

## Werk

**Titel:** Botanica

**Jahr:** 1960

**PURL:** [https://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl?312899653\\_0005|log9](https://resolver.sub.uni-goettingen.de/purl?312899653_0005|log9)

## Kontakt/Contact

Digizeitschriften e.V.  
SUB Göttingen  
Platz der Göttinger Sieben 1  
37073 Göttingen

✉ [info@digizeitschriften.de](mailto:info@digizeitschriften.de)

[ACTA F. R. N. UNIV. COMEN. V., 11. — 12., BOTANICA, 1961]

**ACTA**  
**FACULTATIS RERUM NATURALIUM**  
**UNIVERSITATIS COMENIANAE**

**TOM. V.      FASC. XI. — XII.**

**BOTANICA**

**PUBL. VII.**

**1961**

**SLOVENSKÉ PEDAGOGICKÉ NAKLADATELSTVO BRATISLAVA**

## REDAKČNÁ RADA

Prof. dr. O. FERIANC  
Doc. dr. J. FISCHER  
Prof. Ing. M. FURDÍK  
Doc. dr. A. GREGUŠ C. Sc.  
Prof. dr. J. A. VALŠÍK

## REDAKČNÝ KRUH

|                                      |                                        |
|--------------------------------------|----------------------------------------|
| Prof. dr. M. Dillinger               | Doc. dr. J. Májovský                   |
| Doc. dr. R. Herich                   | Doc. M. Mrciak                         |
| Doc. Ing. J. Hladík                  | Člen korešp. SAV prof. dr. L. Pastýrik |
| Doc. dr. A. Huťa                     | Prof. dr. J. Srb                       |
| Doc. dr. M. Kolibiar                 | Prof. Ing. S. Stankoviansky            |
| Člen korešp. SAV prof. dr. M. Konček | Doc. dr. M. Sypták                     |
| Doc. dr. L. Korbel                   |                                        |

---

Sborník Acta facultatis rerum naturalium universitatis Comenianae. Vydáva Slovenské pedagogické nakladateľstvo v Bratislave, Sasínkova 5, čis. tel. 458-51. Povolilo Povereníctvo kultúry číslom 2265/56-IV/1. — Tlač: Východoslovenské tlačiarne, n. p., závod Prešov.

Z-16\*01518

[ACTA F. R. N. UNIV. COMEN. V., 11. — 12., BOTANICA, 1961]

**ACTA**  
**FACULTATIS RERUM NATURALIUM**  
**UNIVERSITATIS COMENIANAE**

**TOM. V.            FASC. XI. — XII.**

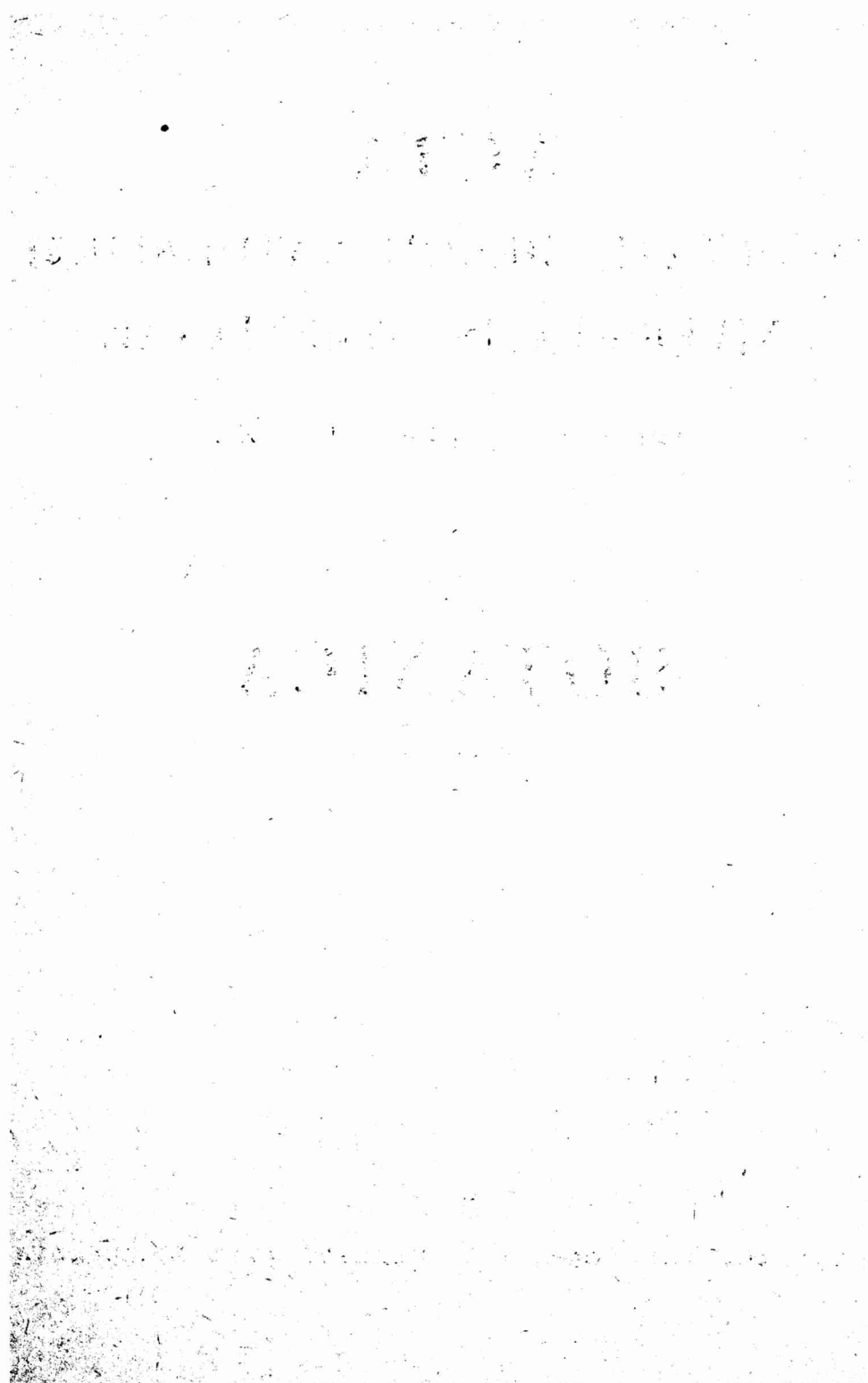
**BOTANICA**

**PUBL. VII.**

**1961**

**SLOVENSKÉ PEDAGOGICKÉ NAKLADATELSTVO BRATISLAVA**





## Nová surovina pre výrobu penicilínu

P. NEMEC, L. EBRINGER, J. BALAN a D. ŠATURA

(Katedra biochémie a mikrobiológie SVŠT, Biologický ústav SAV, Spojené cukrovary n. p. Sered')

Predpokladom rozvoja priemyselnej výroby antibiotík bolo zvýšenie výťažkov na objemovú jednotku fermentačnej pôdy. Výskum v tejto oblasti uberal sa niekoľkými smermi:

1. Prechod k submerznej fermentácii,
2. Selekcia produkčných kmeňov,
3. Výskum nových fermentačných pôd a ich zloženia.

Naša práca bola zameraná na hľadanie nových surovín pre prípravu fermentačných pôd pre produkciu penicilínu.

V prvých rokoch výroby penicilínu používali sa pri tejto fermentácii syntetické pôdy. Produkcia antibiotika na takýchto pôdach bola veľmi nízka a výrobné náklady neprimerane vysoké. Aj neskoršie pokusy o zostavenie plne definovanej, syntetickej pôdy zlyhali práve na nízkych produkčných výťažkoch a ekonomicky neúnosných nákladoch.

Další rozvoj výroby penicilínu bol podmienený zavedením nových faktorov do výroby, ako napríklad uplatnením submerznej fermentácie a prídavku kukuričného výluhu (v ďalšom CSL) do pôd pri výrobe penicilínu. Týmto zlepšeniami ako aj selekciou prírodných kmeňov produkujúcich antibiotikum, podarilo sa podstatne zvýšiť výťažky.

CSL v pomerne krátkom čase stal sa najpoužívanejšou živinou pre prípravu fermentačných pôd k výrobe nielen antibiotík, ale aj iných biologických preparátov. Na CSL bola upútaná pozornosť už dávnejšie, pred používaním pri výrobe penicilínu. Behr (1) už roku 1909 upozornil na výhodné vlastnosti CSL a navrhol, aby sa táto látka používala v mikrobiológii ako náhradka niektorých drahých pôd.

Vedľa výhodných vlastností CSL pre výrobu penicilínu stretávame sa však často aj s jeho nevýhodnými vlastnosťami. Je to heterogénna zmes organických a anorganických látok a keďže vzniká ako vedľajší produkt pri spracovaní kukurice na škrob, jeho kvalita býva pri každej výrobnej šarži iná. Pomerne zložitá technológia mokrého spracovania kukurice na škrob, častá rôznorodosť východzej suroviny a veľa iných, často neznámych faktorov, ovplyvňuje akosť a vlastnosti CSL. V dôsledku neštandardnosti CSL aj výťažky antibiotika kolíšu v závislosti na kvalitatívnych vlastnostiach základnej suroviny.

CSL okrem analyticky zachytiteľných látok ako aminokyselín, vitamínov, cukrov, minerálnych látok, kyselín, a to najmä organických, obsahuje aj nedefinované látky, ktoré pôsobia stimulačne na rast mycélia ako aj na produkciu antibiotika. Je veľmi pravdepodobné, že CSL obsahuje aj látky pôsobiace inhibične na rast mycélia aj na produkciu antibiotika (2).

Názory autorov na vplyv CSL pri výrobe penicilínu boli rôzne, ale väčšina autorov zastáva názor, že CSL je hlavne zdrojom aminokyselín. Podľa viacerých autorov (3) v CSL nachádza sa nasledovných 11 voľných aminokyselín:

Značný obsah: glykokol, alanín, valín, leucín

menší obsah: lyzín, tryptofan, prolín, kyselina asparágová a kyselina glutamová

najmenší obsah: arginín a histidín.

Pyle (3) našiel všetky tieto aminokyseliny aj v mycéliu, pestovanom paralelne na syntetickej pôde a prišiel k uzáveru, že CSL má pozitívny význam pre produkciu penicilínu, okrem iného ako zdroj aminokyselín, takže produkčný organizmus ich nemusí syntetizovať.

Kvantitatívne zastúpenie aminokyselín v jednotlivých šaržiach CSL však kolíše a to v závislosti od vyššiespomínaných faktorov. Chemické kritériá na posudzovanie kvality CSL nie sú dostatočné. Je možné iba približne odhadnúť akosť CSL podľa analyticky zistených údajov o obsahu aminokyselín, kyseliny mliečnej, popolovín, z kvantitatívneho pomeru aminodúsika a celkového dusíka. Takáto klasifikácia CSL je teda neúplná a nedokonalá. Posúdenie vhodnosti každej vyrobenej šarže CSL sa však prevádza až na základe výťažku antibiotika po pokusnej fermentácii. Aj tu sú časté rozdiely medzi laboratórnou fermentáciou a výrobou vo veľkom.

Okrem kolísania kvality CSL, v našich pomeroch sa pridružuje aj ďalšia nevýhoda — nedostatok základnej suroviny, t. j. kukurice, ktorú väčšinou dovážame.

Otázka CSL je tesne spojená s otázkou prvovýroby a zužitkovania škrobu. Aj keď u nás vďaka plánovanému hospodárstvu škrob má svoju použiteľnosť, nie je tomu tak v kapitalistických štátoch. Napríklad v niektorých oblastiach USA spracujú toľko kukurice na škrob pre zvýšenú potrebu CSL, že aj napriek výrobe veľkého množstva škrobových derivátov nevedia, čo si so škrobom počať.

V dôsledku nevýhod spojených s otázkou CSL začalo sa pracovať jednak na zlepšení CSL, jednak na hľadaní nových surovín s lepšími vlastnosťami. Cieľom našej práce bolo nájsť takú natívnu zložku pre kultivačnú pôdu, ktorá by dávala výťažky antibiotika aspoň tak vysoké, ako používané pôdy s CSL. Látka nahradzujúca CSL má mať podľa možnosti štandardnejšie zloženie a vlastnosti. Je samozrejmé, že sme pri tom museli brať do úvahy aj faktory hospodárnosti a teda možnosť jednoduchšej prípravy tejto látky z lacných, podľa možnosti odpadových surovín.

S problémom CSL v súvislosti s produkciou antibiotík začali na celom svete hľadať náhradu tejto suroviny. Natívne látky, v mikrobiológii všeobecne používané, napr. pepton, trypton, kvasničný extrakt, dávali podstatne nižšie výsledky aj po pridaní anorganických solí a glukózy.

Zaujímavé výsledky dosiahol Foster a spol. zamenením CSL múkou z bavlníkových semien. Ukázalo sa, že bavlníková múka obsahuje viac derivátov kyseliny fenyloctovej (fenylalanín) ako CSL. Podľa Stanleya (4) tieto pôdy s bavlníkovou múkou sa však ťažko filtrujú. Navrhuje múčku predbežne extrahovať vodou tak, že sa bavlníková múčka autoklávuje dve hodiny pri 122 °C, nechá sa sedimentovať a používa sa v tejto forme. Odpadajúci vodný extrakt je málo účinný ako zložka fermentačnej pôdy, extrahovaná múčka však dáva výborné výsledky.

Zaujímavé je, že väčšinou boli patentované prípravky do fermentačných pôd,

vyrobené z typických, možno povedať, národných surovín. Napríklad Fíni navrhujú použiť extrakty ihlič íhličnatých stromov pre fermentačné pôdy (5). Ďalej literatúra udáva používanie rôznych iných extraktov do fermentačných pôd, napríklad hydrolyzátov koreňov kok-sagyzu (6), extrakty a múčky z arachisu atď. Zvýšenie výťažnosti fermentácie a skrátenie fermentačnej doby sa dá podľa španielskeho patentu dosiahnuť prídavkom hydrolyzovaných klíčkov zo semien svätajanského chleba (*Ceratoria siliqua*) (7). V Indii používajú hydrolyzáty zámotkov hodvábnika ako zdroj aminokyselín do fermentačnej pôdy (8). Ďalej sú patentované návrhy na použitie rôznych živočíšnych žliáz, vnútorných orgánov zvierat najmä vo forme hydrolyzátov, napríklad z rýb, ktoré sú zdrojmi dusíka. Spracovanie je jednoduché, napr. morské ryby sa hydrolyzujú 2%-ným lúhom. Z odfiltrovaného hydrolyzátu okyselením minerálnou kyselinou na pH 4,0 odstránime bielkoviny. Christensen (9) navrhuje pridávať do fermentačných pôd produkt enzymatického rozkladu niektorých častí zvieracieho zažívacieho traktu, napríklad odtučnené a vysušené tenké črevo a žalúdok, rozložené pepsínom a trypsínom. Markov a Bogdanov získali vhodnú pôdu vyluhovaním sójových bôbov vo vode s prídavkom NaCl.

Ako vidno, práce o nahradení CSL pojednávajú o náhražkách buď komplexných, alebo len o náhrade niektorej z jeho hlavných zložiek, t. j. dusíkatých a uhlíkatých zdrojov.

Pri použití CSL ako hlavný zdroj energie sa pridávala jednorázove glukóza. Správne zloženie a vybalancovanie uhlíkatých zdrojov v živných pôdach zaručuje úspešnú produkciu antibiotika za predpokladu správneho pomeru ostatných zložiek. Nevýhody pri použití glukózy spočívajú najmä v jej rýchlej utilizovateľnosti plesňou a rýchlou oxydáciou na kyselinu glukónovú. Pre úspešnú výrobu penicilínu je dôležité, aby sa v procese fermentácie udržalo také pH pôdy, ktoré je optimálne pre príslušnú fázu tvorby penicilínu. Narušenie metabolizmu plesne pod účinkom tých alebo oných zmien v pôde často spôsobuje zmeny v pH, čo sa samozrejme odráža na produkcii penicilínu. Práve uhlodráty hrajú v tejto stránke metabolizmu plesní podstatnú úlohu. Ďalšou nevýhodou glukózy je, že s látkami nachodiacimi sa v CSL tvorí glukozamín, ktorý má podľa niektorých autorov inhibičný účinok na produkciu penicilínu a preto sa postupne prešlo na laktózové pôdy. Neskôr sa zistilo, že periodické pridávanie glukózy zvýši produkciu penicilínu.

Soltero a Johnson (10) zistili, že periodické pridávanie 0,4% glukózy každých 12 hodín dáva výťažky penicilínu zhodné s výťažkami na kontrolnej laktózovej pôde. Periodické pridávanie 0,03% glukózy za hodinu (alebo 0,036% sacharózy) zvýši produkciu penicilínu až dvojnásobne vzhľadom ku kontrole. Noguti a Arao (11) zistili, že optimálne dávky zdrojov uhlíka, zodpovedajúce maximálnemu výťažku antibiotika sú u glukózy 0,013% každú hodinu počnúc 75. hodinou kultivácie. Ak sa pridávala laktóza, bola produkcia penicilínu oveľa nižšia ako v kontrole, t. j. v pôde laktózovej, kde laktóza bola pridaná jednorázove na začiatku fermentácie.

Podobne ako glukóza, môžu sa periodicky pridávať aj iné cukry, najmä sacharóza, ale aj galaktóza, xylóza, sorbóza a škrob.

Novú etapu pri štúdiu metabolizmu plesní znamená zavedenie tukov, resp. mastných kyselín ako hlavných zdrojov uhlíka a energie. Perlmann a Langlykke (12) navrhujú zameniť v pôde cukry olejmi, pri čom obsah cukrov musí byť pod 1,25% a zbytok do 2% pripadá na oleje. Osvedčili sa sójový,

bavlníkový, ľanový, podzemnicový a iné oleje, ktorých prídavok do fermentačnej pôdy mal za následok zvýšenie produkcie penicilínu. V patentoch firmy Squibb sa zdôrazňuje, že pre produkciu penicilínu môžu byť úspešne asimilované len tuky alebo masné kyseliny, obsahujúce aspoň 14 atómov uhlíka. H i c k e y (13) zistil, že prídanie kyseliny olejovej alebo jej netoxických kovových solí v kombinácii s fenylacetamidom zvyšuje produkciu penicilínu. Japonci Ishida a spol. (14) dokázali, že koncentrácia 0,1–0,7% sójového alebo ricínového oleja stimuluje produkciu, ak sa pridajú v prvých 24 hodinách fermentácie. Keď sa pridajú neskôr, vo fázi fermentácie, kedy sa už tvorí penicilín vo väčšom množstve, oleje spôsobujú abnormálne podmienky, penenie, nepravidelné zmeny pH a autolýzu mycélia. Abnormality varujú s typom oleja. Y a s u d a a spol. (15) dokázali, že autolytický účinok sójového oleja, resp. iných olejov bol sprevádzaný zvýšenou aktivitou lipázy a nahromadením amoniaku. Autolýze možno predísť pridaním 0,1% kyseliny octovej, alebo 0,05 až 0,1% kyseliny boritej, resp. upravením východzieho pH na 4,5. Tieto zásahy inhibujú činnosť lipázy, ktorá je naopak aktivovaná amoniakom a síranom amónnym.

Dentice di Accadia Filipo (16) dokázal, že z čistých triglyceridov triolejín ako jediný zdroj uhlíka a energie dával výťažky penicilínu podobné, ako kontrolná pôda CSL – laktózová. Samotný tripalmitín a tristearín mal inhibičný účinok na vzrast mycélia a produkciu penicilínu. Prídanie tripalmitínu a tristearínu spolu s triolejénom však zvýšilo produkciu penicilínu vysoko nad kontrolu. Zo živočíšnych tukov sa najlepšie osvedčila bravčová masť, aj keď všeobecne možno povedať, že rastlinné tuky sú lepšími zdrojmi uhlíka a energie. N o g u t i (17) poukázal na to, že je výhodné používať pri fermentácii penicilínu nasledovné oleje: sójový, bavlníkový, kukuričný, ricínový, arachisový a ľanový.

Z doterajšieho prehľadu je vidieť, že veľa autorov sa pokúšalo riešiť otázku nevýhod CSL jednak odstraňovaním záporných vlastností CSL a jednak hľadaním náhrad za CSL. Pri našej práci sme hľadali takú vhodnú východziu surovinu, ktorá by sa nachádzala v našich pomeroch v dostatočnom množstve a ktorá by aj po ekonomickej stránke bola výhodná. Zo zrovnávacieho prešetrovania zloženia zŕn kukurice a iných obilovín, najmä pšenice sme prišli k úvahe, že odpadové produkty pri spracovaní pšenice na múku – pšeničné otruby obsahujú všetky dôležité látky potrebné pre fermentáciu penicilínu. V tejto našej úvahe nás podporila aj skutočnosť, že na vlhkých obilných otrubách už dávnejšie sa prevádzala kultivácia plesní nielen za účelom získania antibiotík (jeden z prvých spôsobov výroby penicilínu), ale aj iných, napríklad enzymatických preparátov z plesní. Pšeničné otruby obsahujú všetky dôležité látky pre kultiváciu mikroorganizmov: bielkoviny, uhlohydráty, tuky, minerálne látky a vzrastové faktory.

V našej práci zamerali sme sa na zistenie vhodného spôsobu úpravy látok nachodiacich sa v otrubách, ako aj na prípravu novej fermentačnej pôdy pre výrobu penicilínu. Na základe poznatkov o funkcii masných kyselín pri produkcii penicilínu pokúsili sme sa pripraviť pôdu vhodnou kombináciou pšeničných otrúb a olejnatých semien. Ako zdroje masných kyselín sme vyskúšali tieto olejniný: ľan, konope, slnečnica, ricínus, arachis, ako aj niektoré semená s vysokým obsahom tukov, napr. semená šípok a hrozna.

Z ekonomických dôvodov sme si pre ďalšie práce vybrali najmä tabakové semeno, ktoré je doteraz ešte úplne nevyužitou surovinou. Na Slovensku je

plánovaná plocha približne 6.000 ha na pestovanie tabaku. Z hektára tabakovej kultúry sa zozbiera 400–600 kg tabakových semien, čiže ročný zber by bol minimálne 2.400 ton. Z tohto množstva sa zbiera na osivo a lisovanie iba malá časť (18, 19). Pri rozhodnutí používať tabakové semeno pre výrobu živných pôd hrala podstatnú úlohu aj skutočnosť, že zrelé tabakové semeno je jedinou rastlinnou časťou tabaku, ktorá neobsahuje nikotín (20, 21).

### Materiál a metódy

Pri hľadaní vhodnej metódy pre získanie vhodných živín z pšeničných otrúb a neskôr aj z olejnatých semien sme po mnohých pokusoch došli k uzáveru, že najvhodnejšia je metóda fermentatívnej extrakcie pomocou termofilných laktobacilov.

Typická príprava výluhu z pšeničných otrúb v laboratórnom meradle prebieha nasledovne:

Pšeničné otruby, neskoršie aj rozdrtené olejnaté semená sa podrobia spontánnej fermentácii pri teplote 50–52 °C za prídavku superfosfátu a kyseliny mliečnej. Termofilné baktérie (*Thermobacterium cereale*), ktoré sú na otrubách, zapríčinia búrlivú fermentáciu už niekoľko hodín po začatí fermentatívnej extrakcie. Pri tejto fermentácii sa štiepia bielkoviny, odbúravajú sa cukry a polypeptidy. Za stáleho stúpania obsahu kyseliny mliečnej vo fermentujúcej zmesi dochádza k rozmnožovaniu laktobacilov. Po 48–72 hodinách dochádza pod vplyvom vysokej koncentrácie kyseliny mliečnej prakticky k zastaveniu fermentačných pochodov. Počas fermentácie klesá množstvo celkových cukrov vo výluhu a klesá aj množstvo neredukujúcich cukrov. Prvých 24 hodín však vo filtráte stúpa množstvo neredukujúcich cukrov a po 24 hodinách ich obsah začne prudko klesať. Obsah aminodusíku i celkového dusíku počas celej fermentácie stúpa a podobne stúpa aj obsah sušiny a špecifická váha výluhu. Produkovanou kyselinou mliečnou sa pH výluhu znižuje a medzi 48–72 hodinou sa ustáli okolo hodnoty pH 3,0.

Po 72 hodinách fermentácie sa zmes odfiltruje cez gázu a filtrát sa používa priamo ako zdroj živín pre prípravu fermentačných pôd. Získaný výluh možno používať buď priamo, bez zahustenia, alebo sa môže vákuovo zahustiť na 50–60% sušiny. Takýto zahustený výluh možno dlhší čas skladovať a používať podobným spôsobom ako CSL.

Pre prípravu výluhu sme najčastejšie používali tieto prísady:

|                           |           |
|---------------------------|-----------|
| voda                      | 10.000 ml |
| pšeničné otruby           | 2.000 g   |
| rozdrtené olejnaté semená | 200 g     |
| superfosfát               | 13,2 g    |
| kyselina mliečna 50%-ná   | 60,0 g    |

Fermentácia prebieha v termostate pri teplote 50–52 °C za občasného premiešania.

Prvé pokusy s použitím výluhu z pšeničných otrúb bez použitia olejnatých semien neboli úspešné a produkcia penicilínu bola nižšia ako produkcia antibiotika na pôdach s CSL. Toto platilo najmä pre kmene s vysokou produkčnou schopnosťou. Produkcia antibiotika pri povrchovej kultivácii a pri používaní



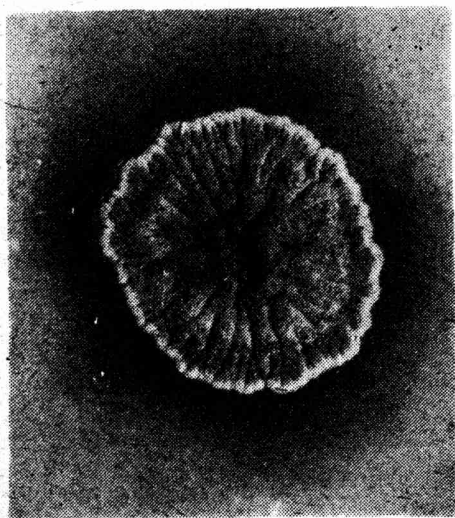
nízkoprodukčných kmeňov sa buď vyrovnala produkcii na pôdach s CSL, alebo bola dokonca vyššia.

Sériou mnohých pokusov sme sa presvedčili, že prídavkom rôznych olejnatých semien do fermentujúcej zmesi možno vyrobiť výluhy, ktorých vlastnosti sú oveľa lepšie ako vlastnosti výluhov zo samotných pšeničných otrúb.

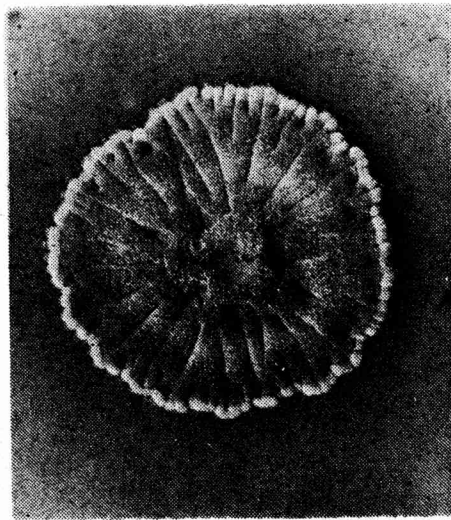
Zdá sa, že zvýšenie produkcie antibiotika treba pripísať najmä obsahu vyšších mastných kyselín vo výluhoch. Tieto sa v priebehu fermentácie dostanú z olejnatých semien do výluhu. Preskúšali sme celý rad rôznych možných zdrojov mastných kyselín, najmä semená ricínu, šípok, slnečnice, arachidov, hrozna, konope, ľanu, horčice, bavlníku a iných. Podobne sme preskúšali aj šroty niektorých týchto olejnatých semien ako aj výlisky po priemyselnom získaní olejov. Je samozrejmé, že bolo treba preskúšať jednak rôzne spôsoby prípravy fermentovaných extraktov z týchto surovín, ďalej bolo treba zistiť rôzne váhové pomery pšeničných otrúb a jednotlivých olejnatých semien, ďalej rôzne kombinácie a možnosti pridávania hotových výluhov do fermentačných pôd pre produkciu penicilínu.

Zistili sme, že väčšina týchto semien má priaznivý vplyv na tvorbu penicilínu. Optimálna dávka olejnatého semena sa obvykle pohybovala medzi 10–30 % vzhľadom na pšeničné otruby. U niektorých semien sme pozorovali inhibičný vplyv na tvorbu penicilínu. Medzi takéto, inhibične pôsobiace semená patrili semená hrozna. Možnosť použitia jednotlivých druhov výluhov sme si overili povrchovou a submerznou kultiváciou produkčných kmeňov.

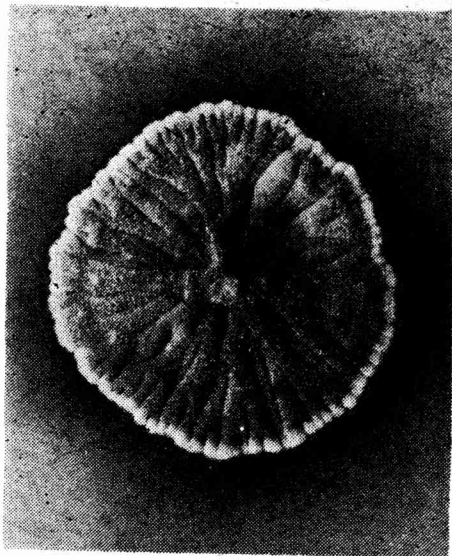
Rast a morfológiu plesne sme sledovali na tuhých pôdach, ku ktorým sme pridávali rôzne výluhy. Zistili sme, že výluhy vyrobené s prísadou rôznych olejnatých semien spôsobujú aj intenzívne zmeny vonkajšieho vzhľadu kolónií. (Pozri fotografie 1–7.)



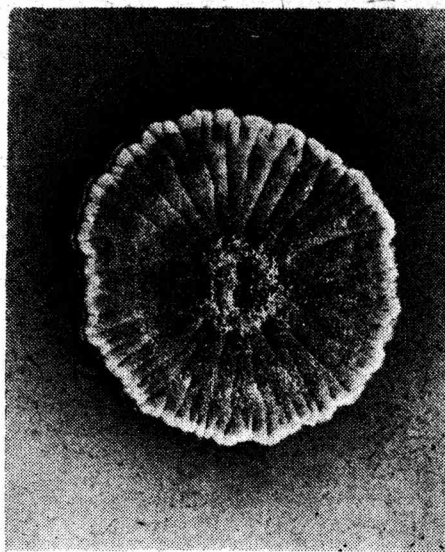
Obr. č. 1.: 10 dňová kolónia  
*Penicillium chrysogenum* Q 176  
na Wickerhamovej pôde s prídavkom 0,5%  
sušiny CSL. Zväčšenie 2x.



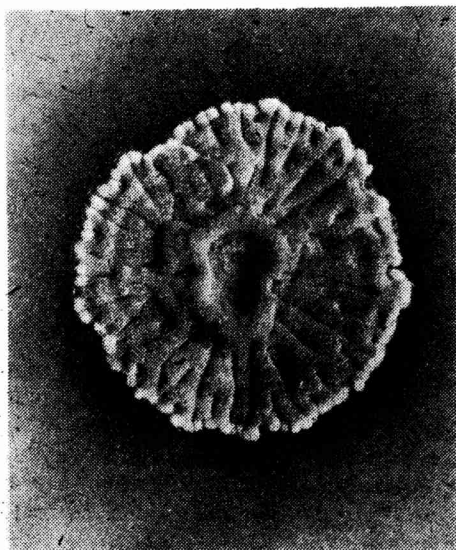
Obr. č. 2.: 10 dňová kolónia  
*Penicillium chrysogenum* Q 176  
na Wickerhamovej pôde s prídavkom 0,5%  
sušiny výluhu z pšeničných otrúb. Zväčšenie  
2x



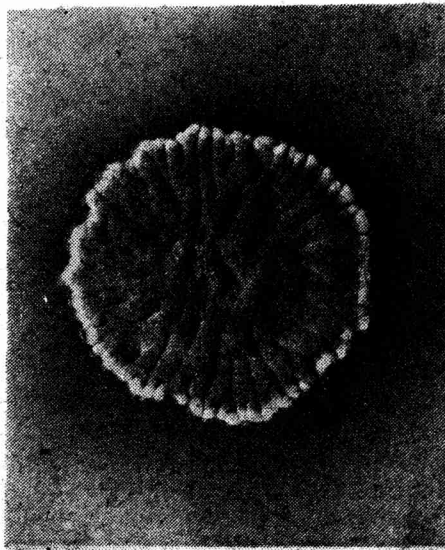
Obr. č. 3.: 10 dňová kolónia  
*Penicillium chrysogenum* Q 176  
na Wickerhamovej pôde s prídavkom 0,5%  
sušiny FEOL-u s obsahom 20% arašidov.  
Zväčšenie 2x.



Obr. č. 4.: 10 dňová kolónia  
*Penicillium chrysogenum* Q 176  
na Wickerhamovej pôde s prídavkom 0,5%  
sušiny FEOL-u s obsahom 20% tabakových  
semien. Zväčšenie 2x.

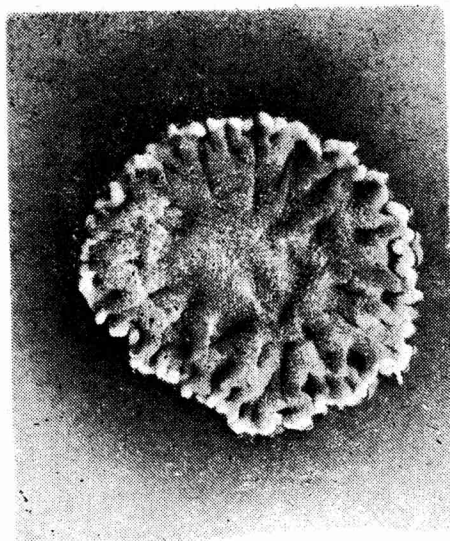


Obr. č. 5.: 10 dňová kolónia  
*Penicillium chrysogenum* Q 176  
na Wickerhamovej pôde s prídavkom 0,5%  
sušiny FEOL-u s obsahom 20% sladového  
kvetu. Zväčšenie 2x.



Obr. č. 6.: 10 dňová kolónia  
*Penicillium chrysogenum* Q 176  
na Wickerhamovej pôde s prídavkom 0,5%  
sušiny FEOL-u s obsahom 20% slnečnicov-  
ých semien. Zväčšenie 2x.





Obr. č. 7.: 10 dňová kolónia  
*Penicillium chrysogenum* Q 176  
 na Wickerhamovej pôde s prídavkom 0,5%  
 sušiny FEOL-u s obsahom 20% ricínusových  
 semien. Zväčšenie 2x.

Viacerými sériami pokusov sme zistili, že najlepšie výsledky možno dosiahnuť s výluhom z pšeničných otrúb a tabakových semien. Keďže sú tabakové semená viac-menej odpadom, bola by táto surovina vhodnou prísadou do živných pôd aj z ekonomických dôvodov. Rozhodli sme sa preto hlbšie preskúmať možnosti použitia výluhov, pripravených z pšeničných otrúb a tabakových semien.

Tabakové semená obsahujú:

|            |           |
|------------|-----------|
| voda       | 6—8 %     |
| tuk        | 37—45 %   |
| bielkoviny | 23—28 %   |
| fytín      | 2,7—3,1 % |
| popol      | 2,0—6,0 % |

Chceli sme sa presvedčiť o tom, či je správny náš predpoklad o nutnosti mliečnej fermentácie počas prípravy výluhu. Krátkodobou extrakciou za studena nemožno z extrahovaného materiálu získať dostatočné množstvo extraktu, kým dlhodobá extrakcia pod 45 °C by mala za následok priebeh nekontrolovateľných mikrobiálnych procesov, ktoré by sa samozrejme odzrkadlili nepriaznivým vplyvom na jednotnú kvalitu výluhu. Sterilná extrakcia otrúb a olejnatých semien by z hľadiska výroby bola príliš nákladná.

Vychádzali sme z predpokladu, že priebeh fermentačného pochodu počas extrakcie pravdepodobne zvýši kvalitu získaných výluhov. Počas fermentácie totiž dochádza k štepeniu cukrov a polypeptidov i bielkovín, rozmnožujú sa baktérie mliečneho kvasenia a dochádza k mnohým iným, analyticky presne nesledovateľným pochodom, ktoré podľa údajov z literatúry zlepšujú aj kvalitu

CSL. Z analógie medzi obidvoma surovinami sme predpokladali, že kontrolovaný fermentačný pochod prebiehajúci počas extrakcie sa bude priaznivo odzrkadľovať aj na kvalite vyrobených výluhov z otrúb a olejnatých semien.

Sériou pokusov sme si tento náš predpoklad overili. Pripravili sme si rad fermentovaných a nefermentovaných výluhov za studena i za tepla. Kvalitu týchto výluhov sme posudzovali podľa produkcie antibiotika na pôdach pripravených s prídavkom týchto výluhov. Pri fermentovaných výluhoch išlo vždy o výluhy, pri ktorých došlo po zahriatí zmesi na 50 °C k spontánnej mliečnej fermentácii, zapríčinennej laktobacilmi prítomnými na otrubách. Fermentačný proces prebiehal bez akýchkoľvek ťažkostí a pri zachovaní správnej teploty nikdy nedochádzalo ku kontaminácii cudzími mikroorganizmami.

Z vyrobených výluhov sme si pripravovali jednotným spôsobom fermentačné pôdy pre kultiváciu *Penicillium chrysogenum* Wis. 51–20 a sledovali sme produkciu antibiotika pri submerznej kultivácii na rotačnej trepačke. Na porovnanie sme si pripravili aj fermentačné pôdy s prídavkom „štandardného“ CSL. Fermentačné pokusy nám ukázali, že pomocou fermentovaného obilného výluhu s prídavkom 5% rozdrtených tabakových semien sme dosiahli približne o 15% vyššiu produkciu antibiotika ako na pôdach s CSL. Produkcia antibiotika na všetkých pôdach s prídavkom sterilných extraktov bola nižšia ako u CSL a pohybovala sa medzi 57–70% produkcie na pôdach s CSL. Kvalitu nefermentovaných výluhov nezlepšil ani prídavok kyseliny mliečnej a ani extrakcia v prítomnosti tejto kyseliny.

Uvedenou sériou pokusov sme si overili správnosť našej pracovnej hypotézy a zistili sme, že sa mliečna fermentácia počas extrakcie pšeničných otrúb a drte tabakových semien odzrkadľuje priaznivo na kvalite výluhov. Predpokladáme, že zvýšenie kvality výluhu, t. j. zvýšenie produkčnej schopnosti fermentačných pôd pripravených pomocou týchto výluhov treba pripísať nasledovným faktorom:

1. Nahromadenie laktobacilov vo výluhu,
2. Odbúravanie bielkovín a polypeptidov,
3. Štepenie cukrov a získanie výhodnejšieho váhového pomeru redukovateľných a neredukovateľných cukrov.

Okrem uvedených skutočností pravdepodobne sa priaznivo odzrkadľuje aj nahromadenie rôznych vitamínov, rastových faktorov a iných metabolitov, ktoré analyticky neboli sledované.

#### Experimentálna časť

Previedli sme analýzy rôznych druhov fermentovaných výluhov. Sledovali sme obsah celkového dusíku, aminodusíku, popola, redukujúcich a neredukujúcich cukrov a pH 5%-ného roztoku výluhov. Zo získaných analytických údajov uvádzame hodnoty pre rôzne druhy výluhov v tabuľke č. 1. Údaje sú vyjadrené ako percentá vzhľadom na sušinu.

Celkový dusík sa stanovoval podľa Kjeldahla, aminodusík podľa van Slykeho, cukry podľa Schoorla, pri čom sa tieto vyjadrovali ako % sachorózy po inverzii.

Všetky výluhy uvedené v tabuľke č. 1. boli vyrobené 72 hodinovou fermentáciou.

Spektrálnou analýzou sme stanovili obsah prvkov v popole rôznych fermentovaných výluhov a v CSL. Prvkové zloženie popola sa zvyšujúcim prídavkom

Tabuľka č. 1.:

Analytické údaje fermentovaných výluhov z otrúb s prídavkom tabakových semien.

| Analýza                 | Váhový pomer otrúb a tabakových semien použitých pre výrobu výluhov |       |       |       |       |       |       |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                         | čisté otruby                                                        | 95:5  | 90:10 | 80:20 | 70:30 | 60:40 | 50:50 |
| pH 5% roztoku           | 4,08                                                                | 4,71  | 5,70  | 4,90  | 4,95  | 5,10  | 4,82  |
| % celkového dusíku      | 3,608                                                               | 4,677 | 4,935 | 4,634 | 4,542 | 4,721 | 4,933 |
| % aminodusíku           | 1,887                                                               | 2,536 | 1,963 | 2,819 | 2,833 | 2,897 | 2,901 |
| % popola                | 14,96                                                               | 17,44 | 17,36 | 15,55 | 16,23 | 15,93 | 15,87 |
| % cukrov redukujúcich   | 16,32                                                               | 15,41 | 15,38 | 15,53 | 15,82 | 14,94 | 16,03 |
| % cukrov neredukujúcich | 2,42                                                                | 2,97  | 4,35  | 4,24  | 3,85  | 3,72  | 4,01  |

tabakových semien menilo iba v oblasti vedľajších a stopových komponent. V tabuľke č. 2 uvádzame výsledky spektrálnych analýz výluhu z čistých otrúb, výluhu z otrúb s prídavkom 20% tabakových semien a pre porovnanie uvádzame tiež výsledky spektrálnej analýzy popola CSL.

Prvky sú v tabuľke usporiadané takým spôsobom, že v jednotlivých riadkoch a stĺpcoch klesá ich obsah v popole z ľava do prava.

Jednorozmernou sostupnou chomatografiou stanovili Zelinka a spolupracovníci (22) vo výluhu s prídavkom 20% tabakových semien nasledovné aminokyseliny:

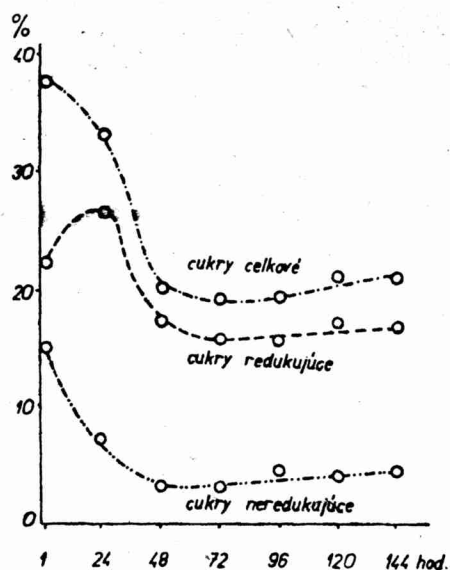
lyzín, arginín, histidín, kys. asparágová, glycín, kys. glutamová, treonín, alanín, prolín, kys.  $\gamma$ -aminomáselná, valín, metionín, fenylalanín, izoleucín a leucín.

Všetky tieto aminokyseliny sa podarilo identifikovať horeuvedeným autorom aj v CSL. Jediný rozdiel v zložení aminokyselín CSL je, že okrem uvedených aminokyselín táto surovina obsahuje ešte aj tyrozín.

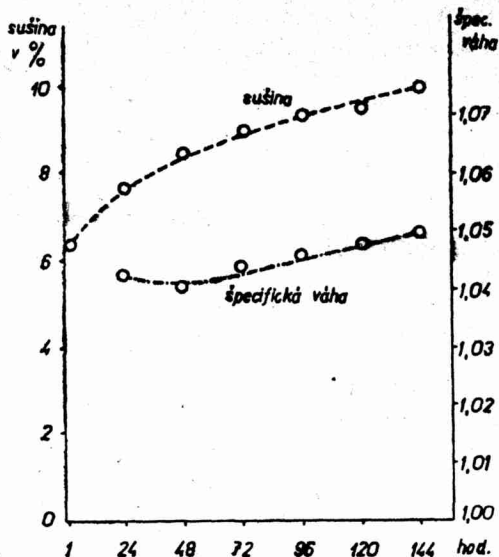
Tabuľka č. 2.:

Zloženie popola fermentovaných výluhov z otrúb a CSL.

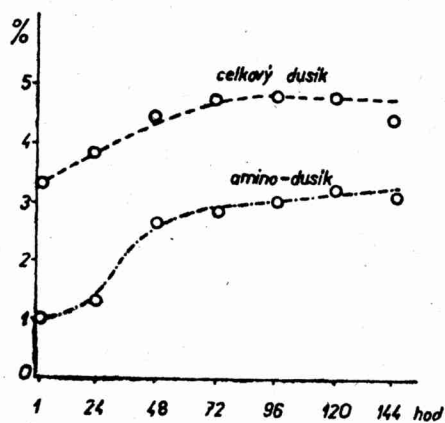
| Analyzovaný popol                               | Hlavné komponenty<br>100—1% | Vedľajšie komponenty<br>1,0—0,01% | Stopové komponenty<br>0,01—0,00001% |
|-------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| Výluh z čistých pšeničných otrúb                | Ca, Mg, K, Na, P            | Fe, Mn, Si, Al, Cu, Ba, Cr        | V, Ni, In, Sr, B                    |
| Výluh z pšen. otrúb s prídavkom 20% tab. semien | Ca, Mg, K, Na, P            | Fe, Mn, Al, Cr, Cu                | Ba, Si, Sr, B, In                   |
| CSL                                             | Ca, Mg, K, Na, P            | Fe, Cu, Mn, Si                    | Al, In, B                           |



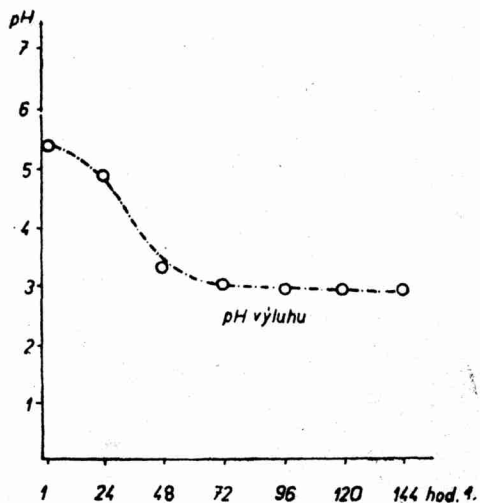
Graf č. 1.: Obsah neredukujúcich, redukujúcich a celkových cukrov vo filtráte výluhu v priebehu 144 hodinovej fermentácie.  
Os x — čas v hodinách  
Os y — percentuálny obsah cukrov vzhľadom na sušinu



Graf č. 3.: Špecifická váha a obsah sušiny v priebehu 144 hodinovej fermentácie.  
Os x — čas v hodinách  
Os y vľavo — percento sušiny  
Os y vpravo — špecifická váha



Graf č. 2.: Obsah celkového dusíka a aminodúsíka vo filtráte výluhu v priebehu 144 hodinovej fermentácie.  
Os x — čas v hodinách  
Os y — percentuálny obsah dusíka vzhľadom na sušinu



Graf č. 4.: pH výluhu v priebehu 144 hodinovej fermentácie.  
Os x — čas v hodinách  
Os y — pH výluhu

Obsah celkového cukru, redukujúceho cukru a neredukujúceho cukru, ďalej celkového dusíka a aminodúsíka, ako aj sušinu, špecifickú váhu a pH extraktu sme sledovali počas 144 hodinovej fermentácie zmesi pšeničných otrúb s prídavkom 20% tabakových semien (pozri grafy 1–4).

Podobne ako pri hodnotení CSL aj u našich výluhov hovoria analytické údaje iba málo o kvalite výluhu a skutočné vyhodnotenie, či sa niektorý typ výluhu hodí pre použitie vo výrobe penicilínu, možno previesť iba na základe fermentačných pokusov. Keďže sme výskum fermentovaných výluhov z pšeničných otrúb a olejnatých semien prevádzali najmä preto, aby sme našli náhradnú surovinu pre výrobu penicilínu, porovnávali sme vždy výťažky antibiotika pri fermentáciách na pôdach pripravených obvyklým spôsobom s CSL s výťažkami na pôdach s našimi výluhmi.

Pri laboratórnej fermentácii na rotačnej trepačke sme ako pôdu pre kmeň Wis. 51–20 používali pôdu nasledovného zloženia:

|                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| CSL (55% sušiny)                | 38,0 g     |
| laktóza                         | 25,0 g     |
| CaCO <sub>3</sub>               | 6,6 g      |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 0,4 g      |
| fenylacetamid                   | 0,5 g      |
| vodovodná voda                  | 1.000,0 ml |
| sójový olej (na baňku)          | 0,05 ml    |
| pH po sterilizácii              | 5,8–6,2    |

Pôdy, v ktorých bol CSL nahradený našimi výluhmi sme pripravovali tým istým spôsobom, iba sme množstvo pridávaného výluhu stanovili tak, aby v našich pôdach bol obsah celkového dusíka ten istý ako v pôdach s CSL.

Pokusne sme zistili, že je najvýhodnejšie používať v našich pôdach vyššie množstvo uhličitanu vápenatého. Optimálne množstvo sme stanovili na 10,0 g na 1000 ml pôdy.

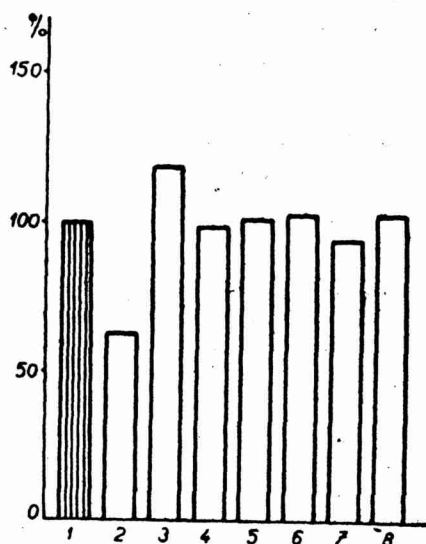
Obsah penicilínu v pôdach sme stanovovali štandardnou cylindrikovou metódou pomocou testovacieho mikroorganizmu *Bacillus subtilis* SDPC 1:220.

#### Vplyv dĺžky fermentácie na kvalitu výluhov z pšeničných otrúb a olejnatých semien

Dokázali sme, že samotná fermentácia výluhu je dôležitá a že zlepšuje produkčnú schopnosť pôd pripravených z našich výluhov. Výluhy získané krátkodobou extrakciou za tepla alebo za studena (bez fermentácie) dávali podstatne nižšie výťažky antibiotika ako fermentované výluhy. V ďalších pokusoch sme hľadali optimálnu dobu fermentácie výluhu.

Pripravili sme si výluh z pšeničných otrúb s prísadou 10% rozdrtených tabakových semien. Počas fermentácie tohoto výluhu sme odoberali vzorky v 24 hodinových intervaloch. Výluhy sme odfiltrovali, zistili sme v nich obsah sušiny, aminodúsíku, redukujúcich a neredukujúcich cukrov a pridávali sme ich do fermentačnej pôdy v takom množstve, aby sme vo všetkých pokusných radoch vyrovnali obsah celkového dusíka s obsahom celkového dusíka v pôdach s CSL.

V tabuľke č. 3 a v grafe č. 5 sú uvedené výsledky testovania produkcie penicilínu v deň maximálnej produkcie.



Graf č. 5.: Produkcia penicilínu na pôdach s prídavkom nezahustených, rôzne dlho fermentovaných výluhov. Pre podrobnosti pozri text.

Tabuľka č. 3.:

Produkcia penicilínu na pôdach s prídavkom nezahustených, rôzne dlho fermentovaných výluhov.

| Číslo | Dĺžka fermentácie výluhu v hodinách | Produkcia v % vzhľadom k produkcii na pôde s CSL |
|-------|-------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1.    | CSL zahustený                       | 100                                              |
| 2.    | 1                                   | 63                                               |
| 3.    | 24                                  | 119                                              |
| 4.    | 48                                  | 99                                               |
| 5.    | 72                                  | 102                                              |
| 6.    | 96                                  | 103                                              |
| 7.    | 120                                 | 95                                               |
| 8.    | 144                                 | 103                                              |

Ako aj z tabuľky č. 3 a grafu č. 5 vidieť, najvýhodnejšia je 24 hodinová fermentácia výluhu. Pôdy pripravené z výluhov fermentovaných dlhšie nedávali takú vysokú produkciu penicilínu ako tento výluh. Malé výkyvy produkcie antibiotika v pôdach pripravených z dlhšie fermentovaných výluhov sú v rámci experimentálnych chýb. V ďalšej práci sme sa zamerali vždy na výluhy fermentované 24 hodín.

### Vplyv zahusťovania na kvalitu výluhov

Pracovná hypotéza tejto práce predpokladala, že by sa výluhy z pšeničných otrúb a olejnatých semien mohli vyrábať priamo v závodoch vyrábajúcich penicilín. V takomto prípade by bolo možné používať výluhy priamo po odfiltrovaní, teda bez-vákuového zahustenia. Je samozrejmé, že by toto viedlo k značnému zlacneniu výroby výluhov. Aby sme si overili, ako sa ovplyvní kvalita výluhov zahusťovaním, previedli sme sériu pokusov, ktoré priamo nadväzovali na pokusy popísané v predchádzajúcej časti.

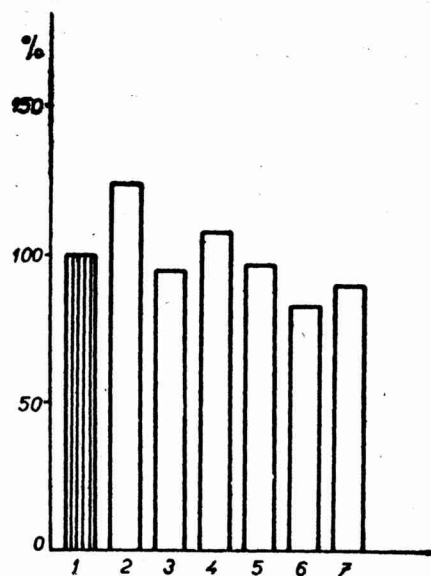
Po odfiltrovaní časti fermentujúceho výluhu v rôznych časových intervaloch, sme filtrát vždy rozdelili na dve časti, z ktorých sme jednu použili priamo ako prídavok do fermentačnej pôdy (pokusy popísané v predchádzajúcej časti), kým druhú časť sme vákuove zahustili pri teplote pod 60 °C. Takto zahustené výluhy sme potom pridávali do fermentačnej pôdy v tom istom množstve (vzhľadom na sušinu) ako v predošlom pokuse. Výsledky tejto série pokusov sú uvedené v tabuľke č. 4 a v grafe č. 6.

Výsledky fermentácií na pôdach so zahustenými výluhmi sú veľmi podobné výsledkom fermentácií na pôdach s nezahustenými výluhmi. Aj v tomto prípade je maximálna produkcia na pôde s prídavkom 24 hodín fermentovaného výluhu. Pri dlhšie fermentovaných výluhoch produkcia klesá. Produkcia na pôdach

Tabuľka č. 4.:

Produkcia penicilínu na pôdach s prídavkom zahustených, rôzne dlho fermentovaných obilných výluhov.

| Číslo | Dĺžka fermentácie výluhu v hodinách | Produkcia v % vzhľadom k produkcii na pôde s CSL |
|-------|-------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1.    | CSL zahustený                       | 100                                              |
| 2.    | 24                                  | 124                                              |
| 3.    | 48                                  | 95                                               |
| 4.    | 72                                  | 108                                              |
| 5.    | 96                                  | 97                                               |
| 6.    | 120                                 | 83                                               |
| 7.    | 144                                 | 90                                               |



Graf č. 6.: Produkcia penicilínu na pôdach s prídavkom zahustených, rôzne dlho fermentovaných výluhov. Pre podrobnosti pozri text.

pripravených zo zahustených výluhov je prakticky taká istá, ako produkcia na pôdach z nezahustených výluhov a jednotlivé odchylky možno považovať za experimentálne chyby.

#### Optimálny prídavok tabakových semien

Ako sme už spomínali vyššie, preskúšali sme celý rad olejnatých semien a podobných surovín ako prísadu k výluhom z pšeničných otrúb. Pri týchto pokusoch sa nám najlepšie osvedčili tabakové semená.

V tejto sérii pokusov sme potrebovali stanoviť optimálnu dávku tabakových semien. Pripravili sme si sériu výluhov, v ktorých obsah tabakových semien stúpal od 5% do 50% (vzhľadom na váhu otrúb). V tabuľke č. 5 je uvedené váhové zloženie zmesi na prípravu fermentovaných výluhov (v ďalšom FEOL).

Po 24 hodinách fermentácie sme výluhy odfiltrovali cez gázu a vákuove zahustili pri teplotách pod 60 °C. Pri príprave fermentačných pôd sme pridávali jednotlivé výluhy v množstve 3% sušiny, kým CSL do kontrolnej rady baniek sa pridával v množstve 2% sušiny. Pri hľadaní optimálnej koncentrácie našich výluhov vo fermentačných pôdach sme totiž zistili, že najlepšie výsledky dávajú pôdy s prídavkom 3% sušiny našich výluhov.



Tabuľka č. 5:

Zloženie zápar pre prípravu fermentovaných výluhov pri zisťovaní optimálnej dávky tabakových semien.

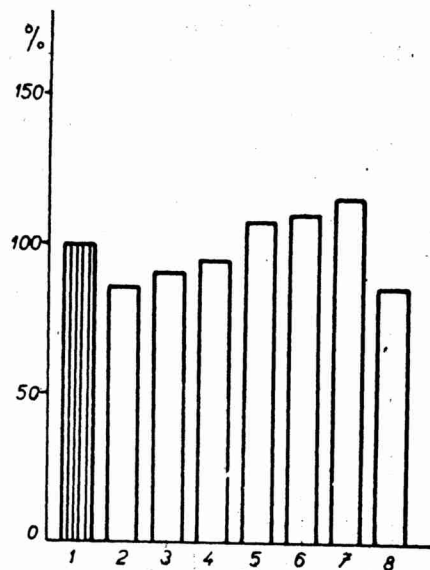
| Označenie výluhu        | Suroviny      |                           |                    |                                 |              |
|-------------------------|---------------|---------------------------|--------------------|---------------------------------|--------------|
|                         | Otruby<br>v g | Tabakové<br>semená v<br>g | Superfosfát<br>v g | Kyselina<br>mliečna 50%<br>v ml | Voda<br>v ml |
| FEOL 5%<br>tab. semien  | 760,0         | 40,0                      | 5,28               | 12,5                            | 4000,0       |
| FEOL 10%<br>tab. semien | 720,0         | 80,0                      | 5,28               | 12,5                            | 4000,0       |
| FEOL 15%<br>tab. semien | 680,0         | 120,0                     | 5,28               | 12,5                            | 4000,0       |
| FEOL 20%<br>tab. semien | 640,0         | 160,0                     | 5,28               | 12,5                            | 4000,0       |
| FEOL 30%<br>tab. semien | 560,0         | 240,0                     | 5,28               | 12,5                            | 4000,0       |
| FEOL 40%<br>tab. semien | 480,0         | 320,0                     | 5,28               | 12,5                            | 4000,0       |
| FEOL 50%<br>tab. semien | 400,0         | 400,0                     | 5,28               | 12,5                            | 4000,0       |

V tabuľke č. 6 a grafe č. 7 sú uvedené výsledky testovania v deň maximálnej produkcie, t. j. vo štvrtý deň fermentácie.

Tabuľka č. 6:

Produkcia penicilínu na pôdach s prídavkom fermentovaných výluhov s rôznym množstvom tabakových semien.

| Číslo | Použitý výluh                | Produkcia v %<br>vzhľadom na produkciu<br>na pôde CSL |
|-------|------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1.    | CSL                          | 100                                                   |
| 2.    | FEOL — 5% tabakových semien  | 86                                                    |
| 3.    | FEOL — 10% tabakových semien | 91                                                    |
| 4.    | FEOL — 15% tabakových semien | 95                                                    |
| 5.    | FEOL — 20% tabakových semien | 108                                                   |
| 6.    | FEOL — 30% tabakových semien | 110                                                   |
| 7.    | FEOL — 40% tabakových semien | 116                                                   |
| 8.    | FEOL — 50% tabakových semien | 86                                                    |



Graf č. 7.: Produkcia penicilínu na pôdach s prídavkom fermentovaných výluhov s rôznym množstvom tabakových semien. Pre podrobnosti pozri text.

Ako z tabuľky a grafu vidieť, najvyššia produkcia je na pôde pripravenej z výluhu, ktorý bol vyrobený zo 40% tabakových semien a 60% pšeničných otrúb. Z ekonomického hľadiska by však takýto výluh bol ťažko použiteľný, pretože tabakové semená sú pomerne drahé. Pri tomto zložení výluhu by tabakových semien ani nebolo dosť na krytie našej celej produkcie penicilínu. Rozhodli sme sa preto pracovať ďalej s výluhom, ktorý obsahuje 20% tabakových semien. Produkcia penicilínu na pôde s prídavkom tohto výluhu bola približne rovnaká ako na pôde so štandardným CSL.

#### Vplyv defytinizácie fermentovaných výluhov

Z prác o úpravách CSL je známe, že vysoký obsah fytnínu je na závädu kvality tejto látky. Keďže pšeničné otruby obsahujú veľké množstvo fytnínu, ktorý pri fermentatívnej extrakcii môže prejsť do roztoku, rozhodli sme sa prešetriť, či by sa jeho odstránením nepodarilo zvýšiť produkčnú schopnosť našich výluhov.

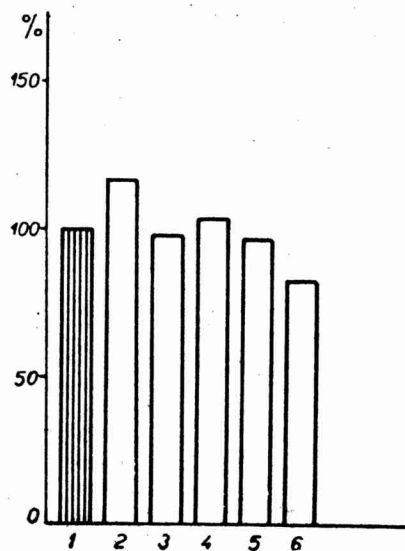
Odstraňovanie fytnínu sme prevádzali nasledovným spôsobom:

V odfiltrovanom výluhu sme zistili sušinu a pridali sme 10% chloridu hlinitého vzhľadom na sušinu. Zmes sme zahriali na 50 °C a centrifugovali pri 1000 obr./min. Pod vplyvom chloridu hlinitého vypadáva fytnín z roztoku a pri centrifugovaní sedimentuje. Súčasne so sedimentovaním vyzrážaného fytnínu sedimentuje aj škrob a preto sme hľadali optimálnu dobu centrifugovania. Dĺžku centrifugovania sme menili od 5–20 min. Sedimenty sme odstránili a zvyšky výluhov sme vákuove zahustili pri teplote pod 50 °C. Po analy-

tickom určení hladiny dusíka, aminodusíka, redukujúcich a neredukujúcich cukrov sme zahustené výluhy použili ako obyčajne na prípravu fermentačných pôd.

Defytinizovali sme fermentovaný výluh z pšeničných otrúb, ktorý obsahoval 20 % rozdrtených tabakových semien.

Jednotlivé vzorky sme centrifugovali 5, 10, 15 a 20 minút. Rôznym spôsobom defytinizované vzorky sme použili na prípravu fermentačných pôd obvyklým spôsobom a sledovali sme produkciu penicilínu na rotačnej trepačke. Výsledky testovania sú uvedené v tabuľke č. 7 a v grafe č. 8.



Graf č. 8.: Produkcia penicilínu na pôdach s prídavkom rôznym spôsobom defytinizovaných výluhov. Pre podrobnosti pozri text.

Tabuľka č. 7.:

Produkcia penicilínu na pôdach s prídavkom rôznym spôsobom defytinizovaných výluhov.

| Číslo | Doba centrifugovania pri defytinizovaní | Produkcia v % vzhľadom na produkciu v pôde s CSL |
|-------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 1.    | CSL                                     | 100                                              |
| 2.    | nedefytinizovaný FEOL                   | 117                                              |
| 3.    | 5 min.                                  | 98                                               |
| 4.    | 10 min.                                 | 104                                              |
| 5.    | 15 min.                                 | 97                                               |
| 6     | 20 min.                                 | 83                                               |

Z tabuľky i grafu vidieť, že sa defytinizácia prejavila nepriaznivo. Predlžovaním doby centrifugovania sa produkcia penicilínu znižuje a najvyššia produkcia antibiotika sa dosiahla na pôde s prídavkom nedefytinizovaného výluhu.

Je pravdepodobné, že pri centrifigovaní sa okrem fytlínu a škrobu odstraňujú aj vyzrážané bielkoviny a polypeptidy, prípadne aj iné látky, ktoré priaznivo vplývajú na produkciu antibiotika.

#### Vplyv neutralizácie organických kyselín počas fermentácie výluhov

Podľa literárnych údajov má vysoký obsah cukrov v CSL nepriaznivý vplyv na produkciu penicilínu. Predpokladali sme, že by vysoký obsah cukrov mohol byť na závalu aj u našich výluhov. Ako už bolo spomínané na začiatku tejto práce, zastavuje sa fermentácia po 48–72 hodinách najmä pod vplyvom veľmi nízkeho pH, ktoré sa pohybuje okolo hodnoty 3,0.

Počas fermentácie sme výluhy neutralizovali a udržiavali sme pH v rozmedzí od 5,5–6,0, čím sme umožnili dôkladnejšie prekvasenie cukrov. Na neutralizáciu sme používali roztoky NaOH a  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , ani jeden spôsob sa však neosvedčil a produkcia penicilínu bola podstatne nižšia, v niektorých prípadoch klesla až na 50% vzhľadom ku kontrole.

#### Vplyv odstránenia škrobu a celulózy

Keďže sme v predošlých pokusoch nevedeli dosiahnuť zvýšenie produkcie penicilínu neutralizáciou a dofermentovaním výluhov, rozhodli sme sa pokúsiť sa o zlepšenie kvality výluhov odstránením časti škrobu a celulózy centrifugovaním.

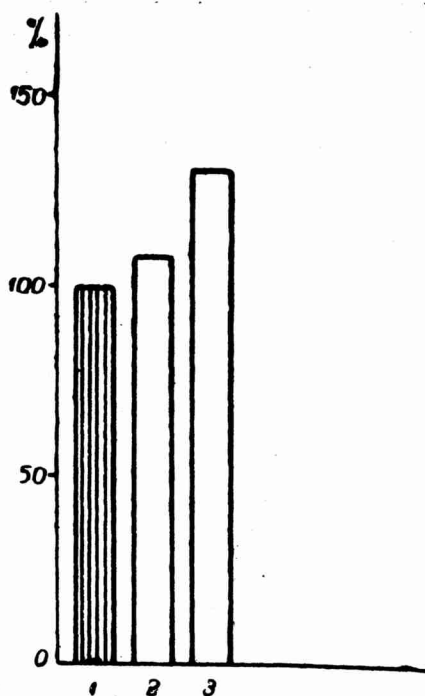
Pripravili sme si obvyklým spôsobom výluh, ktorý sme centrifugovali 20 min. pri 3000 obr./min. na laboratórnej centrifúge Chirana Z 3. Tekutý podiel výluhu nad usadeninou sme po stanovení sušiny použili ako prísadu do fermentačnej pôdy. Výsledky testovania sú uvedené v tabuľke č. 8 a v grafe č. 9.

Ako je z tabuľky a grafu vidieť, je produkcia penicilínu na pôde pripravenej s prídavkom centrifugovaného výluhu vyššia ako na pôde s prídavkom obyčajného výluhu a je aj vyššia ako na pôde s CSL. Predpokladáme, že k zvýšeniu produkcie došlo úpravou pomeru redukujúcich a neredukujúcich cukrov v pôde a odstránením celulózy.

Tabuľka č. 8:

Produkcia penicilínu na pôde s prídavkom centrifugovaných výluhov.

| Číslo | Úprava                | Produkcia penicilínu v % vzhľadom na produkciu na pôde s CSL |
|-------|-----------------------|--------------------------------------------------------------|
| 1.    | CSL                   | 100                                                          |
| 2.    | FEOL necentrifugovaný | 108                                                          |
| 3.    | FEOL centrifugovaný   | 131                                                          |



Graf č. 9.: Produkcia penicilínu na pôde s prídavkom centrifugovaných výluhov. Pre podrobnosti pozri text.

#### Porovnanie účinnosti prídavku oleja z tabákových semien s účinnosťou prídavku rozdrtených tabakových semien

Na základe našich predošlých výsledkov, ktoré svedčia o priaznivom vplyve prídavku olejnatých semien na produkčnú schopnosť výluhov sme chceli zistiť, či priaznivý vplyv prídavku olejnatých semien možno pripísať iba obsahu mastných kyselín, alebo aj nejakým iným zložkám tabakového semena. Petroléterom extrahovaný tuk z tabakových semien sme pridávali v rôznom množstve do pôd, ktoré boli pripravené z výluhov z čistých pšeničných otrúb bez prídavku tabakových semien. Výsledky pokusov ukázali, že prídavkom samotného oleja z tabakových semien nie je možné dosiahnuť takú vysokú produkciu antibiotika ako keď sa do fermentujúceho výluhu pridávajú rozdrtené tabakové semená. Optimálny prídavok oleja z tabakových semien do ferementačnej pôdy sa pohyboval medzi 0,2—0,4%. Pri vyššom prídavku oleja z tabakových semien sme pozorovali zníženie produkcie penicilínu a predčasnú autolýzu mycélia.

## Príprava výluhu a fermentačnej pôdy na základe dosiahnutých výsledkov

Prípravili sme si výluh z nasledovných surovín:

|                          |           |
|--------------------------|-----------|
| Pšeničné otruby          | 640,0 g   |
| tabakové semeno          | 160,0 g   |
| superfosfát              | 5,28 g    |
| kyselina mliečna 50 %-ná | 12,5 ml   |
| voda                     | 4000,0 ml |

Zmes sme podrobili spontánnej mliečnej fermentácii pri teplote 50–52 °C v termostate za občasného premiešania. Po 24 hodinách sme výluh odfiltrovali cez gázu a filtrát sme centrifugovali 20 minút pri 3000 obr./min. na laboratórnej centrifúge Chirana Z 3. Supernatant sme použili ako prísadu do fermentačnej pôdy bez zahustenia.

Fermentačnú pôdu sme pripravili nasledovne:

|                                 |           |
|---------------------------------|-----------|
| FEOL (100 % sušiny)             | 30,0 g    |
| laktóza                         | 25,0 g    |
| CaCO <sub>3</sub>               | 10,0 g    |
| Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> | 0,4 g     |
| fenylacetamid                   | 0,5 g     |
| voda                            | 1000,0 ml |
| sójový olej (na baňku)          | 0,05 ml   |
| pH po sterilizácii              | 5,8       |

Na pôdach s takto upravenými výluhmi bola produkcia penicilínu o 21 % vyššia ako produkcia na pôdach s prídavkom CSL.

### S ú h r n

V tejto práci sme riešili úkol výroby novej suroviny pre produkciu antibiotík, najmä penicilínu. Podarilo sa nám nájsť novú surovinu, fermentovaný výluh z pšeničných otrúb a tabakových semien (FEOL), ktorá za laboratórnych podmienok submerznej fermentácie na rotačnej trepačke a za použitia kmeňa *Penicillium chrysogenum* Wis. 51–20 dáva priemerne o 20 % vyššiu produkciu penicilínu ako pôdy s prídavkom CSL.

Technológia výroby novej suroviny je veľmi jednoduchá a sú predpoklady, že výluh bude mať štandardnejšie zloženie a vlastnosti ako CSL, ktorého výroba je viazaná na výrobu kukuričného škrobu. Technologické zariadenie na výrobu výluhu vo veľkom by bolo veľmi jednoduché.

Výluhy z pšeničných otrúb možno používať v nezahustenom stave a predpokladáme, že by sa mohli vyrábať priamo v závodoch vyrábajúcich penicilín.

V prípade použitia nášho výluhu v prevádzke bude treba vypracovať presné, optimálne zloženie pôdy pre používané kmene a fermentačné tanky, keďže pôdy osvedčené v laboratórnych podmienkach, nemožno priamo a bez ďalších úprav zaviesť do prevádzky.

Výhodou nášho výluhu je, že sa vyrába z domácich surovín, ktoré sú z časti dokonca nevyužitým odpadom (23).

## Literatúra

1. Behr A.: USA patent č. 914.379 (1909)
2. Nemec P.: Osobné zdelenie (1954)
3. Pyle A.: J. Gen. Microbiol. 11, 191 (1954)
4. Stanley A. R.: USA patent č. 2,609.330 (1952)
5. Lääkätehdas O. O.: Finský patent č. 25.336
6. Darum H., Eben G.: Švédsky patent č. 129.151
7. Rouleau F. G., Gonzales R. I.: Španielsky patent č. 193.259 (1951)
8. Pratt R., Dufrenoy D.: Antibiotics, London 1953
9. Christensen H. M.: Britský patent č. 688.249 (1953)
10. Soltero F., Johnson M.: Appl. Microbiol. 1, 52 (1953)
11. Noguti a spol.: J. Agric. Chem. Soc. Japan 29, 707 (1955)
12. Perlmann J., Langlykke A. F.: USA patent č. 2,641.567 (1953)
13. Hickey R. J.: USA patent č. 2,615.830 (1952)
14. Ishida J., Isono, M. J.: J. Antibiotics Japan 5, 327 (1952)
15. Yasuda S. a spol.: J. Agric. Chem. Soc. Japan 25, 310 (1952)
16. Dentice di Accadia Filippo: Microbiol. Espanola 8, 231 (1955)
17. Noguti a spol.: J. Agric. Chem. Soc. Japan 30, 163 (1956)
18. Balcar J., Škula K.: Pestovanie cigaretových tabákov, Bratislava 1953
19. Baxa F.: Tabak, Bratislava 1950
20. Šmuk A. A.: Chimija i tehnologija tabaka, Moskva 1953
21. Šmuk A. A.: Chimija tabaka i machorky, Moskva 1948
22. Zelinka J., Hudec M., Pilátová L.: Chem. zvesti 13, 193 (1959)
23. Nemec P., Šatura D., Ebringer L.: Čsl. patent č. 89.986 (1959)

## Новое сырье для производства пенициллина

П. Немец, Л. Эбрингер, Й. Балан, и А. Шатура

### Резюме

Новое сырье для производства антибиотиков составляется из водного экстракта и смеси из 80 % пшеничных отрубей и 20 % табачных семян, которую подвергаем спонтанной молочной ферментации с прибавлением небольшого количества молочной кислоты и суперфосфата. Новое сырье является по крайней мере равноценным заменителем кукурузной вытяжки для производства пенициллина в лабораторных условиях на трепалке. Вытяжки антибиотика на почвах составленных с новым сырьем в среднем на 20 % выше чем на почвах с кукурузной вытяжкой. Составление нового сырья просто и хорошо воспримается производством антибиотиков. В случае применения в производстве свежее изводимое. Было бы возможно завести упомянутое производство на каждом заводе, занимающемся приготовлением вытяжки было бы возможно сэкономить упаривание экстракта.

## Ein neuer Rohstoff zur Penizillinerzeugung.

P. Nemec, L. Ebringer, J. Balan und D. Šatura

### Zusammenfassung.

Ein neuer Rohstoff für die Erzeugung von Antibiotika wird durch Absonderung und eventuelle Eindickung des wässrigen Bestandteiles eines der spontanen Milchsäuregärung unterworfenen Gemisches von 80% Weizenkleie und 20% Tabaksamen in Wasser mit Zugabe von kleinem Mengen von Milchsäure und Superphosphat hergestellt. Der neue Rohstoff ist ein mindestens vollwertiger Ersatz des Maisextraktes bei der Penicillinfermentation in Schüttelkulturen, da die Erträge des Antibiotikums auf dem neuen Nährboden im Durchschnitt um 20% höher sind, als auf Nährböden mit Maisextrakt. Die Zubereitung des neuen Grundstoffes ist einfach und gut reproduzierbar. Es wäre möglich, die Erzeugung dieses Extraktes in jedem Betrieb, welcher Antibiotika erzeugt, einzuführen. Im Falle einer sofortigen Verwendung des Extraktes könnte die Eindickung des Produktes erspart werden.

**Beitrag zum Wirkungsmechanismus von Gibberellin auf Wuchs, Dynamik der freien Aminosäuren und Wassermetabolismus während der Quellung und Keimung von Hanfsamen (*Cannabis sativa* L.).**

R. HERICH.

Ein aktiver Einfluss von Gibberellinen, der sich in einer ganzen Reihe der physiologischen Prozesse, wie zum B. in einer Erhöhung der Wuchsentensität (Kentzer 1960, Herich 1960, Kuraishi, Hashimoto 1957, Lona 1956, Sachs, Bretz, Lang 1959 und a.), in der Verkrüppelungsüberwindung (Wittwer, Sell, Weller 1957 und a.), Vergrößerung von Blättern und Blüten (Wittwer, Bukovac 1958), Beschleunigung der Blütenperiode bei zweijährigen und einjährigen langtägigen Pflanzen (Lang 1957, Wittwer, Bukovac 1958), Fruchtansetzung, Zellteilung (Sachs, Lang 1957, Sachs, Bretz, Lang 1959 und a.), Organogenese (Barton, Chandler 1957, Dostál 1959, Herich 1960) und vielen anderen geltend macht (Krekule, Ullman, 1958, Stowe, Yamaki 1957, Wittwer, Bukovac 1958 und a.), spricht dafür, dass die Gibberelline als ein biologisch hochaktiver, sich im Stoffmetabolismus tief auswirkender Stoff zu betrachten sind.

Bemerkenswert erscheint dabei, dass verschiedene in einzelnen Wuchsetappen und Entwicklungsstadien der Pflanzenorganismen hervortretende Spezifität von Stoffmetabolismus, sowie auch verschiedener Metabolismus in einzelnen Sorten von derselben Gattung sich auch in einer unterschiedlichen Aktivität, in einer unterschiedlichen Reaktion des Organismus und seiner einzelnen Teile auf eine Applikation von Gibberellin deutlich abspiegelt (Marth, Audia, Mitchell 1956, Wittwer, Bukovac 1958). Interessant erscheint weiter die Tatsache, dass nach der Applikation von Gibberellin sich manche Reaktionen schon nach dem Zeitraum von einigen Stunden (bei den Kräutern), während andere (bei den Bäumen) erst nach einigen Tagen oder sogar Wochen biologische Aktivität von Gibberellinen erkennen lassen (Wittwer, Bukovac 1958). Induzierte Reaktionen, welche auf den von der Applikationsstelle bedeutend entfernten Pflanzenteilen beobachtet wurden, weisen auf eine hohe Mobilität von Gibberellinen im Pflanzenorganismus hin.

Biologische Aktivität der Gibberelline wird in einem nicht unbedeutenden Masse durch Faktoren der Aussenwelt, wie Licht (Lockhart, Bonner 1957, Lockhart 1958, Lockhart 1958a), Temperatur (Lockhart 1958b), Mineralienernährung und ähnliche andere beeinflusst. Vom Gesichtspunkte der Theorie aus, sowie auch von dem der feldwirtschaftlichen Praxis ist die Fähigkeit der Gibberelline Beschränkungswirkung von Wärme, Feuch-



tigkeit zu überwinden, wie auch ihre Fähigkeit Temperaturoptimum zu verbreiten und Temperaturmaximum herabzusetzen als besonders wichtig für Wuchsprozesse zu bezeichnen (Wittwer, Bukovac 1958).

Diese hohe biologische Aktivität des Gibberellins dem Pflanzenorganismus gegenüber regte uns zu einem Studium der Gibberellinwirkung und seiner Verhältnisse zu einigen wichtigen metabolischen Prozessen an. In der vorliegenden Arbeit habe ich die Absicht einige von der unseren physiologischen Untersuchungen über den Einfluss von Gibberellin auf Verlauf mancher, während der Samenkeimung sich abspielenden metabolischen Prozesses vorübergehend zu berühren. Die nach Applikation von Gibberellin auf die Samen bemerkten Veränderungen der Organogenese, anatomischer Struktur und Staudenwuchsintensität haben uns in erster Linie zu diesen Untersuchungen Anlass gegeben. Da Effekte des stimulierenden Einflusses von Gibberellin einen zum grössten Teil zeitigen Charakter aufweisen und weil für eine kontinuierliche Reaktion eine mehrmalige Applikation notwendig ist (Krekule, Ullmann 1958, Stowe, Yamaki 1957, Wittwer, Bukovac 1958), hielten wir es sowohl aus einem wissenschaftlichen Gesichtspunkt, wie auch vom Standpunkt der feldwirtschaftlichen Praxis für nötig die Wirkung von Gibberellin auf den Charakter der Veränderungen im Stoffmetabolismus, auf Veränderungen der einzelnen metabolischen Prozesse, welche nach der einmaligen Gibberellinapplikation auf Samen durch kontinuierliche Reaktion induzierten, auf die in der Organogenese sich geltend machenden Umwandlungen und auf eine ganze Reihe von physiologischen Prozessen, die im Verlauf der antogenetischen Pflanzenentwicklung zum Vorschein kamen, zu untersuchen. Eine vorherrschende Stellung von Eiweisstoffen im Stoffmetabolismus, ausserordentliche Mannigfaltigkeit ihrer chemischen Funktionen, ihre hochgradige Befähigung sich verschiedenartig zu umwandeln, wie auch die Tatsache dass sie als Bestandteile von Enzymen Geschwindigkeit, Richtung, engen Zusammenhang und Reihenfolge von einzelnen Reaktionen des Stoffmetabolismus bestimmen, bildete den Hauptgrund, weshalb wir uns in unseren Untersuchungen über Wirkungsmechanismus der Gibberelline in erster Linie auf das Studium der zwischen Gibberellin und elementaren Eiweisstrukturelementen, Aminosäuren und Aminen bestehenden Beziehungen orientierten.

Ich möchte mich in der folgenden Abhandlung mit dem Einfluss von Gibberellin auf Dynamik der freien Aminosäuren kürzlich zu befassen und zwar während der Quellung und Keimung der Samen, wo eine ausserordentlich intensive sekundäre Bildung von Aminosäuren verläuft.

#### Material und Methodik

Das Ausgangsmaterial zu unseren experimentellen Studien lieferten uns Hanfsamen von der Sorte „Rastislavická“. Gibberellin wurde in Konzentrationen 5, 10, 25, 100 und 200 ppm appliziert. Das Untersuchungsmaterial wurde in Petrischalen zwischen zweien Filtrierpapierbogen gehalten, welche mit den erwähnten Gibberellinkonzentrationen, während das Kontrollmaterial mit destillierten Wasser angefeuchtet wurden. Sowohl die Quellung wie auch Keimung von Samen verlief im Dunkel bei der Temperatur 21 °C. Zwecks Identifikation

der freien Aminosäuren haben wir die Methode der Papierchromatographie (absteigend) benutzt, wobei eine Mischung von n-Butanol, Essigsäure und Wasser im Verhältnis 4:1:5 angewandt wurde. Chromatogramme wurden wiederholt 8-mal entwickelt. Detection wurde mit 0,2% Ninhydrinlösung in Aceton durchgeführt. Eine quantitative Feststellung von Aminosäuren wurde mikrophotometrisch auf Grund der photographischen Negativen von Chromatographen durchgeführt. Die Verschiebung des Brettes betrug 0,2 mm, die Empfindlichkeit des Photometers wurde also reguliert, dass alle Flecken auf dem Negativ messbar wurden. Zur Elimination der durch Hervorrufen, etw. durch Unterlagenfärbung von einzelnen Chromatogrammen zwischen der einzelnen Negativen verursachten Unterschiede, wurden auf jedes Chromatogram zwecks Ausfertigung von Kalibrationskurven Standarde in einer gehörigen Konzentration angebracht. Bei der Feststellung der Aminosäuren hat auch J. Navara technisch mitgearbeitet.

### Resultate

#### I. Der Einfluss von Gibberellin auf Intensität der Samenquellung im Verhältnis zum Metabolismus der freien Aminosäuren.

Da die Intensität der metabolischen Prozesse während der Keimung einschliesslich der Enzymprozesse, welche Glyciden — und Eiweisstoffenumwandlungen regulieren und bedingen, wie auch Translokation der wichtigen plastischen Stoffe im Verlauf der Keimung in einem hervorragenden Masse von der Hydratation der plasmatischen Kolloide abhängig sind, möchte ich nun einleitungsweise einiger unserer Untersuchungen erwähnen, die sich auf die Wirkung von Gibberellin auf Samenquellungsintensität beziehen.

Wie es aus der Abbildung ersichtlich ist, wurde Quellungsintensität durch Applikation von Gibberellin in bedeutendem Masse beeinflusst. Bei allen Gibberellinkonzentrationen, die angewandt wurden, erwies sich Quellungsintensität im Vergleich mit den im destillierten Wasser eingeweichten Kontrollsammen niedriger im Verlauf von ersten 12 Stunden. Zwischen der 12—24 Stunde (vom Quellungsbeginn an) wurde bei Gibberellinkonzentration von 25 ppm ein beträchtlicher Aufstieg von Quellungsintensität beobachtet. Nach 36 Stunden wurde das Maximum der Quellungsaktivität bei der Gibberellinkonzentration von 10 und 25 ppm erreicht, wobei das gänzliche Quantum des aufgenommenen Wassers, umgerechnet auf das Gewicht der trockenen Samen, den aufgenommenen Wasserbetrag bei den im dest. Wasser eingeweichten Samen (bei Konzentration 10 ppm um 103,57 und bei Konzentration 25 ppm um 103,71%) übersteigt.

Der aktive Einfluss von Gibberellin auf die Hydratation der plasmatischen Kolloide (der in der Quellungsintensität deutlicher zum Ausdruck kommt) wird gleichzeitig, wie es sich aus der Abb. 2 erkennen lässt, von Veränderungen im Metabolismus von freien Aminosäuren sowohl qualitativer, wie auch quantitativer Natur begleitet.

Quantitative Veränderungen, welche im Metabolismus von Alanin, Alanylglycin, Asparaginsäure, Asparagin, Leucin + Phenylalanin, sowie auch von anderen untersuchten Aminosäuren nach der Applikation von einzelnen Gibberellinkonzentrationen (in einem geringeren Masse) beobachtet wurden, weisen auf

Möglichkeit eines aktiven Einflusses von Gibberellin auf den Metabolismus von Aminosäuren, auf ihre Synthese und Desamination. Besondere Aufmerksamkeit verdient eine auffällige Erhöhung des Alaningehalts. Der Aufstieg des Alaningehaltes, welcher sich zu den Gibberellinkonzentrationen parallel verhält, beweist, dass zwischen der Wirkung von Gibberellin und der Alaninsynthese ein enger Zusammenhang besteht. Da sich bei der oxydativen Desamination von Alanin in den keimenden Samen Pyrotraubensäuren als eine den Eiweisstoff, Glyciden — und Fetten — Metabolismus vereinende Brücke bilden, ist wahrscheinlich, dass Applikation von Gibberellin durch Beeinflussung der Synthese und Desamination des Alanins sich sekundär auch in der Dynamik von Glyciden, sowie auch in den Oxydation-Reduktionsprozessen, welche mit der Veränderung von Eiweisstoffen und Aminosäuren im Zusammenhang stehen, geltend machen kann. Diese Ergebnisse bleiben jedoch einem ausführlicheren Studium vorbehalten.

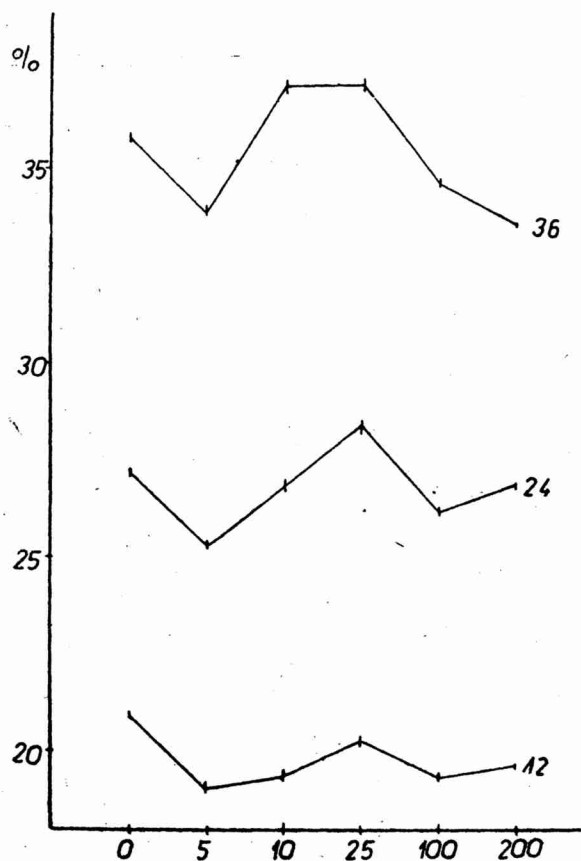


Abb. 1. Einfluss von Gibberellin auf Intensität der Samenquellung nach 12, 24 und 36 Stunden vom Quellungsbeginn. Auf X-Achse wurden Gibberellinkonzentrationen, auf Y-Achse Prozente des aufgenommenen Wassers aufgetragen, letztere in einer derartigen Umrechnung, dass Ausgangsgewicht der Samen vor der Keimung 100% gleicht.

**II. Einfluss von Gibberellin auf Keimungsintensität  
der Samen im Verhältnis zu dem Metabolismus der  
freien Aminosäuren,  
Auf Grund des aktiven Einflusses von Gibberellin auf Intensität der**

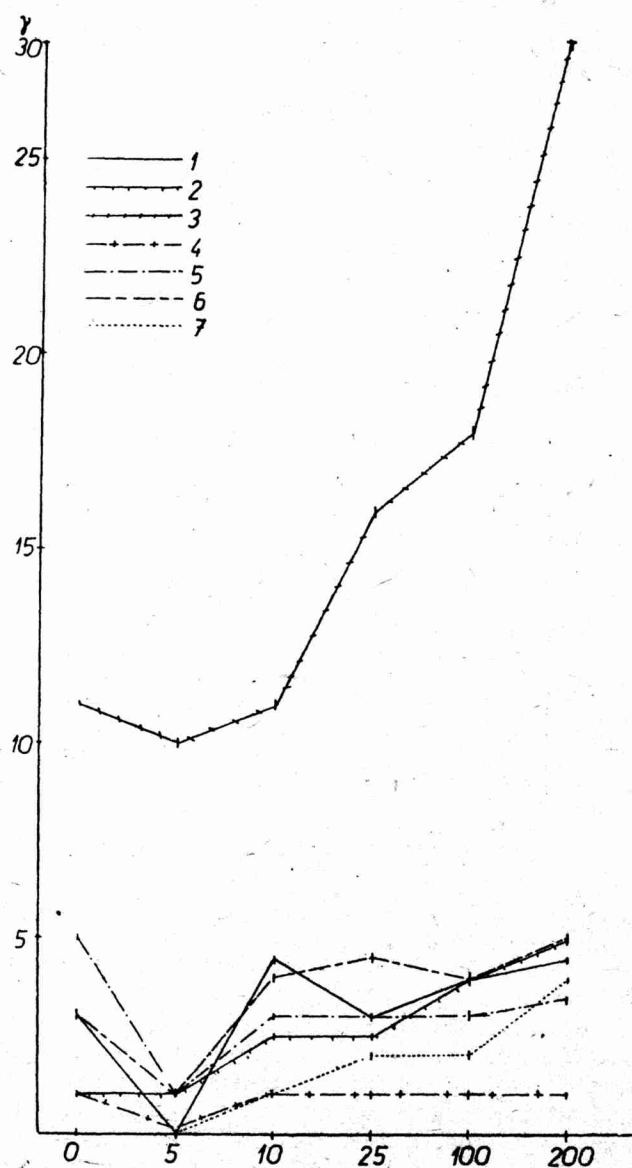


Abb. 2. Dynamik von freien Aminosäuren im Verlauf der Samenquellung. Auf X-Achse sind Gibberellinkonzentrationen, auf Y-Achse Gehalt von Aminosäuren im g/0,02 ml Extrakt aufgetragen. 1 — Histidin, 2 — Alanyl-glycin, 3 — Alanin, 4 — Glycin, 5 — Asparagin, 6 — Asparaginsäure, 7 — Leucin ± Phenylalanin

Quellung, wie auch auf die Aminosäuredynamik erschien als möglich die Voraussetzung, dass innerliche Veränderungen von Stoffmetabolismus im Verlauf der Keimung auch nach aussen ihren Ausdruck finden.

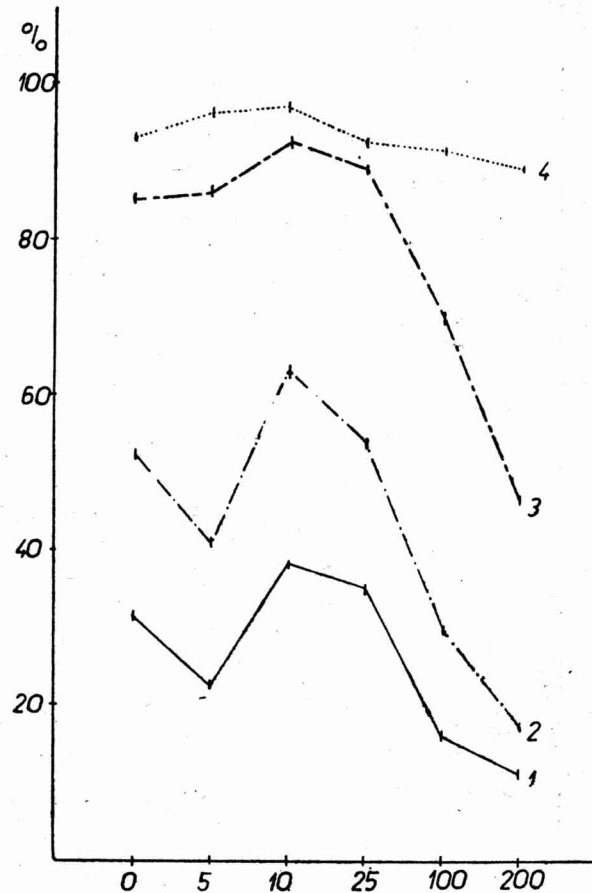


Abb. 3. Einfluss von Gibberelin auf Keimungsintensität, X-Achse stellt Gibberellinkonzentrationen, Y-Achse Prozente der auf gekeimten Samen dar 1 — nach 36 Stunden, 2 — 48 Stunden, 3 — 60 Stunden, 4 — 72 Stunden vom Quellungsbeginn an.

Vergleichen wir einmal Intensität der Keimung mit der gesamten Menge des aufgenommenen Wassers. Es wird uns auffällig erscheinen, dass Gibberellinkonzentrationen 10 und 25 ppm, nach derer Applikation sich Samenquellungsintensität in beträchtlichem Masse steigerte, zugleich den grössten Stimulationseffekt und zwar sowohl auf den Anfang, wie, auch die Keimungsintensität von Samen hervorruft. Was die Wirkung von Gibberellin auf gänzliche Keimungsfähigkeit anbetrifft, trat schon bei der Konzentration 25 ppm ein teilweise inhibierender Einfluss vor. Höhere Gibberellinkonzentrationen 100 und 200 ppm wirkten inhibierend sowohl auf den Beginn der Keimung, wie auch auf Intensität und gänzliche Keimungsfähigkeit von Samen.

Ein maximales Stimulationseffekt wurde bei der Konzentration 10 ppm, in einem etwas kleineren Masse bei Konzentration 5 ppm Gibberellin beobachtet.

Chromatographische Untersuchungen der Dynamik von Aminosäuren im anfänglichen Keimungsstadium (Keimgrösse bis 0,5 cm) weisen in diesem Stadium auf einen sämtlichen Aufstieg des Aminosäuregehalts. Dabei verrät aber die Dynamik der einzelnen Aminosäuren auch in diesem Stadium nach

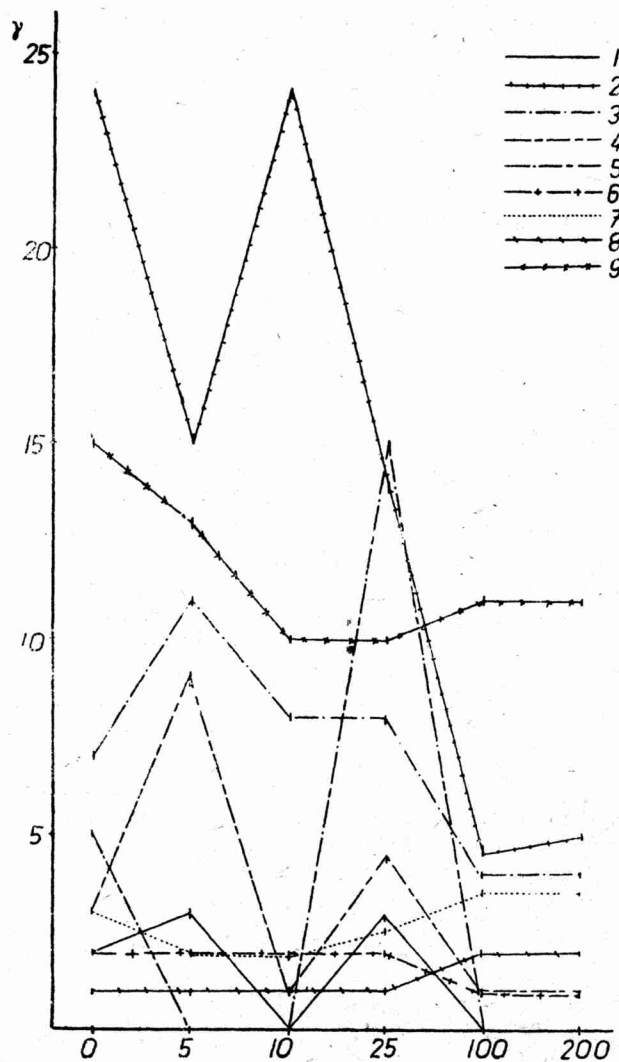


Abb. 4. Dynamik von freien Aminosäuren im anfänglichen Keimungsstadium (Keimgrösse bis 5 mm). Auf X-Achse sind Gibberellinkonzentrationen, auf Y-Achse Gehalt von Aminosäuren im  $\gamma/0.02$  ml Extrakt aufgetragen. 1 — Histidin, 2 — Alanylglycin, 3 — Asparagin, 4 — Asparaginsäure, 5 — Lysin, 6 — Glycin, 7 — Leucin + Phenulalanin, 8 — Valin + Methionin, 9 — Alanin.

der Applikation von Gibberellin sowohl quantitative, wie auch qualitative Veränderungen.

Es besteht ein interessanter Zusammenhang zwischen Keimungsintensität und dem Niveau von Aminosäuren nach der Applikation von Gibberellin. Wenn wir nämlich das Stimulations — und Inhibitions-Effekt einzelner Gibberellinkonzentrationen auf Intensität der Keimung mit dem Metabolismus einzelner Aminosäuren vergleichen, bekommen wir den Eindruck, dass unter der beobachteten Stimulations — und Inhibitionswirkung von Gibberellin auf die Quellung und Keimung der Samen und den durch Applikation von Gibberellin bedingten qualitativen und quantitativen Veränderungen eine gewisse Beziehung besteht. Es wird vorausgesetzt, dass die beobachtete Senkung von Alanylglycin, Asparagin, Asparaginsäure, Glycin, sowie auch das Wegfallen von Lysin und Histidin nach der Applikation von höheren Gibberellinkonzentrationen wahrscheinlich mit der bemerkten inhibierenden Wirkung von Gibberellin auf Intensität und gesamte Keimungsfähigkeit der Samen im Zusammenhang steht. Ausführlichere Beobachtungen in dieser Richtung bilden das Thema unserer weiteren Studien.

### III. Einfluss von Gibberellin auf Hydratation und Trockengewicht der Keime.

Ein aktiver Einfluss von Gibberellin auf die Hydratationsfähigkeit, welcher schon im Verlauf der Quellung beobachtet wurde, machte sich auch nach der Aufkeimung in der gesamten aufgenommenen Wassermenge (in den Keimen 72 Stunden nach der Aufkeimung) bemerkbar.

Es lässt sich erkennen, dass maximale Wasseraufnahme nach der Applikation von 10 ppm Gibberellinkonzentration festgestellt wurde also nach der Konzentration, die Intensität und Keimungsfähigkeit der Samen im maximalen Masse stimulierte. Es wäre zu erwarten, dass maximale Wasserabnahme infolge mehr intensiver metabolischer Prozesse von einer maximalen Trockenstoffabnahme auf anderer Seite begleitet wird. Aus der Abb. 6. wo Trockenstoffabnahmen in der Umrechnung, nach welcher das Ausgangsgewicht der trockenen Samen 100% gleicht, dargestellt sind, geht aber hervor, dass trotz Erhöhung von Quellungsintensität, sowie auch der gänzlichen Keimungsfähigkeit, nach welcher eine erhöhte Intensität der metabolischen Prozesse zu erwarten wäre, ist nach Applikation von Gibberellin das Abnahmeprozent und zwar bei allen Konzentrationen niedriger, als bei Kontrollkeimen. Die grösste Trockenstoffabnahme wurde also bei den Kontrollbeständen festgestellt.

### IV. Der Einfluss von Gibberellin auf den Anfangswuchs von Sprossachse und Würzelchen.

Zum Schluss dieser Verhandlung möchte ich noch die Wirkung von Gibberellin auf den Anfangswuchs der Keime, in erster Linie auf den Wuchs von Wurzeln in der Kürze erwähnen. Es wurden 5, 10, und 100 ppm Gibberellinkonzentrationen beobachtet. Die zu untersuchenden Samen wurden auf 24 Stun-

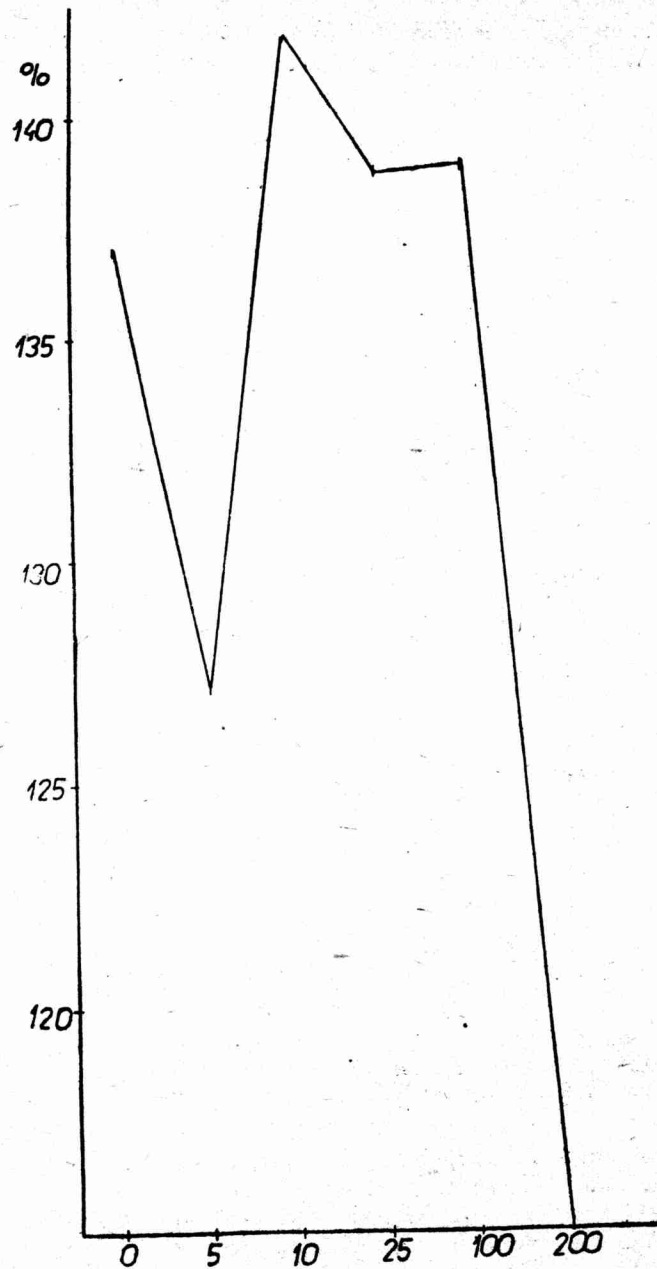


Abb. 5. Einfluss des Gibberellins auf Wassergehalt in den Keimen (nach 72 Stunden vom Quellungsbeginn). Auf X-Achse wurden Gibberellinkonzentrationen, auf Y-Achse Prozente des Wassergehalts aufgetragen, letztere in einer solchen Umrechnung, dass Anfangsgewicht der trockenen Samen vor ihrer Aufkeimung 100% darstellt.



den in den angeführten Gibberellinkonzentrationen, die Kontrollsamens im destillierten Wasser eingeweicht. Nach der Beendigung von Aufweichung wurden

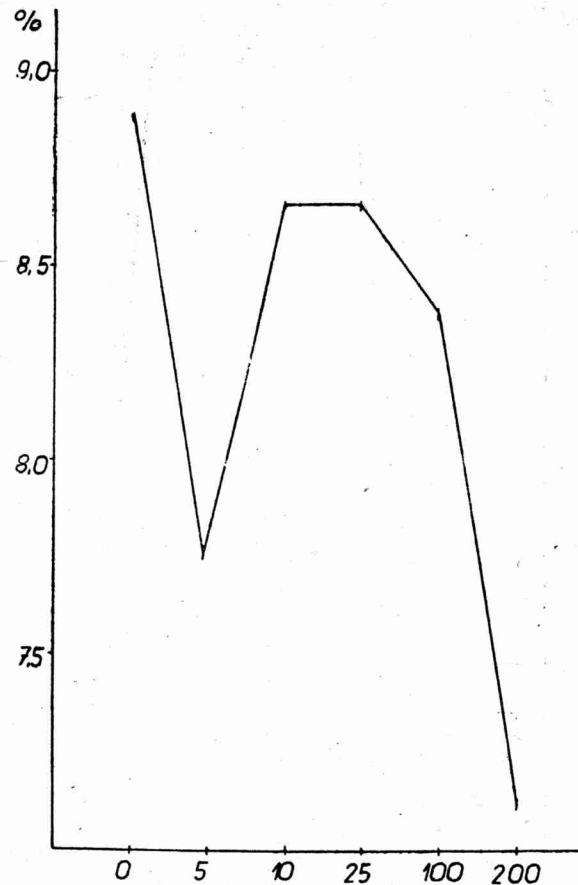


Abb. 6. Einfluss von Gibberellin auf Trockenstoffabnahme (nach 72 Stunden vom Quellungsbeginn). Auf X-Achse sind Gibberellinkonzentrationen, auf Y-Achse Abnahme des Anfangsgewichts der Samen vor der Keimung in % aufgetragen.

die Samen mit einem Filtrierpapier abgetrocknet und in eine mit destilliertem Wasser angefeuchtete Holzspanschicht eingesät (auf 100 g Holzspäne 100 ml Wasser). Die Bewertung von Gibberellinwirkung auf den Wuchs von Sprossachse und Wurzeln wurde bei den Keimlingen nach 24, 48 und 72 Stunden durchgeführt. Die gewonnenen Resultate sind auf den Abb. 7 und 8 aufgeführt.

Wie es aus der angeführten graphischen Darstellungen ersichtlich ist, wies Gibberellinapplikation im Verlauf von 24 Stunden nach der Aufkeimung eine stimulierende Wirkung auf den Wuchs von Wurzeln auf. Nach 48 Stunden trat bei der Gibberellinkonzentration von 100 ppm und nach 72 Stunden

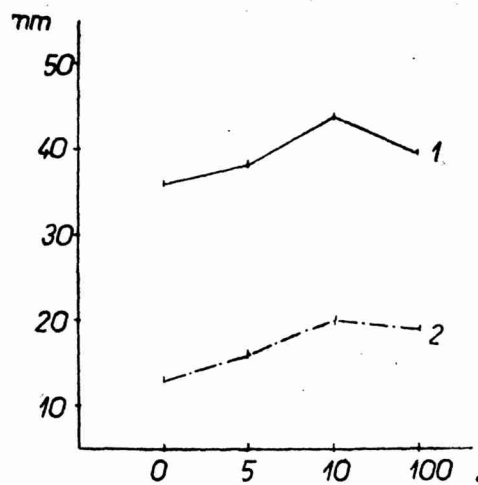


Abb. 7. Einfluss von Gibberellin auf Wuchs der Sprossachse. Auf der X-Achse sind Gibberellinkonzentrationen, auf Y-Achse Sprossachsenlängen in mm angegeben. 1 — nach 72 Stunden, 2 — 48 Stunden nach der Aufkeimung.

bei allen benutzten Gibberellinkonzentrationen eine inhibierende Wirkung auf Wuchs von Wurzeln vor. Demgegenüber wurde bei der Achse sowohl nach 48,

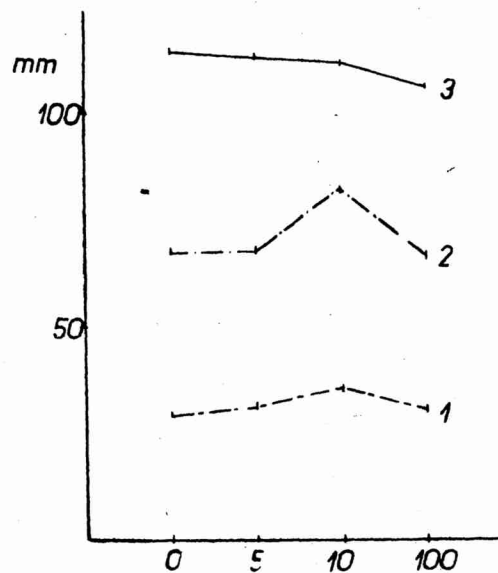


Abb. 8. Wirkung des Gibberellins auf den Wuchs von Wurzeln. X-Werte stellen Gibberellinkonzentrationen, Y-Werte Wurzellängen in mm dar. 1 — nach 24 Stunden, 2 — 48 Stunden, 3 — 72 Stunden nach der Aufkeimung.

wie auch nach 72 Stunden (nach Verlauf von 24 Stunden waren sie noch undifferenziert) bei allen Gibberellinkonzentrationen Stimulationseffekt festgestellt (Details siehe in den Abbildungen).

## Diskussion

Bisherige Untersuchungen über den Einfluss von Gibberellin auf einzelne Metabolismusarten, wie zum B. auf den Metabolismus der Eiweißstoffe, Kohlenhydrate, Mineralstoffe, auf Enzymenaktivität, auf Intensität der Atmung usw. (Munekata, Kato 1957, Nielsen, Berqvist 1958, Sandergrén, Beling 1958, Stowe, Yamaki 1957, Wittwer, Bukovc 1958 und a.), und wenn sie auch auf eventuelle Möglichkeit der Wirkung von Gibberellin auf Stoffmetabolismus hinweisen, doch wegen der unvollständigen, gegenseitig widersprechenden Angaben Komplexität entbehren, sind heutzutage nicht imstande uns ein genügend vollkommenes Bild vom Mechanismus der primären Gibberellinwirkung zu geben. Aus der zentralen Stellung von Eiweißstoffen im System der biochemischen Reaktionen ausgehend, haben wir unsere Aufmerksamkeit in erster Linie auf das Studium des Einflusses von Gibberellin gewandt und zwar auf den Metabolismus von Aminosäuren während der Samenkeimung wo infolge der Hydrolyse der Eiweißstoffe eine intensive Bildung von freien Aminosäuren verläuft.

Auf Grund unserer Untersuchungen und sowohl des Vergleiches zwischen der Dynamik einzelner Aminosäuren und der ihrer Amiden, wie auch auf Grund der qualitativen und quantitativen Veränderungen im Aminosäurespektrum, welche nach der Applikation von Gibberellin beobachtet wurden, wird vorausgesetzt, das durch Applikation von Gibberellin ihre gesamte Synthese und Disimilation beeinflusst wurde. Es scheint aber nötig dem Wirkungsmechanismus von Gibberellin auf Synthese und Desamination von einzelnen Aminosäuren weitere Aufmerksamkeit zu schenken. Aus bisherigen Untersuchungen in diesem Gebiet sind Berqvists, Stengårds und Niensens (1959) Studien besonders bemerkenswert. Die genannten Autoren befassen sich mit dem aktiven Einfluss von Gibberellin auf das Gehalt von Transaminase der Glutam-Oxalsäure und Glutam-Pyrotraubensäure. Die Befähigung der Gibberellinsäure die Synthese von den Transaminasen bei den eingeführten Säuren zu beeinflussen, ist um so wichtiger, weil sie uns die Möglichkeit des Einflusses von Gibberellin auf Synthesen und Veränderungen von Aminosäuren verrät und weil sie uns gleichzeitig auf Berührungspunkte des Einflusses von Gibberellin auf den Metabolismus der Glyciden einerseits und der Aminosäuren und Eiweißstoffe andererseits aufmerksam macht.

Stimulierender Einfluss von Gibberellin auf Keimung der Samen, welcher in Arbeiten von Heshimoto (1958), Kentzer (1960), Lona (1956) und a. beobachtet wurde, hat sich auch in unseren Experimenten völlig bestätigt. Diese Eigenschaft von Gibberellin, welche die Keimung und gesamte Keimschnelligkeit der Samen fördert, wie auch seine Befähigung hemmende Wirkung von Licht, Wärme und Feuchtigkeit auf den Wuchs zu überwinden, hat aus dem Gesichtspunkt der feldwirtschaftlichen Praxis, in ersten Reihe bei der Aussaat im Frühjahr eine

besondere Bedeutung. Nach den Angaben von Wittwer und Bukovac (1958) wurde die für das Aufgehen von Erbsen — und Bohnen-Samen notwendige Wärmemenge um 20–30% niedriger festgestellt. Ein schnelleres Aufgehen ermöglicht nach der Ansicht von erwähnten Autoren einen früheren Kampfbeginn gegen Unkraut und setzt die Gefahr vonseiten der Schädlinge und Krankheiten, welche die Keimpflanzen zu befallen pflegen bedeutend herab.

Es scheint, als ob diese Eigenschaft von Gibberellin, welche den inneren Umbau von Stoffmetabolismus zum Ausdruck bringt, mit Rücksicht auf qualitative und quantitative Veränderungen im Aminosäurenspektrum nach Gibberellinapplikation und der inhibierend wirkenden Gibberellinkonzentrationen auf das Keimungsprozess, wie auch auf Grund des aktiven Einflusses auf Quellungsintensität der Samen, mit Dynamikveränderungen von Aminosäuren und im Kolloidsystem des Plasma zusammenhängt. Ausführlichere Studien über den Wirkungsmechanismus der Gibberelline in obenerwähnten Prozessen bilden den Gegenstand unserer weiteren Untersuchungen.

Nicht minder wichtig ist der Einfluss von Gibberellin auf Korrelationseinflüsse der Pflanzen und zwar auf diese Wuchskorrelationen, welche die Achse und Wurzeln betreffen. Wie es uns aus der bisherigen Arbeiten bekannt ist, wirkt die Applikation von Gibberellin störend auf normale Korrelationsbeziehungen: Wuchsreaktionen der Achse werden stimuliert, während Wuchsreaktionen der Wurzel inhibiert werden. Diese interessante Wirkung von Gibberellin wurde auch in unseren Untersuchungen bemerkt. Da nach der Applikation Gibberellin sich bei allen angewandten Konzentrationen im Verlauf von 24 Stunden (5, 10, und 100 ppm) und bei der Konzentration 5 und 10 ppm auch nach 48 Stunden eine Stimulation des Wurzelwachses bemerkbar machte, während die Inhibition nach 48 Stunden nur bei der verhältnismässig hohen Gibberellinkonzentration 100 ppm und bei allen anderen Konzentrationen erst nach 72 Stunden vom Beginn der Keimung zum Vorschein trat, bezeugt, dass sich Disposition zu einer inhibierenden Wirkung erst nach der Aufkeimung bildete und zwar bei der Gibberellinkonzentration 100 ppm nach 48 Stunden und bei der Konzentration 5 und 10 ppm erst nach 72 Stunden nach der Aufkeimung. Ob dieser inhibierender Einfluss als ein Ausdruck der Störungen von Wuchssynthese (nativer Auxin) betrachtet werden darf und inwieweit und auf welche Weise sich dabei Gibberellin beteiligt, fordert einer eingehenden Untersuchung.

Was Lokalisation dieser inhibierenden Einflüsse anbetrifft, gehen wir von Dostal's (1959) Beobachtung aus und es scheint uns, als ob diese bei Keimpflanzen in ihren Samenblättern lokalisiert wären. Unsere Vermutung knüpfen wir auf die Beobachtungen von Dostal an, nach denen die Wurzeln einen mehr intensiven Wuchs auf der Seite mit abgebrochenen oder verminderten Samenblättern aufweisen.

Was die Beziehung zwischen dem Stoffmetabolismus und der Differentiation der Wurzeln anbetrifft, ist bekannt, dass sich an ihr eine ganze Reihe von Faktoren (Dostal 1959, Söding 1952, Libbert 1956 und a.), auch Rhizokalinkomplex nach der Theorie von Went-Cooper beteiligen kann. Nach Libberts (1956) Voraussetzungen ist nativer Auxin bloss als ein Bestandteil dieses Komplexes zu betrachten. „Weitere Bestandteile sind bestimmte Nukleinsäurebestandteile wie Adenin, ein in Erbsenpflanzen gefundener „Faktor X“,

sowie eine Reihe verschiedener Wirkstoffe wie z. b. Vitamine. Nicht alle Komponenten des Rhizokalinkomplexes sind transportabel, sondern einige sind (wie „physiologische Gewebealter“) zellgebunden (strukturgebunden). Keine der Komponenten des Rhizokalinkomplexes ist spezifisch für die Wurzelbildung. Es gibt — wie es Libbert bemerkt — „keine spezifisch wurzelbildende Substanz, sondern nur eine spezifisch wurzelbildende Substanzkonstellation, die im Rhizokalinkomplex manifestiert ist“ (Libbert 1956). Zu einem ähnlichen Schluss kommt auch Dostal (1959) und Söding (1952).

Ausgehend aus bemerkenswerten Untersuchungen von Dostal über die Beziehung des Glycidenmetabolismus zu den Inhibitionsprozessen und des Stickstoffmetabolismus einschliesslich der Aminosäuren zu den Stimulationseffekten des Wurzelwachstums lässt sich voraussetzen, dass die nach der Applikation von Gibberellin bemerkte Wurzelinhibition wahrscheinlich mit seiner gänzlichen Wirkung auf den Glyciden- und Stickstoffmetabolismus, die Aminosäuren einrechnend zusammenhängt und zwar um so mehr, da manche Wuchsstoffe und Vitamine eben als Ergebnis des Aminosäurenmetabolismus entstehen können.

Für die obenangeführten Beobachtungen wurde Gibberellin der Firma „Kyova Fermentation Industries, Tokyo“ und „Plant Protection LTD, Fernhurst“ benutzt.

#### Zusammenfassung

In der Arbeit wird über den Einfluss von Gibberellin auf manche physiologische Prozesse im Verlauf der Keimung und des Anfangswuchses der Sprossachse und der Wurzeln beim Hanf (*Cannabis sativa* L.) behandelt. Eine besondere Aufmerksamkeit wurde dabei folgenden Problemen gewidmet:

##### I. Wirkung von Gibberellin auf die Quellung und Keimung der Hanfsamen.

Es wurde Gibberellinwirkung in Konzentration 5, 10, 25, 100 und 200 ppm auf Quellungs- und Keimungsintensität der Samen untersucht. Die zu untersuchenden Samen wurden in Petrischalen zwischen zwei Fitrierpapierbogen gelegt, welche mit den erwähnten Konzentrationen angefeuchtet wurden.

Es wurde bei allen angewandten Gibberellinkonzentrationen im Verlauf der ersten 12 Stunden eine Senkung der Quellungsintensität festgestellt. Ein starker Aufstieg der Quellungsintensität machte sich zwischen 12 und 24 Stunden (vom Anfang der Quellung an) bemerkbar, der hauptsächlich in der Konzentration 10 und 25 ppm Gibberellin deutlich zum Vorschein trat. Es wurde Stimulationswirkung auf Anfang, Intensität und gänzliche Keimungsenergie der Samen in erster Reihe bei der Gibberellinkonzentration 10 und 25 ppm beobachtet. Gibberellinkonzentrationen 100 und 200 ppm weisen auf Samenkeimung eine stimulierende Wirkung auf.

Nach der Applikation der Gibberellinkonzentrationen 10, 25, 100 ppm wurde in den Keimen ein (im Vergleich mit der Kontrolle) erhöhter Wassergehalt bemerkt.

Trockenstoffabnahme (Differenz zwischen dem Ausgangsgewicht der trockenen Samen und dem Trockenstoff aus den Keimen) wurde nach der Applikation von Gibberellin niedriger als bei Kontrollsamens festgestellt.

## II. Gibberellineinfluss auf den Anfangswuchs der Sprossachse und der Wurzeln.

Hanfsamen wurden auf 24 Stunden im destillierten Wasser und in 5, 10, und 100 ppm Gibberellinkonzentration eingeweicht. Nach Verlauf von 24, 48 und 72 Stunden wurde die Wirkung von Gibberellin auf den Wuchs von Achse und Wurzeln bewertet. Im Ganzen wurde bei allen beobachteten Gibberellinkonzentrationen ein Stimulationseffekt auf den Achsenwuchs festgestellt, wobei, optimale Gibberellinkonzentration 10 und 25 betrug. Nach 48 Stunden wurde bei Konzentration 100 ppm und nach 72 Stunden bei allen Gibberellinkonzentrationen im Vergleich mit Kontrollkeimlingen eine Inhibition des Wurzelwachses festgestellt.

## III. Einfluss von Gibberellin auf den Metabolismus der freien Aminosäuren und Amiden im Verlauf der Quellung und Keimung von Samen.

Das Bild der freien Aminosäuren weist nach der Applikation von Gibberellin sowohl qualitative (Lysin, Histidin, Leucin+Phenylalanin) doch vor allem quantitative Veränderungen (Asparagin, Asparaginsäure, Alanin, Alanylglycin, Lysin, Histidin, Leucin+Phenylalanin).

Die Wirkung der Applikation von Gibberellin auf Glycindynamik kam nich zum Ausdruck und auf die gesamte Bewertung von Valin und Methionin wirkte Gibberellin nur in einem unbedeutenden Masse.

### Literatur

1. Barton Lela V., Clyde Chandler: Contrib. Boyce Thompson Inst., 19 (2): 201-214, 1957
2. Berqvist Gerd, A. M. Stensgard, Niels Nielsen: Physiol. Plantarum, Vol. 12, 386-389, 1959
3. Dostal Rudolf: O celivosti rostliny, Praha 1959
4. Hashimoto Tohru: Bot. Magazine, Tokyo, Vol. 71, Nos. 845-846, 1958
5. Herich Rudolf: Poľnohospodárstvo (in Druck)
6. Kentzer Teresa: Roczniki Nauk Rolniczych, Tom 81 - A - 1, 187-204, 1960
7. Krekule Ján, J. Ullmann: Přeľad zahraniční zem. literatury, 10:1297-1307, 1958
8. Kuraishi S., Tohru Hashimoto: Bot. Magazine, Tokyo, Vol. 70, No 826, 1957
9. Lang Anton: Proceedings of the National Academy of Sciences, Vol. 43, No 8, 709-717, 1957
10. Libbert Eike: Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Reihe, Jg. VI, Nr. 3:315-347, 1956/57
11. Lockhart James, James Bonner: Plant Physiology, Vol. 32, No 5:492-494, 1957
12. Lockhart James A.: Physiologia Plantarum, Vol. 11, 478-486, 1958
13. Lockhart James A.: Physiologia Plantarum, Vol. 11, 487-492, 1958/a
14. Lockhart James A.: Planta, Bd, 52, 250-258, 1958/b
15. Lona Fausto: Riv. Int. d' Agric., No 10-11, 1956
16. Marth P. C., Audia W. V., J. W. Mitchell: Botan. Gaz., 118:106-111, 1956
17. Munekata H., S. Kato: Bull. Brew. Science, 3:1, 1957
18. Nielsen N., G. Berqvist: Physiol. Plantarum, 11:329, 1958
19. Sachs R. M., A. Lang: Science, 1957, Vol. 127, No 3258:1144-1145
20. Sachs R. M., C. Bretz, A. Lang: Experimental Cell Research, 18:230-244, 1959
21. Sachs R. M., C. F. Bretz, A. Lang: American Journal of Botany, Vol. 46, No 5, 376-384, 1959
22. Sandergren E., H. Beling: Die Brauerei, 11:231, 1958
23. Stowe B. B., T. Yamaki: Ann. Rev. Plant Physiol., 8:181, 1957
24. Söding H.: Rostovye vešestva rastenij, Moskva, 1955
25. Wittwer S. H., M. J. Bukovac: Economic Botany, Vol. 12, No 3:213-255, 1958

26. Wittwer S. H., H. M. Sell, L. E. Weller: Plant Physiology, 32:39—41, 1957  
Adresa autora: Katedra fyziológie rastlín Univerzity Komenského, Bratislava Odborárske  
námestie 12

Do redakcie dodané 15. V. 1960.

**Príspevok k mechanizmu pôsobenia giberelínu na rast, dynamiku voľných  
aminokyselín a vodný metabolizmus v priebehu bobtnania a klíčenia semien  
konopí (*Cannabis sativa* L.).**

R. Herich.

**S úhrn**

Práca pojednáva o vplyve giberelínu na niektoré fyziologické procesy v priebehu klíčenia  
semien a počiatočného rastu osí a koreňov. Pozornosť sme zamerali na:

**I. Vplyv giberelínu na bobtnatie a klíčenie semien konopí;**

Sledoval sa vplyv giberelínu v koncentráciách 5, 10, 25, 100 a 200 ppm na intenzitu  
bobtnania a klíčenia semien. Pozorovalo sa, že u všetkých koncentrácií giberelínu bola  
intenzita bobtnania v priebehu prvých 12 nižšia. K silnému vzostupu bobtnania dochádza  
medzi 12.—24. hodinou (od začiatku bobtnania) hlavne u koncentrácií 10 a 25 ppm  
giberelínu.

Pozorovalo sa stimulačné pôsobenie giberelínu na začiatok, intenzitu, ako i celkovú  
klíčivosť semien, hlavne u koncentrácií 10 a 25 ppm giberelínu. Koncentrácie 100  
a 200 ppm giberelínu klíčenie inhibovali.

Po aplikácii 10, 25 a 100 ppm koncentrácií giberelínu pozoroval sa v klíčkoch  
(v porovnaní s kontrolným klíčkom) zvýšený obsah vody. Úbytok sušiny (rozdiel medzi  
pôvodnou váhou suchých semien a sušinou z klíčkov) bol po aplikácii giberelínu  
nižší, ako u kontrolných klíčkov.

**II. Vplyv giberelínu na počiatočný rast osí a koreňov;**

Semená sa máčali 24 hodín v destilovanej vode, v 5, 10 a 100 ppm koncentráciách  
giberelínu. Po 24, 48 a 72 hodinách vyhodnocoval sa vplyv giberelínu na rast osí  
a koreňov. Celkove u všetkých pozorovaných koncentrácií giberelínu pozoroval sa  
stimulačný efekt na rast osí, optimálny stimulačný efekt sa zaznamenal u koncentrácií  
10 a 25 ppm giberelínu. Po 48 hodinách u koncentrácie 100 ppm a po 72 hodinách  
u všetkých koncentrácií giberelínu (v porovnaní s kontrolnými klíčkami) pozorovala  
sa inhibícia rastu koreňov.

**III. Vplyv giberelínu na metabolizmus voľných aminokyselín a amidov v priebehu bobtnania  
a klíčenia semien;**

Obraz voľných aminokyselín po aplikácii giberelínu vykazuje kvalitatívne zmeny (lysin,  
histidín, leucin + phenylalanín) no hlavne kvantitatívne zmeny (asparagin, kyselina  
asparagová, alanín, alanyl-glycín, lysín, histidín, leucin + phenylalanín). Vplyv apli-  
kácie giberelínu neprejavuje sa v dynamike glycinu a len v nepatrnej miere spoločne  
vyhodnocovaného valínu + methionínu.

Predpokladá sa, že pozorované kvalitatívne a kvantitatívne zmeny v spektre amino-  
kyselín, pozorované po aplikácii giberelínu súvisia so stimulačným a inhibičným pôso-  
bením giberelínu na klíčenie semien, ako i na počiatočný rast klíčkov.



**К вопросу механизма действия гиббереллина на рост, динамику свободных аминокислот и метаболизм воды во время набухания и прорастания семян конопли (*Cannabis sativa* L.).**

Р. Герих

**Резюме**

В настоящей работе обсуждается вопрос влияния гиббереллина на некоторые физиологические процессы во время прорастания семян и в зачаточной стадии роста оси и корней конопли. Особое внимание было посвящено следующим вопросам:

**I. Влияние гиббереллина на набухание и прорастание семян.**

Изучалось влияние гиббереллина в концентрациях 5, 10, 25, 100 и 200 ппм на интенсивность набухания и прорастания семян. Семена были помещены в мисках Петри между двумя фильтровальными бумагами, смоченными в приведенных концентрациях. Процесс набухания и прорастания семян проходил в потемках при температуре 21° Ц. Было замечено, что у всех концентраций гиббереллина интенсивность набухания в течение первых 12 часов понизилась. Мощное повышение набухания произошло между 12—24 часов (с начала набухания) преимущественно в концентрации 10 и 25 ппм гиббереллина. Наблюдалось стимуляционное действие относящееся к началу интенсивности и общей прорастаемости семян, главным образом при концентрации 10 и 25 ппм гиббереллина. Концентрации 100 и 200 ппм ингибировали прорастание. После аппликации 10, 25 и 100 ппм гиббереллина замечалось у зародышей (в сравнении с контролей) повышение содержания воды. Потеря сухого веса (разница между исходным весом сухих семян и сухим весом в зародыше) оказалась после применения гиббереллина более низкой чем у контролей.

**II. Влияние гиббереллина на зачаточный рост оси и корней.**

Семена конопли намачивались в течение 24 часов в дистиллированной воде и в 5, 10, и 100 ппм концентрации гиббереллина. После, 24, 48 и 72 часов оценивалось влияние гиббереллина на рост оси и корней. Во общем замечался у всех наблюдаемых концентраций стимуляционный эффект на рост оси, причем оптимальная концентрация гиббереллина = 10 и 25 ппм. После 48 часов замечалась у концентрации 100 ппм а после 72 часов у всех концентраций гиббереллина ингибция роста корней в сравнении с контролей.

**III. Влияние гиббереллина на метаболизм свободных аминокислот и амидов во время прорастания и набухания семян.**

Картина свободных аминокислот обнаруживает после аппликации гиббереллина качественные перемены (лизин, гистидин, лейцин+фенилаланин) но прежде всего количественные перемены (аспарагин, аспараговая кислота, аланин, лизин, гистидин, лейцин+фенилаланин, аланилглицин). Влияние аппликации гиббереллина на динамику глицина не было обнаружено, в то время как на динамику валина+метионина, оцениваемую вместе оказалось лишь в незначительной мере.

Предполагается, что наблюдаемые качественные и количественные перемены в спектре аминокислот после аппликации гиббереллина выжуются из стимуляционным и ингибиционным воздействием гиббереллина на прорастаемость семян, как также на зачаточный рост зародышей.



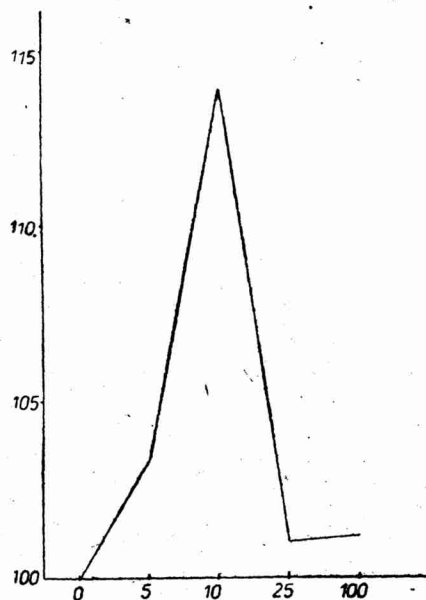


## Gibberellinsäure und Geschlechtszifferentiation der Pflanzen

V. HERICH.

Die Studien von A. Lang (1952) über den Einfluss des Gibberellins auf die Blütendifferentiation und das Blühen haben uns den Anlass gegeben, das Verhältnis des Gibberellins zur Geschlechtsdifferentiation der Pflanzen zu untersuchen. Die bisherigen experimentellen Studien in diesem Gebiet, welche zum grössten Teil auf dem Studium des Gibberellineinflusses auf die Differentiation der ♀ und ♂ Blüten der einhäusigen Pflanzen basieren, sind oft widersprechend (Wittwer, Bukovac 1957, Nelson, Rossman 1958 und a.), so dass sie uns keine genügend klare Vorstellung über geschlechtliche Determination und Differentiation der Pflanzen zu bieten imstande sind.

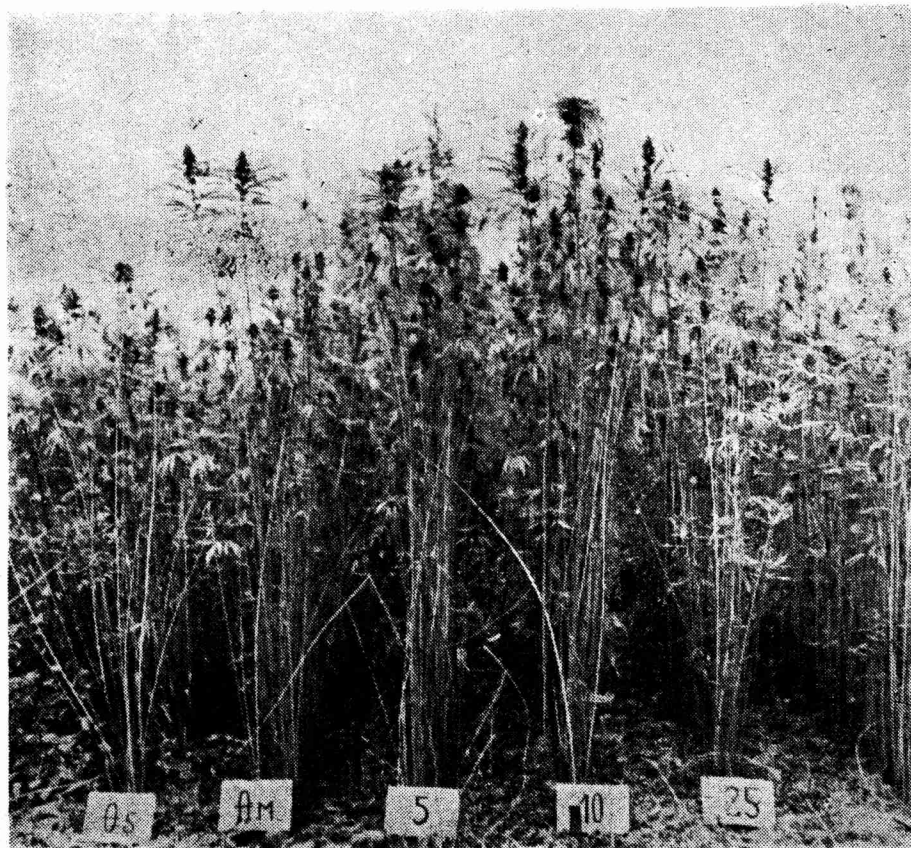
Auf Grund der biochemischen Auffassung des Prozesses der geschlechtlichen Determination und Differentiation, nach welcher uns der erwähnte Prozess



Graphische Darstellung des Gibberellineinflusses auf die gänzliche Länge der Hanfstengel. Auf der Achse X — Gibberellinkonzentrationen (5, 10, 25, 100) und dest. H<sub>2</sub>O (0), auf der Achse Y — gesamte Länge der Hanfstengel in relativen Werten (100,0% = gesamte Länge der Kontrollbestände).

sowie in seinen Ursachen also auch in seinem Verlauf, welcher dynamisch in der Spezifität des Stoffwechsels beberuht, als ein biochemischer Prozess erscheint, sowie auf Grund der engen Beziehung des Gibberellins zur Wuchsstoffsynthese, welche — wie es darauf schon vom Laibach und Kribben (1950, 1951), J. Heslop-Harrison (1956) und den anderen hingewiesen wurde — Differentiation der ♀ und ♂ Blüten determiniert, lässt sich voraussetzen, dass durch die Applikation des Gibberellins auch der gesamte Charakter des Stoffwechsels und damit auch der Prozess der geschlechtlichen Differentiation allein beeinflusst sein könnte.

Für unsere Untersuchungsarbeiten haben wir den Hanf von der Sorte „Rastislavická“ erwählt. Gibberellin wurde in den Konzentrationen 5, 10, 25 und 100 ppm appliziert. Die Hanfsamen wurden 24 Stunden lang in den aufgeführten Gibberellinlösungen, die Kontrollsamen eine ebense lange Zeit im destillierten Wasser eingeweicht. Die Aussaat fand im Botanischen Garten der Universität in freier Natur unter naturgebundenen Bedingungen statt. Die Zahl der beobachteten Individuen in den einzelnen Versuchsvariationen bewegte sich



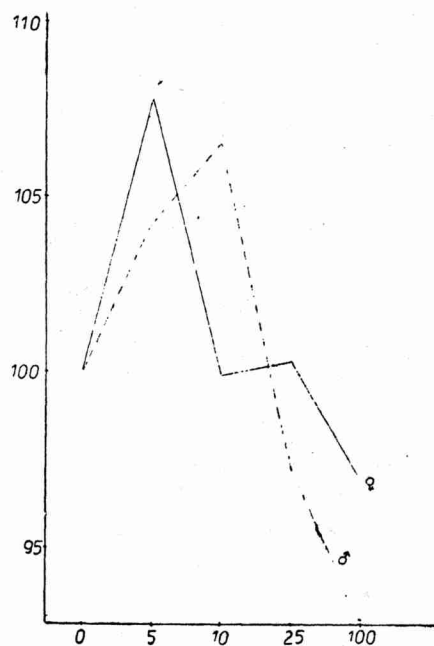
Gesamter Anblick auf Versuchskulturen. Bezeichnung: ØS, ØM Kontrollbestände (Samen eingeweicht im destill. Wasser), 5 — Samen eingeweicht in 5 ppm Gibberellin, 10- 10 ppm Gibberellin, 25- 25 ppm Gibberellin.

in den Grenzen zwischen 400–500. Bei der Bewertung der Resultate haben wir eine besondere Aufmerksamkeit 1/ dem Verhältnis zwischen dem Gibberellin und der Geschlechtsdifferentiation und 2/ dem Stengelwuchs bei ♀ und ♂ – Individuen gewidmet.

Wie es ersichtlich ist, wird nach der Anwendung des Gibberellins auf die Hanfsamen das Prozent der ♀ – Individuen in den Beständen höher. Maximum wird bei der Konzentration 10 ppm erreicht.

Hier wird also ein ähnlicher Einfluss beobachtet, wie es bei den einhäusigen Pflanzen nach der Applikation mancher nativer oder syntetischer Wuchsstoffe, wie zum B. der  $\alpha$  – Naphtylelessigsäure,  $\beta$  – Indolylessigsäure (in den Angaben von Laibach und Kribben 1950, 1951 und in Angaben vom J. Heslop-Harrison 1956), der 2, 4-Dichlorphenoxyessigsäure (nach Molotkowski 1957), 2, 3, 5 – Trijodbenzoesäure (nach Heinze 1956 und a.) der Fall war, wo auch eine prozentuelle Erhöhung der ♀ Blüten bemerkt wurde.

Wenn wir Laibachs und Kribbens Voraussetzung, „dass die Bildung ♀ und ♂ Blüten von der Konzentration des Wuchsstoffes abhängt und dass die ♀ Blüten zu ihrer Entstehung eine höhere Wuchsstoffkonzentration benötigen als die ♂“ zum Ausgangspunkt nehmen, dann ist zu erwarten, dass die nach Applikation des Gibberellins beobachtete Prozenterhöhung der ♀ Individuen in einer bestimmten Beziehung zur Synthese, sowie auch zur Wuchsstoffkonzentration im



Graphische Darstellung des Gibberellineinflusses auf Geschlechtsdifferentiation des Hanfes. Auf Achse X sind die Konzentrationen der Gibberellinsäure (5, 10, 25, 100) und dest. H<sub>2</sub>O (0), auf Achse Y % ♀ Individuen in relativen Werten aufgetragen (100,0% = % ♀ Individuen in den Kontrollbeständen).

Tabelle Nr. 1.

Die Wirkung der Gibberellinsäure (GA) auf die gesamte Länge der Stengel des Hanfes.

| Individuen | Dest. H <sub>2</sub> O |      |               | 5 ppm GA  |      |               |     |       | 10 ppm GA |      |               |       |       | 25 ppm GA |      |               |      |      | 100 ppm GA |      |               |      |       |
|------------|------------------------|------|---------------|-----------|------|---------------|-----|-------|-----------|------|---------------|-------|-------|-----------|------|---------------|------|------|------------|------|---------------|------|-------|
|            | $\bar{X}$              | S    | $S_{\bar{x}}$ | $\bar{X}$ | S    | $S_{\bar{x}}$ | t   | P     | $\bar{X}$ | S    | $S_{\bar{x}}$ | t     | P     | $\bar{X}$ | S    | $S_{\bar{x}}$ | t    | P    | $\bar{X}$  | S    | $S_{\bar{x}}$ | t    | P     |
|            |                        |      |               |           |      |               |     |       |           |      |               |       |       |           |      |               |      |      |            |      |               |      |       |
| ♀          | 92,7                   | 24,0 | 1,5           | 100,0     | 30,3 | 2,0           | 2,8 | 0,005 | 92,6      | 30,5 | 2,0           | 0,055 | 0,90  | 93,0      | 29,0 | 2,1           | 0,12 | 0,90 | 90,0       | 23,9 | 1,5           | 1,23 | 0,20  |
| ♂          | 113,3                  | 33,9 | 2,1           | 118,2     | 37,4 | 2,5           | 1,5 | 0,15  | 120,8     | 39,0 | 2,8           | 2,14  | 0,035 | 110,4     | 34,4 | 2,4           | 0,90 | 0,40 | 105,4      | 29,9 | 1,8           | 2,83 | 0,005 |

 $\bar{X}$  = Durchschnitt, gänzliche Durchschnittslänge, der Stengel in cm,

S = Variationsindex,

 $S_{\bar{x}}$  = Durchschnittsfehler,

t = Wert für Testierung der Beweisbarkeit,

P = Wahrscheinlichkeit

Organismus steht. Ihre erhöhte Freimachung aus irgendeinem Präkursor, ihr erhöhter Umfang (Konzentration) nach der Applikation des Gibberellins findet nicht nur in den Wuchsprozessen allein, sondern auch im gesamten Stoffmetabolismus — folglich auch im Prozess der geschlechtlichen Determination und Differentiation ihren Ausdruck.

Unterschiedliche Spezifität des Stoffwechsels bei den ♀ und ♂ Individuen des Hanfes, welche in den Arbeiten von Mothes und Engelbrecht (1952), Herich und Priehradný (1955), Erdelský und Herich (1956) und anderer Autoren beobachtet wurde, hat sich nach der Applikation des Gibberellins in einer verschiedenen Intensität des Wuchses geäußert.

In der Tabelle Nr. 1. wird eine gesamte durchschnittliche Stengellänge bei den ♀ und ♂ Individuen nach der Vegetationsbeendigung angegeben.

Spezifitätsunterschiedlichkeit des Stoffmetabolismus bei ♀ und ♂ Individuen kam nach der Applikation des Gibberellins durch eine unterschiedliche Wachstumsintensität bei ♀ und ♂ Individuen auch in den Wuchsprozessen ausgeprägter zum Vorschein. Als eine optimale Konzentration erweist sich für Individuen ♀ des Hanfes 5 ppm Gibberellin und für ♂ Individuen 10 ppm (wobei aber die letztere Konzentration auf ♀ Individuen wuchshemmend wirkt). Der nach Applikation des Gibberellins bei den Individuen beider Geschlechter geobachtete Stimulationseffekt lässt sich mathematisch-statistisch genügend nachweisen; er ist durch natürliche Variabilität keineswegs bedingt.

Die Nachweisbarkeit einer Differentiation ist durch Wahrscheinlichkeit „P“ ausgedrückt, welche für einen betreffenden Wert „t“ und für eine gegebene Anzahl der Freiheitsstufen in Fischartabellen herausgesucht wurde. Die Wahrscheinlichkeitsgrenze stellt Wahrscheinlichkeit  $P=0,05$  (5%) vor, die Werte unter 5% sind als Zeichen der nachweisbaren Differenz zwischen den zu vergleichenden Gesamtheiten (Beständen) zu betrachten, während bei den Werten über 5% kann das zu vergleichende Material als gleichwertig betrachtet werden.

Das eingehende Studium des Gibberellineinflusses, sowie auch seinen Wirkungsmechanismus im Prozess der geschlechtlichen Determination und Differentiation und im gesamten Stoffwechsel der ♀ und ♂ Individuen bildet den Gegenstand unserer weiteren Studien. Auf Grund der bisher aufgeführten Arbeiten setzen wir voraus, dass eine der wahrscheinlichen Wirkungsfolgen des Gibberellins auf die genannten Prozesse eine unmittelbare Regulation von Wuchsstoffen ist. Ihre erhöhte Auflösung aus irgendeinem Präkursor, oder ihre Destruktion nach der Applikation des Gibberellins kann in bedeutendem Masse die Stoffwechselspezifität der ♀ und ♂ Individuen und damit der Prozess der geschlechtlichen Determination und Differentiation selbst beeinflussen.

Für die obenangeführten Beobachtungen wurde Gibberellin der Firma „Kyova Fermentation Industries, Tokyo“ und „Plant Protection LTD, Fernhurst“ benutzt.

#### Literatur

1. Lang A.: Ann. Rev. Plant. Physiol., 3:265, 1952
2. Wittwer S. H., M. J. Bukovac: Michigan Agr. Exp. Sta. Quart. Bull., 40:352, 1957
3. Wittwer S. H., M. J. Bukovac: Economic Botany, 3:213, 1958

4. Nelson P. M., E. C. Rossman: Science, 127: 150, 1958
  5. Laibach F., F. J. Kribben: Ber. dtsh. bot. Gesellsch., 62:53, 1950
  6. Laibach F., F. J. Kribben: Beitr. Biol. Pfl., 28:131, 1951
  7. Heslop-Harrison J.: Physiol. Plant., 9:588, 1956
  8. Molotkovskij G. Ch.: Doklady AN SSSR, 114:434, 1957
  9. Mothes K., L. Engelbrecht: Flora, 139:1, 1952
  10. Herich R., S. Priehradný: Biológia, 10:346, 1955
  11. Erdelský K., R. Herich: Biológia, 11:111, 1956
  12. Heinze W.: Archiv f. Gartenbau, 4:312, 1956
- Adresa autora: Katedra fyziológie rastlín Univerzity Komenského, Bratislava Odborárske námestie 12

Do redakcie dodané 2. V. 1960

### Kyselina giberelová a pohlavná diferenciácia rastlín.

R. Herich.

Vychádzajúc z biochemického poňmania procesu pohlavnej determinácie a diferenciácie rastlín, podľa ktorého sa nám javí tento proces procesom biochemickým a to tak vo svojich príčinách, ako i priebehu, dymicky spočívajúci v špecifite látkového metabolizmu, ako i úzkeho vzťahu giberelínu k syntéze rastových látok, ktoré — ako na to poukázali Laibach a Kribben (1950, 1951), J. Heslop-Harrison (1956), Molotkovski (1957) a iní — determinujú diferenciáciu ♀ a ♂ kvetov, dalo sa predpokladať, že aplikáciou giberelínu sa ovplyvní i celkový charakter látkového metabolizmu a tým i samotný proces pohlavnej diferenciácie.

Naše experimentálne práce sme robili s konopami sorty „Rastislavická“. Giberelín sa aplikoval v koncentráciách 5, 10, 25 a 100 ppm. Semená konopí sa v uvedených roztokoch giberelínu máčali 24 hodín, kontrolné semená rovnakú dobu v destilovanej vode. Počet jedincov v jednotlivých variáciách pokusu sa pohyboval medzi 400—500 jedincami. Pri vyhodnocovaní výsledkov sme pozornosť venovali a) vzťahu giberelínu k pohlavnej diferenciácii, b) rastu stonkov ♀ a ♂ jedincov.

Výsledky pokusu nám naznačujú, že medzi giberelínom, jeho pôsobením a pohlavnou diferenciáciou rastlín je určitý vzťah, po aplikácii giberelínu pozorovalo sa zvyšovanie % ♀ jedincov. Ak % ♀ jedincov v kontrolných porastoch považujeme za 100%, pri koncentrácii 5 ppm giberelínu dosahuje 103,3 u koncentracie 10 ppm — 113,9 u koncentracii 25 a 100 ppm klesá na 101%. Pokiaľ sa týka ♂ jedincov, boli v našich pokusoch po aplikácii giberelínu normálne vyvinutí, indukcia samčej sterility nebola pozorovaná. Taktiež neboli v porastoch pozorované intersexuálne a jednodomé formy.

Rozdielnosť v špecifite látkového metabolizmu ♀ a ♂ jedincov zvýraznila sa po aplikácii giberelínu i v rastových procesoch a to odlišnou intenzitou rastu ♀ a ♂ jedincov. Pre ♀ individuá konopí javí sa optimálnou koncentráciou 5 ppm giberelínu, u ♂ jedincov koncentrácia 10 ppm. Rozdielny stimulačný efekt pozorovaný po aplikácii giberelínu u jedincov oboch pohlaví je dostatočne matematicko-štatisticky preukazateľný, takže neni podmienený prirodzenou variabilitou.

Podrobné preštudovanie vplyvu giberelínu, ako i mechanizmu jeho pôsobenia v procese pohlavnej determinácie a diferenciácie je predmetom našich ďalších štúdií. Z doteraz publikovaných prác predpokladáme, že jedným z možných mechanizmov pôsobenia giberelínu na uvedené procesy je priama regulácia hladiny rastových látok. Ich zvýšené uvoľňovanie z niektorého prekursoru, alebo ich destrukcia po aplikácii (najmä vyšších koncentrácií) giberelínu môže v značnej miere ovplyvniť špecifickosť látkového metabolizmu ♀ a ♂ jedincov a tým ovplyvňovať i samotný proces pohlavnej determinácie a diferenciácie.

### Гиббереллиновая кислота и половая дифференциация растений

Р. Герих

Исходя из биохимического понимания процесса половой детерминации и дифференциации растений, согласно которому процесс половой детерминации и дифференциации является биохимическим процессом, динамически заключающимся в специфичности мета-

болизма веществ, как также из тесной связи между гиббереллином и синтезом ростовых веществ, которые — как это отметили Laibach и Kribben (1950, 1951), J. Heslop-Harrison (1956), Молотковский (1957) и другие — детерминируют дифференциацию ♀ и ♂ цветов, имелись предпосылки, что аппликацией гиббереллина будет возможно повлиять и на общий характер вещественного метаболизма а тем на сам процесс половой дифференциации.

Мы переводили наши экспериментальные работы на коноплю сорта «Растиславицкая». Гиббереллин мы применяли в концентрациях 5, 10, 25 и 100 ппм. Семена конопли мы намачивали в упомянутых растворах гиббереллина а контрольные семена в дистиллированной воде в течение 24 часов. Число индивидов в отдельных вариациях эксперимента колебалось между 400—500. При оценке результатов мы сосредоточили внимание на отклонение гиббереллина а) к половой дифференциации и б) к росту стебля ♀ и ♂ индивидов.

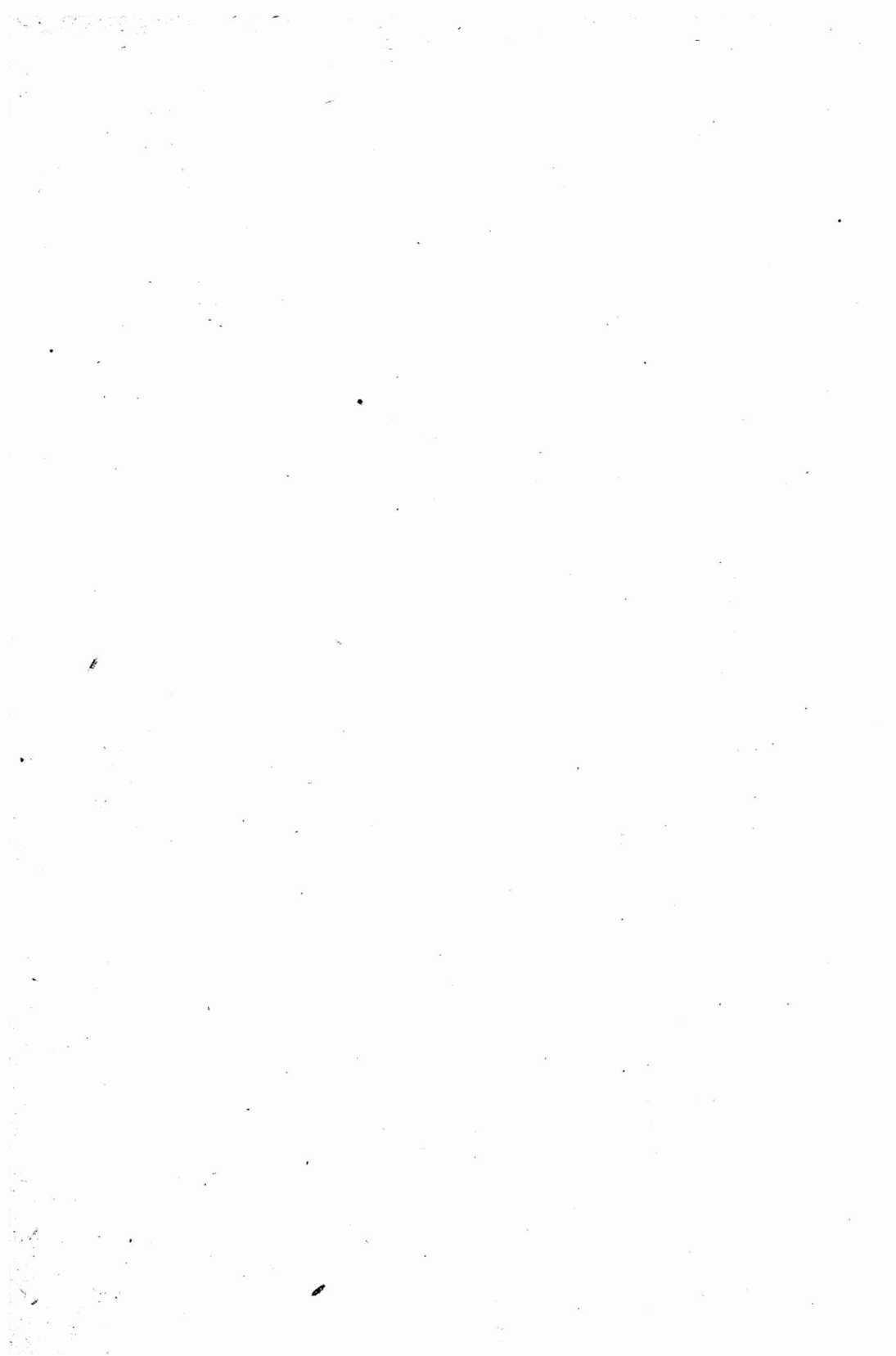
Результаты эксперимента обнаружили, что между действием гиббереллина и половой дифференциацией есть определенная зависимость. После аппликации гиббереллина наблюдалось повышение процента ♀ индивидов. Считаем ли % ♀ индивидов в контрольных порослях 100 %, потом получается при концентрации 5 ппм гиббереллина 103,3 %, при концентрации 10 ппм — 113,9 %, при концентрации 25 ппм — 101,0 % а при концентрации 100 ппм — 101,2 %.

Что касается ♂ индивидов, они были в наших экспериментах после аппликации гиббереллина правильно развиты, индукция мужской стерильности не наблюдалась. Тоже не наблюдались в порослях интерсексуальные однодомые формы.

Разность специфичности вещественного метаболизма ♀ и ♂ индивидов выявилась после аппликации гиббереллина также в ростовых процессах а именно различной интенсивностью роста у ♀ и ♂ индивидов. Концентрация 5 ппм ГА является самой лучшей для ♀ индивидов, концентрация 10 ппм есть оптимальной для ♂ индивидов, причем та же концентрация частично удерживает рост у ♀ индивидов. Стимуляционный эффект после применения гиббереллина, замеченный у индивидов обоих полов является математически и статистически достаточно показательным, так как он не зависит от природной вариабельности.

Подробное изучение влияния гиббереллина и механизма его действия в процессе половой детерминации и дифференциации является предметом наших дальнейших студий. На основании работ опубликованных до сих пор мы предполагаем, что одним из механизмов действия гиббереллина на упомянутые процессы есть непосредственная регуляция уровня ростовых веществ. Их повышенное выделение из некоторого прекурсора, или их деструкция после аппликации гиббереллина (особенно высших концентраций) может значительной мерой повлиять на специфичность вещественного метаболизма ♀ и ♂ индивидов и таким образом оказать влияние также на сам процесс половой дифференциации и детерминации.





## Vplyv vápnika na niektoré vlastnosti metabolizmu klíčkov *Cucumis sativus* v závislosti od formy dusíka.

S. PRIEHRADNÝ — V. KOZINKA

Dusík je nepochybne najvýznačnejšou rastlinnou živinou a do jeho štúdia veľkou mierou spadá i skúmanie fyziologických rozdielov v účinnosti rôznych živných dusíkatých solí. Pri amonnej a nitrátovej forme dusíka je zaujímavá skutočnosť, že identická živina — dusík — je v nich podaná vo forme dvoch rôznorodých, chemicky špecifických, antipolárnych iónov, ktoré sú pritom oba biologicky hodnotné. V amonnej forme sa dusík vyskytuje v kladne nabitej časti, je redukovaným atómom a tvorí fyziologicky kyslé dusíkaté soli. V nitrátovej forme je dusík súčasťou negatívneho aniónu, je oxydovaným atomom a v zlúčenine dáva soli fyziologicky alkalické. Bude potrebné zistiť, aký fyziologický prejav má rôzny fyzikálno-chemický charakter u tohože elementu, aký účinok pripadá na váhu fyzikálno-chemických vlastností a aký na samotný prvok ako rastlinnú živinu.

S. G. Vaklinová, N. G. Doman a B. A. Rubin (1) udávajú, že rozdielna dusíkatá výživa vplyva rôzne na zloženie asimilátov za podmienok svetla a tmy. Za svetla sa zaznačil intenzívnejší pohyb do koreňov u rastlín na nitrátovom dusíku, kým za tmy u rastlín na amónnom dusíku. V tejto ako i v inej práci (2) uvedených autorov vyznačovali sa rastliny na nitrátovom dusíku vyššou syntézou chlorofylu.

M. I. Kalinkevič (3) pri štúdiu dýchania rôznych pletív u čiernych ribezlí, ľanu, mäty, potočníku a kôpru vo fáze kvitnutia stanovil, že pri výžive amonnými solami pohlcujú rastliny zo vzduchu viac kyslíka ako pri výžive dusičnanmi.

Z celého radu prác (4, 5, 6, 7) je známy vplyv amonných a nitrátových zdrojov dusíka na hromadenie organických kyselín, menovite jablčnej a citrónovej. Zjavne sa ukázalo, že nitrátová forma dusíka napomáha ostrému zvyšovaniu organických kyselín, kým výživa amonnými solami ich tvorbu znižuje.

V pokusoch L. A. Skvorcovej (7) v ktorých sa pôsobenie amonnej, prípadne nitrátovej formy dusíka kombinovalo sa sledovaním vplyvu rôznych koncentrácií vápnika a horčíka sa zistilo, že so vzrastajúcim obsahom týchto prvkov v živnom prostredí citelne klesá na fóne jedného alebo druhého zdroja dusíka množstvo organických kyselín v listoch *Nicotiana rustica* L. Podobný účinok malo zvyšovanie koncentrácie vodíkových iónov. Obsah redukujúcich cukrov menil sa za týchto podmienok v obrátenom smere, t. j. pri zvýšenej kyslosti prostredia (znížené pH) bolo zníženie tvorby organických kyselín doprevádzané zväčšovaním obsahu redukujúcich cukrov.

Týchto niekoľko údajov odкрýva súvislosť medzi odlišnosťami v dôsledku typu

dusíkatej výživy a pôsobením na základné pochody látkovej výmeny, najmä na deje disimilačné, v ktorých prvoradá úloha pripadá vzájomnému zväzku a premenám glycidov, organických kyselín a dusíkatých látok.

Početné sú údaje o rôznej využiteľnosti dusíka z dusičnanov a z amonných solí, ale výsledky donedávna neboli jednotné (8). K osvetleniu neurovnaných záverov podstatne prispeli výskumy D. N. Prjanišnikova (9, 10, 11, 12), ktoré potvrdili rovnocennosť amonného a nitrátového dusíka pre výživu rastlín a stanovili rôznosť podmienok pre optimálne zužitkovanie oboch foriem. Možnosť priaznivej asimilácie tak amonného ako aj nitrátového dusíka bola uvedená spojitost s prítomnosťou glycidov v pletivách, s vhodným rozmedzím hodnôt pH (tiež 13) ako aj koncentráciou a pomermi iónov v živnom prostredí. Najmä dostatočný obsah vápnika sa ukázal jednou z najdôležitejších podmienok pre normálne prijímanie a účinnosť amonného dusíka.

Potreba vápnika pre vyššie rastliny sa prejavuje už v skorých fázach vývinu klíčkov zo semena. Za nedostatku vápnika objavujú sa chorobné príznaky na koreňoch klíčnych rastlín [sú abnormálne krátke a bez koreňových vláskov, chorobné zhrubnuté, prípadne slizovité až odumreté (14)], alebo aj na celých rastlinkách [skratenie osi, uzlovitosť, niekedy i zastavenie rastu už na tretej, štvrtý deň po započatí klíčenia (15)]. Pri vysvetľovaní týchto zjavov sa autori dosť často prikláňajú — okrem všeobecne prijatého ochranného účinku vápnika — k názoru D. N. Sabinina (16), podľa ktorého má vápnik dôležitú funkciu pri tvorbe povrchovej vrstvy protoplazmy a pri urýchľovaní procesov koacervácie plazmatických zložiek mladých buniek. Ten istý autor a tiež E. Wöstmann (17) pripisujú vápniku úlohu aj v procesoch hydratácie koloidov, čomu tiež nemožno poprieť veľký význam pre normálny priebeh funkcionálnych dejov v mladých pletivách koreňov a osí. K osvetleniu nárokov mladých rastlín na vápnik prispievajú i závery o účasti vápnika pri tvorbe pektínovej lamely v procesoch normálneho delenia buniek. Práce D. N. Prjanišnikova ukázali, že glycidy a bielkoviny klíčiach rastlín sa lepšie mobilizujú pri dostatku vápnika a celková premena látok prebieha energetickejšie (11).

Vychádzajúc z predložených údajov postavili sme si otázku, ako sa mení množstvo glycidov a iných látok u mladých rastliniek v závislosti od formy dusíka a ako ovplyvňuje tieto zmeny rôzna koncentrácia vápnika v živnom prostredí.

#### Metodika

Ako pokusný objekt sa použili semená *Cucumis sativus*, čo malo výhodu, že pri rýchlom odčerpávaní zásob semien aké sa pozoruje pri raste uhorkových klíčkov môže sa u nich už v pomerne krátkom čase vyvolať citlivosť na podmienky prostredia.

Rovnaké váhové množstvá semien nechali sa naklíčiť a rásť na filtračnom papieri v Petriho miskách. Rastliny sa pravidelne zavlažovali roztokmi tohto zloženia:

Z počtu použitých kultivačných roztokov je vidieť, že pokus pozostával z ôsmich variantov, pri ktorých sa rastliny pestovali na živných substrátoch s minerálnymi solami modifikovanými čo do množstva prítomného vápnika ako aj formy anorganického dusíka. K tomuto pokusnému základu priraduje sa ešte variant, pri ktorom sa rastliny kultivovali len v destilovanej vode, aby sa mohla posúdiť kvalita ako aj stupeň reakcie rastlín na použité živné roztoky.

| Forma dusíka                              |                                                  | - NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> |      |      |      | - NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> |      |      |      | Kontrola |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------|------|------|------|--------------------------------|------|------|------|----------|
| Pomerčná koncentrácia<br>Ca <sup>++</sup> |                                                  | 1/1                            | 2/1  | 3/1  | 4/1  | 1/1                            | 2/1  | 3/1  | 4/1  |          |
| Živné soli v g na 1000 ml                 | MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O             | 0,20                           | 0,20 | 0,20 | 0,20 | 0,20                           | 0,20 | 0,20 | 0,20 | —        |
|                                           | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                  | —                              | —    | —    | —    | 0,47                           | 0,47 | 0,47 | 0,47 | —        |
|                                           | Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> | 0,40                           | 0,40 | 0,40 | 0,40 | —                              | —    | —    | —    | —        |
|                                           | KNO <sub>3</sub>                                 | 0,89                           | 0,89 | 0,89 | 0,89 | 0,20                           | 0,20 | 0,20 | 0,20 | —        |
|                                           | KCl                                              | —                              | —    | —    | —    | 0,25                           | 0,25 | 0,25 | 0,25 | —        |
|                                           | (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>  | —                              | —    | —    | —    | 0,45                           | 0,45 | 0,45 | 0,45 | —        |
|                                           | (CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> Ca            | 0,32                           | 0,98 | 1,64 | 2,30 | 0,66                           | 1,32 | 1,98 | 2,64 | —        |
|                                           | FeCl <sub>3</sub> 10% v ml                       | 0,1                            | 0,1  | 0,1  | 0,1  | 0,1                            | 0,1  | 0,1  | 0,1  | —        |
| Počiatočné pH                             |                                                  | 5,95                           | 5,77 | 5,72 | 5,62 | 6,05                           | 5,90 | 5,72 | 5,69 | 5,60     |

Tento variant sa svojim charakterom experimentálnych podmienok najviac odlišuje od ostatných variantov a označujeme ho v práci ako „kontrola“, hoci v pravom slova zmysle, t. j. so zreteľom na vlastnú náplň a štruktúru práce túto funkciu nemá a mohol by ju zastávať jedine variant obsahujúci bežné zložky živného roztoku, ale s vylúčením iónov dusíka. Kompozícia takéhoto variantu sa jednako nezdala vhodná z objektívnych metodických príčin, z ktorých mohlo rezultovať zjavné narušenie konštantnosti pomerov iných fyziologicky významných iónov pútajúcich antipolárne ióny dusíka. Za kontrolu pre hodnotenie účinku vápnika sa považuje počiatočný variant, u ktorého je vápnik prítomný v tom istom množstve ako v Knoppovom živnom roztoku.

Hlavnou osnovou pokusu je vplyv rôznych pomerov vápnika za účasti dvoch chemicky špecificky odlišných foriem dusíkatého iónu na prvé vývinové fázy mladých rastlín *Cucumis sativus*. V jednom rade bol dusík zastúpený ako anión — NO<sub>3</sub><sup>-</sup> v množstve 0,123 g/100 ml roztoku — „nitrátový rad“ —, kým v druhom rade bol dusík prítomný, okrem nitrátovej formy (ktorej podiel na celkovej sume dusíka predstavoval iba 0,028 g/1000 ml roztoku), predvážne ako

katión —  $\text{NH}_4^+$  v množstve 0,095 g/1000 ml roztoku — „amonný rad“ —; v tomto rade prevládala amonná forma dusíka približne z troch štvrtín nad formou nitrátovou. Od úplnejšej substitúcie nitrátového dusíka amonným dusíkom sme museli upustiť, aby nenastali značnejšie disproporce v zastúpení ostatných iónov. Kvantitatívny a kvalitatívny obraz zmien pri zvolenom pomere  $-\text{NH}_4^+$  —  $\text{NO}_3^-$  v amonnom rade možno považovať ešte za tolerovaný. Sumárny obsah dusíka v jednom aj v druhom rade je taký ako v Knoppovom živnom roztoku: 0,123g/1000 ml. Tiež základná dávka vápnika 1/1 sa volila tak, aby sa rovnala množstvu vápnika v Knoppovom živnom roztoku. Vápnik bol stupňovaný aritmetickým radom v štyroch koncentráciách, počínajúc množstvom 0,136g/1000 ml roztoku. Takto bol vápnik odstupňovaný v oboch radoch. Snaha pridržiavať sa schémy Knoppovho živného roztoku bola realizovateľná len v prípade vyšetřovaných živín: dusíka a vápnika, lebo zostavenie potrebných variácií malo nutne za následok niektoré zmeny iónového zloženia substrátov. Pôsobenie amonnej soli bolo doprevádzané prítomnosťou chlóru, zvýšeným prívodom síry a zníženou hladinou octanového iónu.

Hodnoty pH kultivačných roztokov sú vmestnané do pomerne úzkych medzí, čím sa dosiahlo, že sa zásah tohto činiteľa nemohol na podmienky pokusu pozoruhodnejšie uplatniť. Pri obvykle volených metodikách ku štúdiu fyziologického pôsobenia vápnika je totiž dosť častým zjavom, že sa pri nich kombinuje účinok vápnika s pôsobením vyšších hodnôt pH, čo sa odráža i v konečnom efekte. Ba v takých prípadoch sa pôsobenie vápnika mnohokrát vysvetľuje jeho vplyvom na koncentráciu vodíkových iónov. V našom pokuse, aspoň v jeho začiatku sa spolupôsobenie spomínaných faktorov vylučuje použitím kyslej vápenatej soli. Je tak pozorovať pri stúpaní dávok vápnika v oboch dusíkatých radoch mierny posun pH na kyslú stranu. Forma dusíkatej soli sa na hodnotách počiatočného pH celkove neprejavila.

Kontrola ( $\emptyset$ ) vynikala najvyššou energiou klíčenia, kým klíčenie semien v živných roztokoch bolo pridanými solami zreteľne inhibované. V dôsledku toho aj rast rastlín (v tomto období prevažne ešte hypokotylou) zaostával za kontrolnými rastlinami. S pokročilejším vývinom epikotylových častí (na tretí deň) počínajú živné rastliny nedostatok v raste vyrovnávať a v nasledujúcich dňoch svojou veľkosťou už zjavne napredujú pred úrovníou kontrolných rastlín. Tento predstih, ktorý sa v priebehu ďalších dní ešte viac zosilňuje, udržali si živné rastliny až do skončenia pokusu (deviaty deň). V čase odberu vzoriek prevyšovali pokusné rastliny vzrastom osných častí kultúru na destilovanej vode takmer o jednu tretinu. Boli však menej turgescentné, náročnejšie na vodu a polyhavesšie ako kontrola. Vplyv minerálnej výživy sa tak prejavil na vývine morfológických znakov hneď v prvých fázach života mladých rastlín. Medzi variantami pestovanými na živných roztokoch sa rozdiely ku koncu takmer nepozorovali, zatiaľčo v priebehu pokusu bol rast rastlín v koncentrovanejších roztokoch o niečo slabší. Vymedzenie dĺžky kultivácie bolo so zreteľom na to, aby sa získal rastlinný materiál približne v období, kedy sa rastliny už vymaňujú zpod priameho vplyvu materských látok semena a dochádza k diferenciácii prvého pravého listu.

V bylách mladých rastlín odobratých po vyčerpaní zásob semien študovali sme zmeny v obsahu cukrov, bielkovín, kyseliny askorbovej ako aj prvkov N, P, K a Ca. Dosiahnuté údaje rozoberáme so stanoviska pôsobenia jednak dvojakej

formy dusíkatej výživy za súčinnosti rôznych dávok vápnika a jednak variantu, ku ktorému neboli pridané nijaké živiny.

Rozpusťné cukry sa stanovili metódou Bertrandovou, celulóza gravimetricky po rozrušení necelulózového podielu smesou kyseliny octovej, dusičnej a trichloroctovej (18), kyselina askorbová podľa Tilman s - K u h n a (19) titráciou s 2,6-dichlorfenolindolfenolom, dusík podľa Kjeldahla, bielkovinový dusík zrážaním podľa Bernšteina a v ďalšom postupe metódou Kjeldahlovou; fosfor fotokolorimetricky, draslík a vápnik na plameňovom fotometri Zeiss M III.

Časť pokusov sa vykonala v rámci činnosti vedeckého krúžku minerálnej výživy rastlín za účasti poslucháčov S. Ondru a S. Mišigu.

**Tabuľka 2** Obsah glycidov a kyseliny askorbovej v bylách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozdielnej forme dusíka a rozličných dávkach vápnika v živnom prostredí

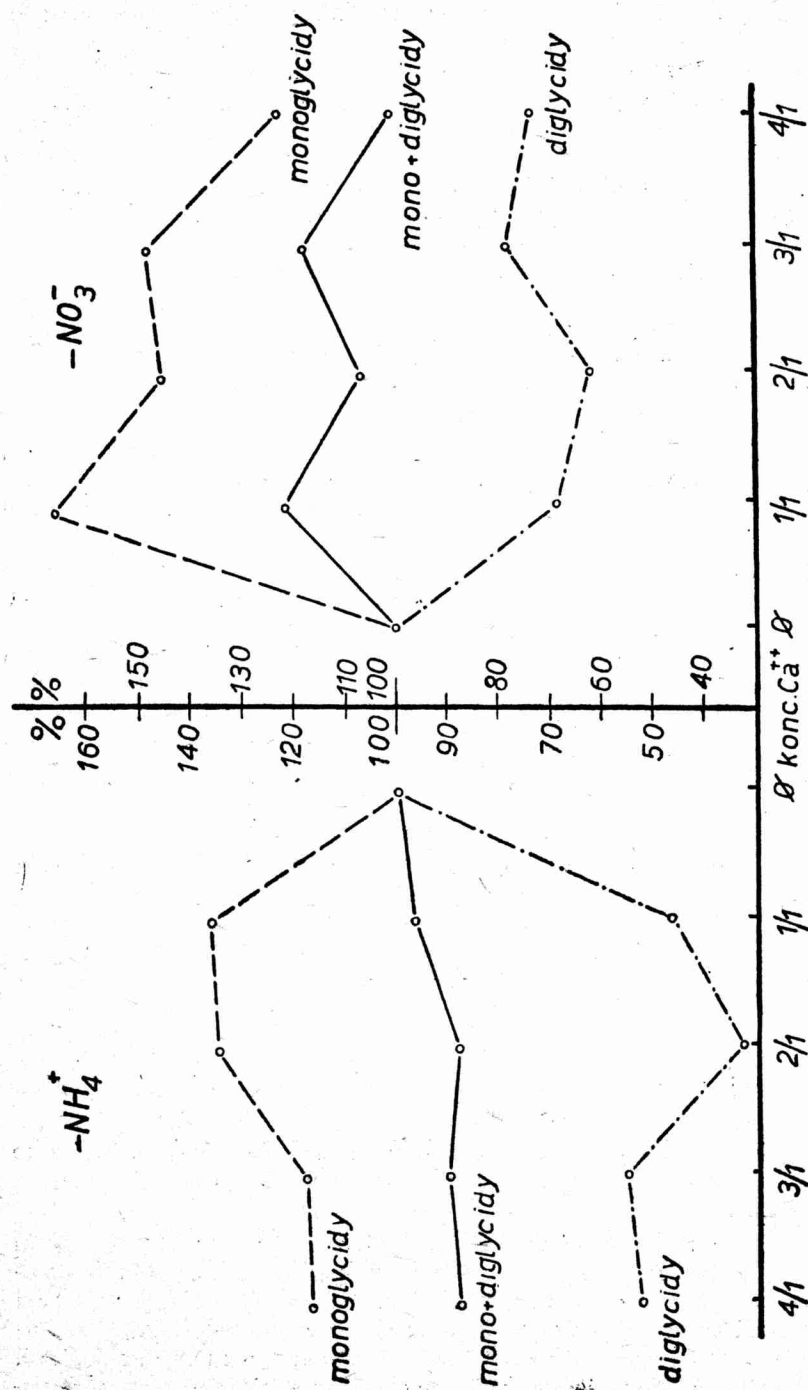
| Koncentrácia<br>Ca++ | Kyselina<br>ascorbová<br>v mg %-ách |                               | Rozpusťné glycidy v %-ách     |                               |                               |                               |                               |                               | Celulóza<br>v %-ách           |                               |
|----------------------|-------------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
|                      |                                     |                               | monoglycidy                   |                               | diglycidy                     |                               | celkom                        |                               |                               |                               |
|                      | -NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>       | -NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | -NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | -NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | -NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | -NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | -NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | -NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> | -NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> | -NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> |
| 1/1                  | 4,25                                | 12,00                         | 0,57                          | 0,47                          | 0,19                          | 0,14                          | 0,76                          | 0,61                          | 0,57                          | 0,86                          |
| 2/1                  | 2,25                                | 7,50                          | 0,50                          | 0,47                          | 0,17                          | 0,09                          | 0,67                          | 0,56                          | 0,49                          | 0,74                          |
| 3/1                  | 0,50                                | 6,50                          | 0,51                          | 0,41                          | 0,22                          | 0,16                          | 0,73                          | 0,57                          | 0,68                          | 0,77                          |
| 4/1                  | 1,00                                | 8,75                          | 0,42                          | 0,41                          | 0,21                          | 0,15                          | 0,63                          | 0,56                          | 0,58                          | 0,72                          |
| Kontrola             | 10,75                               |                               | 0,34                          |                               | 0,28                          |                               | 0,62                          |                               | 0,81                          |                               |

## Výsledky

Podstatnejšie rozdiely medzi variantami pokusu sa ukázali pri stanovených ukazovateľoch chemického zloženia rastlín.

Výrazné sú pomery v hladine glycidov a kyseliny askorbovej (tab. 2.), a to tak po stránke vplyvu rozdielnej formy dusíka ako aj v závislosti od použitých dávok vápenatej soli.

Charakteristické sú vzťahy u skupiny jednoduchých cukrov (graf I.). U rastlín kultivovaných na amonnom dusíku je hladina jednoduchých cukrov celkovo položená nižšie ako u rastlín na nitrátovom dusíku. Čo sa týka závislosti medzi zistenými hodnotami cukrov a pôsobením dávok Ca<sup>++</sup> je priebeh hladiny mono- a diglycidov pri oboch formách dusíkatej výživy do určitej miery analogický. U rastlín zo živných roztokov je tvorba monoglycidov zpočiatku ostro stimulo-



Graf 1. Pomerné hodnoty rozpustných cukrov (kontrola = 100%) v byľách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozdielnej forme dusíka a rozličných dávkach vápníka v živnom prostredí.



vaná, ale ich vzostup sa pri stupňovaní účinku vápnika zjavne oslabuje. Opačný jav možno pozorovať v percentuálnom zastúpení diglycidov, u ktorých sa reakcia na prítomnosť živných solí (včítane vápnika) prejavuje spočiatku prudko inhibične, avšak pri gradácii dávok vápnika sa pokles obsahu diglycidov čiastočne znižuje.

Pozorované skutočnosti sú zaujímavé i z toho hľadiska, že poukazujú na náznačnú určitú frekvenciu v chovaní sa jednotlivých zložiek rastlinného tela na rozličné faktory prostredia (v našom prípade na  $\text{Ca}^{++}$ ), t. j. na striedanie pozitívnej a negatívnej reakcie v určitých úsekoch zosilňovania intenzity skúmaného iaktoru. V súhlase s týmito sú i ostatné údaje práce.

Na krivke súhrnného množstva rozpustných glycidov je najlepšie vidieť, ako sa vplyvom nitrátového dusíka obsah cukrov u príslušných variantov zvyšoval a vplyvom amonného dusíka znižoval. Vplyv vápnika na súhrnnú hodnotu rozpustných cukrov nedáva poznať väčšie alebo pravidelnejšie zmeny. Pri oboch formách výživy najvyšším obsahom rozpustných cukrov upozorňuje na seba variant, ktorého obsah vápnika v kultivačnom prostredí je taký ako v Knoppovom živnom roztoku.

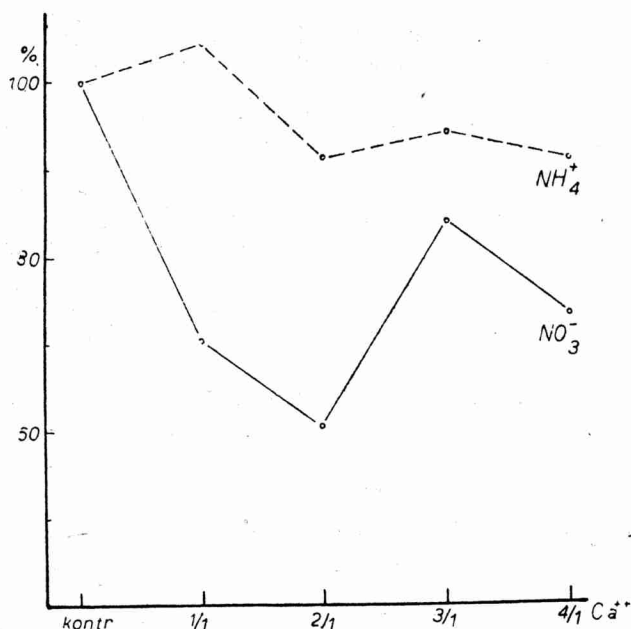
Aj v tomto pokuse je zaujímavé poukázať na prejavujúcu nepriamu závislosť medzi syntézou mono- a diglycidov v byľách uhoriek, ktorá je dosť častá i u iných rastlín.

Tabuľka 3 Obsah dusíka v byľách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozdielnej forme dusíka a rozličných dávkach vápnika v živnom prostredí

| V percentách na | Forma<br>N       | Kontrola | — NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> |      |      |      | — NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> |      |      |      |
|-----------------|------------------|----------|--------------------------------|------|------|------|--------------------------------|------|------|------|
|                 |                  |          | Koncentrácia Ca <sup>++</sup>  |      |      |      |                                |      |      |      |
|                 |                  |          | 1/1                            | 2/1  | 3/1  | 4/1  | 1/1                            | 2/1  | 3/1  | 4/1  |
| sušinu          | Celkový N        | —        | 5,92                           | 5,80 | 5,57 | 5,40 | 5,75                           | 5,54 | 5,51 | 5,48 |
|                 | Bielkovinový N   | 5,03     | 5,13                           | 4,77 | 4,71 | 4,89 | 5,18                           | 4,89 | 4,87 | 4,90 |
|                 | Nebielkovinový N | —        | 0,79                           | 1,03 | 0,86 | 0,54 | 0,57                           | 0,65 | 0,64 | 0,58 |
| čerstvú váhu    | Celkový N        | —        | 0,51                           | 0,49 | 0,49 | 0,53 | 0,49                           | 0,48 | 0,49 | 0,53 |
|                 | Bielkovinový N   | 0,49     | 0,44                           | 0,41 | 0,41 | 0,48 | 0,44                           | 0,42 | 0,43 | 0,47 |
|                 | Nebielkovinový N | —        | 0,07                           | 0,09 | 0,07 | 0,04 | 0,05                           | 0,06 | 0,06 | 0,06 |



Rozdielna kvalita dusíkatej výživy sa značne odráža i na obsahu celulózy (graf II.). Kým u variantov pestovaných na amonnom dusíku sa hodnoty celulózy len málo odkláňajú od kontroly, sú tieto pri živení rastlín nitrátovým dusíkom pozoruhodne znížené. Vplyv odlišnej formy dusíka prejavil sa pri



Graf 2. Pomerné hodnoty celulózy v byľách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozdielnej forme dusíka a rozličných dávkach vápnika v živnom prostredí.

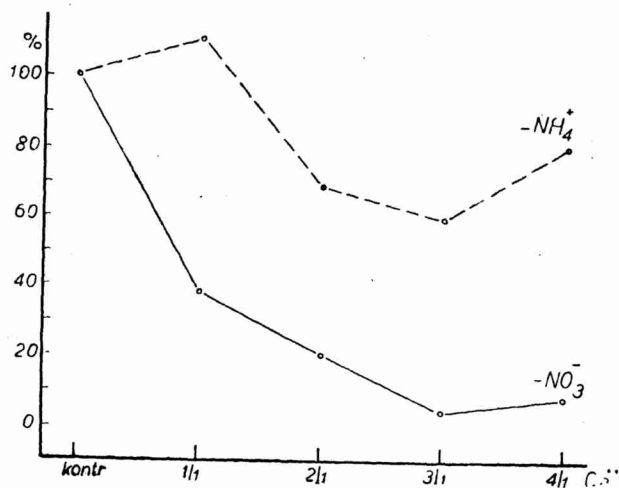
obsahu celulózy v inom smere ako pri jednoduchých cukroch. Amonná forma dusíka v porovnaní s nitrátovým dusíkom potlačovala hromadenie rozpustných cukrov, keď súčasne bola priaznivejšia pre syntézu vysokomolekulárnych glycidov typu celulózy. Naproti tomu u rastlín využívajúcich nitrátový dusík bol deficičný rys zníženého obsahu celulózy doprevádzaný silnejšie vyznačenou schopnosťou syntézy jednoduchých cukrov.

Celkove je vidieť, že amonná výživa napomáhala zvyšovaniu vzťahu: celulóza / rozpustné cukry, kým nitrátová výživa hodnotu tohto vzťahu znižovala.

Závislosť od koncentrácie vápnika sa pri obsahu celulózy prejavila málo zreteľne, avšak pri oboch formách badať určitú analógiu na pôsobenie jednotlivých dávok  $Ca^{++}$ .

Vplyv skúmaných živinových faktorov silne zasahuje i do metabolických premien kyseliny askorbovej (graf III.). Tento účinok sa výrazne prejavuje nielen čo do zdroja dusíkatej výživy, ale aj čo do pôsobenia vápnika v prostredí. Základnou dávkou vápnika spolu s ostatnými iónami v živnom roztoku obsahujúcom amonný dusík je hladina kyseliny askorbovej slabo excitovaná, ale táto tendencia pri zvyšovaní koncentrácie vápnika prechádza náhle v depresívny efekt, ktorý sa pri najvyššej dávke  $Ca^{++}$  zase zmierňuje; ale i pri tom zostáva

zreteľne pod úrovňou kontroly. Pri nitrátovej výžive je pokles hladiny kyseliny askorbovej podstatne hlbší, a to počínajúc už najnižšou koncentráciou vápnika. Pri vyššom obsahu vápnika v živnom prostredí sú hodnoty kyseliny askorbovej pri nitrátovej výžive v pomere ku kontrole takmer úplne redukované. Relatívna premenlivosť kyseliny askorbovej v závislosti od rôzneho obsahu vápnika v živnom roztoku je podobná pri oboch formách dusíkatej výživy, avšak v kvantitatívnom meradle sú hodnoty kyseliny askorbovej u rastlín na substráte s nitrátovým dusíkom oproti rastlinám na amonnom dusíku prenikavo znížené.



Graf 3. Pomerné hodnoty kyseliny askorbovej v byľách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozdielnej forme dusíka a rozličných dávkach vápnika v živnom prostredí.

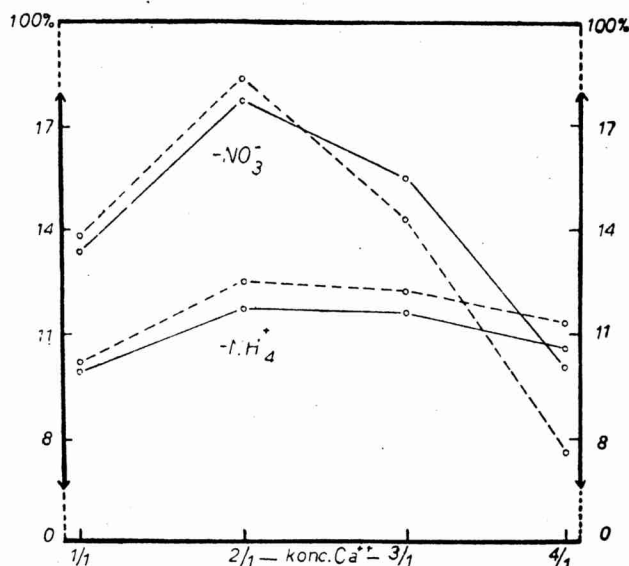
Zmeny v hladine dusíka (tab. 3.) sú málo výrazné a nedávajú poznať určitý smer účinku skúmaných živinových zložiek. Ich charakter sa stiera už jednoduchým prepočtom získaných hodnôt na čerstvú váhu, čo napr. pri predchádzajúcich údajoch nepredstavovalo činiteľa, ktorý by mohol ich orientáciu významnejšie ovplyvňovať. Izolovaný a bežný pohľad na skúmané formy dusíka nesvedčí o vplyve podmienok pokusu na týchto ukazovateľov, aj keď číselné rozdiely medzi jednotlivými hodnotami nenápadne sledujú závislosť s množstvom vápnika v prostredí, prípadne s kvalitou použitej dusíkatej soli.

Rozdielny účinok skúmaných minerálnych činiteľov sa zreteľnejšie javí až pri hlbšom pohľade na tieto údaje, menovite na vzájomné vzťahy medzi uvedenými formami dusíka. U rastlín živných amonným dusíkom je pozorovať, že v ich byľach, v porovnaní s rastlinami na substráte s nitrátovým dusíkom, sú vyššie hodnoty pomeru bielkovinového dusíka k dusíku nebielkovinovému, čiže u týchto rastlín v meradle celkového obsahu dusíka prevažuje podiel dusíka bielkovinového charakteru. Tento zjav i keď len slabo prejavovaný, je zaujímavé porovnať s analogickým pozorovaním zameraným medzi hladinou vysokomolekulárnych a nižších glycidov, pri ktorej sa pôsobenie amonnej soli prejavilo v prospech pomeru chemicky zložitejšej látky (v prípade dusíka ide takisto o zvyšovanie pomeru chemicky zložitejšej a energeticky účinnejšej frakcie bielkovinových látok).

Odlišnosti v zastúpení nebielkovinového dusíka v pomere k hodnote celkového

dusíka (vzatej za porovnávací základ = 100%) názorne vidieť na grafe 4. a ukazujú shodnú tendenciu tak pri prepočte na sušinu ako aj na čerstvú váhu. Určitú pravidelnosť možno pozorovať i čo do pôsobenia dávok vápnika.

Pri obsahu minerálnych elementov: fosforu, draslíka a vápnika (tab. 4.) nevyskytli sa medzi formami dusíka podstatnejšie rozdiely. Celkove však možno tvrdiť, že prijímanie týchto prvkov bolo intenzívnejšie u dusíka amonnej soli,



Graf 4. Pomerné hodnoty nebielkovinového dusíka k obsahu celkového dusíka (= 100%) v byľách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozdielnej forme dusíka a rozličných dávkach vápnika v živnom prostredí. Plná krivka — po prepočítaní na čerstvú váhu; prerušovaná krivka — po prepočítaní na sušinu.

okrem variantov s najvyššou dávkou vápnika, kde naproti tomu bola vyššia kumulácia u rastlín na nitrátovom dusíku. Aktivačné pôsobenie kationového dusíka pri nižších dávkach  $\text{Ca}^{++}$  sa však individuálne u jednotlivých prvkov prejavilo málo dôrazne. U vápnika (graf V) sa to dá len slabo poznať a u ostatných prvkov ešte v menšej miere.

Použitie živných roztokov v porovnaní s destilovanou vodou malo za následok zvýšenie hladiny draslíka v byľách rastlín a najmä prudké zvýšenie vápnika realizované už pri počiatočnej dávke vápnika v pokusnom substráte. Úmerne koncentrácii vápnika v prostredí vzrastá i jeho absorpcia rastlinami, ale pri najvyššej dávke už sa ustáluje na úrovni predchádzajúceho variantu. Opačne prebieha absorpcia draslíka (graf VI.), ktorá sa so stúpajúcimi dávkami vápnika v prostredí znižuje. Z priebehu hodnôt týchto prvkov zrejme vystupuje skutočnosť, že zvyšovaním množstva vápnika v živnom roztoku (v pokuse použitých medziach) sa ostro zvyšuje hodnota pomeru  $\text{Ca}/\text{K}$  v byľách mladých rastlín uhoriek, čo je spôsobené zadržiavaním príjmu draslíka za súčasného zosilňovania príjmu vápnika. Povaha dusíkatej soli tento jav neovplyvňuje.

U fosforu sa reakcia na pridanie živných roztokov neprejavila a pokusné rastliny si udržiujú v priemere rovnaký obsah fosforu ako kontrolné rastliny.

Tabuľka 4 Obsah a pomerné hodnoty minerálnych prvkov v bylách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozličných podmienkach výživy dusíkom a vápnikom

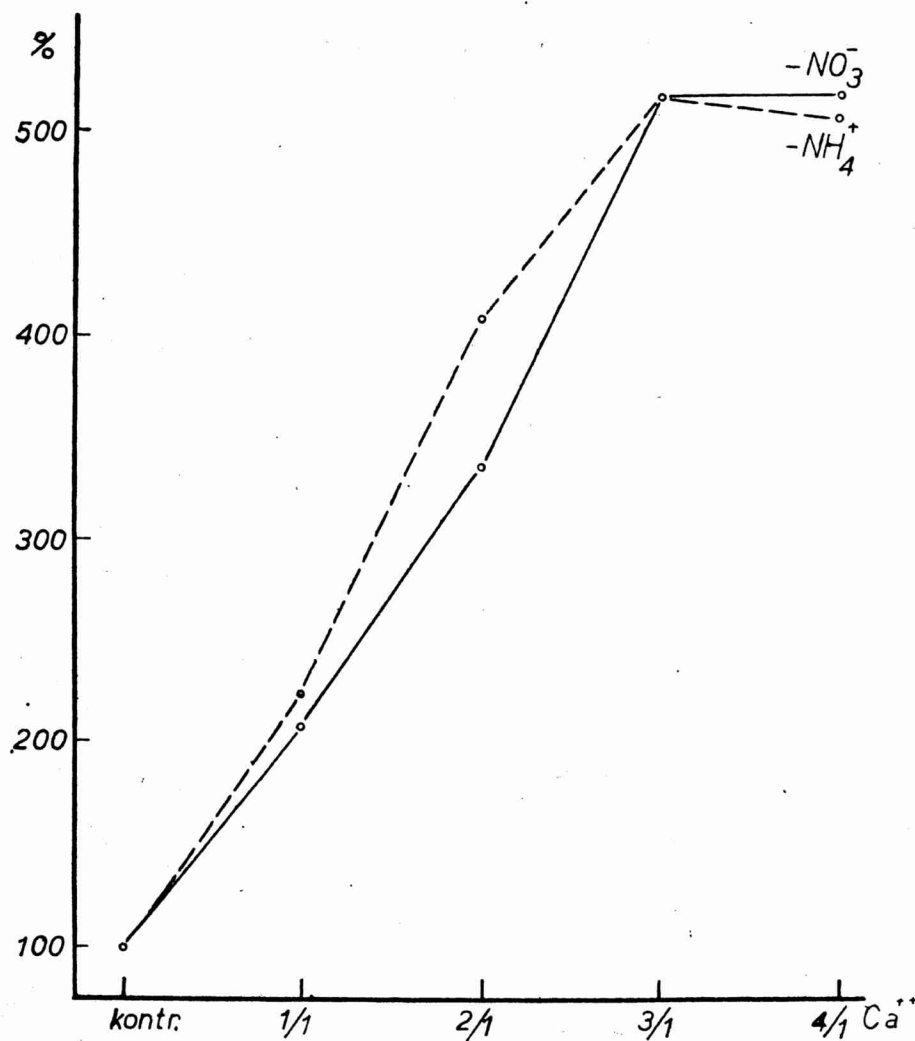
| V percentách na sušinu | Prvok      | Kontrola | -NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> |      |      |      | -NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> |      |      |      |
|------------------------|------------|----------|-------------------------------|------|------|------|-------------------------------|------|------|------|
|                        |            |          | Koncentrácia Ca <sup>++</sup> |      |      |      |                               |      |      |      |
|                        |            |          | 1/1                           | 2/1  | 3/1  | 4/1  | 1/1                           | 2/1  | 3/1  | 4/1  |
|                        | Fosfor (P) | 1,69     | 1,72                          | 1,63 | 1,57 | 1,69 | 1,85                          | 1,70 | 1,74 | 1,50 |
| Draslík (K)            | 0,95       | 1,39     | 1,27                          | 1,23 | 1,19 | 1,44 | 1,33                          | 1,22 | 1,21 |      |
| Vápnik (Ca)            | 0,18       | 0,38     | 0,61                          | 0,95 | 0,94 | 0,41 | 0,73                          | 0,95 | 0,93 |      |

| Kontrola = 100% | Fosfor (P)  | 100,0 | 101,8 | 96,4  | 92,9  | 100,0 | 109,5 | 100,6 | 102,9 | 88,7  |
|-----------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
|                 | Draslík (K) | 100,0 | 146,9 | 134,2 | 130,0 | 125,3 | 151,6 | 140,0 | 127,9 | 126,8 |
|                 | Vápnik (Ca) | 100,0 | 211,1 | 336,1 | 527,8 | 522,2 | 227,8 | 408,3 | 527,8 | 513,9 |

Potreba fosforu z prostredia nebola v najrannejších fázach vývinu rastlín zjavná a pre toto obdobie sa ukázala ešte plne dostačujúca zásoba fosforu zo semien. Naproti tomu na prítomnosť vápnika a draslíka reagovali rastliny už v tejto skorej fáze veľmi citlivo.

#### Diskusia.

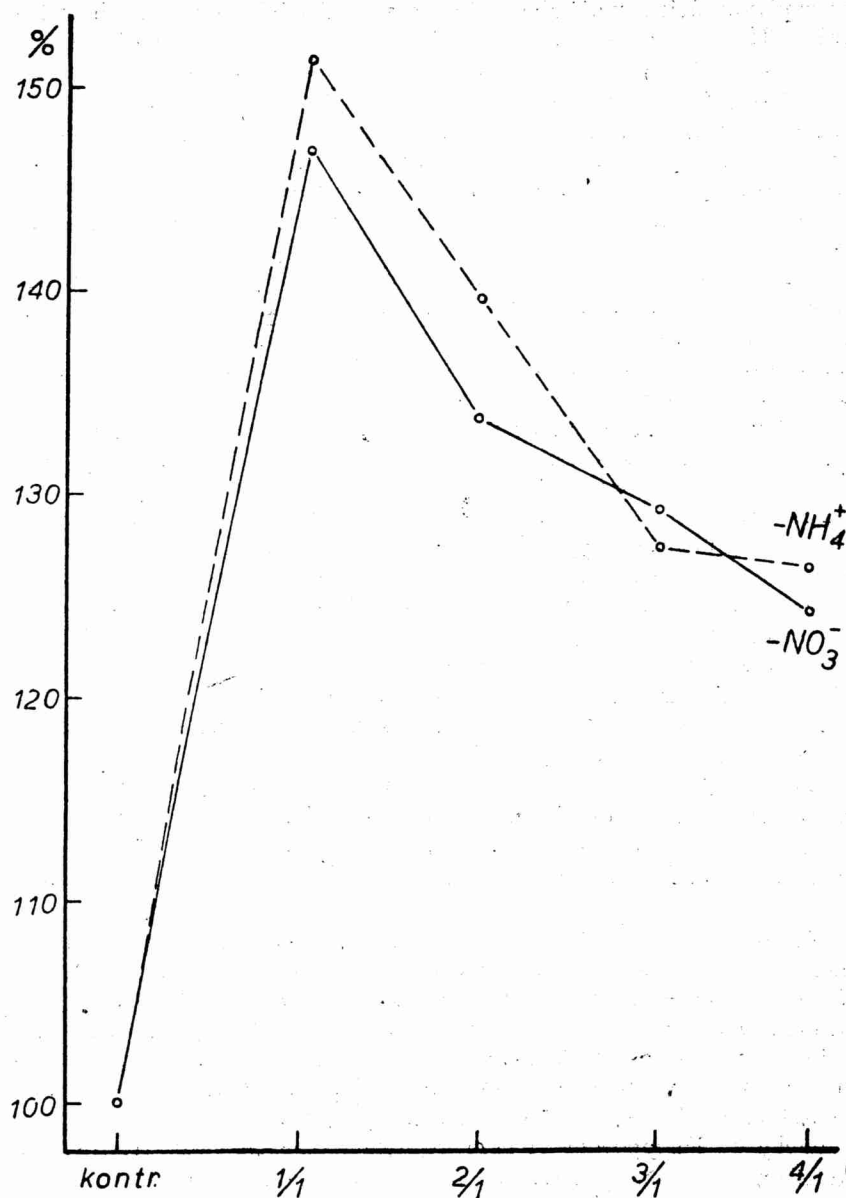
S odlišným vplyvom rôznych foriem dusíka na hromadenie rozpustných cukrov sa v literatúre zriedka stretávame. B. A. Rubin a S. G. Vaklinova (2) zaznačili vyšší obsah rozpustných cukrov v rastlinách na nitrátovom dusíku. Analogická charakteristika účinku dusíkatých solí vyplýva aj z našich pozorovaní. Na iný smer účinku upozorňujú A. I. Dušečkin, I. G. Vyvaľko a M. Dej (20) u lanu a ukazujú na veľkom množstve faktov, že vo vzorkách bylí, listov resp. semien z rôznych vývinových období stanovilo sa zvýšenie obsahu rozpustných glycidov vo väčšine prípadov pri pôsobení redukovanej formy dusíka. Podobne bol ovplyvnený aj obsah hemicelulózy a buničiny. Toto potvrdzujú i literárne údaje získané ešte skôr na pokusoch s cukrovou repou, machorkou, kok-saghyzom a s inými kultúrami (21, 22). Určitú príčinu spomínaného javu autori vidia v tom, že asimilácia nitrátového (oxydovaného) dusíka rastlinami s jeho následnou redukciou na amoniak je spätá so stratou časti glycidov tvorených rastlinným organizmom. A. D. Spivakovskij (23) pri rozbere niekoľkých výsledkov obsahu glycidov a hlavných minerálnych živín v listoch jabloní pri rôznej výžive dusíkom vzťahuje rozdielne pôsobenie amonnej a nitrát-



Graf 5. Pomerné hodnoty vápnika v bylách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozdielnej forme dusíka a rozličných dávkach vápnika v živnom prostredí.

tovej formy dusíka (čo sa týka glycidov) na zmenu pomeru množstva sacharózy k redukujúcim cukrom. Veľkosť tohto pomeru bola vyššia u amonného a nižšia u nitrátového dusíka. Proti listom stromov priživovaných nitrátovým dusíkom vynikali varianty s amonným dusíkom vyšším obsahom sacharózy a málo nižším obsahom redukujúcich cukrov.

Tieto údaje sú ešte hodne fragmentárne a otázku vplyvu rozdielnych dusíkatých zlúčenín na rozpätie procesov syntézy glycidov ako aj na ich kvalitatívny charakter nechávajú v podstate otvorenú i keď sa javí jedným z článkov široko rozpracovaného problému závislosti dusíkatej výživy od metabolizmu glycidov, ktorému položili pevný rámec výskumy D. N. Prjanišnikova (9).



Graf 6. Pomerné hodnoty draslíka v bylách mladých rastlín *Cucumis sativus* pri rozdielnej forme dusíka a rozličných dávkach vápníka v živnom prostredí.

Ostáva presnejšie rozobrať — s prihliadnutím na širší súbor biologických činiteľov — podmienky a faktory udávajúce orientáciu účinku amonných, prípadne nitrátových solí na premeny a zloženie glycidových látok; okrem známych

činiteľov ovplyvňujúcich využiteľnosť dusíka z uvedených jeho rôznych foriem — koncentrácia  $H^+$  iónov, pomery iných iónov v živnom prostredí najmä  $K^+$  a  $Ca^{++}$ , oxydoredukčný potenciál pletív a i. —, bude tu iste patriť významné miesto aj rastovému, vývinovému a druhovému zvláštnostiam rastlín.

Dôležitým, v literatúre uvádzaným, fyziologickým rozdielom medzi dusíkom amonným a nitrátovým čiastočne potvrdeným i výsledkami tejto práce je ten, že amonné soli vytvárajú pre príjem popolovín rastlinou iné podmienky než nitráty (24, 25). Všeobecne sa preberá téza, že dusík v amonnej forme znižuje v rastlinách obsah vápnika, horčíka a draslíka a zvyšuje obsah fosforu. Túto odlišnosť však nemožno posudzovať len z hľadiska rôznej chemickej individuality dusíkatých zlúčenín, ale treba si ujasniť, že pri výžive amonným alebo nitrátovým dusíkom sa stretáva rastlina s rôznym pomerom a zložením katiónov a aniónov v živnom prostredí. To má vplyv na zmenu pH a odpovedajúco sa musí meniť i absorpcia živín koreňovou sústavou rastlín.

Predom citované literárne stanovisko týkajúce sa využitia živín pri rozdielnych formách dusíka nie je však jednoznačné a jeho všeobecnosť narušujú napr. pokusy A. D. Spivakovského (23), v ktorých — v jednom prípade — amonná forma dusíka málo znižovala vedľa obsahu draslíka i obsah fosforu v listoch jabloní a v inom prípade zvyšovala v nich hladinu draslíka, pričom neprejavila pôsobenie na obsah fosforu. Z údajov, ktoré podávajú S. Priehradný a V. Megó (26) pri štúdiu dynamiky živín v listoch marhúl kultivovaných na rôznych formách dusíka nevyplýva nijaký pevný účinok jednotlivých dusíkatých solí na hromadenie základných minerálnych živín a v priemere zo štyroch rastových fáz sa mohlo len slabo potvrdiť zníženie draslíka pri amonnej výžive. Pôsobenie dusíka na skúmané živiny vystupovalo málo zreteľne a menilo sa prevažne podľa priebehu rastových fáz.

A. Koppová (27) nezistila významnejšie rozdiely v interferencii dusíka, a fosforu v rastlinách pri dodávaní amonného dusíka, alebo dusíka v obojakej forme. Na inom mieste: autorka (27) stručne poukazuje, že nitrátový dusík spôsobil veľké zníženie chlóru v rastline za súčasného mierneho zlepšenia absorpcie fosforu.

Podľa týchto niekoľkých a i. údajov možno o pomeroch premenlivosti živín pri rozdielnej forme dusíka bežne tradovaných v literatúre najviac tvrdiť to, že rezultujú ako pomerne častý výsledok dosiaľ vykonaných rozborov, sú určitou utkvenuou predstavou, ktorú však bude treba ďalej rozvíjať a spresňovať v smysle nových objavených faktov. Dôležitým determinujúcim faktorom javia sa najmä kvantitatívne vzťahy medzi jednotlivými iónmi živného prostredia a ako ukazujú i údaje našej práce dá sa v určitých medziach koncentrácie  $Ca^{++}$  (asi po  $2\frac{1}{2}$  násobok dávky v Knoppovom živnom roztoku) zaznačiť dosť zreteľný vplyv výživy dusíkom na pomery draslíka, fosforu a vápnika. Za týmito medzami sa rozdiely v pôsobení dusíka ztierajú. V konkrétnych v práci použitých podmienkach aktivovala — v neznámej miere — amonná forma dusíka súhlasne prijímanie vápnika, draslíka a fosforu v mladých rastlinách uhoriek, čo kvalitatívne v rámci uvedeného literárneho prehľadu predstavuje zase ďalší odlišný údaj.

O ostatných v práci pozorovaných javoch sa v literatúre diskutuje veľmi zriedka a preto im na tomto mieste nevenujeme pozornosť.

## S ú h r n

V závislosti od chemickej povahy dusíkatej soli ( $-NH_4^+$   $-NO_3^-$ ) za prítomnosti rôznych dávok vápnika v živnom prostredí stanovili sa niektoré zmeny v kvantitatívnych pomeroch glycidov, kyseliny askorbovej a hlavných rastlinných živín v bylách 9-dňových rastlín *Cucumis sativus*.

Nitrátová forma dusíka na rozdiel od výživy s trojštvrťinovým podielom amonného dusíka pôsobila priaznivo na tvorbu rozpustných cukrov, ale súčasne záporne vplývala na zložku celulózy.

Nitrátová forma dusíka pri všetkých variantoch živných roztokov prudko inhibovala hladinu kyseliny askorbovej; najsilnejšie pri zvýšených dávkach vápnika. Pri amonnej forme dusíka bol pokles hladiny kyseliny askorbovej miernejší a prejavil sa len pri zvýšených dávkach vápnika.

V pomere k obsahu celkového dusíka (ktorý neukázal zreteľnejšie rozdiely) zaznačili sa na amonnom dusíku relatívne vyššie hodnoty bielkovinového dusíka.

Amonná forma dusíka až na najvyššie dávky vápnika nepatrne aktivovala prijímanie stanovených minerálnych živín pokusnými rastlinami.

Údaje o obsahu živín v osných častiach *Cucumis sativus* potvrdzujú zároveň nepriamu závislosť medzi hromadením vápnika a draslíka v rastlinných pletivách.

## Literatúra

- 1 Vaklinova S. G., Doman N. G., Rubin B. A., Fiziologija rastenij, 6, 1958.
- 2 Rubin B. A., Vaklinova S. G., DAN SSSR, 119, 1, 129, 1958.
- 3 Kalinkevič M. I., DAN SSSR, 88, 2, 1953.
- 4 Vladimirov A. V., Izv. AN SSSR, 3, 1945.
- 5 Perkowitz L. P., Gilbert S. J., Shive I. W., Soil Science, 57, 2, 1944.
- 6 Sideris C. P., Plant Physiology, 14, 2, 1939.
- 7 Skvorcová L. A., O pitanii rastenij (sbor.) 131 — 139, Moskva 1955.
- 8 Scharrer K., Bürke R., Fortschritte der Agrikulturchemie, Dresden-Leipzig 1955.
- 9 Prjanišnikov D. N., Azot v žizni rastenij i v zemledelii SSSR, Moskva 1945.
- 10 Prjanišnikov D. N., Izbrannye sočinenija, II, Moskva 1953.
- 11 Prjanišnikov D. N., Izbrannye sočinenija, I, Moskva 1952.
- 12 Prjanišnikov D. N., Izbrannye sočinenija, III, Moskva 1952.
- 13 Mc. Evoy E. T., Canad. Jour. of Soil Sci., 37, 2, 1957.
- 14 Ščerbakov A. P., Valikova V. F., Trudy Inst. lesa, 27, 148, 1955.
- 15 Sabinin D. A., Mineralnoje pitanie rastenij, Moskva 1940.
- 16 Sabinin D. A., Fiziologičeskije osnovy pitania rastenij, Moskva 1955.
- 17 Wöstmann E., Jahrb. f. Wissensch. Bot., 90, 3, 1942.
- 18 Belozerskij A. N., Proskurjakov N. I., Praktičeskoe rukovodstvo po biochimii rastenij, Moskva 1951.
- 19 Schmitt L., Ott M., (neu bearbeitet von Schuphan W.) Methodenbuch 4, Berlin 1953.
- 20 Dušečkin A. I., Vyvalko I. G., Dej M. I., Agrochimičeskije osnovy povyšeniya effektivnosti udobrenij (sbor.) 110—119, Kijev 1956.
- 21 Vladimirov A. V., Fiziologičeskije osnovy primenenija azotistych a kalijnych udobrenij, 1948 (cit. podľa 24).
- 22 Dušečkin A. I., Vyvalko I. G., Ostrovskaja L. K., Kolesnik F. I., Voprosy biochimii azotn. i min. pitania rastenij, 1953.
- 23 Spivakovskij N. D., Doklady VASCHNIL, 2, 1949.
- 24 Spivakovskij N. D., Udobrenije plodovyh i jagodnyh kultur, Moskva 1951.
- 25 Kolařík J., Vědecké práce Výzkumného ústavu rostlinné výroby ČSAV (sbor.), 1, 105, Praha 1955.
- 26 Priehradný S., Mego V., Acta Fac. Rer. Nat. Univ. Com. IV, 1—2, Botanica, 1959.
- 27 Koppová A., Vědecké práce Výzkumného ústavu rostlinné výroby ČSAV (sbor.), 2, 91, Praha 1956.



Adresa autorov Katedra fyziológie a biológie rastlín Univerzity Komenského, Bratislava,  
Odborárske nám. 12.  
Do redakcie dodané 12. IX. 1959.

### Влияние кальция на некоторые свойства метаболизма у ростка *Cucumis sativus* в зависимости от формы азота

С. Приеградны — В. Козинка

#### Резюме

В зависимости от химического характера азотной соли ( $-\text{NH}_4^+ - \text{NO}_3^-$ ) с наличием различных доз кальция в питательной среде были установлены некоторые перемены, относящиеся к количественным пропорциям глицидов, аскорбиновой кислоты и главных растительных питательных веществ в стеблях 9-дневных растений *Cucumis sativus*.

Нитратная форма азота в отличие от питания, содержащего три четверти аммониевого азота имела благоприятное влияние на образование растворимых сахаров, но одновременно повлияла негативно на составной элемент целлюлозы.

Нитратная форма азота при всех вариантах питательных растворов резко ингибировала уровень аскорбиновой кислоты, особенно при увеличенных дозах кальция. У аммониевой формы азота понижение уровня аскорбиновой кислоты оказалось более умеренным и проявилось только при повышенных дозах кальция.

В отношении к содержанию общего азота (в котором более значительных разниц не оказалось) были отмечены у аммониевого азота сравнительно более высокие числа белкового азота.

Аммониевая форма азота с изятием самых высоких доз кальция незаметно активировала принятие установленных минеральных питательных веществ у экспериментальных растений.

Данные, относящиеся к содержанию питательных веществ в стеблевой части *Cucumis sativus* подтверждают одновременно посредственную зависимость между накоплением кальция и калия в тканях растений.

### Über den Einfluss von Kalzium auf manche Eigenschaften des Metabolismus bei dem Spross von *Cucumis sativus* in der Abhängigkeit von der Form des Stickstoffs.

S. Priehradny — V. Kozinka

#### Zusammenfassung

In der Abhängigkeit vom chemischen Charakter des Stickstoffsalzes ( $-\text{NH}_4^+ - \text{NO}_3^-$ ) bei der Anwesenheit verschiedener Kalziumdosen in der Nährumgebung wurden in quantitativen Beziehungen der Glyciden, der Ascorbinsäure und verschiedener pflanzlicher Nährstoffe in den Stengeln der 9-tägigen Pflanzen von *Cucumis sativus* manche Veränderungen festgestellt.

Die Nitratform von Stickstoff begünstigte im Gegensatz zu der dreiviertelteiligen Ammoniumstickstoffernährung die Bildung der lösbaren Zucker, wies aber gleichzeitig einen negativen Einfluss auf Zellulosebestandteil auf.

Die Nitratform von Stickstoff hat bei allen Varianten der Nährstofflösungen, insbesondere aber bei den erhöhten Kalziumdosen das Niveau der Ascorbinsäure heftig inhibiert. Bei der Ammoniumform von Stickstoff war das Sinken der Ascorbinsäureniveaus milder und bloss bei einer Erhöhung der Kalziumdosen sichtbar.

Im Vergleich mit dem gesamten Stickstoffgehalt (welcher übrigens keine bedeutendere Unterschiede aufwies) haben sich auf dem Ammoniumstickstoff verhältnismässig höhere Werte des Eiweisstickstoffs bemerkbar gemacht.

Die Ammoniumform des Stickstoffs hat mit Ausnahme der höchsten Kalziumdosen die Aufnahme der festgestellten Mineraliennährstoffe bei den Versuchspflanzen nur unbedeutend aktiviert.

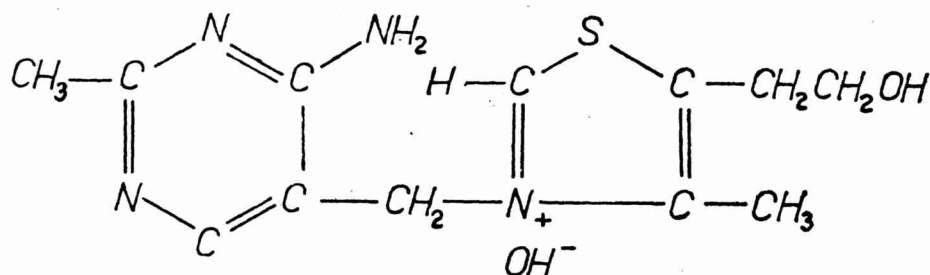
Die Angaben über den Nährstoffgehalt in den Teilen der Achse von *Cucumis sativus* bestätigen gleichzeitig eine indirekte Beziehung zwischen der Kalzium- und Kaliumanhäufung in den Pflanzengeweben.



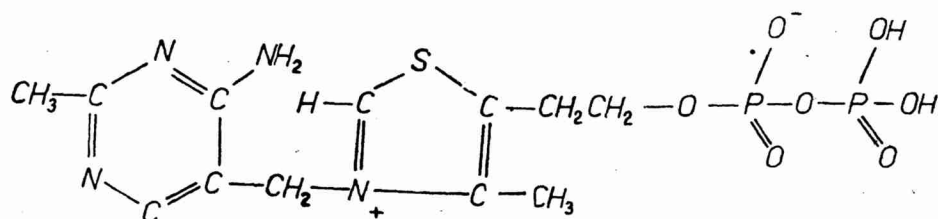
## Zámena tiamínu bacitracínom u heterotiamínovej plesne *Phycomyces blakesleeanus*.

L. Ebringer — M. Múčková

Tiamín v prírode nachádza sa jednak vo voľnom stave alebo esterifikovaný, najčastejšie ako ester kyseliny pyrofosforečnej (kokarboxyláza). Kokarboxyláza v spojení s proteínom tvorí dôležitý enzým, karboxylázu, ktorá katalyzuje rôzne pochody v živých bunkách. Z týchto funkcií karboxylázy je najznámejšia dekarboxylácia niektorých  $\alpha$  — aminokyselín.

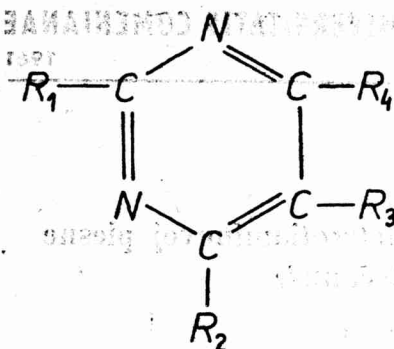


Tiamín vo voľnom stave.

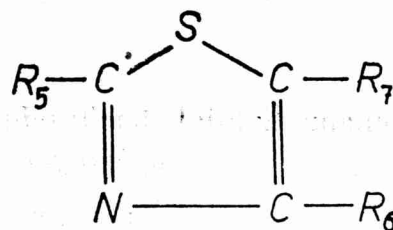


Tiamíndifosfát (kokarboxyláza).

Ako vidno z formúl, v tiamíne sa nachádzajú dve jadrá: pyrimidínové a tia-  
zolové.



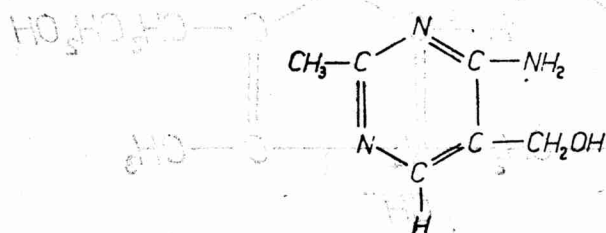
Pyrimidínové jadro



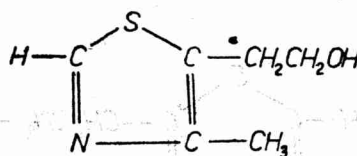
Tiazolové jadro

Biologický najúčinnjší je taký derivát, u ktorého  $R_1 = \text{CH}_3$ ,  $R_2 = \text{H}$ ,  $R_3 = \text{CH}_2\text{OH}$ ,  $R_4 = \text{NH}_2$ ,  $R_5 = \text{H}$ ,  $R_6 = \text{CH}_3$ ,  $R_7 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ .

Dosadením týchto radikálov do príslušných jadier dostaneme prirodzené zložky tiamínu, v odbornej literatúre nazývané tiamínpyrimidín a tiamíntiazol.



Tiamínpyrimidín (2-metyl-5-oxymetyl-6-amíno pyrimidín).



Tiamíntiazol (4-metyl-5-hydroxyetyl tiazol).

V niektorých druhoch biologického materiálu možno použiť pri ich metabolizme aj iné deriváty tiazolu a pyrimidínu. V tabuľke č. 1 uvádzame možnosť substitúcie rôznych radikálov molekuly tiamínu pri stimulácii rastu izolovaných koreňov hrachu. V tabuľke sa však predpokladá, že jedna z dvoch zložiek tiamínu má prirodzenú skladbu.

|                 | I. komb.                            | II. komb.                        | III. komb.                       | IV. komb.                        | V. komb.                            |
|-----------------|-------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|
| R <sub>1</sub>  | -CH <sub>3</sub>                    | -CH <sub>3</sub>                 | -CH <sub>3</sub>                 | -CH <sub>3</sub>                 | -OH                                 |
| R <sub>2</sub>  | -H                                  | -H                               | -H                               | -H                               | -CH <sub>3</sub>                    |
| R <sub>3</sub>  | -CH <sub>2</sub> Br                 | -CH <sub>2</sub> NHCSH           | -CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> | -CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub> | -CH <sub>2</sub> OH                 |
| R <sub>4</sub>  | -NH <sub>2</sub>                    | -NH <sub>2</sub>                 | -NH <sub>2</sub>                 | -OH                              | -OH                                 |
| R <sub>5</sub>  | -H                                  | -H                               | -H                               | -H                               | -NH <sub>2</sub>                    |
| R <sub>6</sub>  | -CH <sub>3</sub>                    | -CH <sub>2</sub> OH              | -CH <sub>3</sub>                 | -CH <sub>3</sub>                 | -CH <sub>3</sub>                    |
| R <sub>7</sub>  | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> Cl | -CH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> | -CH=CH <sub>2</sub>              | -H                               | -CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH |
| aktivita<br>v % | 100%                                | 100%                             | 100%                             | 0%                               | 0%                                  |

Tabuľka 1

O existencii tiamínu prvý dôkaz podal Eijkman roku 1897, keď sa mu podarilo vyvolať u kurčiat polyneuritídu, ktorá sa podobala na avitaminózu ľudí z nedostatku tiamínu (berí-berí). Roku 1911 pripravil Funk prvé účinné koncentráty tiamínu z ryžových otrúb. Jensen a Donath roku 1926 izolovali tiamín v kryštalickej forme zo zvyškov po leštení ryže. Windaus a Williams roku 1935 rozložili jeho chemickú konštitúciu.

Tiamín je kryštalická látka s bodom topenia 249–250 °C. Výborne sa rozpúšťa vo vode, v slabých kyselinách a v alkoholických roztokoch. Nerozpustný je v étere, benzéne, butanole, slabo v etanole. Veľmi stály je v slabých kyslo-alkoholických roztokoch. Je teda stály v kyslom prostredí, ale inaktivuje sa rýchlo v zásaditom a pri vyššej teplote už aj v neutrálnom prostredí. Je veľmi citlivý voči oxydácii a redukcii. Oxydáciou prechádza na tiochróm. Rýchlo ho inaktivuje kyslíčnik siričitý a siričitany, najmä pri pH 5–6.

Tiamín u človeka aj u mikrobov má podobnú funkciu. Je zložkou enzýmu, ktorý štiepi (dekarboxyluje) kyselinu pyrohroznovú pri disimilácii uhľohydrátov. Pri jeho nedostatku u človeka pozorujeme zvýšenú hladinu kyseliny pyrohroznovej v krvi a tkanivách.

Nedostatok tiamínu ovplyvňuje tónus nervového systému. Prejavuje sa napr. bolesťami hlavy, ospalosťou, poruchami výmeny látkovej, nechutenstvom, únavou atď. Vo vážnejších prípadoch nastáva polyneuritída. Najznámejšia takáto avitaminóza, zvaná berí-berí vyskytuje sa len u chudobného obyvateľstva Ďalekého východu (Filipíny, India, Japonsko). Živiaci sa prevažne lacnou, lúpanou ryžou. U nás vzniká táto avitaminóza zriedka, jedine ako dôsledok chronického používania alkoholu, účinkom toxických látok, napr. pri otravách nikotínom, olovom, arzénom atď. Najčastejšie sa stretávame s hypovitaminózou najmä v zimných mesiacoch, pri tehotenstve, namáhavej práci, u dorastajúcej mládeži a pod. Všetky tieto prípady dajú sa ľahko vyliečiť podávaním syntetických preparátov tiamínu.

Tiamín podaný v potrave sa úplne resorbuje v tenkom čreve. Ľudský organizmus nemá schopnosť ho skladovať a vytvoriť si rezervu. Jednako v srdci, pečienke, obličkách, svaloch a v mozgu sa nachádza relatívne vyššia koncentrácia tiamínu. Keďže ľudský organizmus nevie tiamín uskladiť, prebytok dodaný potravou vylučuje alebo rozkladá. Z tohto dôvodu pravi delný prísun tiamínu je pre riadne vykonávanie funkcií organizmu človeka veľmi dôležitý.

V ľudskom organizme tiamín nachádza sa jednak voľný alebo esterifikovaný, napr. v krvnej plazme a v mozgomiešnej tekutine nachádza sa voľný tiamín v koncentrácii okolo 1γ/100ml(1). Voľný tiamín sa mení na kokarboxylázu. Fosforylácia a defosforylácia tiamínu deje sa v bunkách, najmä v bunkách obličiek, pečene, menej vo svaloch a mozgu (2). V krvi je kokarboxyláza viazaná výlučne na krvinky, voľný tiamín je v sére.

Ako sme už spomenuli, tiamín katalyzuje najmä dve reakcie v živej hmote, dekarboxyláciu a karboxyláciu kyseliny pyrohroznovej. U živočíšnych tkaní je v prevahe karboxylácia, kým u niektorých mikrobov, napr. u kvasiniek prevláda dekarboxylácia kyseliny pyrohroznovej. V závislosti na fyziologických funkciách tiamínu pozorovali aj zvýšenie obsahu glykogénu v pečeni a v srdčnom svale holubov pri jeho nedostatku(3). Pri anaerobnom kvasení dekarboxylácia prebieha schematicky podľa rovnice:



U živočíchov prebieha dekarboxylácia oxydatívne podľa obecnej rovnice:

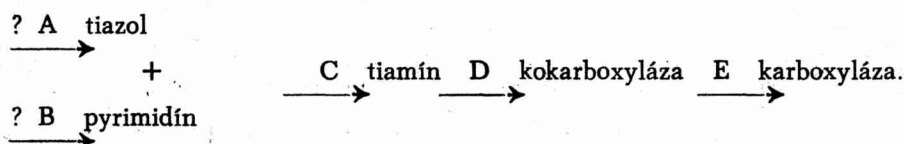


Tiamín hrá dôležitú úlohu aj pri regulácii činnosti nervového systému. Je známe, že pri podráždení nervov uvoľňuje sa acetylcholín a tiamín. Je dokázané, že tiamín predlžuje účinok acetylcholínu a to tak, že ruší vliv cholinesterázy, ktorá štiepi acetylcholín na cholín.

Aj u mikroorganizmov má tiamín dôležitú úlohu. Niektoré si ho vedia sami syntetizovať, iným však musí byť dodaný. Také tiamínheterotrofné mikroorganizmy vyžadujú k svojmu rastu buď celú molekulu tiamínu (*Streptococcus salivarius*, *Lactobacillus fermenti*, *Kloeckera brevis*, *Tetrahymena pyriformis*). Iné mikroby si vedia utvoriť tiamín z jeho pyrimidínovej a tiazolovej zložky, ak obe dodáme do živnej pôdy (*Staphylococcus aureus*, *Phycomyces blakesleeana*). Ďalším mikróbom stačí dodať iba jednu z týchto dvoch zložiek, druhú si vedia sami syntetizovať. Napr. nálevník *Polytoma caudatum* vyžaduje len tiazol, *Euglena gracilis* len pyrimidín, *Mucor rammanianus* tiazol atď.

Schopnosť tvoriť celú molekulu tiamínu pri zvýšenom dodávaní jednej jeho časti, využívala prax už dávnejšie pri biosyntéze tiamínu pre zdravotnícke účely. Niektoré druhy kvasiniek totiž značne zvyšujú biosyntézu tiamínu, ak ku živnej pôde sa pridá tiazolová zložka. Tiazol je lacná surovina, ktorá sa dá pomocou biosyntézy premeniť na cenný rastový faktor.

Biosyntéza karboxylázy (včítane aj tiamínu) prebieha podľa schémy:



Reakcia D chýba niektorým gonokokom, preto tieto vyžadujú k svojmu rastu celú kokarboxylázu, bez nej nerastú.

Všetky vyššie rastliny sú schopné syntetizovať tiamín, ktorý aj vylučujú svojimi koreňmi do pôdy. Preto pôda obsahuje v rhizosfére väčší počet mikroflóry ako na miestach bez dosahu týchto koreňových exkréto. Rastliny tiamín nesyntetizujú vo všetkých svojich orgánoch. Napr. izolované korene hrachu a rajčín vyžadujú k normálnemu rastu dodanie tiamínu, pretože za prirodzených podmienok sa syntetizuje iba vo výhonkoch a listoch, odkiaľ je distribuovaný do ostatných častí rastliny.

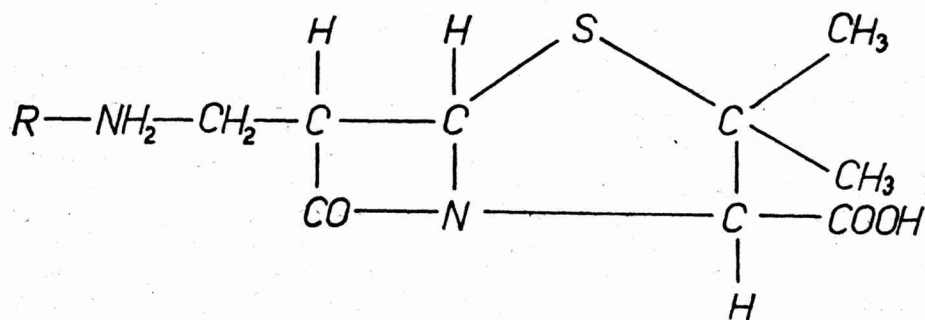
Požiadavky na tiamín u niektorých húb závisia od vonkajších podmienok. Napr. *Sordaria fimicola* nemôže normálne rásť pri  $\text{pH} < 4$  bez tiamínu. Na pôdach s  $\text{pH} > 4$  nepotrebuje tiamín k rastu. Červené kvasinky *Rhodotorula sanniei* požadujú k rastu tiamín iba vtedy, ak ich kultivujeme na glukózovej pôde. Pri zámene glukózy glycerínom, nemajú požiadavky na tiamín (4).

Z testorganizmov, vyžadujúcich tiamín (alebo jeho zložky) k rastu, najčastejšie sa používa na jeho stanovenie druh *Phycomyces blakesleeanus*. Na tiamínovú heterotrofnosť *Phyc. blakesleeanus* prvý upozornil Schöpfer, ktorý dokázal, že *Phycomyces blakesleeanus* potrebuje k svojmu rastu okrem anorganických solí a cukru tiamín (5). Pre malú náročnosť tohto testorganizmu stanovovanie tiamínu pomocou neho stalo sa všeobecne známym.

Z niekoľkých prác je známe, že penicilín môže u niektorých mikroorganizmov nahradiť tiamín (6, 7). Markov a Saev (1956) zistili túto substitučnú schopnosť penicilínu u mnohých, najmä rezistentných kmeňov *Staphylococcus aureus*, Schulman (1957) u *Phycomyces blakesleeanus*, Ebringer (1958) u *Phycomyces blakesleeanus* a *Mucor rammanianus*, Ebringer a Múčková (1959) u *Kloeckera brevis* (nepublikované).

Zdá sa, že molekula penicilínu nahradzuje najmä tiazolovú zložku tiamínu, pretože *Phycomyces blakesleeanus* rastie iba ak pridáme aj pyrimidínovú zložku. Ovšem táto otázka nie je ešte vyjasnená, pretože u niektorých mikrobiálnych druhov, vyžadujúcich dokonca celú molekulu tiamínu k svojmu rastu, bol pozorovaný stimulačný účinok aj samotného penicilínu (nepublikované).

Penicilín je tiazolidínový derivát:

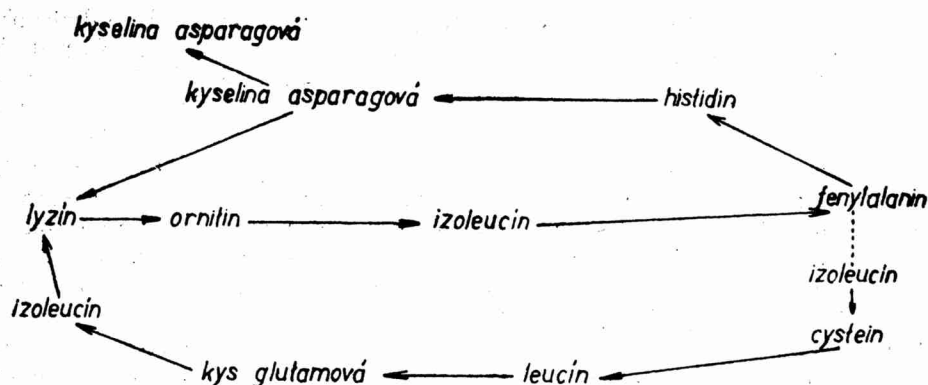


Z určitej podobnosti molekuly penicilínu a bacitracínu sme predpokladali, že by aj bacitracín mohol mať pri nahradzovaní tiamínu podobnú úlohu.

Bacitracín je antibiotikum produkované grampozitívnymi, aeróbnymi, sporujúcimi baktériami druhov *Bacillus subtilis* a *Bacillus licheniformis*. Hlavnou zložkou bacitracínu je bacitracín A. Je to polypeptid o molekulovej váhe  $1470 \pm 10\%$ , sumárneho vzorca  $\text{C}_{66}\text{H}_{103}\text{O}_{16}\text{N}_{17}\text{S}$ . V molekule bacitracínu našli sa tieto aminokyseliny: D-fenylalanín, L-leucín, L-izoleucín, L-cysteín, kyselina D-glutamová, kyselina DL-asparagová, L-histidín, L-lyzín, D-ornitín (8).

Kondenzáciou cysteínu s izoleucínom vzniká v bacitracíne tiazolinový kruh, ako to vyplýva z pravdepodobnej štruktúry bacitracínu A (9):





Podľa niektorých autorov (9) prítomnosťou tiazolinového kruhu je podmienená antibiotická aktivita bacitracínu.

Bacitracín preukazuje inhibičnú aktivitu najmä proti grampozitívnym baktériam, a to už v koncentráciách menších ako 1 jedn./ml (napr. *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus viridans*, *Clostridium tetani*, *Clostridium histolyticum*, *Haemophilus pertussis*, *Sarcina lutea*, *Neisseria gonorrhoeae*). Bacitracín neúčinkuje proti gramnegatívnym mikróbov a keď, tak iba vo vysokých koncentráciách. Podobnú slabú účinnosť má aj proti *Bacillus subtilis*. Huby voči bacitracínu sú necitlivé (10, 11).

Bacitracín účinkuje baktericídne, menej bakteriostaticky. Inhibuje utilizáciu kyseliny glutamovej podobne ako penicilín (12).

#### Metodika, výsledky, diskusia.

Pri štúdiu možnosti substitúcie tiamínu bacitracínom u *Phycomyces blakesleeanus* pracovali sme obvyklou metódou pre stanovovanie tiamínu (13) na syntetickej pôde s prídavkom 1,2% agaru, zbaveného tiamínu. Pripravenú syntetickú pôdu po rozpustení agaru sme napipetovali v množstve 2 ml do aglutinačných skúmaviek, pridali rôzne koncentrácie bacitracínu, resp. aj pyrimidínu a doplnili na celkový obsah 3 ml pôdy. Na porovnanie rastu pripravili sme rad skúmaviek s prídavkom syntetického tiamínu. Ako kontrolu sme použili jednak len čistú syntetickú pôdu, jednak s prídavkom jednej zložky molekuly tiamínu (tiazol alebo pyrimidín). Takto pripravené pôdy sme sterilizovali 10 minút pri 124 °C. Po ochladení a stuhnutí agaru každú aglutinačnú skúmavku sme naočkovali premytou, zhomogenizovanou suspenziou spór (0,05 ml) zo 14 dňovej kultúry *Phycomyces blakesleeanus*. Kultiváciu sme prevádzali v termostate pri teplote 24 °C 14 dní.

Pri sledovaní rastu plesne *Phycomyces blakesleeanus* na uvedených pôdach, zistili sme stimulačný účinok bacitracínu, ktorý pripisujeme prítomnosti tiazolinového kruhu v jeho molekule.

Dostatočná koncentrácia bacitracínu k stimulácii rastu na pevnej pôde je 0,1–1 jedn./ml. Závisí to najmä od veku preparátu, ale aj od koncentrácie pyrimidínu. Rast plesne na pôde s bacitracínom je rýchlejší, mycélium je bohatšie, sporangiofóry silnejšie a sporangia sú 2–3-krát väčšie ako na pôde s tiamí-

nom. Za použitia tejto koncentrácie bacitracínu bez prídavku pyrimidínu plesne nerastie. Na tekutej pôde v takej koncentrácii bacitracínu nerastie ani za prídavku pyrimidínu. Možnosť obsahu tiamínu alebo tiazolu v agare vylúčili sme kontrolou bez prídavku týchto rastových faktorov, na ktorej plesne vôbec nerástla.

Vyššie dávky bacitracínu v určitom rozmedzí umožňujú rast plesne na pevnej pôde aj bez prídania pyrimidínu, ovšem na pôdach s pyrimidínom je rast intenzívnejší. Ten istý zjav sme pozorovali aj pri použití vysokých dávok penicilínu. V tekutých pôdach za použitia vyšších dávok bacitracínu (100–200 jedn./ml) rastie plesne submerzne, teda atypicky. Je treba utvoriť mechanickú oporu, aby mohla plesne rásť na povrchu tekutiny.

Mohla by byť vnesená námietka na čistotu preparátov, preto sme previedli pokus o chromatografické stanovenie obsahu tiamínu a jeho derivátov v bacitracíne. Použili sme systém rozpúšťadiel volených tak, aby  $R_f$  tiamínu a bacitracínu bolo čo možno najrozdielnejšie:

- 1., butanol, kys. octová, voda 4:1:5
2. n-butanol, pyridín, voda, kys. octová 33:33:33:1
- 3., etylacetát nasýtený vodou.

Pracovali sme na premytom papieri Whattman č. 1 jednosmernou sostupnou metódou. Detekciu tiamínu sme prevádzali chemicky (fluorescencia tiochrómu) a mikrobiologicky (stimulácia rastu *Phycomyces blakesleeanus*). Mikrobiologickú detekciu bacitracínu sme prevádzali dvojako: zisťovaním inhibície na *Staphylococcus aureus* a stimulácie na *Phycomyces blakesleeanus*.

Mikrobiologickú detekciu inhibičnú sme prevádzali na veľkých hliníkových tácniciach, ktoré sa používajú na testovanie penicilínu. Do sterilných tácní sme naliali 0,5 cm vrstvu mäsopeptonového agaru (2,5% agar), po stuhnutí na ňu naliali sme 100 ml mäsopeptonového agaru (1% agar), naočkovaného 24 hodínovou kultúrou *Staphylococcus aureus*. Po stuhnutí tejto vrstvy položili sme na ňu pásiky chromatografického papiera. Takto pripravené tácne sme inkubovali 18 hodín pri teplote 37 °C. Na základe inhibičných zón sme zistili  $R_f$  bacitracínu v danom rozpúšťadle.

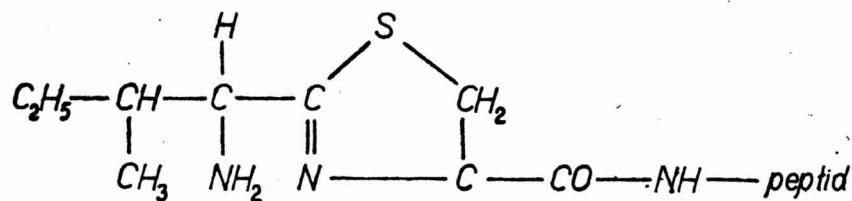
Zistenie polôh bacitracínu nám umožnilo porovnávať jeho antibiotický účinok s účinkom stimulačným. Úseky chromatografického papiera, ktoré preukazovali antibakteriálnu účinnosť sme vyrezali a vložili do skúmaviek so syntetickou pôdou pre kultiváciu *Phycomyces blakesleeanus*, deficientnú na tiamín. Po vysterylizovaní sme pôdu naočkovali spórami plesne *Phycomyces blakesleeanus*.

Na základe výsledkov získaných z porovnania chemickej a mikrobiologickej (inhibičnej a stimulačnej) detekcie, prišli sme k uzáveru, že substancia preukazujúca antibiotickú aktivitu na grampozitívne baktérie má súčasne aj stimulačný účinok na *Phycomyces blakesleeanus*.

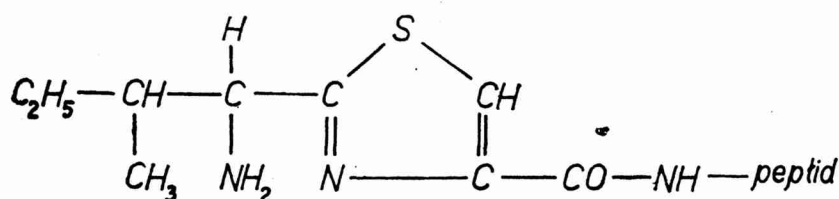
Ďalej sme dokázali, že starnutím bacitracínu jeho rastový účinok stúpa. Súhlasí to s poznatkami, že tiazolínový kruh bacitracínu A prechádza už pri izbovej teplote na tiazolový kruh bacitracínu F.

Ročne sa premení v suchých preparátoch asi 20% bacitracínu A v bacitracín F, čo je sprevádzané aj znižovaním antibiotickej aktivity preparátu. Antibiotická aktivita bacitracínu A je 66 jedn./mg, kým bacitracínu F iba 2,7 jedn./mg.

Mnohí autori konšatovali bez hlbšieho vysvetlenia stimulačný účinok bacitracínu u kurciat, hoci vyraduje ich črevnú mikroflóru (14), tiež na rast rastlín,



*Bacitracín A*



*Bacitracín F*

napr. *Lemna minor* (15). Našimi pokusmi s tiamínheterotrofnou plesňou *Phycomyces blakesleeana* sme dokázali, že stimulačný účinok bacitracínu veľmi úzko súvisí s tiamínovým metabolizmom.

#### S ú h r n.

Zistili sme, že bacitracín môže nahradiť u heterotiaminózne plesne *Phycomyces blakesleeana* tiazolovú časť molekuly tiamínu za podmienok kultivácie na pevnej pôde. Plesň na tejto pôde s prídavkom bacitracínu rastie rýchlejšie, mycélium je bohatšie a sporangia sú 2–3-krát väčšie ako na pôde s tiamínom. Stimulačný účinok bacitracínu stúpa s klesaním jeho antibiotickej aktivity. Vysvetľujeme si to premenou tiazolínového kruhu bacitracínu A na tiazolový kruh bacitracínu F, čo sa deje spontánne starnutím preparátu.

#### Literatúra

1. Sinclair, H. M.: Biochem. J. 33, 1816 (1939)
2. Ochoa, S., Peters, R. A.: Biochem. J. 32, 1501 (1938)
3. Abderhalden, E., Wertheimer, W.: Arch. Ges. Physiol. (Pflügers) 233, 395 (1933)
4. Lilli V., Barnett G.: Fiziologija gribov, Moskva 1953
5. Schopfer W. H.: Ztschr. f. vitaminforschung, Bd. 4, S. 67 (1935)
6. Shulman, A.: Nature, 180, 657 (1957)
7. Markov, K., Saev, G. K.: Zblt. f. Bakter. Abt. 1, 167, 216 (1956)
8. Craig, L., C., a spol.: J. Biol. Chem. 199, 865 (1952)
9. Weisiger, J., R., a spol.: J. Am. Chem. Soc. 77, 3123 (1955)
10. Fanner, F. W., a spol.: Antibiotics and Chemotherapy 2, 441 (1952)
11. Englisch, A. R., a spol.: Antibiotics and Chemotherapy 3, 309 (1953)
12. Paine, T. F.: J. Bact. 61, 259 (1951)

13. Ebringer L.: Acta F. R. N. Univ. Comen. IV, 1—2 (1959)
14. Elam, J. F., a spol.: Proc. Soc. Exp. Biol. 78, 832 (1951).
15. Nickell, L. G., Finlay, A. C.: J. Agr. Food Chem. 2, 178 (1954)

### О возможности замещения тиамина бацитрацином у *Phycomyces blakesleeanus*.

Л. Эбрингер — М. Мучкова

#### Резюме

Некоторые авторы предполагали, что пенициллин может у некоторых организмов заместить тиамин. Саев и Марков установили это (1956) у *Staphylococcus aureus*, особенно же у резистентных видов, Шульман (1957) у плесни *Phycomyces blakesleeanus*. По имени Шульмана пенициллин замещает элемент тиазола тиамина при росте *Phycomyces blakesleeanus*.

На основании схожести молекула пенициллина и бацитрацина мы предполагали, что также бацитрацин способен исполнять подобную задачу. Бацитрацин является полипептидом, в котором конденсацией цистеина и изолейцина возникает тиазолиновый круг.

Сравняя рост плесни *Phycomyces blakesleeanus* на синтетической питательной почве с прибавкой бацитрацина и пиримидина мы наблюдали стимуляционный эффект бацитрацина, который мы относили на счет тиазолинового круга. Оптимальная концентрация бацитрацина на прочной питательной почве составляет 0,1—1,0 единиц на мл, что руководствуется возрастом препарата. Плесень растет более стремительно, мицелий является богаче, спорангиофоры обнаруживают большую мощность а спорангии в 2—3 раза большие чем на почве с тиамином. Если прибавить к почве только один бацитрацин во вышеприведенной концентрации без пиримидина, плесень уже не растет. Большие дозы антибиотика позволяют в определенных границах роста плесням также без прибавления пиримидина, но с прибавлением они растут более интенсивно. Тоже мы наблюдали при высоких дозах пенициллина. В жидких почвах с применением высоких доз бацитрацина растет плесень субмерзно.

Микробиологической ингибиционной детекцией у *Staphylococcus aureus* и стимуляционной детекцией у *Phycomyces blakesleeanus* мы пришли к заключению, что субстанция, обнаруживающая антибиотическую деятельность, имеет также стимуляционный эффект на *Phycomyces blakesleeanus*.

Кроме того мы доказали, что старением бацитрацина повышается его стимуляционный эффект. Это соглашается с познаниями, что тиазолиновый круг бацитрацина А переходит на тиазолевый круг бацитрацина F.

### Die Vertretung des Thiamins durch Bacitracin beim Schimmelpilz *Phycomyces blakesleeanus*

L. Ebringer — M. Múčková

#### Zusammenfassung.

Einige Autoren wiesen auf die Tatsache hin, dass Penicillin bei dem Thiamin- Metabolismus mancher Organismen verwendet werden kann: Saev, Markov (1956) bei *Staphylococcus aureus* u. zw. bei Penicillin- empfindlichen- und resistenten Stämmen, Schulman (1957) beim Schimmelpilz *Phycomyces blakesleeanus*.

Nach Schulman kann das Penicillin den Thiazol-Bestandteil des Thiamins beim Wachstum von *Phycomyces blakesleeanus* sowie auch bei der Ratte bei der Voraussetzung ersetzen, wenn man in den Nährboden und die Nahrung, die vom Thiamin befreit werden, den Pyrimidin-Bestandteil des Thiamins dazugibt.

Aus der Ähnlichkeit des Penicillin und Bacitracinmoleküls setzen wir Voraus, dass auch das Bacitracin bei der Ersetzung von Thiamin eine ähnliche Rolle spielen könnte.

Bacitracin A ist ein Polypeptid das aus folgenden Aminosäuren zusammengesetzt ist: d-Phenylalanin, l-Leucin, l-Isoleucin, l-Cystein, d-Glutaminsäure, d-l-Asparginsäure, l-Histidin, d-Ornithin.

Durch Kondensation des Cystein mit Isoleucin entsteht der Thiazolinkreis. Laut dieser Autoren ist durch die Gegenwart des Thiazolinkreis die antibiotische Aktivität des Bacitracins beding.

Bei der Verfolgung des Wachstums von *Phycomyces blakesleeanus* auf synthetischen Nährboden mit Zugabe von Bacitracin stellten wir einen Stimulationseffekt fest, den wir der Gegenwart des Thiazolinkreises zuschrieben.

Die optimale Konzentration des Bacitracins auf festen Nährboden ist 0,1–1 Einheiten/ml, was vom Alter des Präparates abhängt. Das Wachstum des Pilzes ist schneller, das Mycelium ist reicher, die Sporangiophoren sind stärker und die Sporangien 2–3mal grösser als die auf dem Thiamin enthaltenden Nährboden. Bei der Anwendung dieser Konzentration des Bacitracins ohne Zugabe von Pyrimidin wächst der Pilz nicht. Auf flüssigen Nährboden mit derselben Konzentration von Bacitracin wächst der Pilz auch bei Zugabe von Pyrimidin nicht. Für die Experimente benützen wir Agar ohne Spuren von Thiamin.

Grössere Dosen des Antibiotikums in einem bestimmten Bereich ermöglichen das Wachstum des Pilzes auf festem Boden auch ohne Zugabe von Pyrimidin, auf Pyrimidin enthaltenden Nährboden ist das Wachstum jedoch viel intensiver. Dieselbe Erscheinung beobachteten wir auch bei Anwendung hoher Dosen von Penicillin. Im flüssigen Boden bei Anwendung hoher Dosen von Bacitracin wächst der Pilz submers.

Durch mikrobiologische Inhibitionsdetektion einerseits (auf *Staphylococcus aureus*) und Stimulationsdetektion (auf *Phycomyces blakesleeanus*) anderseits kamen wir zu dem Ergebnisse, dass die Substanz, die antibiotische Aktivität auf grampositive Bakterien aufwies, gleichzeitig eine Stimulationswirkung auf *Phycomyces blakesleeanus* hatte.

Im Weiterm bewiesen wir die Tatsache, dass mit der Alterung des Bacitracins seine stimulierende Wirkung wächst. Das stimmt mit der Erkenntnis überein, dass der Thiazolinkreis des Bacitracins A forlaufend in den Thiazolkreis des Bacitracins F übergeht.

Jährlich verwandelt sich in trockenen Präparaten cca 20% Bacitracin A in Bacitracin F, was mit der Herabsetzung der antibiotischen Aktivität des Präparates begleitet ist.

Do redakcie dodané: 12. IV. 1960.

Adresa autorov: Katedra fyziológie a biológie rastlín Univerzity Komenského, Bratislava, Odborárske nám. 12.

**Porovnanie obsahu základných živín v listoch nášho semenáča a čínskych semenáčov marhule počas vegetačného obdobia.**

O. NEMČEK — J. NAVARA

Mŕtvicové odumieranie marhúľ je stále aktuálnym problémom z hľadiska národohospodárskeho i teoretického. Ide o nemoc, ktorej príčiny ani liečenie úplne nepoznáme. Podľa jednej skupiny autorov je apoplexia spôsobená rôznymi hubami (Jirak (1), Dufrenoy (2), Defago (3)), podľa iných virami (Chabrolin (4)). Názory autorov sa v tejto otázke značne rozchádzajú. Prof. Pastýrik sa na svojej študijnej ceste po Číne nestretol s príznakmi apoplexie. Na základe získaných skúseností vyslovil domienku, že výskyt apoplexie u nás je výsledkom dlhoročnej degenerácie vyvolanej nevhodným štepením (nevhodným podpníkom) a nevhodnými podmienkami prostredia (5).

So svojej študijnej cesty prof. Pastýrik priniesol semená planých čínskych marhúľ, ktoré boli vysadené v rôznych oblastiach Slovenska. Tieto semenáče sú pozoruhodné svojím silným a zdravým vzrastom v porovnaní s našimi. Tieto znaky veľkej vitality majú svoj pôvod v určitých odlišnostiach fyziologických procesov. Bude treba pečlivo sledovať ďalší vývoj týchto semenáčov a všimnúť si ich hlavne po stránke fyziologickej. Prvou prácou tohto druhu je práca Navaru (6), ktorý si všimol obsah voľných aminokyselín v listoch nášho semenáča a čínskych semenáčov marhule počas vegetačného obdobia.

Od počiatku exaktného výskumu výživy rastlín sa robili analýzy na populové prvky preto, aby sa z obsahu prvkov dalo usudzovať na ich potrebu v rastline. Nároky rastliny na živiny sa menia s jej vekom i počas vegetačného obdobia. Ročný cyklus ovocného stromu môžeme rozdeliť na niekoľko období (fenofáz), ktoré sa líšia od seba intenzitou rastu a súčasne aj intenzitou prijímania živín. V priebehu roku sa mení zloženie orgánov stromu teda i listov. Hodnoty získané analýzou jednotlivých prvkov takýmto spôsobom poskytujú predstavu o zásobenosti rastliny jednotlivými živinami. Tieto údaje sú dôležité pri určovaní požiadaviek rastliny na jednotlivé živiny a ich pridávanie vo forme hnojív.

Minerálne zloženie niektorých ovocných drevín v našich podmienkach sledovali Priehradný, Mego, Erdelský (7). Dynamiku minerálnych živín v listoch marhule počas vegetačného obdobia sledoval Priehradný, Mego (8). Menovaní autori sledovali jednorôčné očkované sorty „Maďarská“. Ich pozorovanie sa týka vplyvu rôznych dusíkatých živín. Pretože boli robené len štyri zbery dáva spomínaná práca len dosť povrchný obraz o dynamike základných živín počas vegetačného obdobia.

**Metodika.**

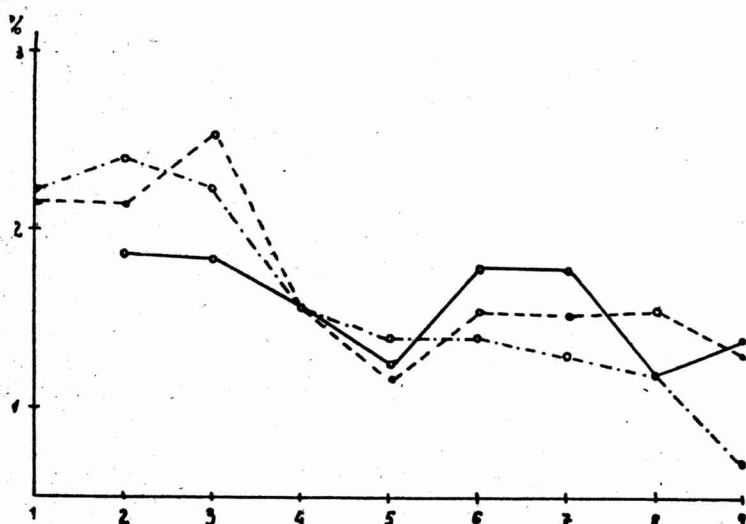
Materiál pre prácu bol získaný z Botanickej záhrady Univerzity Komenského v Bratislave, kde rastie časť čínskych semenáčov. Objektom pozorovania bol

semenáč našej marhule „Maďarská najlepšia“ a čínske semenáče 31 a 36 (z archívu Biol. ústavu SAV v Bratislave). Semenáče boli trojročné.

Vzorky boli odoberané vždy z toho istého jedinca. Pretože listy nie sú po fyziologickej stránke rovnaké boli brané len zo strednej časti konára. Zbery boli robené 9-krát v roku 1959:

- |                 |                  |
|-----------------|------------------|
| 1. zber 9. V.   | 6. zber 9. VII.  |
| 2. zber 15. V.  | 7. zber 16. VII. |
| 3. zber 27. V.  | 8. zber 4. IX.   |
| 4. zber 9. VI.  | 9. zber 23. IX.  |
| 5. zber 27. VI. |                  |

Listy sa usušili, jemne pomleli a uschovali v zabrušených nádobách. Dusík bol stanovený metódou Kjeldahlovou, fosfor kolorimetricky, draslík a vápnik na plameňovom fotometri.



Graf čís. 1. Obsah dusíka v listoch nášho semenáča (T<sub>1</sub>) čínskeho 31 (T<sub>2</sub>) a 36 (T<sub>3</sub>) za vegetačné obdobie v % vzhľadom k sušine.

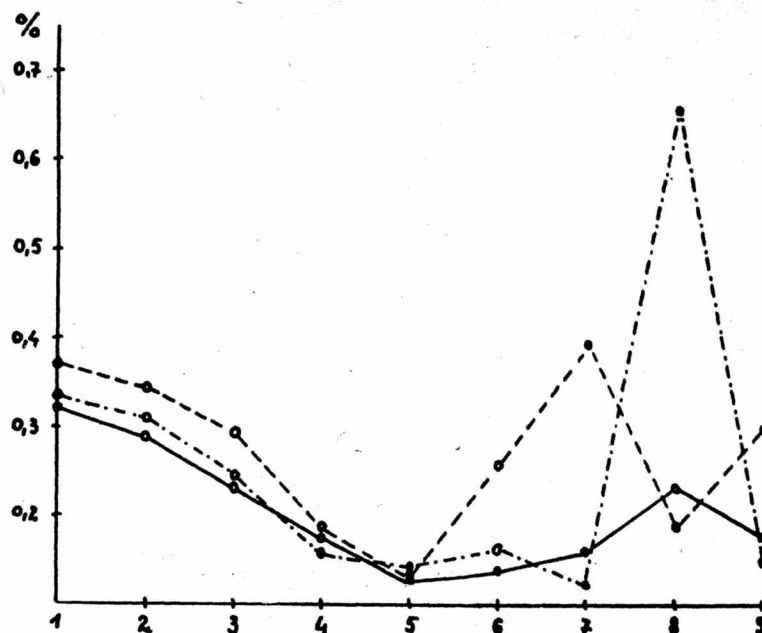
#### Získané výsledky.

Prvé tri zbery boli robené na počiatku intenzívneho rastu. Výsledky analýz v tejto fáze sú v tabuľke čís. 1. Stanovenie dusíka z prvého zberu u semenáča („Maďarská najlepšia“ bolo pokazené a pre malé množstvo materiálu nebolo možné ho opakovať. Z tabuľky čís. 1 vidieť, že obsah vápnika, dusíka i fosforu je vyšší u čínskych semenáčov ako u nášho (u draslíka je to naopak).

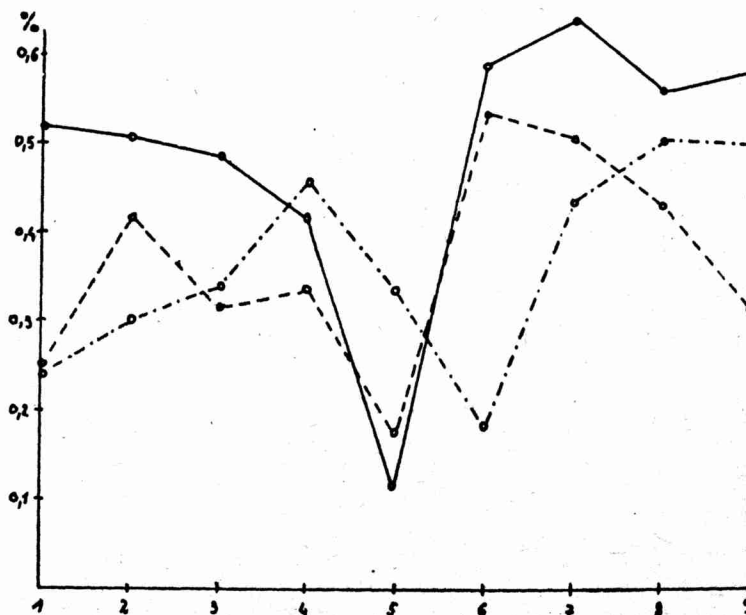
V druhej fáze v čase intenzívneho rastu sú pomery hodne komplikované (tab. čís. 2). Obsah prvkov u jednotlivých semenáčov sa znižuje a rozdiely medzi jednotlivými semenáčmi sa zmenšujú. U všetkých semenáčov nastal význačný pokles v čase piateho zberu.

Tretia fáza ukončovanie intenzívneho rastu ukazuje značné výkyvy a to u každého semenáča i u každého prvku (tab. čís. 3.).

Prehľadne o stave živín informujú grafy (1.—4.). Na grafe čís. 1. vidieť priebeh dusíka počas vegetačného obdobia. Obsah dusíka u čínskych semenáčov je vyšší ako u nášho. V piatom zbere nastáva pokles dusíka u všetkých seme-

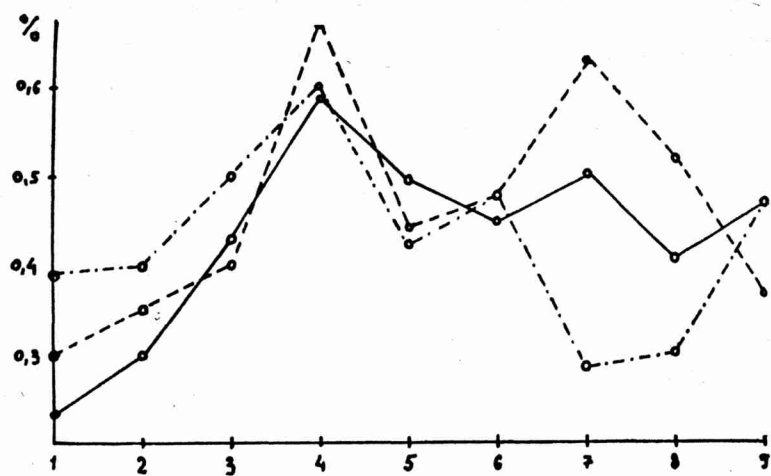


Graf čis. 2. Obsah fosforu v listoch nášho semenáča (T<sub>1</sub>) čínskeho 31 (2) a 36 (T<sub>3</sub>) za vegetačné obdobie v % vzhľadom k sušine.

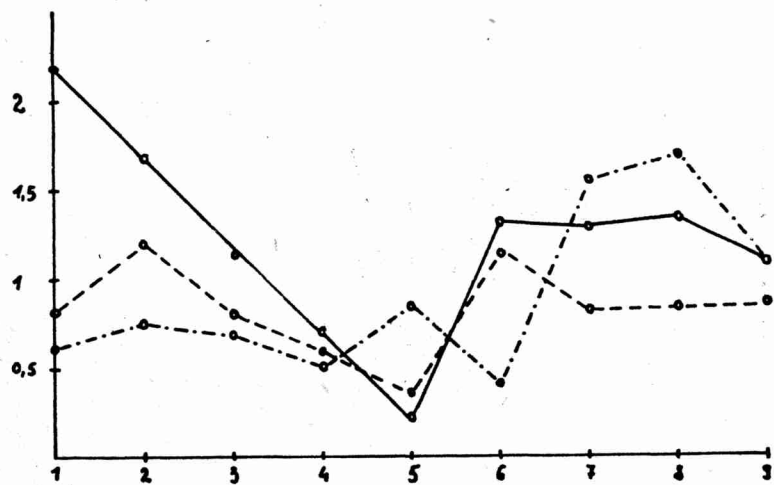


Graf čis. 3. Obsah draslíka v listoch nášho semenáča (T<sub>1</sub>) čínskeho 31 (T<sub>2</sub>) a 36 (T<sub>3</sub>) za vegetačné obdobie v % vzhľadom k sušine.





Graf čís. 4. Obsah vápnika v listoch nášho semenáča (T<sub>1</sub>) čínskeho 31 (T<sub>2</sub>) a 36 (T<sub>3</sub>) za vegetačné obdobie v % vzhľadom k sušine.



Graf čís. 5. Priebeh hodnot K/Ca u nášho semenáča (T<sub>1</sub>) u čínskeho 31 (T<sub>2</sub>) a 36 (T<sub>3</sub>) za vegetačné obdobie.

náčov a potom stúpnutie obsahu dusíka v našom semenáči nad čínske. V ďalšom priebehu vidno pokles v obsahu dusíka u nášho semenáča (8. zber) a potom nevelké stúpnutie; u obidvoch čínskych semenáčov nastáva len mierny pokles.

Hladinu fosforu nám ukazuje graf čí. 2. Vidíme, že obsah fosforu u čínskych semenáčov je vyšší ako u nášho a u 31 je obsah vyšší ako u 36. Obsah u všetkých pozvoľne klesá až ku piatemu zberu. Po piatom zbere (27. VI.) sa priebeh značne odlišuje. Kým u nášho semenáča nastáva pozvoľný vzostup (8. zber) u 31 vidno silný vzostup už od piatego zberu, ktorý kulminuje v siedmom zbere, potom mierne klesá a znova stúpne. Ešte pozoruhodnejší priebeh vidíme u 36, kde nastáva enormný vzostup v čase 8 zberu a potom pokles (9. zber). Z grafu teda vidno, že v druhej polovici vegetačného obdobia sa líšia čínske semenáče veľmi výrazne od nášho obsahom fosforu.

Veľmi zaujímavý je i priebeh draslíka (graf. čí. 3.). Na počiatku rastu vidíme u nášho semenáča dvojnásobný obsah draslíka v porovnaní s čínskymi. Potom nasleduje pozvoľný pokles, ktorý je najväčší v piatom zbere. Hneď však nastáva silný vzostup a dosahuje vyšších hodnôt ako u čínskych semenáčov. U 31 a 36 je na počiatku rastu obsah temer ten istý. U 31 potom nastáva stúpnutie (2. zber) a zase pokles v čase piatego zberu. V šiestom zbere je maximálny obsah draslíka a potom postupné klesanie. U 36 vidíme postupné pribúdanie draslíka (po 4. zber), potom pokles, ktorý však nastáva v šiestom zbere (na rozdiel od predošlých).

Obsah vápnika počas vegetačného obdobia ukazuje graf čí. 4. Na počiatku rastu je obsah vápnika vyšší u čínskych semenáčov ako u nášho. Potom u všetkých obsah stúpa. Maximum v každom prípade je v čase štvrtého zberu. V ďalšom priebehu vidno pokles a to od šiesteho zberu, kedy sa hladina obsahu vápnika u jednotlivých semenáčov výrazne líši. Obsah vápnika u nášho semenáča sa pohybuje zhruba v strede medzi obsahom u 31 a 36.

Zaujímavý obraz nám poskytuje graf čí. 5., kde je zachytený priebeh hodnôt K/Ca. Priebeh u nášho semenáča je presne priamočiary až po piaty zber, potom nastáva vzostup a ustálenie na hodnote 1,25. Priebeh tohto pomeru u 31 a 36 je značne odlišný. Na počiatku rastu je táto hodnota viac ako dvakrát nižšia ako u nášho semenáča, potom nastáva určité stúpnutie a v piatom zbere zníženie. Priebeh hodnoty K/Ca u 31 sa podobá priebehu u nášho semenáča. Priebeh u 36 sa líši od nášho i od 31. Ako poznamenáva Priehradný, Mego (8) rastliny rastú tým intenzívnejšie, čím majú vyššiu hodnotu K/Ca. Priebeh týchto hodnôt na grafe čí. 5. naznačuje teda časove odlišnú intenzitu rastu u našej marhule a u čínskych semenáčov.

#### S ú h r n.

Skúmala sa dynamika N, P, K, Ca listoch trojročných semenáčov marhule jedného nášho „Maďarská najlepšia“ a dvoch čínskych 31 a 36.

Vzorky boli brané deväťkrát za vegetačné obdobie: Na začiatku intenzívneho rastu, v dobe intenzívneho rastu a v čase ukončovania intenzívneho rastu. Bol zistený rozdielny obsah spomínaných živín v listoch nášho a čínskych semenáčov. Bol zistený rozdiel i medzi čínskymi semenáčmi. Kým 31 javí výkyvy v hladine živín časove zhodne s naším semenáčom, výkyvy obsahu živín u 36 sú spozdené a poukazujú na to, že 36 je neskoršia sorta.

Porovnali sa hodnoty K/Ca u nášho semenáča i u čínskych a bol zistený časový rozdiel v intenzite rastu.

Tab. 1. Obsah minerálnych prvkov v listoch marhúľ na počiatku intenzívneho rastu v %  
vzhľadom k sušine

| Prvok          | Dátum zberu | Maďarská najlepšia | 31   | 36   |
|----------------|-------------|--------------------|------|------|
| Dusík<br>(N)   | 9. V.       | 0                  | 2,16 | 2,23 |
|                | 15. V.      | 1,87               | 2,14 | 2,41 |
|                | 28. V.      | 1,84               | 2,55 | 2,28 |
|                |             |                    |      |      |
| Fosfor<br>(P)  | 9. V.       | 0,32               | 0,37 | 0,33 |
|                | 15. V.      | 0,29               | 0,34 | 0,31 |
|                | 28. V.      | 0,24               | 0,29 | 0,24 |
|                |             |                    |      |      |
| Draslík<br>(K) | 9. V.       | 0,52               | 0,25 | 0,24 |
|                | 15. V.      | 0,50               | 0,42 | 0,30 |
|                | 28. V.      | 0,48               | 0,32 | 0,34 |
|                |             |                    |      |      |
| Vápnik<br>(Ca) | 9. V.       | 0,23               | 0,30 | 0,39 |
|                | 15. V.      | 0,30               | 0,35 | 0,40 |
|                | 28. V.      | 0,43               | 0,40 | 0,50 |
|                |             |                    |      |      |

Tab. 2. Obsah minerálnych prvkov v listoch marhúľ vo fáze intenzívneho rastu v %  
vzhľadom k sušine

| Prvok          | Dátum zberu | Maďarská najlepšia | 31   | 36   |
|----------------|-------------|--------------------|------|------|
| Dusík<br>(N)   | 9. VI.      | 1,57               | 1,56 | 1,55 |
|                | 27. VI.     | 1,24               | 1,17 | 1,45 |
|                | 9. VI.      | 1,80               | 1,55 | 1,40 |
|                |             |                    |      |      |
| Fosfor<br>(P)  | 9. VI.      | 0,17               | 0,19 | 0,16 |
|                | 27. VI.     | 0,13               | 0,13 | 0,14 |
|                | 9. VI.      | 0,14               | 0,26 | 0,16 |
|                |             |                    |      |      |
| Draslík<br>(K) | 9. VII.     | 0,42               | 0,34 | 0,45 |
|                | 27. VI.     | 0,11               | 0,17 | 0,34 |
|                | 9. VII.     | 0,59               | 0,54 | 0,19 |
|                |             |                    |      |      |
| Vápnik<br>(Ca) | 9. VII.     | 0,58               | 0,69 | 0,59 |
|                | 27. VI.     | 0,49               | 0,44 | 0,42 |
|                | 9. VII.     | 0,44               | 0,47 | 0,47 |
|                |             |                    |      |      |

Tab. 3. Obsah minerálnych prvkov v listoch marhúl vo fáze ukončovania intenzívneho rastu v % vzhľadom k sušine

| Prvok       | Dátum zberu | Maďarská najlepšia | 31   | 36   |
|-------------|-------------|--------------------|------|------|
| Dusík (N)   | 16. VIII.   | 1,76               | 1,53 | 1,30 |
|             | 4. IX.      | 1,20               | 1,56 | 1,20 |
|             | 23. IX.     | 1,38               | 1,30 | 0,69 |
| Fosfor (P)  | 16. VIII.   | 0,15               | 0,39 | 0,13 |
|             | 4. IX.      | 0,23               | 0,19 | 0,65 |
|             | 23. IX.     | 0,18               | 0,30 | 0,15 |
| Draslík (K) | 16. VIII.   | 0,64               | 0,50 | 0,43 |
|             | 4. IX.      | 0,56               | 0,43 | 0,50 |
|             | 23. IX.     | 0,59               | 0,32 | 0,50 |
| Vápnik (Ca) | 16. VIII.   | 0,50               | 0,62 | 0,28 |
|             | 4. IX.      | 0,40               | 0,51 | 0,30 |
|             | 23. IX.     | 0,47               | 0,36 | 0,47 |

#### Literatúra

1. Jirak: Ueber enzymatischen Vorgängen des Welkens bei belaubten jungen Marillenbäumen, Gartenbauwissenschaft 17:18—38, 1943, cit. podľa Pestovanie marhul a ich predčasné hynutie.
  2. Dufrénoy: Hadromycoses, Annales des Epiphyties 14:195—212, 1927, cit. podľa Pestovanie marhul a ich predčasné hynutie.
  3. Défago: Sur quelques Valsées von Höhnel parasites des arbres á noyau dépérissant. Thèse, école Polytechnique Fédérale Zürich 7:1—105, 1935. Cit. RAM 1936, cit. podľa Pestovanie marhul a ich predčasné hynutie.
  4. Chabrolin: Notes et observations relatives aux dépérissements de l'abricotier. Annales des Epiphyties 14:355—376, 1929, cit. podľa Pestovanie marhul a ich predčasné hynutie.
  5. Pastýrik L.: Skúsenosti s pestovaním marhule v jej pravlasti — Číne. Pestovanie marhul a ich predčasné hynutie, str. 68, 1958.
  6. Navara J., diplomová práca 1960: Štúdium aminokyselín v listoch marhule „*Prunus armeniaca* L.“
  7. Priehradný St., Mego Vl., Erdelský K.: Príspevok k minerálnemu zloženiu niektorých našich ovocných drevín, Act. Fac. R. N. Univ. Com. Bot. II. 7—9, 1958, str. 355.
  8. Priehradný St., Mego Vl.: Dynamika minerálnych živín v listoch marhule počas vegetačného obdobia. Act. Fac. R. N. Univ. Com. Bot. IV. 1—2, 1959, str. 47.
- Adresa autorov: Katedra fyziológie a biológie rastlín Univerzity Komenského, Bratislava, Odborárske námestie 12.
- Do redakcie dodané 25. V. 1960.

**Сравнительная студия о содержании основных питательных веществ в листьях нашего семенного растения и китайских семенных растений абрикоса в течение вегетационного периода.**

Я. Навара, О. Немчек

#### Резюме

Изучалась динамика N, P, K и Ca в листьях трехлетних семенных растений абрикосов одного нашего сорта „Лучшая венгерская“ и двух китайских сортов: 31 и 36.

В течение вегетационного периода были образцы листьев взяты девять раз: вначале интенсивного роста, во время интенсивного роста и во время окончания интенсивного роста.

Было установлено различное содержание упомянутых питательных веществ в листьях наших и китайских семенных растений. В то время, как у сорта 31 отклонения уровня питательных веществ соглашаются с отклонениями, установленными у нашего сорта, у сорта 36 они опоздаются и показывают, что 36 является более поздним сортом.

Сравнивались также величины K/Ca у нашего сорта и у китайских сортов, причем была обнаружена временная разница интенсивности роста.

### Ein Vergleich zwischen dem Gehalt der Grundnährstoffe in den Blättern unseres Sämlings und der chinesischen Abrikosensämlinge im Verlauf

O. Nemček — J. Navara

#### Zusammenfassung.

Es wurde Dynamik der N, P, K, und Ca in den Blättern der dreijährigen Abrikosensämlinge von der Sorte „Ungarische beste“ und zweier chinerischer Sorten: 31 und 36 untersucht.

Musterblätter wurden im Verlauf einer Vegetationsperiode neunmal abgenommen: im Beginn des intensiven Wachstums, im Verlauf des intensiven Wachstums und zur Zeit der Vollendung des intensiven Wachstums. In der Blättern unseres Samenbaumes wurde im Vergleich mit denen der beiden chinesischen Sorten ein unterschiedlicher Gehalt der erwähnten Nährstoffe festgestellt. Auch unter den beiden chinesischen Sämlingen wurde in dieser Hinsicht ein Unterschied bemerkt. Während bei der Sorte 31 und beim unseren Sämling die Abweichung im Nährstoffniveau zeitlich übereinstimmen, kommen dieselbe beim Muster 36 zeitlich verspätet vor und beweisen dadurch, dass 36 eine spätere Sorte sein muss.

Es wurden ausserdem noch K/Ca-Werte bei unseren Sämling und bei den beiden chinesischen Sämlingen miteinander verglichen, wobei ein zeitlicher Unterschied in der Wachstumsintensität festgestellt wurde.

## **Príprava trvalých roztlakových a rozterových cytologických preparátov.**

A. MURÍN.

Roztlakové a rozterové metódy sú pri karyologickom štúdiu veľmi často používané pre svoju rýchlosť, jednoduchosť a dobré výsledky. Najväčšieho rozšírenia dosiahli pri štúdiu polyploidie. No, sú úspešne používané aj pri sledovaní vlivu rôznych chemických látok ako aj rôznych druhov žiarenia na buňku a bunečné delenie.

Sú založené v podstate na metóda karmino-octovej vypracovanej Bellin-  
gom (1) a Heitzom (4) a rozpracovanej pozdšie mnohými autormi (3, 6, 11). K ich rozšíreniu tiež značne prispelo použitie Feulgenovej nukleálnej reakcie na roztlaky (5). Pre štúdium počtu a tvaru chromozómov boli popísané rôzne predfixačné činidlá (8, 9, 12, 13, 14), ktoré rozrušujú deliace vretienko, spôsobujú skrátenie a vyrovnanie chromozómov a tým umožňujú lepšie roztlačenie a rozostupenie chromozómov v buňke.

Roztlakové preparáty sa najčastejšie robia v kvapke 45% kyseliny octovej alebo priamo v príslušnom aceto-farbive. Určitou nevýhodou takýchto preparátov je krátka trvanlivosť. Preto boli vypracované a popísané rôzne metódy ako urobiť roztlakový, či rozterový preparát trvalým (7, 8, 15, 16).

Jedným zo spôsobov ako previesť roztlakový, či rozterový preparát do trvalého stavu je uzatváranie do kanadského balzamu. V tom prípade oddelí sa krycie sklíčko do podložného a spolu sa prevádzajú alkohol-xylolovou radou. Pre lepšie oddeľovanie sklíčok necháva sa krycie sklíčko odplaviť v 10% kyseline octovej (7), 70% alkohole (12), v terciárnom butylalkohole (14) alebo v zmesi kyseliny octovej a alkoholu (9).

Avšak i pri najväčšej opatrnosti dochádza k tomu, že sa roztlak, či rozter pri prevádzaní alkohol-xylolovou radou zmýva zo sklíčok. Aby sme tomu zabránili a súčasne získali dobrý roztlak, použili sme v našej metodike celofánovú fóliu namiesto krycieho sklíčka. Pod ňou sa dá objekt veľmi dobre roztlačiť a po prilepení roztlačených buniek v parách formaldehydu dá sa ľahko stiahnuť z podložného sklíčka bez poškodenia roztlaku, ktorý ostáva na podložnom sklíčku.

Nami vypracovaná metodika (17) dovoľuje tiež veľmi dobre využiť rôzne fixačné a maceračné tekutiny ako aj farbivá podľa povahy objektu. Tak môžeme použiť popri alkohol-octovej fixácii celý rad iných výborných cytologických fixácií ako je Flemingova, Navašínova, Bendova, Lewitského, La Cour 2BD a i. Podľa toho však treba vhodne voliť aj maceračnú tekutinu. Zatiaľ čo po alkohol-octovej fixácii je vhodná macerácia kyselinou soľnou, tak po fixáciách s kyselinou osmičelou je vhodnejšia maceračná tekutina s peroxydom vodíka (2) alebo 1%

kyselina chrómová (6). V našich prácach sme okrem toho používali chromo-formol-octovú fixáž, ktorá objekt fixuje a súčasne aj maceruje.

#### Celkový metodický postup.

1. Mladé koreňky, vegetačné vrcholky, semeníky alebo prášniky fixujeme chromo-formol-octovou fixážou nasledujúceho zloženia:

|                       |           |
|-----------------------|-----------|
| 1 % kyselina chrómová | 10 ccm,   |
| 10 % kyselina octová  | 1 ccm,    |
| 40 % formaldehyd      | 2 kvapky. |

Doba pôsobenia 24 hodín.

Pre štúdium počtu a tvaru chromozómov sa nám osvedčila predfixáž nasýteným roztokom paradichlórbenzenu (8), počas 3 hodín.

2. Po fixácii a macerácii dáme objekt na podložné skličko natreté glycerín-bielkom. Na objekt položíme vlhkú celofánovú fóliu. (Celofánové fólie veľkosti krycieho sklička 22x20 mm si nastroháme do zásoby, dáme do nádoby s destilovanou vodou, odkiaľ si ich v čase potreby berieme. Celofan dostať bežne kúpiť v papiernických predajniach.) Poklepeme mierne na objekt gumovou zátkou a rozvalkáme skúmavkou, čím roztlačíme bunky do jednej vrstvy a vytlačíme z pod fólie vodu. Vytlačenú vodu odsajeme filtračným papierom. Kvalitu roztľaku si môžeme skontrolovať pod mikroskopom. Potrebne je, aby celofánová fólia priliehala celou plochou na podložné skličko.
3. Takto pripravený roztľakový preparát dáme do kyvety, v ktorej na dne je malé množstvo (cca 2 ccm) formaldehydu sa roztlačené bunky prilepia na podložné skličko.
4. Po 45 minútach stiahneme pinzetou z preparátu celofánovú fóliu a dáme preparáty premývať do tečúcej vody na 24 hodín.
5. Omyté preparáty môžeme farbiť vhodným farbivom, previesť alkohol-xylolovou radou a uzatvárať do kanadského balzamu.

Pri používaní iných fixáží a maceračných tekutín líši sa celkový postup v trvaní tej-ktorej fixácie, macerácie a dobe premývania.

Pri použití fixáží s kyselinou osmičelnou je postup nasledovný:

1. Fixácia 24 hodín.
2. Premývanie vo vode 10 minút.
3. Macerácia v zmesi nasýteného roztoku šťavelanu amonného a 6 % peroxydu vodíka (1:1), počas 10–20 minút.
4. Premývanie v tečúcej vode 20–30 minút.
5. Roztlačenie a prilepenie horeuvedeným spôsobom.
6. Premývanie v tečúcej vode 30–60 minút.
7. Farbenie vhodným farbivom.

Pri macerácii 1 % kyselinou chrómovou je postup takýto:

1. Fixácia 24 hodín.
2. Macerácia v 1 % kyseline chrómovej 2–24 hodiny.
3. Roztlačenie a prilepenie horeuvedeným spôsobom.
4. Premývanie v tečúcej vode 24 hodín.
5. Farbenie.

Pri použití alkohol-octovej fixáže je postup nasledovný:

1. Fixujeme alkohol-octovou fixážou (3:1), počas 1–24 hodín.
2. Macerujeme v zmesi koncentrovanej kyseliny soľnej a 96 % alkoholu (1:1), 3–10 minút alebo v N/HCl pri 60 °C počas 10–20 minút.

3. Vypierame vo vode 10—20 minút.
4. Roztláčime a prilepíme horeuvedeným spôsobom.
5. Premývanie v tečúcej vode 10—20 minút.
6. Omyté preparáty môžeme farbiť vhodným farbivom.

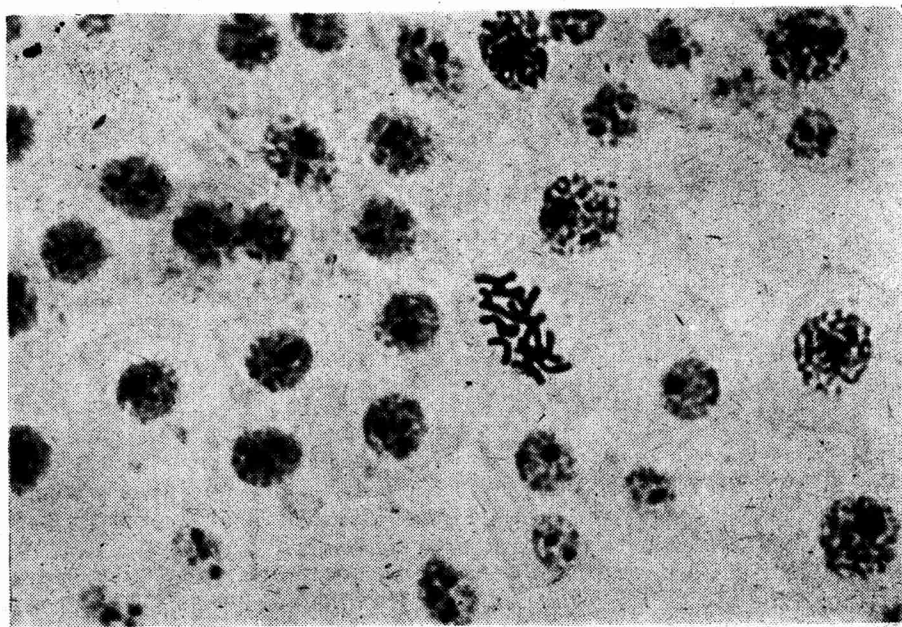
#### Farbenie.

Pre farbenie pripravených roztlakových preparátov môžeme použiť celú škálu farbív tak ako pri parafínových rezoch (gentianová violet, Feulgenova reakcia, heamatoxilín, brazilín, metylová zeleň-pyronin, aceto-karmin, aceto-orcein, aceto-nigrozín a i.).

V našich prácach sme najčastejšie používali farbenie gentianovou violetou a Feulgenovu reakciu. Postup, ktorý sme používali je nasledovný:

##### A.) Farbenie gentianovou violetou.

1. Farbenie v 0,5% vodnom roztoku počas 20—40 minút.
2. Opláchnutie vodou.
3. 80% alkohol, 1 min. a kratšie.
4. 96% alkohol, 3 minúty.
5. Absolutný alkohol, 5 minút.
6. Diferencovanie v hrebíčkovom oleji.
7. Xylol, 5 minút.
8. Xylol, 5 minút.
9. Uzatváranie do kanadského balzamu.

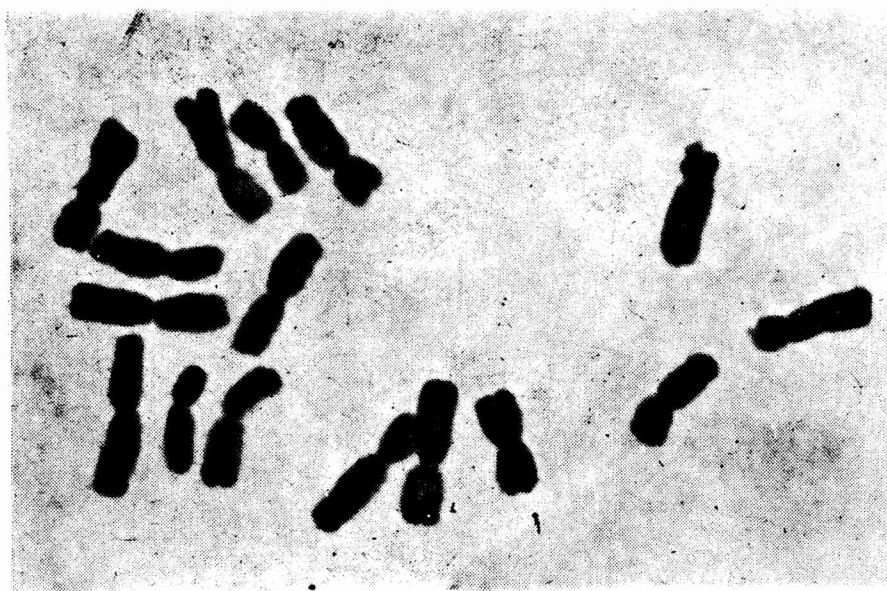


Obr. 1. Metafáza u *Allium cepa*. Fixované chrom-formol-octovou fixažou a roztláčené pomocou celofanovej fólie. Farbené gentianovou violetou. (zväčš.  $\times 240$ ).



B.) Feulgenova nukleálna reakcia.

1. Hydrolýza v N/HCl pri 60 °C počas 10–20 minút. (Ak nebola prevedená hydrolýza pred tým.)
2. Schifovo reagens, 1–2 hodiny.
3. 45% kyselina octová, opláchnuť.
4. 45% kyselina octová — alkohol 96%, 1:1, 1 minútu.
5. 45% kyselina octová — alkohol 96%, 1:3, 2 minúty.
6. 45% kyselina octová — alkohol 95%, 1:6, 3 minúty.
7. 45% kyselina octová — alkohol 95%, 1:9, 5 minút.
8. Absolutný alkohol, 5 minút.
9. Absolutný alkohol — xylol, 3:1, 5 minút.
10. Absolutný alkohol — xylol, 1:1, 5 minút.
11. Absolutný alkohol — xylol, 1:3, 5 minút.
12. Xylol, 5 minút.
13. Uzatváranie do kanadského balzamu.



Obr. 2. Chromozómy u *Allium cepa* L. Prefixaž paradichlorbenzenom; fixaž alkohol-octová (3:1). Roztlačené pomocou celofanovej fólie. Feulgenová reakcia a svetlá zeleň. (zväčš.  $\times 1200$ ).

Uvedená metóda zhotovovania trvalých roztakových a rozterových preparátov ako aj spôsoby farbenia môžu byť ešte podľa potreby rôzne pozmenené. Tak môžeme farbiť objekt (vcelku) ešte pred vlastným roztlakom ako sa to často používa pri Feulgenovej reakcii a acetonnigrosine.

V našich prácach sme úspešne používali popísanej metódy u týchto druhov rastlín: *Allium cepa* L., *Allium sativum* L., *Allium ascalonicum* L., *Beta vulgaris* L., *Canabis sativa* L., *Cucumis sativus* L., *Pisum sativum* L. a *Triticum vulgare* Vill.

### С ú h r n.

Bola vypracovaná nová metóda zhotovovania trvalých roztlakových a rozterových cytologických preparátov. Stručný postup je takýto: Objekty fixujeme chromo-formol-octovou fixážou počas 24 hodín, ktorá súčasne objekt maceruje. (Možno použiť aj inú vhodnú fixačnú a maceračnú tekutinu). Po fixácii a macerácii dáme objekt na podložné sklíčko natreté glycerin-bielkom. Na objekt položíme vlhkú celofánovú fóliu veľkosti krycieho sklíčka. Poklepeme mierne na objekt gumovou zátkou a rozvaľkáme skúmavkou, čím roztláčime bunky do jednej vrstvy. Vytlačenú vodu odsajeme filtračným papierom. Takto pripravený roztlakový preparát dáme na 45 minút do kyvety, v ktorej na dne je malé množstvo formaldehydu. V parách formaldehydu sa roztláčené bunky prilepia na podložené sklíčko. Po 45 minútach stiahneme pinzetou z preparátu celofánovú fóliu a dáme preparáty premývať do tečúcej vody na 24 hodín. Omyté preparáty môžeme farbiť vhodným farbivom, previesť alkohol-xyolovou radou a uzatvárať do kanadského balzamu.

### L i t e r a t ú r a

1. Belling J. 1921. On counting chromosomes in pollen mother cells. Amer. Nat. 55, 573—574.
  2. Ford C. E. (cit. Revell S. H. 1959. The accurate estimation of chromatid breakage. Proc. Roy. Soc. B, 150, 563—589.
  3. Geitler L. 1949. Schnellmethoden der Kern- und Chromosomenuntersuchungen. Wien.
  4. Heitz E. 1925. Beitrag zur Cytologie von Melandrium. Planta. 1, 241—259.
  5. Heitz E. 1935. Die Nukleol-Quetschmethode. Ber. dtsch. bot. Ges. Bd. LIII, 870—878.
  6. La Cour L. F. 1954. Smear and squash techniques in plant cytology. Lab. Pract. 3, 326—330.
  7. Mc Clintock B. 1929. A method for making aceto-carmin smears permanent. Stain Tech. 4, 53—56.
  8. Meyer J. R. 1943. Colchicine-Feulgen leaf smears. Stain Tech. 18, 53—56.
  9. Meyer J. R. 1945. Prefixing with paradichlorobenzene to facilitate chromosome study. Stain Tech. 20, 121—125.
  10. Pazourková Z., Pazourek J. 1955. Nová modifikace nigrosinové metody. Preslia. 27, 442—446.
  11. Rosen G. 1947. The rapid nigrosine-method for chromosome counts applicable to all the growing tissues of the plant. Hereditas. 33, 567—570.
  12. Sharma A. K., Bhattacharjee D. 1952. Permanent mounts of chromosome after 8-oxy-quinoline and squashing. Stain Tech. 27, 201—203.
  13. Sharma A. K., Mookerjee A. 1955. Paradichlorobenzene and other chemicals in chromosome work. Stain Tech. 30, 1—7.
  14. Sharma A. K., Sharma A. 1957. Permanent smears of leaf tips for the study of chromosomes. Stain Tech. 32, 167—169.
  15. Taylor W. R. 1924. The smear for plant cytology. Bot. Gaz. 78, 236—238.
  16. Zirkle C. 1937. Acetocarmin mounting media. Science. 85, 528.
  17. Murin A. 1960. Substitution of cellophane for glass covers to facilitate preparation of permanent squashes and smears Stain Tech. 35, 351—353.
- Adresa autora: Katedra fyziológie a biológie rastlín Univerzity Komenského, Bratislava, Odborárske námestie 12.  
Do redakcie dodané 15. IV. 1960.

### Составление прочных разжимных и растирочных цитологических препаратов

A. Murin

### Резюме

Разработан новый метод составления прочных разжимных и растирочных цитологических препаратов. Ход работы вкратце следующий: объекты фиксируем хром-формол-уксусным в течение 24 часов. (причем можно применять также какой-нибудь другой фиксаж и другую мацерационную жидкость). После фиксации и мацерации в этой жидкости положим объект на покладное стеклышко, намазанное глицерин-белком. На объект положим влажную целлофановую фольгу размеров прикрывального стекла. Похлопаем

слегка на объект резиновой пробкой и раскатаем пробиркой, причем раздавлием клетки до одного слоя. Выдавленную воду высосаем фильтровальной бумагой. Так приготовленный препарат положим на 45 мин. у кюветку, у которой есть на дне небольшое количество (около 2 см) формальдегида. В парах формальдегида прикрепятся раздавленные клетки на подкладное стеклышко. После 45 минут снимем из препарата целлофановую фольгу и положим препараты в текущую воду, в которой они промываются в течение 12–24 часов. Промытые препараты можно закрасить подходящей краской, перевести алкогольной очередью и сложить в канадский бальзам.

### Technique of permanent squash and smear preparations.

A. Murín.

#### Abstract.

To obtain permanent squash and smear preparations the following method has been worked out. The objects are fixed in chrom-formol-acetic fluid for 12–24 hours, (some other suitable fixative and maceration fluid may be used too). The object is put on slide on which glycerine-albumen had been spread. When it is covered with a wet square of cellophane (22×20 mm). Now the object is moderately tapped with rubber bottle stopper and rolled by help of test tube so that the cells are squashed one layer. The pressed out water is blotted by filter paper. Thus treated squash preparation is placed into a slides jar in which there is a small amount (cca 2 ccm) of formaldehyde on the bottom; in its vapours the cells attach to the slide. After 45 min. the cellophane is pulled off the preparation by pincers. In order to remove formaldehyde the preparations are put in running water for 24 hours. The washed preparations may be stained by some suitable stain, dehydrated and mounted in Canada balsam.





## ACTA FACULTATIS RERUM NATURALIUM UNIVERSITATIS COMENIANAÉ

sú fakultný zborník určený k publikáciám vedeckých prác interných a externých učiteľov našej fakulty, interných a externých aspirantov a našich študentov. Absolventi našej fakulty môžu publikovať práce, v ktorých spracovávajú materiál získaný za dobu pobytu na našej fakulte. Redakčná rada vyhradzuje si právo z tohto pravidla urobiť výnimku.

Publikovať možno v jazyku slovenskom alebo českom, prípadne v ruskom alebo anglickom, francúzskom alebo nemeckom. Práce podané na publikovanie majú byť písané strojom na jednej strane papiera, ob riadok, tak aby jeden riadok tvorilo 60 úderov a na stránku pripadlo 30 riadkov. Rukopis treba podať dvojmo a upraviť tak, aby bolo čo najmenej chýb a preklepov. Nadmerný počet chýb zdražuje tlač a ide na účet autora.

Rukopis upravte tak, že najprv napíšete názov práce, pod to meno autora. Pracovisko, pokiaľ je na našej fakulte, sa neuvádza. Iba tam, kde je viac spolupracovníkov a niektorý z nich je z mimofakultného pracoviska, sa uvádzajú všetky pracoviská. Tiež tam, kde práca bola vypracovaná na dvoch pracoviskách, treba ich obidve uviesť.

Fotografie načím podať na čiernom lesklom papieri a uviesť zmenšenie a/ text pod obrázok. Kresby treba previesť tušom na priehladnom papieri (pauzák) alebo na rysovacom papieri a taktiež uviesť zmenšenie a text pod obrázok.

Každá práca musí mať rezumé v ruskom a niektorom západnom jazyku. K prácam, publikovaným v cudzom jazyku, načím pripojiť rezumé v slovenskom (českom) jazyku a v jazyku západnom v prípade publikácie v ruskom jazyku, alebo v ruskom jazyku v prípade publikácie v jazyku západnom. **Nezabudnite pri rezumé uviesť vždy názov práce a meno autora v rovnakom poradí ako v základnom texte.** Za správnosť prekladu zodpovedá autor.

Autori dostávajú stĺpcové a zlámané korektúry, ktoré treba do 3 dní vrátiť. Rozsiahlejšie zmeny behom korektúry idú na ťarchu autorského honoráru. Každý autor dostane okrem príslušného honoráru i 50 separátov.

Redakčná rada.

# OBSAH

|                                                                                                                                                                                                |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Nemec P., L. Ebringer, J. Balan a D. Šatura: Nová surovina pre výrobu penicilínu . . . . .                                                                                                     | 587 |
| Herich R.: Príspevok k mechanizmu pôsobenia giberelínu na rast, dynamiku voľných aminokyselín a vodný metabolizmus v priebehu bobtnania a klíčenia semien konopi (Cannabis sativa L.). . . . . | 624 |
| Herich R.: Kyselina giberelová a pohlavná diferenciácia rastlín . . . . .                                                                                                                      | 632 |
| Priehradný S. — V. Kozinka: Vplyv vápnika na niektoré vlastnosti metabolizmu klíčkov Cucumis sativus v závislosti od formy dusíka. . . . .                                                     | 635 |
| Ebringer L. — M. Múčková: Zámena tiamínu bacitracínom u heterotiamínovej pleseň Phycomyces blakesleeae . . . . .                                                                               | 653 |
| Nemček O. — J. Navara: Porovnanie obsahu základných živín v listoch nášho semenáča a čínskych semenáčov marhule počas vegetačného obdobia. . . . .                                             | 663 |
| Murín A.: Príprava trvalých roztlakových a rozterových cytologických preparátov . . . . .                                                                                                      | 671 |

\* \* \*

|                                                                                                                                                                                                            |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Немец П., Л. Эбрингер, Й. Балан, и А. Шатура: Новое сырье для производства пенициллина . . . . .                                                                                                           | 608 |
| Герих Р.: К вопросу механизма действия гиббереллина на рост, динамику свободных аминокислот и метаболизм воды во время набухания и прорастания семян конопли (Cannabis sativa L.). . . . .                 | 625 |
| Герих Р.: Гиббериллиновая кислота и половая дифференциация растений . . . . .                                                                                                                              | 632 |
| Приеградны С. — В. Козинка: Влияние кальция на некоторые свойства метаболизма у ростка Cucumis sativus в зависимости от формы азота . . . . .                                                              | 650 |
| Эбрингер Л. — М. Мучкова: О возможности замещения тиамина бацитрацином у Phycomyces blakesleeae . . . . .                                                                                                  | 661 |
| Навара Я. — О. Немчек: Сравнительная студия о содержании основных питательных веществ в листьях нашего семенного растения и китайских семенных растений абрикоса в течение вегетационного периода. . . . . | 669 |
| Мурин А.: Составление прочных разжимных и растирочных цитологических препаратов. . . . .                                                                                                                   | 675 |

\* \* \*

|                                                                                                                                                                                                          |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Nemec P., L. Ebringer, J. Balan und D. Šatura: Ein neuer Rohstoff zur Penizillinerzeugung . . . . .                                                                                                      | 608 |
| Herich R.: Beitrag zum Wirkungsmechanismus von Gibberellin auf Wuchs, Dynamik der freien Aminosäuren und Wassermetabolismus während der Quellung und Keimung von Hanfsamen (Cannabis sativa L.). . . . . | 609 |
| Herich R.: Gibberellinsäure und Geschlechtsdifferentiation der Pflanzen. . . . .                                                                                                                         | 627 |
| Priehradný S. — V. Kozinka: Über den Einfluss von Kalzium auf manche Eigenschaften des Metabolismus bei dem Spross von Cucumis sativus in der Abhängigkeit von der Form des Stickstoffs. . . . .         | 650 |
| Ebringer L. — M. Múčková: Die Vertretung des Thiamins durch Bacitracin beim Schimmelpilz Phycomyces blakesleeae . . . . .                                                                                | 661 |
| Nemček O. — J. Navara: Ein Vergleich zwischen dem Gehalt der Grundnährstoffe in den Blättern unseres Sämlings und der chinesischen Aprikosensämlinge im Verlauf der Vegetationsperiode. . . . .          | 670 |
| Murín A.: Technique of Permanent Squash and Smear Preparations. . . . .                                                                                                                                  | 675 |