové katalázy.

znečištění; peroxidáza; kataláza; borovice; tis; městské prostředí

Author's address :

RNDr. Ivan S u c h a r a , CSc., Výzkumný ústav okrasného zahradnictví,
252 43 Průhonice

AD *eko*
A.S.

**VÝHODNÝ LEASING
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ
PODNIKATELE**

ADEKO a. s. Vám nabízí

- kapitálovou účast v jiných podnikatelských subjektech
- společné podnikání
- poradenskou, konzultační a zprostředkovatelskou činnost v oboru ekologie
- investorskou a investiční činnost
- řešení odbytových potíží výrobcům a obchodním organizacím formou leasingového financování

ADEKO a. s.
Slezská 7
120 56 Praha 2

tel.: 258 342
fax: 207 229



THE USE OF SOME URBAN PARK WOODY SPECIES IN AN ESTIMATION OF AIR POLLUTION LEVEL. TREE BARK EXTRACT CHARACTERISTICS

I. Suchara

SUCHARA, I. (Research Institute of Ornamental Horticulture, Průhonice): *The use of some urban park woody species in an estimation of air pollution level. Tree bark extract characteristics. Zahradnictví, 20, 1993 (4): 241-260.*

In the years 1986-1989 specimens of outer bark from oak, pine, and spruce trees were taken and analysed at 10 Prague localities. Total conductivity, pH, and soluble sulphate contents were measured in bark extracts quarterly. Data on SO₂ pollution were taken from the nearest measuring points to the given localities. The bark extract characteristics indicated the most polluted tree bark in the city centre and in spring seasons while in the outskirts of the town and in autumn seasons bark samples were less contaminated. Results showed enormous pollution loads in Prague when compared with the published bark analyses from foreign cities. In the same pollution climate most contaminated were the following spruce bark, less oak bark and the least pine bark. Total conductivity and sulphate content in bark extracts were the best indicators of pollution levels. The correlation between assessed SO₂ pollution and bark extract characteristics were relatively low due to the shortage of real SO₂ values at given localities. Relationships among measured bark extract parameters were similar to those published by other authors. Tree bark can be potentially an universal indicator of environmental pollution if specific analyses are used to determine the content of individual pollutants.

pollution; bark; oak; spruce; pine; urban environment

Common passive phytoindication of air pollution has two inherent weak points: the measurable reactions of plants are usually not sufficiently specific for the individual air pollutants and the manifested responses of plants may be modified by many environmental factors operating in the locality, as discussed in the first part of the article. Moreover, each individual plant responds to the action of air pollution in a different way due to various individual predispositions to tolerate pollutant effects. That is why the bioindication methods are standardized as much as possible (active monitoring by means of plant clones) or other methods less influenced by biological and environmental factors are looked for. An example of the latter is an analysis of tree bark extracts.

The outer bark of a tree, more precise term - the rhytidome, (Trockenbrodt, 1990) is a type of active surface which is permanently exposed to the air pollution climate. The rhytidome consists of dead cell rests without any cell content.

Frequent cracks, hollows, cavities, and rough outer surface occurred due to dilatation growth pressures and tissue weathering. Rhytidome can trap various forms of environmental pollution. Polluted air is retained in the cavities, solid particles are held in the outer surface slots. Gas pollutants can be absorbed by hygroscopic cellulose and suberin bark substance. Spongy and porous rhytidome soaks up air mist, rainfall and stem flow water with dissolved pollutants. Some of the pollutant substances may be trapped actively via chemical absorption. Acidic anions, e. g., can be neutralized by calcium from calcium oxalate incrustation rests or by caught dust particles. Secondly, pollutants may also react with each other. Most important is that rhytidome is without any physiological contact with living tree tissues. It means that the tree metabolites cannot be stored in the rhytidome and trapped pollutants in rhytidome cannot be utilized by the tree. It is obvious that the rhytidome can be considered as passive cumulative (bio) indicator. In the following text instead of the term rhytidome the term bark is used to simplify the expression.

The potential for tree bark to indicate air pollution levels was revealed in Scandinavia in the 1960s. At the time chemical analyses of deciduous bark were carried out to find why epiphytic lichens growing on bark became extinct more quickly than lichens colonizing other sorts of surfaces in polluted areas. Firstly, the bark analyses were focused on measuring pH, values and bark buffer capacity, mainly in deciduous tree bark (S k y e , 1968; S t a x a n g , 1969; G r o d z i n í - s k a , 1971). Samples all bark tissues outside the bast cylinder were taken. Many different and unstandardised methods of bark investigation were used.

H ä r t e l et G r i l l (1972) found that spruce bark may be a suitable indicator of SO₂ pollution levels. They revealed that only thin outer layer of bark (the rhytidome) is useable for indication. SO₂ pollution loads were best indicated through bark extract conductivity and sulphate content.

K i e n z l et H ä r t e l (1979) were developing the methods of measuring the presence of sulphates and sulphate conductivity determination and also improved methods to interpret data measured.

G r i l l et al. (1981) applied spruce bark extract conductivity for mapping average SO₂ concentrations within a large area in both summer and winter.

H ä r t e l (1982) collected all knowledge concerning air pollution indication via tree bark analyses. He recommended that methods of taking, processing and analysing bark samples should be standardized.

The means of pollutant retention and their behaviour within the bark are not fully understood, though many field measurements and fumigation experiments were done (K r e i n e r et H ä r t e l , 1986).

F a r m e r et al. (1990) compared three different methods of pH measuring and they got uncomparable results by contact pH measuring on oak bark surfaces and measuring active and exchangeable pH in bark extracts of the same bark specimens.

S t ö c k e r et G l u c h (1990) planned to use pine or spruce bark analyses to monitor environmental pollution all over the territory of the former DDR.

Tree bark analyses were often used to indicate levels of urban air pollution. More recently, they were used in Graz (K o s m u s et G r i l l , 1986) and Zagreb (I l i - j a n i ć et al., 1989).

The use of bark analyses to assess environmental pollution levels has been ignored in this country. The only attempt to utilize bark analyses for those purposes was recorded in Slovakia (K o c ú r i k et Š m í d t , 1980).

Because the bark analyses described above have not been used in this country, a detailed review of published data dealing with tree bark analyses was made from a project proposal (S u c h a r a et S u c h a r o v á , 1991).

The aim of this paper is to summarize the first investigations into verification and modification of published methods of bark analyses.

MATERIAL AND METHODS

The measurements were carried out in Prague in 1986 - 1989. Ten localities within the city were chosen where oak and/or spruce and pine trees grew. Tab. I shows the list of the localities and a kind of trees from which bark specimens were taken. The locality distributions within the city and their pollution loads are virtually the same like those set out in the first part of the article (S u c h a r a , 1993 - Figs. 1 and 2).

1 - 3 mm thin slices of oak, spruce and pine rhytidome were taken quarterly from trunks of 40-80-year old trees at the level of about 1.3 m above the ground. The

I. List of chosen localities in Prague, their numbers and the kind of bark taken from them – Seznam vybraných lokalit v Praze, jejich číselné značení a uvedení druhu borky, která byla na nich odebrána

| No. | Localities - Prague | Taken kind of barks | | |
|-----|---|---------------------|--------|------|
| | | oak | spruce | pine |
| 1 | Ďáblický háj - the wood | + | + | + |
| 2 | Between Hloubětín and Kyje (forest ridge) | + | - | + |
| 2 | Hloubětín, Bažantnice (the wood) | - | + | - |
| 3 | Průhonice - park | + | + | + |
| 4 | Hvězda - W part of the park | + | + | + |
| 5 | Krč - Kunratický les (the wood) | + | + | + |
| 6 | Petřín - E slope of the hill | + | + | - |
| 7 | Stromovka - central part of the park | + | + | - |
| 8 | Riegrovy sady - the park | + | - | - |
| 9 | Havlíčkovy sady - the park | + | + | - |
| 10 | Karlovo náměstí - the park | + | - | - |

outer bark was collected separately from five trees of given kinds in each locality. Bark was taken around the whole trunk, but places covered by epiphytic algae along stem flow paths, polluted by resin or bird ordure and beetle boring bark were not used. Samples were air-dried, ground and sieved (mesh diameter 2.00 mm) into two fractions, the fine (less than 2 mm in diameter) and the coarse fraction (over 2 mm). Because analyses give different results depending on how long the specimens have been stored, the bark analyses were carried out on second to third week after sample collections.

The bark fractions were dried at 40 °C, and 4.00 g of each fraction was weighed into beakers. The fine fraction of the bark was covered by 16.00 ml of cold (20 °C) boiled and deionized water and stirred, if necessary, to soak the bark powder properly. Beakers were covered by a polyethylene sheet and left for 48 hours. Then pH values were measured in the paste by a combined glass electrode calibrated by buffers of pH 7.00 and 4.00.

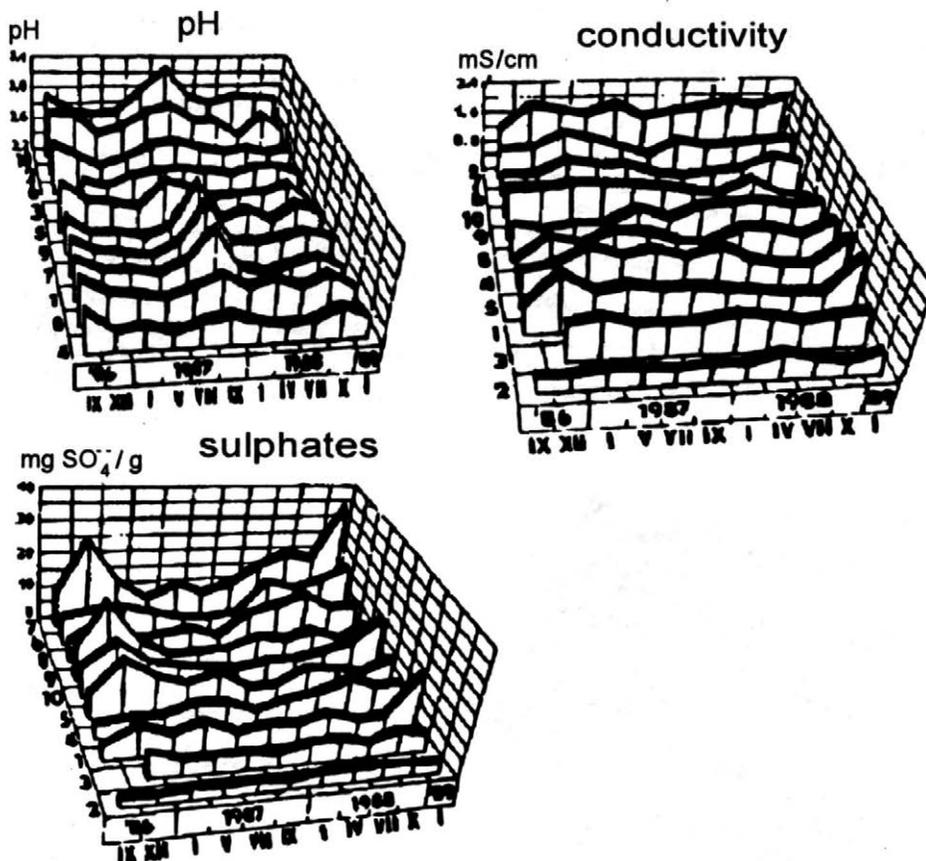
80.00 ml of deionized water was added to the rough bark fraction and the beakers were shaken several times. The samples were covered by a polyethylene sheet and stored till the next day (24 hours). Then 1.00 ml of the extract was added by pipette to test tubes, 8.00 ml of deionized water, 1.00 ml of 1M solution of HCl and 1.00 ml of 16% solution of BaCl₂. The whole mixture was shaken. The level of turbidity was measured by a spectrometer SPECOL with a turbidimetrical extension at wave length of 420 nm for 10 minutes after individual compounds had been mixed. Close to measurements, the samples were shaken. No additives (Tween, starch etc.) were added to decrease the variance of measured results. The calibration curve was constructed from measurements of K₂SO₄ solutions of known concentrations. If any sample extended the linear part of calibration curve the measurement was repeated, using properly diluted bark extract.

In the rest bark extract the total conductivity was measured by a conductometer OK-104 RADELKIS by the Pt electrode. The instrument was always calibrated with KCl solutions.

The methods described above substantially kept to the recommended standardized processes (H ä r t e l , 1982). Bark was heavily polluted at most of the chosen localities hence the extraction ratio had to be extended (more diluted) to measure in the linear part of the calibration curve. Neither conductivity, nor sulphate content measurements were calibrated on CaSO₄ solutions.

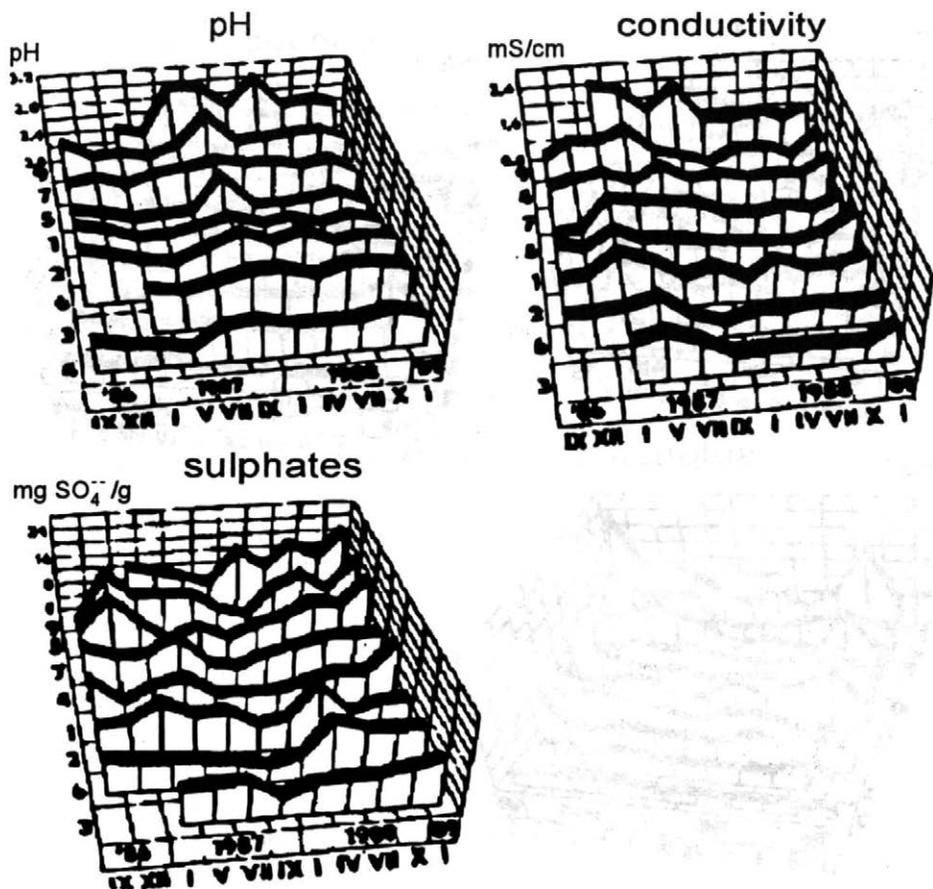
RESULTS

Individual values of measured tree bark extract characteristics can be found in the research final report (S u c h a r a et K r á l , 1990). Graphic courses of oak, spruce, and pine bark average extract parameters in an investigated period demonstrate Figs. 1, 2, and 3. Acid, dust and sulphate pollution loads were indicated to be lower in the outskirts (localities 1, 2, 3) than in the city centre (localities 7, 8, 9, 10). Only at the locality 10 unexpectedly high pH values occurred in oak bark.



1. Oak bark extract characteristics for localities 1 - 10 in 1986 - 1989 – Charakteristiky extraktů dubové borky z lokalit 1 - 10 v letech 1986 - 1989

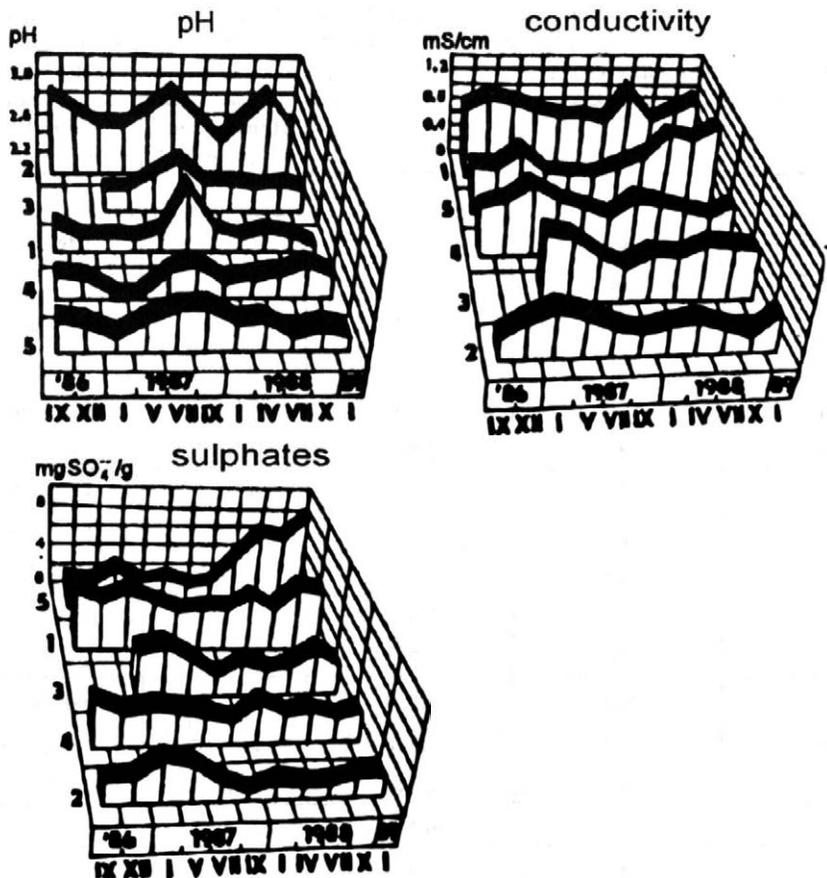
The dependence of bark extract characteristics for the localities 1 - 5 on 4 chosen factors is demonstrated in Tab. II. The analysis of variance showed that there was a significantly higher sulphates content and lower pH values in bark extracts in 1988 than in 1987. In the autumn both the total conductivity and sulphate content were significantly lower than in winter and spring. Reaction (pH) of bark extracts significantly differed in the individual seasons. The lowest pH values were in spring, the highest in autumn. From the tested localities 1 - 5 the most polluted bark samples were at localities 2 and 3, the least at localities 5 and 4. Individual kinds of bark gave significantly different values for all bark extract parameters. Pine bark provided the lowest values of extract characteristics. The highest pH values were found to be in oak bark extracts. All the other parameters were highest in spruce bark samples.



2. Characteristics of spruce bark extracts for localities 1 - 7 and 9 in 1986 - 1989 – Charakteristiky extraktů smrkové borky z lokalit 1 - 7 a 9 v letech 1986 - 1989

The results of variance analysis for oak bark specimens from all ten localities are presented in Tab. III. In 1988 significantly higher conductivity, sulphate contents and lower pH values of bark extracts were found than in 1987. All extract parameters were significantly different in autumn and in winter. Autumn had the lowest levels of contamination, winter the highest. The number of combination locality pairs which significantly differed in bark extract characteristics was the most numerous in the case of the total conductivity, less for pH values and the least numerous for sulphate content. For more details see Tab. III.

Tab. IV gives the results of tested dependence of average bark extract characteristics on average air contamination by SO₂. Average SO₂ concentrations were taken from the nearest stations to the chosen localities and the average is related to a period of one month before the bark specimens were collected for analyses. The relationship between measured bark extract characteristics and assessed SO₂ aver-



3. Characteristics of pine bark extracts for localities 1 - 5 in 1986 - 1989 – Charakteristiky extraktů borové borky z lokalit 1 - 5 v letech 1986 - 1989

age concentrations was rather weak. The lowest dependence of extract parameters on SO₂ concentrations were indicated for pine bark extracts where pH values were positively correlated and total conductivity negatively correlated. The strongest correlation between bark extract parameters and average SO₂ concentrations was computed for spring, the worst for the autumn and winter seasons.

Tab. V. shows the results of testing mutual dependence among bark extract parameters. The negative relationship between pH and conductivity was found for all kinds of bark and localities. The same is true for pH and sulphate content, but regression coefficients are minor. Total conductivity was closely correlated with sulphates content in bark extracts. The exception was locality 9, where in the case of spruce bark the correlation was positive and the correlation coefficient reached average values 0.63, 0.54, and 0.71 for oak, spruce, and pine bark, respectively.

II. Results of variance analysis of average bark extract characteristics from localities 1 - 5 influenced by given factors in 1997 and 1988 – Výsledky analýzy rozptylu průměrných hodnot charakteristik výluhu borky z lokalit 1 - 5 ovlivněných uvedenými faktory v letech 1987 a 1988

| Factors | n | LS - means | Homogenous groups | Significant difference (*) |
|---------|----|------------|-------------------|----------------------------|
| pH | | | | |
| 1988 | 60 | 2.536 | a | 1987 - 1988 |
| 1987 | 60 | 2.597 | b | |
| sp. | 30 | 2.497 | a | sp. - sm. |
| wi. | 30 | 2.518 | a b | sp. - au. |
| sm. | 30 | 2.569 | b | sm. - au. |
| au. | 30 | 2.682 | c | au. - wi. |
| 4 | 24 | 2.425 | a | 1 - 2 2 - 5 |
| 1 | 24 | 2.485 | a | 1 - 3 3 - 4 |
| 5 | 24 | 2.571 | b | 1 - 5 4 - 5 |
| 3 | 24 | 2.614 | b | 2 - 3 |
| 2 | 24 | 2.735 | c | 2 - 4 |
| pine | 40 | 2.511 | a | oak-pine |
| spruce | 40 | 2.546 | a | oak-spruce |
| oak | 40 | 2.642 | b | |
| mS/cm | | | | |
| 1987 | 60 | 1.052 | a | - |
| 1988 | 60 | 1.054 | a | |
| au. | 30 | 0.961 | a | sp. - au. |
| sm. | 30 | 1.021 | a b | au. - wi. |
| wi. | 30 | 1.105 | b | |
| sp. | 30 | 1.125 | b | |
| 2 | 24 | 0.783 | a | 1 - 2 3 - 4 |
| 3 | 24 | 0.950 | b | 1 - 3 3 - 5 |
| 1 | 24 | 1.157 | c | 2 - 3 |
| 4 | 24 | 1.176 | c | 2 - 4 |
| 5 | 24 | 1.199 | c | 2 - 5 |
| pine | 40 | 0.674 | a | oak-pine |
| oak | 40 | 0.961 | b | oak-spruce |
| spruce | 40 | 1.524 | c | pine-spruce |

| Factors | <i>n</i> | LS - means | Homogenous groups | Significant difference (*) |
|----------------------|----------|------------|-------------------|----------------------------|
| mgSO ₄ /g | | | | |
| 1987 | 60 | 6.203 | a | 1987 - 1988 |
| 1988 | 60 | 8.328 | b | |
| au. | 30 | 6.153 | a | sp. - au. au. - wi. |
| sm. | 30 | 7.229 | a b | |
| wi. | 30 | 7.831 | b | |
| sp. | 30 | 7.849 | b | |
| 2 | 24 | 5.101 | a | 1 - 2 3 - 5 |
| 3 | 24 | 6.143 | a | 1 - 3 |
| 4 | 24 | 7.917 | b | 2 - 4 |
| 1 | 24 | 7.919 | b | 2 - 5 |
| 5 | 24 | 9.248 | b | 3 - 4 |
| pine | 40 | 3.405 | a | oak-pine |
| oak | 40 | 6.840 | b | oak-spruce |
| spruce | 40 | 11.552 | c | pine-spruce |

* = significant level at least 95 % – hladina významnosti nejméně 95 %

Graphic results of regression analysis for the combination couples of measured extract characteristics computed for all individual measurements can be seen in Fig. 4. The closest dependence among extract parameters was found in pine bark extracts. The same applies to the dependence of total extract conductivity on sulphate content in extracts of all kinds of bark.

DISCUSSION

The measuring of bark extract parameters was contrived mainly for the indication of SO₂ levels because sulphur dioxide is a dominant pollutant all over Europe. Unfortunately, the fault of the method is that true SO₂ concentrations, the real mechanism of SO₂ absorption and its following changes going through the tree bark, are not exactly known.

Bark reaction is decreasing due to retention of acid rain, absorption of SO_x and dissociation of salts of a strong acid (H₂SO₄) and a weak base, e.g. (NH₄)₂SO₄, which is commonly presented in urban air aerosols. It is supposed (H ä r t e l e t G r i l l 1972) that sulphates in bark are presented mainly in the form of CaSO₄

III. Results of variance analysis of average oak bark characteristics from localities 1 - 10 influenced by given factors in 1987 and 1988 – Výsledky analýzy rozptylu průměrných hodnot charakteristik dubové borky z lokalit 1 - 10 ovlivněných uvedenými faktory v letech 1987 - 1988

| Factors | n | LS - means | Homogenous groups | Significant difference (*) |
|---------|----|------------|-------------------|----------------------------|
| pH | | | | |
| 1988 | 40 | 2.648 | a | 1987 - 1988 |
| 1987 | 40 | 2.703 | b | |
| sp. | 20 | 2.592 | a | sp. - sm. |
| wi. | 20 | 2.631 | a b | sp. - au. |
| sm. | 20 | 2.670 | b | sm. - au. |
| au. | 20 | 2.808 | c | au. - wi. |
| 4 | 8 | 2.460 | a | 1 - 2 2 - 8 4 - 10 |
| 1 | 8 | 2.577 | b | 1 - 3 2 - 9 5 - 6 |
| 8 | 8 | 2.587 | b c | 1 - 4 2 - 10 5 - 10 |
| 7 | 8 | 2.614 | b c | 1 - 6 3 - 4 6 - 7 |
| 9 | 8 | 2.624 | b c | 1 - 10 3 - 10 6 - 8 |
| 5 | 8 | 2.629 | b c | 2 - 3 4 - 5 6 - 9 |
| 3 | 8 | 2.674 | c d | 2 - 4 4 - 6 7 - 8 |
| 6 | 8 | 2.727 | d | 2 - 5 4 - 7 7 - 10 |
| 2 | 8 | 2.991 | e | 2 - 6 4 - 8 8 - 10 |
| 10 | 8 | 2.991 | f | 2 - 7 4 - 9 |
| mS/cm | | | | |
| 1987 | 40 | 1.180 | a | - |
| 1988 | 40 | 1.214 | a | |
| au. | 20 | 1.107 | a | au. - wi. |
| sp. | 20 | 1.203 | a b | |
| sm. | 20 | 1.216 | a b | |
| wi. | 20 | 1.262 | b | |
| 2 | 8 | 0.458 | a | 1 - 2 2 - 5 3 - 8 |
| 3 | 8 | 0.860 | b | 1 - 3 2 - 6 3 - 9 |
| 1 | 8 | 1.044 | c | 1 - 5 2 - 7 4 - 6 |
| 4 | 8 | 1.214 | c d | 1 - 6 2 - 8 4 - 7 |
| 5 | 8 | 1.227 | d | 1 - 7 2 - 9 5 - 6 |
| 9 | 8 | 1.246 | d | 1 - 8 2 - 10 5 - 7 |

Continuation of Tab. III – Pokračování tab. III

| Factors | <i>n</i> | LS - means | Homogenous groups | Significant difference (*) |
|----------------------|----------|------------|-------------------|-----------------------------------|
| 8 | 8 | 1.260 | d | 1 - 9 3 - 4 6 - 7 |
| 10 | 8 | 1.296 | d e | 1 - 10 3 - 5 6 - 8 |
| 6 | 8 | 1.437 | e | 2 - 3 3 - 6 6 - 9 |
| 7 | 8 | 1.928 | f | 2 - 4 3 - 7 7 - 8 7 - 9 7 - 10 |
| mgSO ₄ /g | | | | |
| 1987 | 40 | 6.943 | a | 1987 - 1988 |
| 1988 | 40 | 11.602 | b | |
| au. | 20 | 7.910 | a | sp. - wi. |
| sp. | 20 | 8.778 | a | sm. - wi. |
| sm. | 20 | 9.093 | a | au. - wi. |
| wi. | 20 | 11.310 | b | |
| 2 | 8 | 2.740 | a | 1 - 2 2 - 10 6 - 9 |
| 3 | 8 | 5.698 | a b | 1 - 6 3 - 5 7 - 8 |
| 1 | 8 | 7.960 | b c | 1 - 7 3 - 6 7 - 9 |
| 9 | 8 | 8.601 | b c d | 1 - 8 3 - 7 7 - 10 |
| 4 | 8 | 8.601 | b c d | 1 - 8 3 - 7 7 - 10 |
| 5 | 8 | 9.196 | c d e | 2 - 5 3 - 10 |
| 10 | 8 | 9.861 | c d e | 2 - 6 4 - 6 |
| 8 | 8 | 11.319 | d e | 2 - 7 4 - 7 |
| 6 | 8 | 12.099 | e | 2 - 8 5 - 7 |
| 7 | 8 | 16.648 | f | 2 - 9 6 - 7 |

* = significant level at least 95 % – hladina významnosti nejméně 95 %

raised by a reaction of SO₄⁻ with calcium presented in bark or in trapped dust particles.

The natural reaction of the bark kinds which were under investigation is acid and the method used might give pH values in the range from 2.6 to 3.0, considering any anthropogenic pollution. The final pH values of leached bark samples are influenced by a hydrolysis of the whole complex of salts retained in bark specimens.

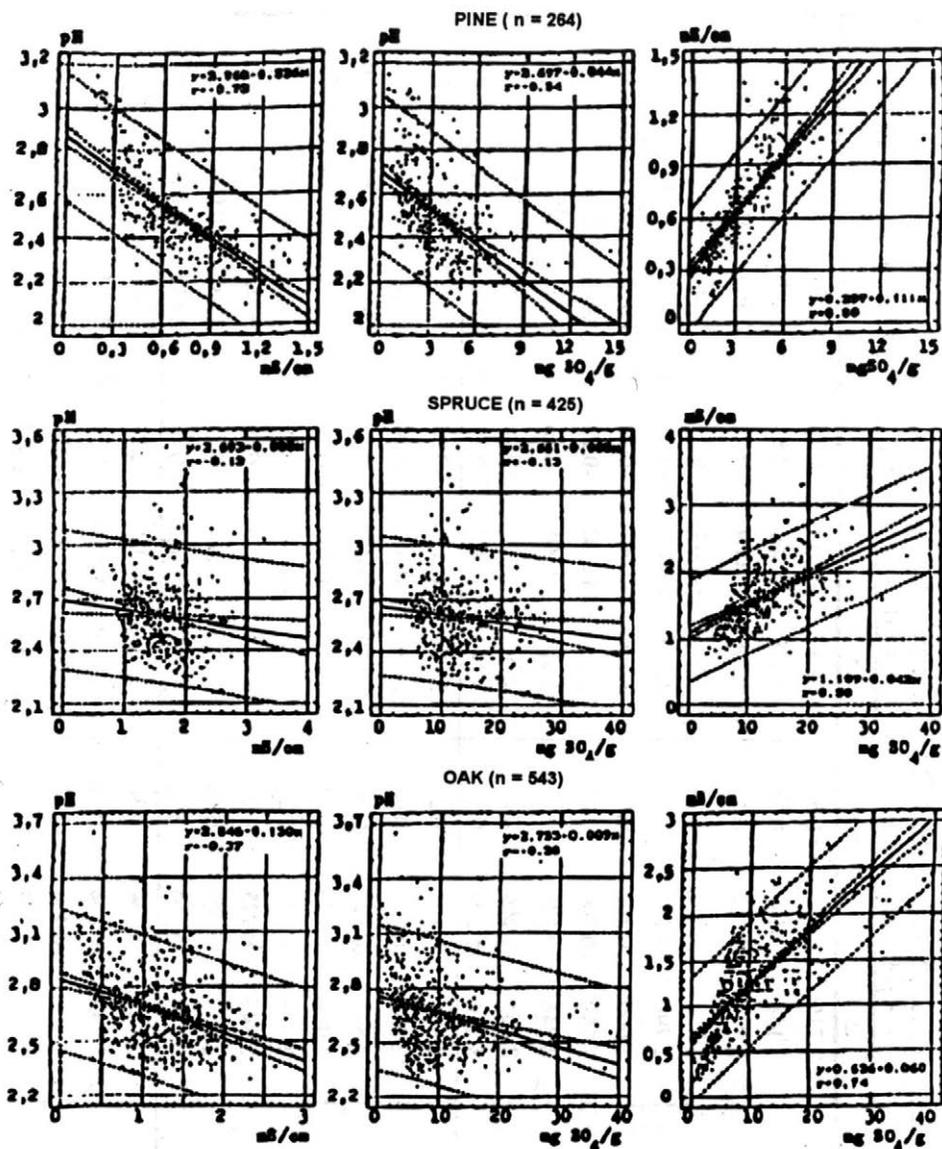
Medweca - Kornas et al. (1989) found the different values of pH in pine bark samples taken from trunk sides differently oriented to the cardinal points. It was observed that, surprisingly, pH of bark extract did not depend on pine trunk

IV. Results of regression analysis, dependence of tree bark extract characteristics from localities 1 - 10 on average air SO₂ concentration measured at the stations nearest to the localities a month before bark sample taking in 1986 - 1989 correlation coefficient = r - Výsledky regresní analýzy, závislost charakteristik výluhů borky stromů z lokalit 1 - 10 na průměrné koncentraci SO₂ v ovzduší naměřené na stanicích nejbližší daným lokalitám měsíc před odběrem vzorků borky v letech 1986 - 1989 (korelační koeficient = r)

| Regression analysis Linear model $y = a + bx$ $x =$ concentration of SO ₂ | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|----------------------|--------|--------|-------|--------|--------|-------|--------|---------|-------|--------|---------|-------|--------|---------|-------|
| Bark kind | y | spring | | | summer | | | autumn | | | winter | | | year | | |
| | | a | b | r | a | b | r | a | b | r | a | b | r | a | b | r |
| Oak | pH | 2.538 | 0.0008 | 0.21 | 2.787 | -0.003 | -0.33 | 2.841 | -0.002 | -0.20 | 2.578 | 0.0004 | 0.15 | 2.704 | -0.0005 | -0.14 |
| | mS/cm | 1.060 | 0.0009 | 0.12 | 1.034 | 0.005 | 0.25 | 0.922 | 0.003 | 0.20 | 1.314 | -0.001 | -0.18 | 1.114 | 0.0002 | 0.04 |
| | mgSO ₄ /g | 6.806 | 0.014 | 0.24 | 6.577 | 0.062 | 0.34 | 5.604 | 0.051 | 0.35 | 10.914 | -0.007 | -0.08 | 7.789 | 0.013 | 0.16 |
| Spruce | pH | 2.325 | 0.004 | 0.75 | 2.498 | 0.005 | 0.50 | 2.710 | -0.002 | -0.26 | 2.552 | -0.0001 | -0.03 | 2.614 | -0.0001 | -0.03 |
| | mS/cm | 1.455 | 0.004 | 0.41 | 1.314 | 0.009 | 0.54 | 1.634 | 0.0003 | 0.02 | 1.316 | 0.004 | 0.59 | 1.485 | 0.003 | 0.39 |
| | mgSO ₄ /g | 10.356 | 0.020 | 0.35 | 8.727 | 0.116 | 0.49 | 9.940 | 0.032 | 0.23 | 9.304 | 0.034 | 0.44 | 10.234 | 0.028 | 0.37 |
| Pine | pH | 2.221 | 0.005 | 0.71 | 2.280 | 0.010 | 0.38 | 2.615 | -0.0007 | -0.10 | 2.351 | 0.001 | 0.45 | 2.490 | 0.0004 | 0.11 |
| | mS/cm | 0.889 | -0.003 | -0.21 | 0.840 | -0.007 | -0.19 | 0.643 | -0.002 | -0.21 | 0.719 | -0.0002 | -0.09 | 0.682 | -0.0001 | -0.03 |
| | mgSO ₄ /g | 3.140 | 0.011 | 0.15 | 4.161 | -0.035 | -0.12 | 3.786 | -0.017 | -0.25 | 3.433 | 0.0009 | 0.05 | 3.439 | 0.000 | 0.00 |

V. Results of regression analysis, the dependence among investigated bark extract characteristics for the period 1986 - 1989, (correlation coefficient = r) – Výsledky regresní analýzy, závislosti mezi sledovanými charakteristikami výluhů borky za období 1986 - 1989 (korelační koeficient = r)

| Regression analysis Linear model $y = a + bx$ | | | | | | | | | | |
|---|----------|--|--------|--------|--|--------|--------|---|--------|-------|
| Bark kind | Locality | $y = \text{pH} \quad x = \text{mS/cm}$ | | | $y = \text{pH} \quad x = \text{mgSO}_4/\text{g}$ | | | $y = \text{mS/cm} \quad x = \text{mgSO}_4/\text{g}$ | | |
| | | a | b | r | a | b | r | a | b | r |
| Oak | 1 | 2.710 | -0.124 | -0.31 | 2.659 | -0.010 | -0.32 | 0.550 | 0.066 | 0.84 |
| | 2 | 3.158 | -0.596 | -0.66 | 3.051 | -0.060 | -0.57 | 0.182 | 0.100 | 0.86 |
| | 3 | 2.771 | -0.137 | -0.43 | 2.706 | -0.009 | -0.22 | 0.409 | 0.081 | 0.60 |
| | 4 | 2.659 | -0.162 | -0.58 | 2.557 | -0.011 | -0.34 | 0.438 | 0.091 | 0.82 |
| | 5 | 2.790 | -0.133 | -0.41 | 2.693 | -0.007 | -0.26 | 0.805 | 0.043 | 0.55 |
| | 6 | 3.000 | -0.201 | -0.51 | 2.766 | -0.005 | -0.24 | 1.193 | 0.023 | 0.46 |
| | 7 | 2.799 | -0.109 | -0.27 | 2.661 | -0.000 | -0.22 | 1.443 | 0.026 | 0.58 |
| | 8 | 2.746 | -0.128 | -0.35 | 2.673 | -0.001 | -0.26 | 0.652 | 0.050 | 0.65 |
| | 9 | 2.855 | -0.204 | -0.26 | 2.703 | -0.011 | -0.26 | 1.130 | 0.016 | 0.29 |
| | 10 | 3.216 | -0.209 | -0.51 | 3.149 | -0.019 | -0.49 | 0.641 | 0.062 | 0.65 |
| Spruce | 1 | 2.655 | -0.123 | -0.24 | 2.608 | -0.013 | -0.35 | 1.118 | 0.040 | 0.56 |
| | 2 | 2.593 | -0.021 | -0.08 | 2.582 | -0.002 | -0.08 | 0.983 | 0.053 | 0.55 |
| | 3 | 2.844 | -0.138 | -0.58 | 2.749 | -0.010 | -0.37 | 0.640 | 0.077 | 0.70 |
| | 4 | 2.948 | -0.330 | -0.65 | 2.743 | -0.029 | -0.54 | 0.980 | 0.060 | 0.57 |
| | 5 | 2.717 | -0.070 | -0.24 | 2.701 | -0.007 | -0.39 | 1.241 | 0.022 | 0.37 |
| | 6 | 2.845 | -0.125 | -0.39 | 2.700 | -0.003 | -0.10 | 0.982 | 0.039 | 0.50 |
| | 7 | 2.859 | -0.107 | -0.25 | 2.774 | -0.007 | -0.27 | 1.242 | 0.034 | 0.55 |
| | 9 | 3.253 | -0.200 | -0.34 | 3.221 | -0.025 | -0.46 | 2.153 | -0.002 | -0.02 |
| | Pine | 1 | 2.651 | -0.264 | -0.38 | 2.571 | -0.035 | -0.29 | 0.486 | 0.096 |
| 2 | | 3.141 | -0.868 | -0.72 | 2.918 | -0.060 | -0.36 | 0.194 | 0.101 | 0.73 |
| 3 | | 2.786 | -0.436 | -0.73 | 2.645 | -0.048 | -0.56 | 0.267 | 0.128 | 0.89 |
| 4 | | 2.397 | -0.018 | -0.65 | 2.743 | -0.029 | -0.54 | 0.980 | 0.060 | 0.57 |
| 5 | | 2.666 | -0.285 | -0.71 | 2.559 | -0.024 | -0.60 | 0.400 | 0.081 | 0.79 |



4. Graphic results of linear regression analysis for bark extract parameter pairs of individual kinds of barks and for all practised measurements – Grafické výsledky lineární regrese analýzy pro dvojice parametrů extraktů jednotlivých druhů borky a všechna provedená měření

diameters in the range of 9 - 110 cm (Malzahn et Niedzielska 1986). pH values presented here represent the average pH values along trunk circumferences.

According to other authors (e.g. Köhm et Lötschert, 1972; Batin et Martinic, 1985; Kosmus et Grill, 1986) pH values of samples taken

in the city centre were often significantly lower than those from the city outskirts. Values of pH at locality 10 might have been increased due to the influence of prevailing alkaline street and plaster dust at the locality.

Average pH values were significantly lower in 1987 than in 1988. It reflects increased yearly average of SO₂ concentrations within the city in 1987.

The lowest and the highest pH values in spring and autumn, respectively, indicate that the extract reactions might have been a season behind the current SO₂ concentrations. However, papers referred here say the time of delay is supposed to be about one month.

Total conductivity of bark extracts should reflect the total mineral contamination of bark samples. H ä r t e l et G r i l l (1972) recommended total conductivity as the most sensitive indicator of air pollution levels. It reacted more rapidly to changes in pollution levels than pH and sulphate content. The authors distinguished total and sulphate conductivities and found that total conductivity in the winter was about 45 % higher than in the summer. However, sulphate conductivity had increased by about 110 % in the winter. K r e i n e r et H ä r t e l (1986) found that in three weeks all bark calcium was neutralized by sulphuric acid. After that the total conductivity of bark extracts rapidly increased due to free sulphuric acid which could not be neutralized. They also supposed that the most of the acid is converted to CaSO₄ in the bark. Calcium sulphate contributed by 75 - 80 % of total conductivity values in bark extracts. Measured conductivity can be related to both CaSO₄ and K₂SO₄ standard. The specific conductivity of the former is about 10 % lower. Actually, the real total conductivity of a bark extract is the sum of partial specific conductivities of all the participating ions in the solution.

The results presented here indicate that total conductivity of samples did not have as long as a lag time after current SO₂ pollution levels as was observed for pH values. Different yearly averages of SO₂ pollution in 1987 and 1988 did not influence significantly total conductivity unlike the pH and sulphate content. However, total conductivity was able to recognize the most different pairs of compared localities as opposed to the other bark extract parameters. Spruce bark gave the highest effective absorber of soluble pollutants.

Unfortunately, the published limits of conductivity values for individual degree of pollution level could not be applied for the presented data because other extraction ratio had to be used. Nevertheless, the results obtained indicated an enormously high level of pollution all over Prague compared to data published for foreign large cities.

The source of sulphates in bark extracts may be mainly sulphuric acid, calcium and ammonium sulphates originated from SO₂. K i e n z l et H ä r t e l (1979) revealed that sulphate contents in bark extracts were delayed about a month after current SO₂ concentrations. They recommended using spruce bark which under the same pollution level could trap twice as many sulphates as other kinds of bark. K r e i n e r (1986) found that use of Tween 80 in turbidimetric sulphate determinations gave moderately lower results but the variance of the data was obviously lower. He also supposed that all sulphur presented in bark samples leached in the

form of sulphates because parallel analyses of S-SO₄ was equal to released S-SO₂ after combustion of the same bark specimens.

Sulphate contents presented here in bark extracts did not correspond exactly to SO₂ concentrations. It should be reminded that the average SO₂ data did not represent real pollution at chosen localities. They were used because of lack of any correct values of SO₂ pollution. Addition of Tween 80 in sulphate determination might have decreased the variance of measured data but the easiest method to get satisfactory results was applied for the investigation. For the similar reason, results were not related to CaSO₄ calibration solutions. Besides, bark samples from complicated urban pollution climates may also contain other sulphate forms in a significant manner.

L ö t s c h e r t et K o h m (1973) described a linear correspondence between pH values and sulphate contents in bark extracts. K i e n z e l et H ä r t e l (1979) presented regression coefficient statistics for individual pairs of spruce bark extract characteristics.

In the data presented here the linear model of regression analysis was applied and similar correlation coefficients were found as published by above-mentioned authors. Only the dependence of total conductivity on sulphate content in spruce bark extracts was slightly lower.

pH values and total conductivity of bark extracts do not indicate only SO₂ pollution levels as may have been felt when reading the text. If bark can retain various kinds and forms of pollutants then corresponding analyses must reveal the individual content of pollutants. Bark analyses have been used for indication of pollutant levels such as fluorides (M u c h a et al., 1977; S w i e b o d a et K a l e m b a , 1979), chlorides (T a k a l a et al., 1990), nitrogen compounds (O s t r o w s k a , 1980), heavy metals (F a t o k i et A y o d e l e , 1991), cement dust (K o r t e s h a r j u et K o r t e s h a r j u , 1989), radionuclides (B r o w n r i d g e , 1985), PCB (H e r m a n s o n et H i t e s , 1990), and many others. The author of the article also tried to indicate some of those pollutants by spruce bark analyses (S u c h a r a , 1992).

CONCLUSIONS

The bark extract characteristics indicated higher pollution loads in Prague city centre than in the city outskirts. Analyses of samples from all chosen localities revealed that tree bark in Prague was more polluted than in other foreign large cities where proper bark analyses were done.

Bark extract analyses showed higher bark contamination in 1988 than in 1987 and the least contamination in autumn as opposed to the highest contamination in winter or spring.

The most significant differences among combination pairs of the localities were found for total conductivity and pH values of bark extracts, the lowest number for soluble sulphate contents.

Measured parameters of bark extracts for individual tree species significantly differed each other. The highest values of total conductivity and sulphate contents gave spruce bark, lower oak and the least pine bark. Hence spruce and oak bark may be used as effective indicators of pollution levels in the country and in the city environments.

A relatively small correlation was found between investigated bark extract parameters and estimated SO₂ air pollution. Neither real air SO₂ concentrations at chosen localities, nor time of delay which extract characteristics are losing after the current SO₂ levels are known.

The dependence of pH on total conductivity and sulphate contents were negative and rather minor correlation coefficients were calculated for them whereas relatively good positive correlation was found for the dependence of total conductivity on sulphate content. Extract parameters indicating SO₂ levels best were total conductivity and sulphur content.

Used methods were suitable and sufficiently correct for large sets of analyses. For especially exact measurements other modified methods described in the references can be used to reduce the variance of obtained results. Tree bark could be of service as an universal indicator of environmental pollution levels if special analyses for individual pollutant determination are used.

Acknowledgement

The author is indebted to Ms H. Černá and H. Janová for the assistance in processing and analysis of bark samples and for their help with statistics.

References

- BATIČ, F. - MARTIČIČ, A.: Drevesna skorja kot zakalec onesnaženosti zraka. (Tree bark as an air pollution indicator). *Biol. Vest.*, 33, 1985: 1-12.
- BROWNRIDGE, J. B.: Use of bark to monitor radionuclide pollution. *Bull. Envir. Contam. Toxicol.*, 35, 1985: 193-201.
- FARMER, A. M. - BATES, J. W. - BELL, J. N. B.: A comparison of methods for the measurement of bark pH. *Lichenologist*, 22, 1990: 191-194.
- FAROVI, O. S. - AYODELE, E. T.: Zinc and copper levels in tree barks as indicators of environmental pollution. *Envir. Intern.*, 17, 1991: 455-460.
- GRILL, D. - HÄRTEL, O. - KRZYSCIN, F.: Confining and mapping of air-polluted areas with coniferous barks. *Arch. Ochr. Środow.*, 1981; 2-4: 63-70.
- GRODZIŃSKA, K.: Acidification of tree bark as a measure of air pollution in Southern Poland. *Bull. Acad. Polon., ser. Sci. Biol.*, 19, 1971, 3: 189-195.
- HÄRTEL, O.: Pollutants accumulation by bark. In: STEUBING, J. - JÄGER, H. - J. (eds): *Monitoring of air pollutants by plants*. Dr. W. Junk Publ. 1982, The Hague, p. 137-147.
- HERMANSON, M. H. - HITES, R. A.: Polychlorinated biphenyls in tree bark. *Envir. Sci., Technol.*, 24, 1990: 666-671.
- HÄRTEL, O. - GRILL, D.: Die Leitfähigkeit von Fichtenborken-Extrakten als empfindlicher Indikator für Luftverunreinigungen. *Eur. J. For. Pathol.*, 2, 1972: 205-215.

- ILJANIĆ, L. - HRŠAK, V. - JURIČIĆ, Ž. - HRŠAK, J.: Influence of air pollution on the bark pH-values in the regions of Zagreb and Sisak. *Acta Bot. Croat.*, 48, 1989: 63-67.
- KIENZL, I. - HÄRTEL, O.: Neues über den „Borkentest“ seine Zuverlässigkeit bei der Beurteilung von Immissionen. In: *Zbor. Mednarod. Gozdar. Zaziskaval. Organiz., Inst. Gozdn. Les. Gospod. Ljubljana* 1978, p. 269-282.
- KOCÚRIK, Š - ŠMÍDT, I.: Borka - indikátor znečistenia ovzdušia. (Bark - an indicator of air pollution. In Slovak). In: HINDÁK, F. (ed.): *Proceed., Zborn. Ref. III. Zjazdu Slov. Bot. Spoloč., Zvolen*, 1980, p. 143-147.
- KÖHM, H. J. - LÖTSCHERT, W.: pH-Wert und S-Gehalt der Baumborke als Indikatoren für Luftverunreinigung im urban-industriellen Ökosystem um Frankfurt a. M. *Verhandl. Ges. Ökol.*, 1, 1972: 142-152.
- KORTESHARJU, M. - KORTENSHARJU, J.: Studies on epiphytic lichens and pine bark in the vicinity of a cement works in northern Finland. *Silva Fenn.* 23, 1989: 301-310.
- KOSMUS, W. - GRILL, D.: Die Bedeutung verschiedener Parameter bei der Beurteilung von Immissionen anhand von Borkenanalysen am Beispiel des Stadtgebietes von Graz. *Mitt. Naturwiss. Ver. Steiermark*, 116, 1986: 161-172.
- KREINER, W.: Zur Analytik löslicher Komponenten der Borke nebst einen Vergleich des Verhaltens von Laub- und Nadelholzborken unter SO₂-Einwirkung. *Phyton (Austria)*, 26, 1986: 77-91.
- KREINER, W. - HÄRTEL, O.: Spruce bark influenced by SO₂. *Eur. J. For. Pathol.*, 16: 171-181.
- LÖTSCHERT, W. - KÖHM, H. J.: pH-Wert und S-Gehalt der Baumborke in Immissionsgebieten. *Oecol. Plant.*, 8, 1973, 3: 199-209.
- MALZAHN, E. - NIEDZIELSKA, V.: Zakwaszenie kory sosny zwyczajnej w Puszczy Białowieskiej jako wskaźnik zanieczyszczenia środowiska leśnego. (Acidification of Scots pine bark in Puszcza Białowieska as an indicator of pollution of a forest environment. In Polish). *Parki Narod. Rez. Przyrody*, 7, 1986: 77-83.
- MEDWECKA-KORNAŚ, A. - KOZŁOWSKA, H. - GAWRONSKI, S. - MARYSIK, E.: Właściwości wyciągów z kory sosny (*Pinus sylvestris* L.) jako wskaźniki zanieczyszczenia atmosfery w Ojcowskim Parku Narodowym. (The quality of Scots pine bark extracts as indicators of air pollution in Ojcowski Park Narodowy. In Polish). *Fragm. Flor. Geobot.*, 34, 1989: 425-444.
- MUCHA, W. - SIENKIEWICZ, A. - HRONIAK, B.: Kumulacja fluoru w środowisku leśnym. (Fluorine accumulation in a forest environment. In Polish). In: *Proceed. Jubil. Zjazd 40 - lecia Polsk. Towar. Gleboznaw. 1937 - 1977, PTG Poznań, Cz. I*, 1977: 93-102.
- OSTROWSKA, A.: Akumulacja azotu w igłach, korze i drzewie sosny z zasięgu oddziaływania Zakładów Azotowych w Puławach. (Nitrogen accumulation in needles, bark and wood of Scots pine in the reach of the influence of nitrogen works Zakłady Azotowe in Puławy. In Polish). *Roczn. Gleboznaw.*, 31, 1980: 117-131.
- SKYE, E.: Lichens and air pollution. *Acta Phytogeogr. Suec.*, 52, 1986: 1-123.
- STAXÅNG, B.: Acidification of bark of some deciduous trees. *Oikos*, 20, 1969: 224-230.
- STÖCKER, G. - GLUCH, W.: Bioindication of acid deposition on forest ecosystems - recognition of local and regional patterns. *Arch. Naturwiss. Landschaftsforsch.*, 30, 1990: 3-12.
- SUCHARA, I.: Experience in air quality indication through leaf enzyme activities and bark extract characteristics. In: BOHÁČ, J. (ed.): *Proceed. 6th Int. Conf. Bioind. Deterior. Reg., Č. Budějovice*, 1991: 109-116.
- SUCHARA, I.: The use of some urban park woody species in an estimation of air pollution level. Total leaf peroxidase and catalase activities. *Zahradnictví*, 20, 1993, s. 223-239.

SUCHARA, I. - KRÁL, D.: Ekologie pražských parků. (Ecology of Prague's park. In Czech). Ms., Final Res. Rep., Res. Inst. VŠÚOZ Průhonice, 1990, 77 pp.

SUCHARA, I. - SUCHAROVÁ, J.: Indikace kvality ovzduší pomocí borky stromů. Vstupní studie projektu. (Indication of air quality via tree bark. An Introductory Study of the Project A5.2.4.11 Feder. Min. Environ.), Ms., Res. Inst. VŠÚOZ Průhonice, 1991. 50 pp.

ŚWIEBODA, M. - KALEMBA, A.: The bark of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) as a biological indicator of atmospheric pollution. Acta Soc. Bot. Pol., 48, 1979: 539-549.

TAKALA, K. - OLKKONEN, H. - JÄÄSKELÄINEN, J. - SELKÄINAHO, K.: Total chlorine content of epiphytic and terricolous lichens and birch bark in Finland. Ann. Bot. Fenn. 27, 1990: 131-137.

TROCKENBRODT, M.: Survey and discussion of the terminology used in bark anatomy. IAWA Bull., N. S., 11, 1990: 141-166.

Arrived on 18. 6. 1993

SUCHARA, J. (Výzkumný ústav okrasního zahradnictví, Průhonice): *Využití některých druhů dřevin městských parků k odhadu úrovně znečištění ovzduší. Charakteristika výluhů borky stromů.* Zahradnictví, 20, 1993 (4): 241-260.

Na deseti lokalitách v Praze (tab. I) byly v letech 1986 - 1989 čtvrtletně odebírány a analyzovány vzorky povrchové vrstvy borky (*rhytidoma*) vždy z pěti stromů na každé lokalitě. Dubová borka byla analyzována na všech deseti, smrková na osmi a borová na pěti zvolených lokalitách. Usušené namleté vzorky byly přesety sítím o průměru od 2,0 mm, jemná frakce borky byla vyluhována 48 h převařenou deionizovanou vodou (4 g : 16 ml), hrubá frakce borky 24 h (4 g : 80 ml). Podle doporučených metod byla stanovena reakce výluhu jemné frakce a ve výluhu hrubé frakce borky celková vodivost a obsah rozpustných síranů. Průběh sledovaných parametrů ve výluzích (obr. 1 - 3) indikoval většinou větší míru znečištění na vnitroměstských lokalitách než na okraji Prahy s výjimkou pH na Karlově náměstí, kde reakce výluhu borky mohla být ovlivněna odlišným imisním klimatem (zásaditý prach z omítek a komunikací).

Na lokalitách se společným výskytem všech tří druhů stromů bylo ve výluzích borky zjištěno průkazně nižší pH a vyšší obsah rozpustných síranů v roce 1988 než v roce 1987. Nejvyšší hodnoty pH a nejnižší hodnoty celkové vodivosti i obsahu síranů ve výluzích byly zjišťovány na podzim, zatímco na jaře bylo uvedenými parametry indikováno nejvyšší znečištění borky. Zjišťované charakteristiky výluhů pro jednotlivé druhy borky byly vzájemně významně rozdílné (tab. II). V těchže imisních poměrech největší míru znečištění vykazovala borka smrků, nejcitlivějším indikátorem znečištění byl obsah síranů a celková vodivost ve výluzích. Méně vhodným parametrem se jeví pH, jehož výsledná hodnota je podmiňována spolupůsobením mnoha znečišťujících látek ve výluhu.

Borka dubů byla v Praze nejméně znečištěna na podzim, sledované charakteristiky výluhů naopak vykazovaly nejvyšší úroveň znečištění v zimě (tab. III). Pro celkovou vodivost výluhů byl zjištěn největší počet dvojic lokalit s průkaznými rozdíly, nejmenší počet průkazných rozdílů mezi lokalitami byl zjištěn pro obsah rozpustných síranů. Analýza borky dubů ukázala, že nejméně byly znečištěny stromy na lokalitách 2, 3 a 1,

nejvíce na lokalitách 6, 7, 8 a 10. Porovnání výsledků s publikovanými údaji ukázalo, že znečištění na všech vybraných lokalitách v Praze bylo velmi vysoké ve srovnání s jinými velkými městy v zahraničí.

Citovaní autoři uvádějí, že průběh sledovaných parametrů výluhů borky se opožďuje asi o měsíc za aktuálními koncentracemi SO_2 v ovzduší. Proto byla sledována závislost zjišťovaných parametrů výluhů borky na průměrné koncentraci SO_2 za období měsíc před odběrem vzorků borky. Pro nedostatek spolehlivých údajů o znečištění na lokalitách byly použity hodnoty ze stanic nejbližší jednotlivým lokalitám, pokud na nich byly průměrné hodnoty SO_2 k dispozici. Z důvodů malé reprezentativnosti hodnot o časových změnách zachycených polutantů v borce byly korelační koeficienty závislosti charakteristik výluhů na SO_2 relativně nízké (tab. IV). Výsledky v tab. II naznačují, že odezva sledovaných charakteristik na průběh aktuálního znečištění ovzduší by mohla být delší než měsíc, alespoň u pH.

Vzájemná závislost mezi sledovanými parametry výluhů borky byla podobná s údaji publikovanými jinými autory. Závislost pH na celkové vodivosti a na obsahu rozpustných síranů ve výluzích byla negativní, závislost vodivosti na obsahu síranů pozitivní. Největší korelační koeficienty byly zjištěny pro závislost parametrů v extraktech borové kůry a pro závislost vodivosti na obsahu síranů. Grafické zpracování regresní analýzy pro všechna naměřená data uvádí obr. 4.

Reakce a celková vodivost výluhů borky nejsou specifickými ukazateli znečištění SO_2 . Použitá metoda stanovení síranů byla vhodná a dostatečně přesná, v případě potřeby snížení variance výsledků analýz je možné použít modifikované metody, které uvádí citovaná literatura. Borka stromů by mohla sloužit jako univerzální indikátor znečištění prostředí, pokud budou užity analýzy specifické k determinaci jednotlivých znečišťujících látek zachycených borkou.

polutanty; borka; dub; smrk; borovice; městské prostředí

Author's address:

RNDr. Ivan S u c h a r a , CSc., Výzkumný ústav okrasného zahradnictví,
252 43 Průhonice

HISTORIE NÁLEZU A VYUŽITÍ FUNKČNÍ STERILITY RAJČAT (*LYCOPERSICON ESCULENTUM* MILL.) V ČESKOSLOVENSKU

Rajče patří mezi plodiny, u nichž lze komerční hybridní osivo získávat tradičním ručním postupem, sestávajícím z kastrace květů, sběru pylu a opylení. Zásadou hybridu Heterosis, jehož autorem byl prof. Frimmel v Lednici na Moravě a kterým obchodovala erfurtská firma Benary již ve třicátých letech, se brzo po kukuřici a tabáku stalo rajče další plodinou, kde nastoupily vítěznou cestu F₁ hybridy.

Tradiční způsob výroby hybridního osiva je dodnes komerčně zajímavý, jak o tom svědčí veliká množství osiva pro rychlení, vyráběná v Nizozemsku a exportovaná do mnoha zemí evropských i mimoevropských. Poukazy na to, že podobně jako u kukuřice a dalších plodin existuje i u rajčat samčí sterilita, která by se dala využít k získávání hybridního osiva bez předchozí kastrace květů, jsou však značně starého data.

První nález tohoto druhu uvádějí *Larson a Paur* (1948) v odrůdě *John Baer*. Šlo však o sterilitu odlišnou od dosud známých typů pylové sterility *ms* (male sterile), totiž o sterilitu funkční. Spočívá v tom, že pyl v prašnicích je plně životný, ale sutura prašníků se ve zralosti neotvírá, takže pyl zůstává trvale uzavřen v prašnicích. Trvalý srůst sutury byl navíc spojen s trvalým srůstem korunních plátků a také kališních lístků, takže květy se v žádném stadiu svého vývoje nerozvířaly. Přesto, že srůst koruny znepřístupňuje bliznu pro umělé opylení, byla tato funkční sterilita, nazvaná *ps* (positional sterile), využívána pro výrobu hybridního osiva v Polsku, Rumunsku, v SNS i jinde.

Již *Larson a Paur* (1948) konstatovali genové, jednoduše recesivní založení znaku *ps*. U rajčat jsou ostatně genové, nikoliv cytoplazmaticky, založeny i všechny nalezené *ms* formy. Hybridizační praxe proto ocenila u *ps* forem tu skutečnost, že sterilní mateřskou linii lze rozmnožovat v naprosto čisté formě umělou autogamizací, zatímco u *ms* je nutné každoroční zpětné křížení a vyřídování 50 % fertálních heterozygotních rostlin.

V roce 1961 jsme ve VÚRV v Praze-Ruzyni (*Trončíková*, 1962) našli přirozenou mutaci sterility v determinantní odrůdě československého původu Vrbičanské nízké. Ukázalo se, že jde rovněž o *ps* sterilitu genové jednoduše recesivně založenou, která se od sterility popsané *Larsonem a Paurem* (1948) liší tím, že srůstají pouze sutury prašníků, zatímco květní koruna i kalich jsou nerozpoznatelné od květů nemutantních fertálních rostlin. Zdroj této sterility byl začátkem šedesátých let poskytnut pro studijní účely do Bulharska, SNS a do Francie.

V Bulharsku prokázal *Georgiev* (1973), že *ps* gen v odrůdě *John Baer* není alelický s genem *ps* v odrůdě Vrbičanské nízké. První gen označil jako *ps-1* a druhý jako *ps-2*. V *Tomato Genetics Cooperation Report* poprvé popsala gen *ps-2* *Philouze* (1978). V *TGC Report* (1979) je *Philouze* mylně uváděna jako autorka nálezů *ps-2*. Originalita *Trončíkové* byla však uvedena na pravou



1. V plném květu normálně rozevřené květy u československé originální funkčně sterilní mutace *ps-2* z odrůdy Vrbičanské nízké (vlevo) a v celém průběhu kvetení trvale srostlé květní koruny u funkčně sterilní mutace *ps-1* z odrůdy John Baer (vpravo) – Czechoslovak original positional sterile *ps-2* mutant from the cultivar Vrbičanské nízké (on the left) with normally opened corollae in full bloom. Positional sterile *ps-1* mutant from the cultivar John Baer (on the right) with permanently concrescent corollae

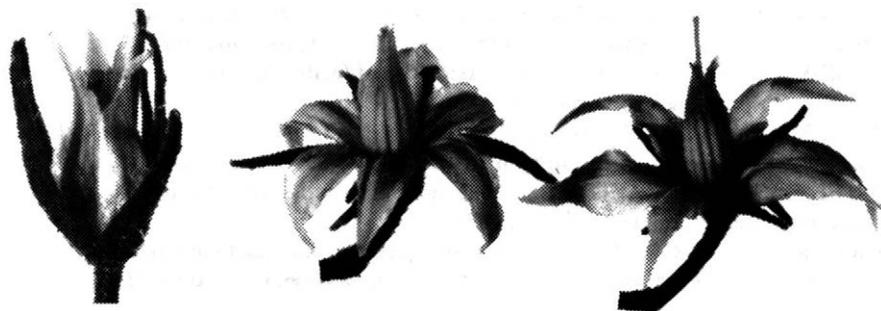


2. Funkčně sterilní mutant *ps-2* z odrůdy Vrbičanské nízké – Positional sterile *ps-2* mutant from the Vrbičanské nízké cultivar

míru v TGC Report (1980). Později A t a n a s s o v a a G e o r g i e v (1987) a A t a n a s s o v a (1991a, b) lokalizovala gen *ps-2* na chromozomu 4, asi 20-26 jednotek od genu *clau* (clausa), v těsné vazbě s genem *ful* (fulgens).

Spolehlivost sterility *ps-2* z hlediska možného využití pro výrobu hybridního osiva sledovala ve francouzských podmínkách P h i l o u z e (1978). Její konstatování, že k autogamizaci po křížení dochází maximálně v 5 %, odpovídalo i přirozenému zakládání autogamizovaných plodů do 5 % v obdobných teplých podmínkách v Bulharsku (G e o r g i e v a A t a n a s s o v a , 1981). Tito autoři však výběrem získali linie se samosprašností pod 0,5 % a u linie Start-24, která se stala základem praktického využití i pozdějších genetických studií, dokonce jen 0,02 %. V našich podmínkách, které jsou chladnější, přirozené zakládání plodů dosahovalo pouze 0,53 % (T r o n í č k o v á , 1968).

Naše hodnocení vhodnosti různých zdrojů sterility rajčat (*ms*, *ps-1*, *ps-2*, *sl*, *pi*, *ex*) podobně jako zkušenosti G e o r g i e v a (1973) vedly k závěru, že pro usnadnění hybridizace by byla nejvhodnější kombinace genů *ps-2*, *ex* (*exserta*) a *c* (*compact*). Významné přednosti *ps-2*, kterými je snadnost generativního množení v čisté formě, vysoká samičí fertilita a vysoký výnos hybridních semen získávaný v důsledku opylování květů v době maximální receptivity blizny, by se tak spojily s longistylí, která by umožnila přístup k blizně, aniž by bylo nutno před opylováním odstraňovat koruny květů s tyčinkami, což je jediná nepříjemnost u *ps-2* při hybridizaci. Míkáčovitý tvar listu *c* (*compact*) navíc umožňuje kontrolu hybridnosti v F₁. Úsilí, které jsme ve směru kombinace znaků *ps-2* a *ex* vyvinuli my i G e o r g i e v a A t a n a s s o v a (1981, 1984), nevedlo však k celi vzhledem k labilitě projevu longistylie a k dominantnímu charakteru genu *ex*. Podobně neúspěšné byly snahy indukovat u *ps-2* forem longistylie pomocí aplikace GA. Příčinou je nepříznivý vliv GA na vývoj rostlin a na jejich samičí fertilitu (D a n a i l o v , 1977; T r o n í č k o v á , 1979). Za nejperspektivnější projekt považují G e o r g i e v a A t a n a s s o v a



3. Plně rozkvetlý květ u funkčně sterilní mutace *ps-1* z odrůdy John Baer (vlevo), u funkčně sterilní mutace *ps-2* z odrůdy Vrbičanské nízké (uprostřed) a u longistylní mutace *ex-2* z linie Eva-2 (vpravo) – Full bloom: in the positional sterile *ps-1* mutant from the John Baer cultivar (on the left), in the positional sterile *ps-2* mutant in the Vrbičanské nízké cultivar (in the middle) and in the longistyle *ex-2* mutant from the Eva-2 line (on the right)

(1983, 1984) spojení genu *ps-2* se zkrácenou bliznou květu, která usnadňuje odstraňování květní koruny.

K praktickému uplatnění *ps-2* v komerčním hybridu došlo nejdříve v Bulharsku. Keříčkový hybrid Pioner-2a (Georgiev a Petrakov, 1973) zaujmal ve své době nejenom velké plochy v Bulharsku, ale osivo bylo dováženo ve značných množstvích i do Československa. Sterilita *ps-2* byla u nás nakřížena do řady odrůd s kombinační schopností, mimo jiné i do mateřské komponenty prvního čs. hybridu rajčete Start F₁, povoleného v roce 1975. Tak vznikl Start S-F₁, povolený v roce 1981, který je dodnes součástí čs. sortimentu. Se získáváním hybridního osiva na základě *ps-2* nejsou problémy a semenářská praxe potvrzuje výzkumem předpokládané výhody (Troníčková a Špirytová, 1981), především zvýšení produktivity práce při hybridizaci ve sklenku o 120 % a vysokou hybridnost získaného osiva v rozmezí 97-100 %.

Zdroj *ps-2* sterility z VÚRV byl paralelně využíván i na šlechtitelské stanici ve Smržicích, kde se stal součástí úspěšného hybridu Tornádo F₁, povoleného v roce 1989.

Literatura

ATANASSOVA, B.: Linkage studies of the „positional sterility-2” mutant in tomato. J. Genet. and Breed., 45, 1991, s. 293-296.

ATANASSOVA, B.: Localization of tomato *ps-2* gene (functional sterility). TGC Report, 41, 1991, s. 12.

ATANASSOVA, B. - GEORGIEV, CH.: Attempt to map *ps-2* on chromosome 2. TGC Report, 37, 1987, s. 35.

DANAĪLOV, Z.: Effect of gibberillin on flower style elongation in functionally sterile tomato lines. Hort. and Vitic. Sci., 4, 1977, s. 32-37.

GEORGIEV, CH.: Proučvane na mačkata sterilnost vav vrazka s chibridnoto semeproizvodstvo pri domatite. In: Simp. po cheterozis, Varna, 1973.

GEORGIEV, CH. - ATANASSOVA, B.: New opportunities for using male sterility in the tomato. Genetics and breeding of tomato, Proc. of the Meet. Eucarpia, Avignon, 1981.

GEORGIEV, CH. - ATANASSOVA, B.: Possibilities of facilitation of tomato hybrid seed production using *ps-2* sterile lines with low level stigma. TGC Report, 33, 1983, s. 2.

GEORGIEV, CH. - ATANASSOVA, B.: Results from the use of *ps-2* sterile lines with short style in tomato hybrid seed production. In: Symp. Eucarpia, Tomato, Wageningen, 1984, s. 22-24.

GEORGIEV, CH. - PETRAKOV, B.: Production of hybrid seeds of Pioner-2a on the base of positional male sterility. Gradinarstvo, 6, 1973, s. 7-9.

LARSON, R. E. - PAUR, S.: The description and inheritance of functional sterile flower mutant in tomato and its probable value in hybrid tomato seed production. Proc. Amer. Hort. Sci., 52, 1948, s. 52.

PHILOUZE, J.: Percentage of selfing in a female *ps-2* line used for the production of hybrid seed. TGC Report, 28, 1978, s. 13-15.

PHILOUZE, J.: Gene List. Positional sterile - 2. TGC Report, 29, 1979, s. 13.

TRONÍČKOVÁ, E.: New type of functional male sterility in tomato. Věd. Práce Výzk. Úst. rostl. Vyr. Praha-Ruzyně, 6, 1962, s. 29-39.

TRONÍČKOVÁ, E.: Vliv vnějších podmínek na projev funkční sterility u rajčat. Věd. Práce Výzk. Úst. rostl. Vyr., 13, 1968, s. 203-210.

TRONÍČKOVÁ, E.: Reakce různých genotypů rajčat na indukci longistylie pomocí GA. Genet. a Šlecht., 15, 1979, s. 169-177.

TRONÍČKOVÁ, E. - ŠPIRYTOVÁ, N.: Výroba hybridního osiva rajčete Start S-F₁ s využitím funkční sterility. Rostl. Výr., 27, 1981, s. 865-872.

Gene List Revisions, Tomato Genetics Cooperation Report, 30, 1980, s. 17.

Došlo 27. 10. 1992

History of discovery and exploitation of positional sterility in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in Czechoslovakia.

Hybrid seed production in tomato can be facilitated by incorporating some form of male sterility into mother component. The paper describes the finding of the positional sterile *ps-2* mutant in the Czechoslovak cultivar Vrbičanské nízké in 1962, its advantages in the process of hybrid seed production and the present stage of its utilization in the practice. Positional sterility *ps-2* has been exploited in Czechoslovak registered hybrids Start S-F₁ and Tornado F₁. By genetical studies of the *ps-2* gene performed mainly in Czechoslovakia, Bulgaria and France the recessive monogene character of inheritance, localization on the chromosome 4 and linkage with the gene *fulgens* (*ful*) were established.

*Doc. Eva Pekárková-Troníčková,
Výzkumný ústav rostlinné výroby, 161 06 Praha 6 - Řezyňě*

Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, Praha 2

pro Vás v letošním roce připravil novou publikaci,
která by neměla chybět ve Vaší odborné knihovně

ČESKO-NĚMECKÝ A NĚMECKO-ČESKÝ SLOVNÍK PRO ZEMĚDĚLCE

Slovník obsahuje nejdůležitější a nejfrekventovanější zemědělské výrazy v německém jazyce.

Je sestaven na základě odborné analýzy frekvence německých zemědělských termínů v odborném i populárním německém tisku a s výrazy používanými v německém zemědělství.

Usnadní Vám četbu odborných časopisů a knih a umožní Vám dále se vzdělávat a dorozumět se.

Slovník uvádí v prvé řadě stěžejní termíny, jejichž znalost je nutná pro pochopení dalších kombinací. Jsou zde zahrnuty takové německé výrazy, které se ve velkých slovnících marně hledají.

Slovník je doplněn o volně vloženou přílohu, obsahující základní termíny z kalendáře, měr, hmotností, frází pro styk s úřady, domluvu na poště, na nádraží, při silničním provozu aj.

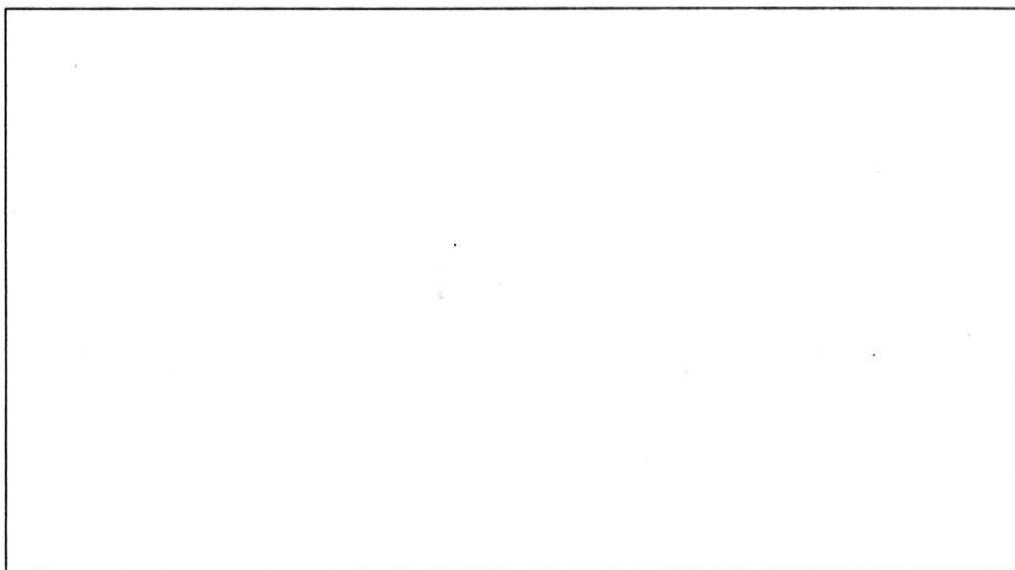
Cena slovníku je 50.- Kč.

Objednávky posílejte na adresu:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
pí. Hrnčířová
Slezská 7
120 56 Praha 2

OBSAH – CONTENTS

| | |
|--|-----|
| K a l a ě P. jr., V o l d ř i c h M., D o b i á š J.: Obsah tomatinu ve vybraných odrůdách rajčat – The of content α -tomatine in selected tomato cultivars | 193 |
| J a n k o v s k ý M., P e ř i n o v á D., P e t r J.: Nová metoda izolace a stanovení éterických olejů koření a jejich složek – A new method of isolation and determination of ethereal oils in spices and of their components | 201 |
| J a n e ě k o v á M., M y s l i v e ě k o v á J., Č a p k o v á D.: Organogeneze výhonků maliníku (<i>Rubus idaeus</i> L.) z listových disků – Organogenesis of raspberry offshoots from leaf discs | 213 |
| H u b á ě k o v á M.: Citlivost vyrašených pupenů révy vinné k imitaci jarního mrazu v závislosti na prostředí – Sensitivity of grapevine burst buds to spring frost imitation in dependence on exposure to environment | 217 |
| S u c h a r a I.: The use of some urban park woody species in an estimation of air pollution level. Total leaf peroxidase and catalase activities – Využití některých druhů dřevin městských parků k odhadu úrovně znečištění ovzduší. Celková aktivita listových peroxidáz a katalázy | 223 |
| S u c h a r a I.: The use of some urban park woody species in an estimation of air pollution level. Tree bark extract characteristics – Využití některých druhů dřevin městských parků k odhadu úrovně znečištění ovzduší. Charakteristiky výluhů borky stromů | 241 |
| Z VĚDECKÉHO ŽIVOTA | |
| B l a ž e k J.: Zasedání ovocnářské sekce EUCARPIA | 200 |
| INFORMACE | |
| P e k á r k o v á - T r o n í ě k o v á E.: Historie nálezu a využití funkční sterility rajčat (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill.) v Československu | 261 |



Vědecký časopis **ZAHRADNICTVÍ** ● Vydává Česká akademie zemědělských věd a
venská akadémia pôdohospodárskych vied - Ústav zemědělských a potravinářsk
informací ● Vychází čtyřikrát ročně ● Redaktorka: ing. Zdeňka Radošová ● Reda
Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/257541 ● Sazba: Studio DOMINO - ing. Jakub Če
Popovice 144, 267 01 Králův Dvůr, tel.: 0311/22959 ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav
mědělských a potravinářských informací, Praha 1993

Rozšiřuje PNS a. s. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá ad
nistrace PNS, doručovatel tisku a Administrace centralizovaného tisku, Hvoždanská
149 00 Praha 4-Roztyly.