

VYSOKÁ ŠKOLA STROJNÍ A TEXTILNÍ V LIBERCI
nositelka Řádu práce
fakulta textilní

Obor: 3 1 - 1 2 - 8
technologie textilu a oděvnictví

Zaměření: netkané textilie a zušlechťování
Katedra chemie a zušlechťování

KCHZ - 148

Název: I d e n t i f i k a c e b i o l o g i c k y
n a p a d e n é h o d ř e v a j a b l o n í
b a r v e n í m

Autor: Zuzena Hemenová

Vedoucí diplomové práce: Doc. Ing. Jaroslav Odvárka, CSc

Konzultanti: Jaroslava Perková

Ing. Renata Karešová, Výzkumný ústav ovoc-
nářský a šlechtitelský Holovousy

Rozsah práce a příloh:

počet stran	57
počet tabulek	12
počet obrázků	2

V Liberci
11.5. 1987

Vysoká škola: strojní a textilní Fakulta: textilní
Katedra: chemie a zušlechťování Školní rok: 1986/1987

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

pro s. Zuzanu Hamanovou
obor 31-12-8 technologie textilu a oděvnictví

Vedoucí katedry Vám ve smyslu nařízení vlády ČSSR č. 90/1980 Sb., o státních závěrečných zkouškách a státních rigorózních zkouškách, určuje tuto diplomovou práci:

Název tématu: Identifikace biologicky napadaného dřeva jabloní
barvením.

Zásady pro vypracování:

VYSOKÁ ŠKOLA STROJNÍ A TEXTILNÍ
Ústřední knihovna
LIBEREC 1, STUDENTSKÁ 8
PSČ 461 17

- 1) Zpracujte literární rešerši k danému tématu.
- 2) Odzkoušejte základní třídy barviv pro barvení celulózy k rozlišení zdravého a napadaného dřeva.
- 3) Proveďte vhodnou předúpravu dřeva a kromě barviv použijte též roztoky jódu.
- 4) Výsledky barvicích testů uspořádejte tabelárně a dokumentujte barevnými fotografiemi.

<u>O B S A H</u>	Strana
Seznam použitých zkratk a symbolů	7
I. Ú v o d	8
II. T e o r e t i c k á č á s t	
II.1. Vývoj názorů na původ proliferace jabloně	10
II.2. Charakteristika mikroorganismů připo- mínajících mykoplasmy /MLO/	
II.2.1. Taxonomie MLO	11
II.2.2. Morfologie a ultrastruktura MLO	12
II.2.3. Reprodukce MLO	13
II.3. Příznaky proliferace jabloně	14
II.4. Anatomická stavba dřeva	15
II.5. Základní stavební jednotky dřeva. Diferenciace pletiv	17
II.6. Chemické složení dřeva	
II.6.1. Klasifikace látek ve dřevě	21
II.6.2. Celulóza	21
II.6.3. Hemicelulózy	22
II.6.4. Lignin	23
III. R o z b o r p r o b l é m u a c í l e d i p l o m o v é p r á c e	25
IV. E x p e r i m e n t á l n í č á s t	
IV.1. Použitý materiál	27
IV.2. Použitá barviva a chemikálie	28
IV.3. Provedení experimentu	29
IV.3.1. Pokusy prováděné na odrůdě GOLDEN DELICIOUS	30

IV.3.2. Pokusy prováděné na odrůdě

JAMES GRIEWE 39

V. Z á v ě r 54

Seznam použité literatury 56

S E Z N A M P O U Ž I T Ý C H Z K R A T E K

A S Y M B O L Ů

- MLO - mycoplasma - like organismus
AWB - proliferace jabloně
ARW - gumovitost jabloně
ALl - latentní viry, trojkomplex SPW,SGW,SDW
Z - vzorek zdravé větvičky
N, N_I - vzorek větvičky napadené proliferací
N_{II} - vzorek větvičky napadené proliferací a gumovitostí
N_{III} - vzorek s latentními viry
a - vzorek z vrchní části větvičky
b - vzorek ze spodní části větvičky
A,B,C,D,E,F - jednotlivé postupy barvení

I. Ú V O D

Závěry XVII. sjezdu KSČ a předcházející zasedání ÚV KSČ kladou důraz na všestranné zvyšování efektivnosti rozvoje národního hospodářství a plné uplatnění intenzivních faktorů růstu, především společenské produktivity práce, dále na snižování materiálové a energetické náročnosti výroby a vyšší využívání základních fondů při širokém uplatňování vědeckotechnického pokroku, účinných moderních metod řízení a vyšších forem mezinárodní socialistické integrace.

Ochrana ovocných dřevin před chorobami patří k nejdůležitějším úsekům pěstování rostlin, které jsou nezbytné pro výživu obyvatel. Je nutné, aby byla prováděna správně a podle vědeckých poznatků, protože jen tak může sloužit našemu ovocnářství. /8/

Nákaza ovocných dřevin proliferací je v posledních desetiletích předmětem intenzivního studia jak u nás, tak v zahraničí. Tato choroba je v ČSSR mnohem více rozšířena než se předpokládalo před několika lety. Hospodářsky jde o velmi výraznou chorobu, jejíž rozšíření ve velkovýsadách může vážně ohrozit úrodnost, kvalitu úrody jabloní, případně může mít za následek postupné hynutí stromů, prořídnutí sadů a jejich celkové znehodnocení. Je bezpodmínečně nutné, aby pěstitelé ovocných stromů dobře a včas poznali příznaky této choroby a mohli zabránit šíření. /2,5/

Ve své práci jsem se snažila najít takový barvící

postup, kterým by se dalo barevně odlišit dřevo jabloně ze zdravého stromu a stromu napadeného proliferací.

/Tato problematika je podrobněji rozebrána v kapitole III./

Uvedený postup by umožnil mnohem rychlejší identifikaci této choroby a včasné odstraňování napadených stromů.

II. 1.2 VÝVOJ NÁZORŮ NA PŮVOD PROLIFERACE

Proliferace jableň je v Evropě známa jako nemoc, která způsobuje rychlé velké ekonomické ztráty.

Poprvé tato nemoc byla zjištěna v Itálii na začátku 19. století. Předpokládá se, že v některých státech, zejména v ČSSR, je tato nemoc postihuje až 50% jableň. (Said 1969)

Kulder (1974), Saidi a Ciferri (1974) dokázali na základě příznaků a způsobu přenosu, že proliferace má virový původ. Ke stejnému závěru došli Elmer a Bovey (1977).

II. T E O R E T I C K Á Č Á S T

V roce 1968 Gladstone a jeho spolupracovníci sledovali poprvé napadené stromy pomocí elektronického mikroskopu. Ve stromě bylo zjištěno, že napadené stromy obsahují malé částice, které mají podobu virusu. (Gladstone 1968)

V roce 1970 Gladstone a jeho spolupracovníci sledovali poprvé napadené stromy pomocí elektronického mikroskopu. Ve stromě bylo zjištěno, že napadené stromy obsahují malé částice, které mají podobu virusu. (Gladstone 1970)

V roce 1970 Gladstone a jeho spolupracovníci sledovali poprvé napadené stromy pomocí elektronického mikroskopu. Ve stromě bylo zjištěno, že napadené stromy obsahují malé částice, které mají podobu virusu. (Gladstone 1970)

II. 1. VÝVOJ NÁZORU NA PŮVOD PROLIFERACE

Proliferace jabloně je v Evropě známá jako nemoc, která způsobuje rychle velké ekonomické ztráty.

Poprvé tato nemoc byla zjištěna v Itálii na začátku našeho století. Předpokládá se, že v některých státech, zejména v ČSSR je touto nemocí postiženo 40 až 50% jabloní. /Seidl 1965/

Mulder -1953, Rafati a Ciferi /1954/ dokázali na základě příznaků a způsobů přenosu, že proliferace má virový původ. Ke stejnému závěru došel i Blumer a Bovey /1957/. /2/

V roce 1967 vyvolala značné překvapení zpráva japonských autorů, že v sítkovicích napadených rostlin jsou přítomny mikroorganismy, připomínající zástupce rodu Mycoplasma. /3/

V roce 1968 Giannotti a jeho spolupracovníci sledovali poprvé napadenou tkáň odrůdy Malus sylvestris pomocí elektronového mikroskopu. Ve tkáni listů byly zjištěny mykoplasmatické částice o průměru 90 - 900 μm hodně nasycené rybosomama. Ke stejným závěrům přišel později i Amici /1972/.

V roce 1970 podobné zkoušky s pomocí elektronového mikroskopu dělal Eftimia George /Institut sadeřství Budapešť/. Mykoplasma byla zjištěna na květech jabloně napadené proliferací. Bylo zjištěno, že v jednotlivých částech květu jabloně se mykoplasma vyskytuje ve speciální vláknité formě. /2/

Následovala záplava prací, které korigovaly dosavadní představy virové etiologie nálezem mikroorganismů podobných mykoplasměm /mycoplasma-like organismus - MLO/ v nemocných rostlinách.

Již 3 roky po oznámení prvních výsledků vyšel přehled o rostlinných mykoplasmózách, v němž bylo popsáno 40 onemocnění způsobených nově popsanými mikroorganismy /Maramorosch a kol. 1970/. V roce 1977 uvedli Grunewaldt - Stöcker a Nienhaus seznam rostlinných onemocnění, u nichž byla přítomnost MLO prokázána elektronopiticky. Zahrnuje přes 250 rostlinných druhů z 59 čeledí. /3/

II. 2. CHARAKTERISTIKA MIKROORGANISMŮ PŘIPOMÍNAJÍCÍCH MYKOPLASMY /MLO/

II. 2. 1. Taxonomie MLO

Rostlinné patogény ze skupiny MLO jsou řazeny do řádu *Mycoplasmatales* třídy *Mollicutes*. Vedle čeledí *Mycoplasmataceae*, *Acholeplasmataceae* a *Spiroplasmataceae* tvoří samostatnou skupinu, která bývá označována jako "mykoplasmy hmyzu a rostlin". K zařazování do třídy *Mollicutes* opravňuje nápadná podobnost některých vlastností MLO s jednotlivými zástupci *Mycoplasmatales* vyskytujícími se u živočichů. Jde především o podobnost morfologie, ultrastruktury a obdobný vliv antibiotik tetracyklinové řady. /3/

II. 2. 2. Morfologie a ultrastruktura MLO

Jde o pleomorfní mikroorganismy, u nichž na základě pozorování ultratenkých řezů transmisním elektronovým mikroskopem lze rozlišit tyto formy /Grunewald - Stocker a Menhaus 1977/:

- a/ elementární globulární tělíska o průměru 80 - 100 nm,
- b/ sférická mikrotělíska o průměru menším než 60 nm,
- c/ velká globulární tělíska o průměru 150 - 1100 nm,
- d/ vláknité formy /filamenty/ délky až 5000 nm,
- e/ nepravidelná tělíska /pučící, rozvětvená, piškotovitá a jiná/.

Často lze mnoho uvedených forem pozorovat současně u téže choroby i v téže sítkovici. Příčinou pleomorfismu MLO je nepřítomnost tuhé buněčné stěny. Částice MLO jsou uzavřeny pouze trojvrstvenou plazmatickou membránou a obsahují vlákna DNK a ribosomy typické pro prokaryotní organismy.

O původu, životaschopnosti a funkci některých forem MLO se vedly rozsáhlé spory. Obecně je morfologie mykoplasmat závislá na jejich růstové fázi a výživě, stejně jako na způsobu izolace a fixace těchto organismů.

Při studiu morfologie a ultrastruktury MLO se užívá stále více řady speciálních technik elektronové mikroskopie. Prostorový vzhled a vztah MLO k hostitelským buňkám jsou studovány pomocí seriových ultratenkých řezů /Davis a kol. 1972, Florence a Cameron 1978/ a polotenkových řezů /Thomas 1979/.

Dále jsou používány stereoskopické elektronové mikroskopie /Davis a Worley 1973/ a rastrovací elektronové mikroskopie /Hoggis a Sinha 1978/. Užití těchto technik umožnilo lépe prostudovat morfologii a vzájemné vztahy jednotlivých forem MLO./3/

II. 2. 3. Reprodukce MLO

Pomocí transmisní elektronové mikroskopie ultratenkých řezů byla prokázána řada jevů, které by mohly být projevem reprodukčního procesu. Jde především o přehrádečné dělení, pučení, tvorbu a rozpad vláken /Herumi a Maramorosch 1973 b/. Často byly také pozorovány piškotovitě protáhlé formy MLO /Dale a Kim 1969, Gourret 1970, Holmes a kol. 1972/, které byly nověji identifikovány jako místa větvení vláknitých forem MLO /Florance a Cameron 1978/. Sinka a Paliwal-1969 publikovali hypotézu o úloze jednotlivých forem MLO ve vývojovém reprodukčním cyklu těchto mikroorganismů. Domnívali se, že zvětšováním elementárních tělísek se tvoří intermediální a velké formy MLO, jejichž pučením vznikají vláknité částice /Filamenty/. Nová elementární tělíska by podle této představy vznikala jak pučením velkých forem, tak rozpadem vláknitých částic.

Dnes je toto schema odmítáno /Mc Coby 1984/, neboť bylo prokázáno, že tzv. elementární tělíska představují průřez zaškrceným místem vláknitých forem MLO /Florance a Cameron 1978, Waters a Hunt 1980/.

Při studiu reprodukce MLO je nutné také odlišovat změn-

ny tvaru a struktury nastávající u stárnoucích buněk MLO /Hirumi a Maramorosch 1972, Hearon a kol. 1976, Yacoli 1978 a,b/. Detailnější představy o reprodukčním cyklu MLO nebyly dosud vytvořeny vzhledem k jejich obtížné kultivaci, ale předpokládá se, že množení MLO probíhá přehrádečným dělením, fragmentací vláken a pučením jako u ostatních mikroorganismů třídy Mollicutes /Razin 1973/. /3/

II. 3. P Ř Í Z N A K Y P R O L I F E R A C E

Nemocné stromy produkují nedostatečné množství růstových látek. Vyznačují se tedy špatným růstem a jejich výška dosahuje ve srovnání se zdravými stromy asi 50%. Částečné porušení růstového rytmu se také projevuje předčasným pučením na jaře. Nemocné stromy vstupují do vegetačního období dříve o 1 až 2 týdny. /2/

Listy napadených stromů jsou menší, ostřeji zoubkaté a s menšími zoubky. Také jejich počet je podstatně menší, barva bývá někdy světlejší. Na podzim se listy intenzivněji a dřív vybarvují. Stopky listů jsou zkrácené průměrně o 32%, což je nejnápadnější u mladých stromů. U nemocných stromů dochází k zvětšení a někdy přemnožení palistů na bázi listů. /1/

Dalším příznakem choroby je metlovitost, která se nemusí objevovat každoročně. Metlovité výhonky se úplně odlišují od zdravých. Koruna se podobá keři a na šlahounech jsou pupeňy, ze kterých rostou listy. /4/

Na jabloních nakažených proliferací se urodí malé množství

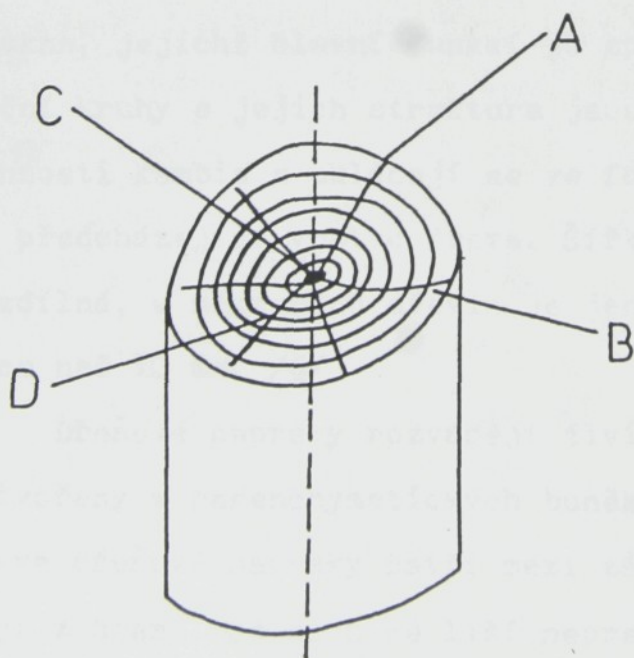
drobných degenerovaných plodů, které obvykle spadají. Plody jsou průměrně o $1/3$ až o $2/3$ menší než u zdravých stromů, málo zabarvené a mají delší stopky.

Tuto chorobu je možné přenést roubováním nebo očkováním. Inkubační období při očkování v přírodě trvá jeden rok. Při roubování zdravého roubu na nemocný strom se objevují příznaky po 3 - 6 měsících.

Ochranná opatření spočívají v ničení napadených stromů v ovocných sadech, /5,1/ respektive jejich vykácení, odstranění ze sadu a případné spálení.

II.4. ANATOMICKÁ STAVBA DŘEVA

Obr.1. PŘÍČNÝ ŘEZ DŘEVEM



- Legenda k obr. 1 :
- A - dřeň
 - B - roční kruh
 - C - dřeňový paprsek
 - D - kůra

Dřeň je možné pozorovat volným okem na příčném řezu jako úzké pletivo parenchymatických buněk. Od ostatních částí je často rozdílně zbarvena. Má funkci vodivého spojení mezi kořeny a vegetačními orgány během prvního roku růstu, potom ztrácí význam. Je měkká a dřevo, které ji obaluje má menší pevnost.

Roční kruh se skládá z vnitřního pórovitého pásma, které se nazývá jarním a z vnějšího hustšího pásma, které se nazývá letním. Jarní dřevo se skládá nejčastěji z buněk rozvádějících vodu, zatímco letní dřevo obsahuje početná vlákna, jejichž hlavní funkcí je zpevňovat dřevní hmotu. Roční kruhy a jejich struktura jsou výsledkem periodické činnosti kambia a ukládají se ve formě kuželovitého pláště na předcházející vrstvu dřeva. Šířka ročního kruhu je velmi rozdílná, u některých dřevin je jen 1 mm, zatímco u jiných více než 10 mm. /6/

Dřeňové paprsky rozvádějí živiny radiálním směrem. Jsou vytvořeny z parenchymatických buněk jehlicovitého tvaru. Právě dřeňové paprsky patří mezi základní pletiva a vycházejí z dřeně. Od nich se liší nepravé dřeňové paprsky, které nezačínají v dřeni a oddělily se z kambiální iniciály.

Kůra a lýko obalují kmen, izolují biologicky neakti-

vnější pletiva od nepříznivých vnějších vlivů. Mají také jiné funkce: cévovité buňky splňují výborně vodivou funkci, jiné jsou zásobníkem živin a některé buňky jsou schopné asimilovat. /7/

II. 5. Z Á K L A D N Í S T A V E B N Í J E D N O T K Y D Ř E V A . D I F E R E N C I A C E P L E T I V .

Základními anatomickými jednotkami rostlinného těla jsou buňky. Tyto buňky jsou fyziologicky a morfologicky spojené do celků, které nazýváme pletiva. Jednotlivá pletiva se vyvíjejí z tzv. terminálního meristému, který je uložený ve vegetačním vrcholu.

Buňky terminálního meristému jsou živé rostlinné buňky, schopné přijímat potravu, dýchat, růst a rozmnožovat se. Mají tenkou buněčnou blánu, která má charakter polopropustné membrány a široký lumen naplněný protoplastem. Protoplast má komplikovanou strukturu. Skládá se z jádra, z protoplazmy a plastidů. Během růstu buňky se v protoplazmě objevují vakuoly naplněné buněčnou šťávou. V rostoucí buňce se zvětšuje objem vakuol, které potom splynou do jedné široké buněčné dutiny. Protoplasma se ukládá na buněčnou stěnu, která tloustne a mění se její chemické složení. Celkově buňka mění svoje rozměry a tvar - různě se specifikuje. /6/

Na začátku dělení buněk se z terminálního meristému oddělí primární meristém, který překoná embryonální fázi, potom fázi růstu a nakonec fázi diferencování, kdy se z něho

diferencuje dermatogén, periblém a plerom. V dalším vývoji se z dermatogénu vyvíjí pokožka, z periblému vzniká křovité pletivo. Plerom se diferencuje na dvě části, ze kterých se vyvine cévní svazek a dřev.

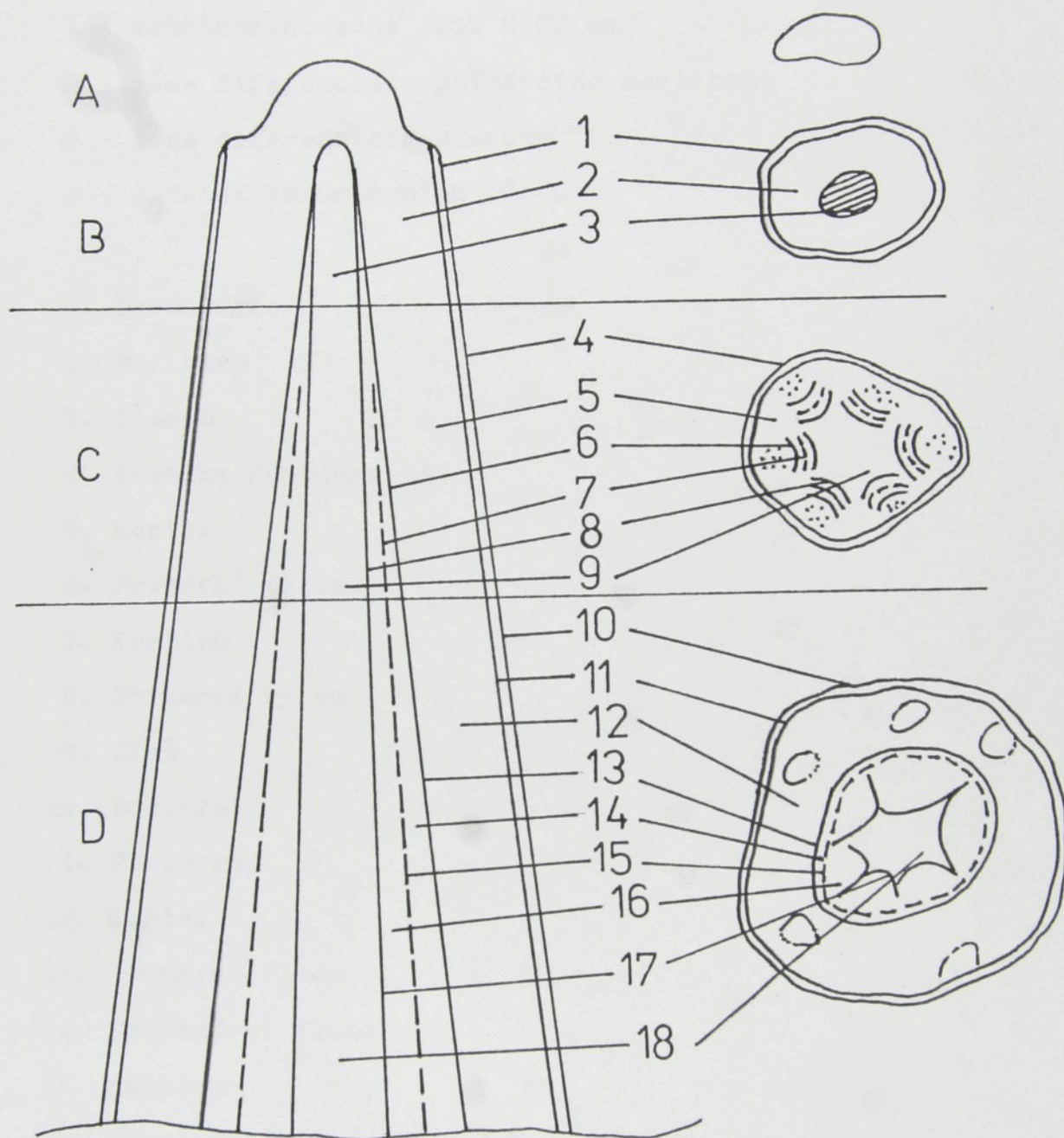
Cévní svazek se skládá ze dvou částí:

a/ lýková část /floém/

b/ dřevní část /xylém/-

Podstatným článkem dřevní části jsou cévovité buňky a lýkové části sítkovité buňky. První cévové buňky nazýváme primárním dřevem /protoxylém/ a první sítkovité primárním lýkem /protofloém/.

Jednotlivé cévní svazky jsou dělené od sebe pruhy parenchymatického pletiva, které paprskovitě vybíhá ze dřeva - pravé dřevové paprsky, které patří mezi základní pletiva /6/. Když skončí prodlužovací růst začnou se parenchymatické buňky dřevových paprsků dělit tangenciálními přehrádkami a vytvoří vrstvu meristematických buněk, tzv. mezisvazkový meristé. Splynutím mezisvazkového meristému a svazkového meristému se vytvoří souvislý válec dělících buněk zvaný kambium. Kambium odděluje buňky především směrem do dřeva /sekundární xylém/, ale vytvoří i sekundární floém. Jeho činností se vysvětluje sekundární růst /růst do šířky/, kterým se vyznačují dřeviny. Činnost kambia je periodická a je vázána na roční období. Periodicky oddělené buňky směrem do dřeva vytvářejí roční kruhy a mají velmi rozdílný tvar a rozměry podle funkce, kterou mají ve dřevě plnit. Některé buňky, které kambium produkuje, se nerozdělí na elementy sekundárního xylému, ale vytvoří nepravý dřevový paprsek.



Obr.2. DIFERENCIACE PLETIV,
PRIMÁRNÍ A SEKUNDÁRNÍ RŮST

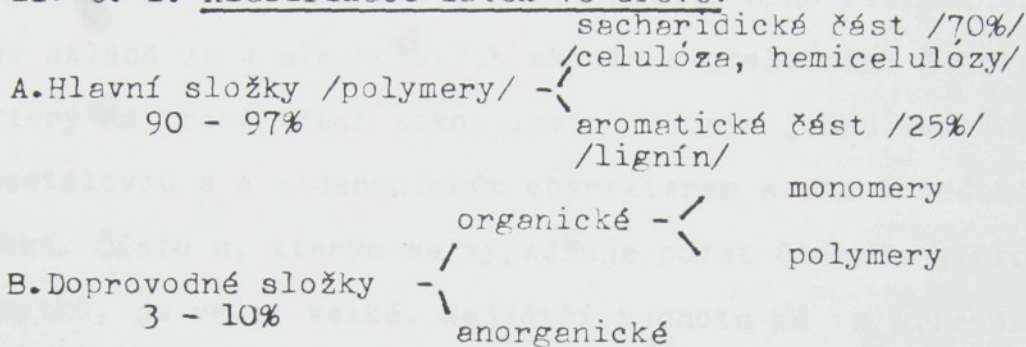
Legenda k obr. 2:

- A - embrionální zóna /asi 0,02 mm/
- B - zóna diferenciacie primárního meristému
- C - zóna diferenciacie pleromu
- D - začátek sekundárního růstu

1. Dermatogén
2. Periblém
3. Plerom
4. Pokožka /epidermis/
5. Kortex
6. Primární floém
7. Kambium
8. Primární xylém
9. Dřeň
10. Pokožka
11. Periderm
12. Kortex
13. Primární floém
14. Sekundární floém
15. Kambium
16. Sekundární xylém /dřevo/
17. Primární xylém
18. Dřeň

II. 6. CHEMICKÉ SLOŽENÍ DŘEVA

II. 6. 1. Klasifikace látek ve dřevě.

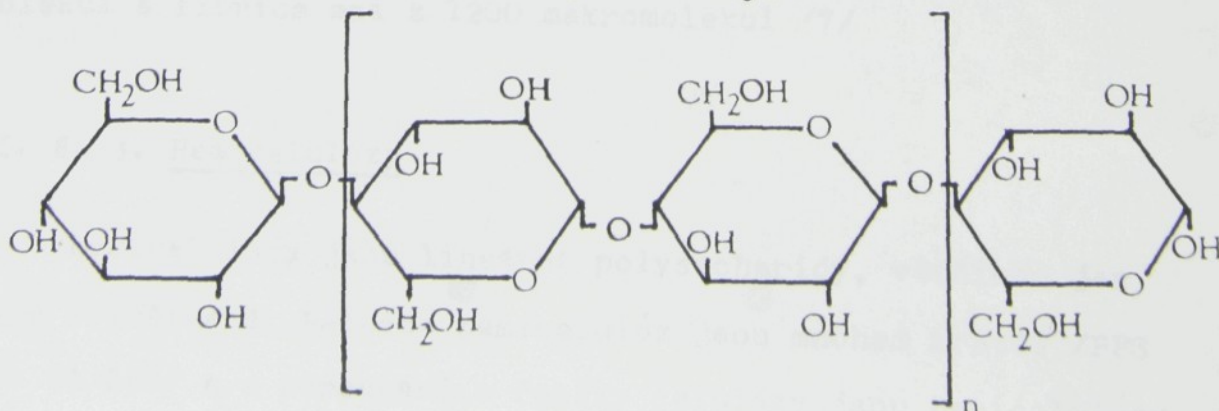


/6/

II. 6. 2. Celulóza

Celulóza je typická makromolekulární látka, která se vyskytuje v přírodě ve všech rostlinách, je hlavní součástí zdřevnatělé buňkové stěny a tvoří 40 až 50% hmoty dřeva. Ve dřevě je celulóza hlavní složkou a její funkcí je dodávat dřevu pevnost a ohebnost. Lineární řetězce celulózy jsou chemicky homogenní z β -D-glukopyranózových jednotek spojených lineárně v polohách 1 - 4.

Chemická stavba makromolekuly celulózy:



Všechny články řetězce mají podle tohoto vzorce 3 OH skupiny, z nich jednu skupinu primárního alkoholu a 2 skupiny sekundárního alkoholu, kromě počátečního článku, který se skládá ze 4 alkoholových skupin a posledního článku, který má kromě třech alkoholových skupin jednu skupinu poloacetátovou a s aldehydickým charakterem a tím i redukční schopnost. Číslo n , kterým se vyjadřuje počet článků, glukózových zbytků, je velmi velké. Největší hodnotu má u přírodní celulózy, např. u bavlny nad 2000. Menší je u technických celulóz - 600 - 1000. /6/

Nejmolekulová struktura celulózy.

Jednotlivé makromolekuly celulózy jsou ve vlákně navzájem zčásti pravidelně a z části volně uspořádané a vytvářejí mikrofibrily, které jsou dále pospojované do fibril, vytvářejících buněčnou stěnu rostlin a dřevin. Elektronovým mikroskopem se zjistilo, že mikrofibrily určují průměr 3,5 až 4 nm. V uspořádaných oblastech mikrofibrily vytvářejí krystalovou mřížku. Tato část celulózy se nazývá krystalický podíl. Prostor mezi krystality a okrajové oblasti mikrofibril jsou složeny z amorfni celulózy. Krystality mají průměr 3 až 6 nm, délku 5 až 25 nm. Mikrofibrila se skládá ze svazku 42 makromolekul a fibrila asi z 1200 makromolekul /7/

II. 6. 3. Hemicelulózy

Hemicelulózy jsou lineární polysacharidy, většinou jen málo rozvětvené. Řetězce hemicelulóz jsou mnohem kratší /PPS 150 až 250/ a v porovnání s řetězy celulózy jsou hemicelulózy

většinou amorfni. Hemicelulózy doprovázejí celulózu v jednotlivých vrstvách buněčné stěny a jsou převážně uloženy v její vnitřní části.

Makromolekuly hemicelulóz se skládají z relativně omezeného počtu sacharidů. Stavební jednotky hemicelulóz se vyskytují v izomérních strukturách a jsou pospojované různými typy glykozidických vazeb. Chemická stavba hemicelulóz je proto na rozdíl od stavby celulózy komplikovaná a nejsou známy všechny její detaily. Hemicelulózy se rozdělují podle hrubé struktury a podle hlavních komponent, které tvoří polysacharid na: 1. xylány,

2. manány

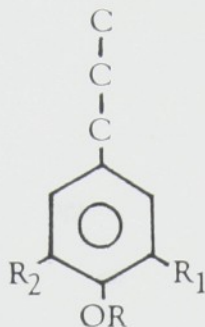
3. galaktány.

Nejdůležitějšími hemicelulózami listnatého dřeva jsou xylány /7/.

II. 6. 4. Lignin.

Lignin je nejdůležitější z látek, které podporují zdřevnatění buněčných stěn. Lignin tvoří 15 až 35% dřevní substance a je uložený převážně v mezibuněčné hmotě ve střední lemele, ale prostupuje i do ostatních vrstev. Obsahuje polysacharidy, se kterými je částečně spojený i chemickou vazbou. Lignin dává dřevu pevnost tím, že spojuje jednotlivá vlákna do kompaktního celku. Je amorfni, termoplastický a má velkou absorpci světla.

Lignin má aromatický charakter. Na benzenovém jádře jsou základní funkční skupiny: metoxyl, hydroxyl a propanový řetězec.



R_1 - OCH_3 nebo H

R_2 - OHC_3 nebo H, - C

R - H nebo alkyl, aryl, acyl aj.

Ligníny mají velmi široké rozmezí relativních molekulových hmotností, jsou polydispersní. Suchý lignin zahříváním vytváří tvrdou živici, vlhký lignin měkkou plastickou látku. Převážná část lignínu je rezistentní proti teple. Začíná se mírně rozkládat při nižší teplotě než polysacharidy, ale potom zuhelnatí na těžko zápalný produkt, takže skutečnými hořlavými látkami ve dřevě jsou polysacharidy. /6/

Katedra chemie a biokémie Vysoké školy v Bratislavě
v Bratislavě se zabývá výzkumem identifikace
složek jablečného barviva. Tato problematika,
která se týká hlavně zjištění chemického složení
barviva, byla k řešení stanovena jako jedna z hlavních
úkolů katedry. Výzkum je prováděn v souladu s
programem, který byl schválen v roce 1968. Výsledky
výzkumu budou publikovány v odborné literatuře.

III. ROZBOR PROBLÉMU A CÍLE DIPLOMOVÉ PRÁCE

Účelem této práce je zjištění chemického složení
jablečného barviva. Výzkum je prováděn v souladu s
programem, který byl schválen v roce 1968. Výsledky
výzkumu budou publikovány v odborné literatuře.

Je třeba připomenout, že jablečné barvivo je
složeno z několika složek. Tyto složky jsou
chemicky různorodé a jejich identifikace je
velice obtížná. Výzkum je prováděn v souladu s
programem, který byl schválen v roce 1968. Výsledky
výzkumu budou publikovány v odborné literatuře.

Je samozřejmé, že při barvení dřeva je třeba
zohlednit mnoho faktorů. Tyto faktory jsou
chemické, fyzikální a biologické. Výzkum je
prováděn v souladu s programem, který byl
schválen v roce 1968. Výsledky výzkumu
budou publikovány v odborné literatuře.

Katedra chemie a zušlechťování Vysoké školy strojní a textilní v Liberci se zúčastnila výzkumu identifikace mykoplasmoz jabloní barvicími testy. Tato problematika, která přímo nesouvisí s hlavním zaměřením odborného profilu pracoviště, byla k řešení převzata především proto, že katedra disponuje značnou sbírkou organických barviv. Rovněž bylo možno předpokládat, že barvení dřevní celulózy je do jisté míry podobné barvení celulózových /bavlněných, lněných/ vláken.

Ve třídách barviv, které byly použity k barvení dřeva, existují značky, které mohou latentní neegalitu celulózového materiálu zvýraznit nebo potlačit. Z tohoto hlediska jsem se soustředila především na značky, které citlivě reagují na chemickou nehomogenitu substrátu.

Dále jsem předpokládala, že bude výhodné dřevní hmotu /letorosty jabloní/ vhodně upravit odstraněním některých příměsí /ligniny, hemicelulózy/ tak, aby se zvýšila selektivita barvení při pokusech se zdravým a napadeným dřevem.

Je možné předpokládat, že dřevo napadené mykoplasmozou se bude od zdravého lišit mimo jiné i stupněm vyzrání, průměrnou velikostí celulózových makromolekul a dalšími diferenciemi v chemickém složení dřeva, což by v souhrnu mělo vést k různému vybarvování zdravého a napadeného dřeva.

Vycházela jsem přitom z analogie, identifikace zralé, mrtvé a nezralé bavlny barvicími testy./9, 15/

Je samozřejmé, že při barvení zdravých a napadených letorostů jabloní je třeba pro dosažení dobré srovnatelnosti vybírat dřevo přibližně stejného stupně zralosti. Tato prob-

lematika je blíže rozebrána v kap. IV.

Cílem barvicích testů by měl být jednoduchý barvicí test, který by se dal aplikovat přímo v ovocných sadech tak, že větvička jabloňového letorostu, seříznutá elipsovitým řezem, by se zpracovala do lázně testovacího barviva. Podle přiloženého etalonu vzorků dřeva seřazených ve stupnici postupně od zdravého dřeva, středně napadeného, až po dřevo napadené mykoplasmozou do nejvyššího stupně napadení, by se číselně vyhodnotil stupeň napadení. Podle stupně napadení se pak bude rozhodovat, zda výsadbu zachovat nebo zlikvidovat.

IV. 1. POBITY MATERIAL

Prvni část provázala se laboratorně zajištěnou a ne-
přímou jehlou, která se poskytl výzkumný materiál v oblasti
základní a ovocné kultury.

Základní část provázala se v rámci výzkumu a
výzkumu v oblasti výzkumu a výzkumu v oblasti výzkumu
a výzkumu v oblasti výzkumu a výzkumu v oblasti výzkumu
a výzkumu v oblasti výzkumu a výzkumu v oblasti výzkumu.

První část provázala se laboratorně zajištěnou a ne-
přímou jehlou, která se poskytl výzkumný materiál v oblasti
základní a ovocné kultury.

1. První část provázala se laboratorně zajištěnou a ne-

2. První část provázala se laboratorně zajištěnou a ne-

IV. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

1. Úvod

Od této části se poskytl výzkumný materiál v oblasti
základní a ovocné kultury.

1/ základní a ovocná kultura

2/ infikovaná - základní a ovocná kultura

3/ infikovaná - základní a ovocná kultura

4/ infikovaná - základní a ovocná kultura

5/ infikovaná - základní a ovocná kultura

6/ infikovaná - základní a ovocná kultura

SPW, 800, 300

2. Úvod

Od této části se poskytl výzkumný materiál v oblasti
základní a ovocné kultury.

1/ základní a ovocná kultura

2/ infikovaná - základní a ovocná kultura

3/ infikovaná - základní a ovocná kultura

IV. 1. POUŽITÝ MATERIÁL

Barvení jsem prováděla na letorostech zdravých a napadených jabloní, které mi poskytl Výzkumný ústav šlechtitelský a ovocnářský Holousy.

Z větviček jsem řezala vzorky ve tvaru elipsy asi 1 mm silné. Vzala jsem v úvahu různý stupeň vyžrání dřeva v délce větvičky a proto jsem barvila vzorky jak z vrchní, tak ze spodní části větvičky.

Své pokusy jsem rozdělila do dvou částí podle vzorků, které mi poskytl VÚŠO Holovousy.

1. Pokusy prováděné na odrůdě GOLDEN DELICIOUS

2. Pokusy prováděné na odrůdě JAMES GRIEWE

1. Odrůda GOLDEN DELICIOUS.

Od této odrůdy mi VÚŠO Holovousy poskytl tyto vzorky:

1/ zdravé - neinfikované

2/ infikované - a/ čistá mykoplasma proliferace jabloně /AWB/

b/ proliferace jabloně + gumovitost /AWB + ARW/

c/ latentní viry - trojkomplex AL 1:

SPW, SGW, SDW

2. Odrůda JAMES GRIEWE.

Od této odrůdy mi VÚŠO Holovousy poskytl tyto vzorky:

1/ zdravé - neinfikované

2/ infikované - čistá mykoplasma proliferace jabloně /AWB/

IV. 2. POUŽITÁ BARVIVA A CHEMIKÁLIE

B a r v i v a:

Chromolánová červeně GRE

Chromolánová bordó RM

Egacidová červeně MOOL

Egacidová modř AG 2

Columbia blau B

Identex

Methylenová modř 2B

Melachitová zeleně

Saturnová zeleně LB

Saturnová červeně L4B

Fuchsin

Fluoroglucinol

Genciánová fialová

C h e m i k á l i e :

kyselina sírová H_2SO_4

kyselina chlorovodíková HCL

kyselina octová CH_3COOH

kyselina mléčná $\text{CH}_3\text{CH}/\text{OH}/\text{COOH}$

etanol $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$

metanol CH_3OH

benzylalkohol

siřičitan sodný Na_2SO_3

uhličitan sodný Na_2CO_3

octan olovnatý $\text{Pb}/\text{CH}_3\text{COO}/_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

sírník sodný Na_2S

manganistan draselný KMnO_4

hydroxid amonný NH_4OH

bramborový škrob

amilín

hydroxid sodný NaOH

chlorid sodný NaCl

Alfonal K - smáčecí a prací TPP

fenol

glicerín

koncentrovaný roztok jódu /byl připraven jako $\text{IN} - \text{I}_2$ v

$\text{IM} - \text{KI}$. Navážila jsem $31,75\text{gI}_2$

a $41,5\text{ g KI}$. Obě tyto látky jsem

míchala na porcelánové misce, pa-

ličkou rozetřela a rozpustila v

destilované vodě do objemu 250 ml .

IV. 3. PROVEDENÍ EXPERIMENTU

Vzorky, na kterých jsem prováděla pokusy jsem roztřídila do tabulek podle použitých barviv a chemikálií.

Za jednotku času jsem nepoužívala sekundu - jednotku SI, ale minutu, což je v barvířské praxi všeobecně používané.

IV. 3. 1. Pokusy prováděné na odrůdě GOLDEN DELICIOUS.

Tyto pokusy jsou uvedeny v tabulkách 1 - 6.

Vysvětlivky k tabulkám:

- Z - vzorek ze zdravé větvičky
- N_I - vzorek z větvičky napadené proliferací /AWB/
- N_{II} - vzorek z větvičky napadené proliferací a gumovitostí./AWB + ARW/.
- N_{III} - vzorek s latentními viry, trojkomplex AL 1
- a - vzorek z vrchní části větvičky
- b - vzorek ze spodní části větvičky
- A,B,C,D - jednotlivé postupy barvení

Při volbě barviv jsem vycházela z toho, že vlákna podle svého chemického složení se jedním barvivem zabarvují různě při konstantních podmínkách barvení. /9/

T A B U L K A č. 1 a 2

V těchto tabulkách jsou ukázky barvení chromolánovými barvivy:

tabulka č. 1 - Chromolánová červeně GRE

tabulka č. 2 - Chromolánová bordó RM

POSTUP A:

Roztok 24g . l⁻¹ chromolánového barviva jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem nechala vzorky 10 minut odležet při nezvýšené teplotě. Potom jsem vzorky propřala ve vlažné vodě, abych odstranila zbytky neváže-

ného barviva. Vrozky jsem sušila 5 minut na filtračním papíru při laboratorní teplotě a pak 10 minut v sušárně při teplotě 60 °C.

POSTUP B:

Roztok $24\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ chromolánového barviva jsem zředila v poměru 1 : 1 Fluoroglucinolem. Dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

Abych odstranila některé nežádoucí doprovodné příměsi ve dřevě, předupravila jsem vzorky před vlastním barvením neutrálně sulfitovým způsobem:

připravila jsem roztok o složení:

16% siřičitanu sodného Na_2SO_3

3% uhličitanu sodného Na_2CO_3

V tomto roztoku jsem vzorky povařila 10 minut. /13/

POSTUP C:

Předupravené vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP D:

Předupravené vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu B.

T A B U L K A č. 3 a 4

Budeme-li provádět zabarvovací zkoušky na identifikaci vláken, pak můžeme pomocí kyselého barviva odlišit vlákna bavlněná a vlákna z regenerované celulózy. /9/

Příklady na barvení kyselými barvivy jsou v tabulce č. 3 a 4 :

tabulka č. 3 - Egacidová červeně MOOL

tabulka č. 4 - Egacidová modř AG 2

POSTUP A:

Roztok $20\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ kyselého barviva jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem nechala vzorky odležet 5 minut při nezvýšené teplotě a propřala ve vlažné vodě. Sušila jsem je 5 minut na filtračním papíru při laboratorní teplotě a 10 minut v sušárně při teplotě 60°C .

POSTUP B:

Roztok $20\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ kyselého barviva jsem zředila v poměru 1 : 1 Fluoroglucinolem a dále jsem postupovala stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP C:

Vzorky jsem předupravila neutrálně sulfitovým způsobem /viz tab. 1, postup C/. Dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP D:

Vzorky jsem předupravila neutrálně sulfitovým způsobem / viz tab. 1, postup C/ a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu B.

T A B U L K A č. 5

V této tabulce jsou uvedené vzorky barvené barvivem Columbia blau B.

POSTUP A:

Roztok $4g \cdot l^{-1}$ Columbie blau B jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem nechala vzorky 5 minut odležet při nezvýšené teplotě. Důkladně jsem je propra-
la ve vlažné vodě a sušila jsem je 5 minut na filtračním papíru při laboratorní teplotě a dále 10 minut v sušárně při teplotě $60^{\circ}C$.

POSTUP B:

Roztok $4g \cdot l^{-1}$ Columbia blau B jsem zředila v poměru 1 : 1 Fluoroglucinolem a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP C:

Vzorky jsem předupravila neutrálně sulfitovým způsobem /viz tab. 1, postup C/ a dále jsem barvila stejně jako v postupu A.

POSTUP D:

Vzorky jsem předupravila neutrálně sulfitovým způsobem /viz tab 1, postup C/. Roztok $4\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Columbie blau B jsem zředila v poměru 1 : 2 Fluoroglucinolem. Dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

T A B U L K A č 6

POSTUP A:

Roztok $5\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ barviva Identex jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem nechala vzorky odležet 5 minut při nezvýšené teplotě. Následoval důkladný proplach vodou, sušení 5 minut na filtračním papíru při laboratorní teplotě a 10 minut v sušárně při teplotě 60°C .

POSTUP B:

Vzorky jsem předupravila neutrálně sulfitovým způsobem /viz tab 1, postup C/ a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

V postupu C a D jsem použila metody na důkaz zdřevnatění buněčných stěn. Zdřevnatělá buněčná stěna se skládá z elastické submikroskopické celulózové kostry. Souvislý systém kapilárních dutin, kterými je prostoupěna zkrystalizovaná hmota celulózové kostry, je vyplněný amorfním ligninem, který tak úplně nebo částečně obaluje celulózu. Podle toho je potom buněčná stěna více nebo méně tvrdá a hustá.

Stěny buněk se podle funkce a druhu dřeva navzájem zřetelně liší. /7/

Na stanovení relativního stupně zdřevnatění používáme různé reakce jako např. :

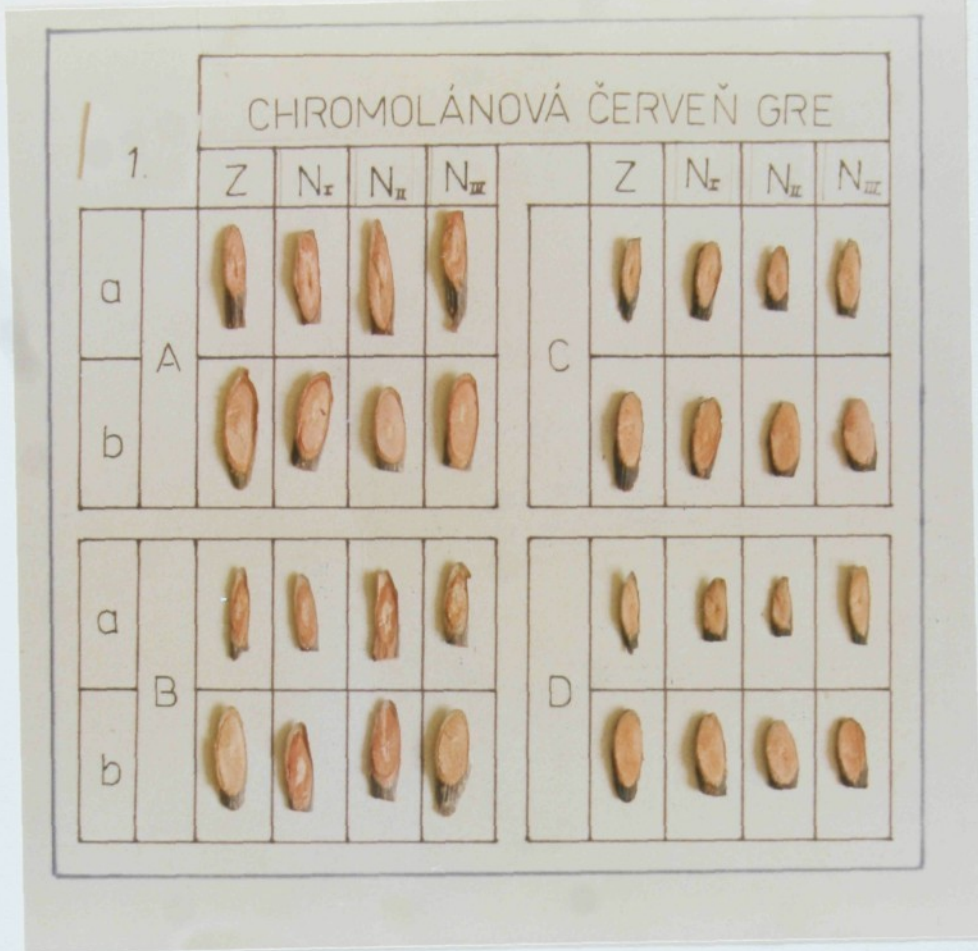
POSTUP C:

Fuchsin barví zdřevnatělé stěny buněk na purpurově červeně.

Roztok $2\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Fuchsinu jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem nechala vzorky 5 minut odležet při nezvýšené teplotě a propřela ve vlažné vodě. Potom jsem vzorky sušila 5 minut na filtračním papíru při laboratorní teplotě a 10 minut v sušárně při teplotě 60°C .

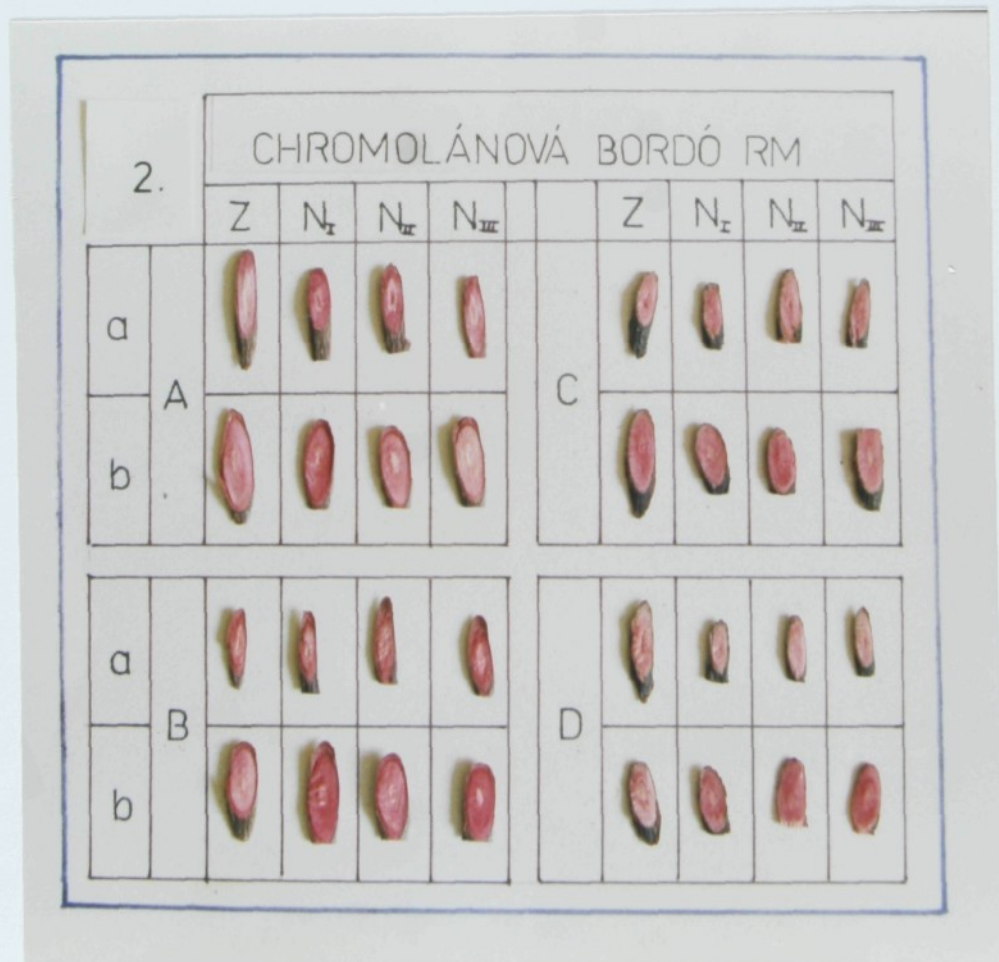
POSTUP D:

Anilín + H_2SO_4 barví zdřevnatělé stěny buněk na žluto. Anilín jsem zředila v poměru 1 : 100 destilovanou vodou. V tomto roztoku jsem nechala vzorky 5 minut odležet při nezvýšené teplotě. Pak jsem je ponořila do 20% roztoku H_2SO_4 . Vzorky jsem sušila 5 minut na filtračním papíru při laboratorní teplotě a 10 minut v sušárně při teplotě 60°C .



TABULKA

Č.1



TABULKA

Č.2

3.		EGACIDOVÁ ČERVENĚ MOOL								
		Z	N _I	N _{II}	N _{III}		Z	N _I	N _{II}	N _{III}
a	A					C				
b										
a	B					D				
b										

TABULKA

Č. 3

EGACIDOVÁ MODŘ AG 2											
4.		Z	N _I	N _{II}	N _{III}		Z	N _I	N _{II}	N _{III}	
a	A					C					
b											
a	B					D					
b											

TABULKA

Č. 4

COLUMBIA BLAU											
5.		Z	N _I	N _{II}	N _{III}						
a	A					C					
b											
a	B					D					
b											

TABULKA

Č. 5

6.		IDENTEX								
		Z	N _I	N _{II}	N _{III}		Z	N _I	N _{II}	N _{III}
a	A					B				
b										

		FUCHSIN				ANILÍN				
		Z	N _I	N _{II}	N _{III}	Z	N _I	N _{II}	N _{III}	
a	C					D				
b										

TABULKA

Č. 6

IV. 3. 2. Pokusy prováděné na odrůdě JAMES GRIEWE

Pokusy prováděné na odrůdě JAMES GRIWE jsou uvedeny v tabulce 7 až 12.

Vysvětlivky k tabulkám:

Z - vzorek zdravé větvičky

N - vzorek větvičky napadené proliferací

a - vzorek z vrchní části větvičky

b - vzorek ze spodní části větvičky

A,B,C,D,E,F - jednotlivé postupy barvení

T A B U L K A č. 7

POSTUP A:

Roztok $5\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Malachitové zeleně jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem vzorky nechala 5 minut odležet při nezvýšené teplotě. Následoval důkladný proplach vlažnou vodou a sušení při laboratorní teplotě na filtračním papíru.

POSTUP B:

Roztok $5\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Malachitové zeleně jsem zředila v poměru 1 : 1 Fluoroglucinolem a dále jsem barvila stejně jako v postupu A.

POSTUP C:

Roztok $5\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Methylenové modře 2B jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem a dále jsem barvila stejným

způsobem jako v postupu A.

POSTUP D:

Roztok $5\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Methylenové modře 2B jsem zředila v poměru 1 : 1 Fluoroglucinolem a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

Na celulóзовých vláknech můžeme prakticky pozorovat dva druhy chemického poškození: jednak poškození způsobené oxidací /oxycelulóza/, jednak poškození způsobené kyselinami /hydrocelulóza/. Oba tyto výsledné produkty nejsou chemicky přesně definovatelné a představují vlastně směs odbourané celulózy různého druhu. /11/

POSTUP E:

Charakteristické pro oxycelulózu, nikoliv pro hydrocelulózu jsou Hallerovy reakce.

Vzorky jsem nechala 5 minut odležet při nezvýšené teplotě v 1% roztoku octanu olovnatého. Potom jsem vzorky důkladně propírala v tekoucí vodě a vložila dvakrát na 5 minut do vody o teplotě 80°C . Dále jsem je vložila na 5 minut do 0,05% roztoku sirníku sodného Na_2S o teplotě 50°C . Vzorky jsem sušila jednu hodinu při laboratorní teplotě.

Oxycelulóza se projeví černým zbarvením, zatímco nepoškozená celulóza zůstane naprosto nezbarvená.

POSTUP F:

Na stanovení relativního stupně zdřevnatění buněčných stěn se používá Mäuleho reakce. Zdřevnatělé stěny buněk se barví vínově červeně nebo karmínově červeně.

Připravila jsem 1% roztok manganistanu draselného. V tomto roztoku jsem nechala vzorky 5 minut odležet při nezvýšené teplotě. Potom jsem je ponořila do 15% HCl a vyprala v destilované vodě. Dále jsem vzorky vložila do hydroxidu amonného NH_4OH . Následovalo sušení jednu hodinu při laboratorní teplotě.

T A B U L K A č. 8

Jedním z důsledků mercerace je, že se zpropustní povrchové vrstvy vlákna v důsledku odstranění nebo pozměnění voskových substancí a mercerovaná vlákna mnohem rychleji přijímají barviva. /14/

Vzorky jsem před vlastním barvením předupravila dvě minuty v 25% roztoku NaOH a důkladně propláchla ve vodě.

POSTUP A:

Roztok $2\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Columbie blau B jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem nechala předupravené vzorky 5 minut odležet při nezvýšené teplotě. Následoval důkladný proplach vodou a sušení na filtračním papíru jednu hodinu při laboratorní teplotě.

POSTUP B:

Oxycelulóza, která vzniká při chemickém poškození vláken má vyšší příbuznost k zásaditým barvivům, než hydrocelulóza, proto se místa oxycelulózou vybarvují sytěji. /12/

Předupravené vzorky jsem 5 minut vybarvovala 0,1% vodním roztoku Methylenové modři 2B. Potom jsem je promývala tak dlouho horkou vodou, až promývací voda zůstala nezbarvena. Vzorky jsem sušila jednu hodinu na filtračním papíru při laboratorní teplotě.

POSTUP C:

Roztok $3\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Malachitové zeleně jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem barvila předupravené vzorky stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP D:

Roztok $5\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ barviva Identex jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP E:

Roztok $3\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Saturnové zeleně jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP F:

Roztok $3\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Saturnové zeleně jsem zředila v poměru 1 : 1 Fluoroglucinolem a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

T A B U L K A č. 9

Barvení Columbií blau B za vyšší teploty.

Vzorky v postupu A,B,C jsem předupravila 5 minut za nezvýšené teploty v benzylaikoholu, aby se zvýšila difuze barviva do vlákna.

POSTUP A:

Připravila jsem roztok $2\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ Columbie blau B. Do tohoto roztoku zahřátého na 80°C jsem ponořila předupravené vzorky na jednu minutu. Následoval důkladný oplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP B:

Předupravené vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A, ale při teplotě 60°C .

POSTUP C:

Předupravené vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A, ale při teplotě 40°C .

V postupu D,E,F jsem vzorky před vlastním barvením předupravila dvě minuty v 25% roztoku NaOH za nezvýšené teploty a důkladně propláchla ve vodě.

POSTUP D:

Vzorky jsem barvila v roztoku $0,1 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ Columbie blau B při teplotě 80°C po dobu 20 sekund. Následoval důkladný oplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP E:

Předupravené vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu D, ale při teplotě 60°C .

POSTUP F:

Předupravené vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu D, ale při teplotě 40°C .

T A B U L K A č. 10

POSTUP A:

K bavlnářskému charakterizování stupně zralosti bavlny byl zaveden červeno zelený test. Barví se směsí nízkomolekulárního červeného barviva a vysokomolekulárního zeleného přímého barviva. Zralá tlustostěnná vlákna se barví červeně a nezralá tenkostěnná vlákna zeleně.

Výsledek červeno zeleného testu je ovlivňován také jinými vlastnostmi vláken, např. výskytem doprovodných

látek ve vláknech. Použitím vhodných předúprav lze dosáhnout vyloučení doprovodných látek. /15/

P o s t u p:

Předúprava - vyvářka : $5\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH
 $3\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ smáčecí a prací
 TPP /Alfonal K/

Délka lázně 1 : 35

Vzorky jsem předupravovala v této lázni 20 minut při teplotě 95°C . Následoval oplach teplou vodou, studenou vodou s CH_3COOH a ještě oplach čistou studenou vodou.

Dále jsem vzorky barvila za varu 30 minut v lázni, která obsahovala : 1,2% Saturnová červeně L4B

 2,82% Saturnová zeleň LB

Po 10 a 20 minutách jsem do lázně přidala 2,5% NaCl. Po skončení barvení jsem vzorky promyla dvakrát ve studené vodě a potom ve vařící vodě a na konec opět dvakrát ve studené vodě. Následovalo sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP B:

Prováděla jsem pokus, kterým se dokazuje poškození vláken plísněmi. Místa poškozená plísněmi nebo kyselinami se vybarvují intenzivněji.

Připravila jsem následující roztoky:

1. Roztok laktofenolu:

20ml kyseliny mléčné
20g fenolu
40g čistého glycerinu
20ml vody

2. 2% roztok Methylenové modři 2B

Potom jsem smíchala 5 ml roztoku 1. a jeden ml roztoku 2. Do této lázně jsem ponořila zkoušené vzorky na 20 sekund. Následoval oplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP C:

Připravila jsem lázeň o tomto složení:

- 1 ml roztoku 4g . l⁻¹ Columbie blau B
- 1 ml roztoku 4g . l⁻¹ Methylenové modři 2B
- 25 ml 25% roztoku NaOH

V této lázni jsem vzorky barvila jednu minutu za nezvýšené teploty. Následoval důkladný proplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

V postupech D,E,F jsou reakce kterými jsem chtěla posoudit zda u jabloní napadených proliferací dochází ke snížení zdřevnatění.

POSTUP D:

Připravila jsem 0,5% roztok Fluoroglucinolu v koncentrované HCl. V této lázni jsem nechala vzorky odležet 5 minut za nezvýšené teploty, následoval oplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP E:

Připravila jsem 1% roztok Fluoroglucinolu v 95% etanolu a přidala jsem 8 kapek 25% roztoku HCl.

V této lázni jsem ponechala vzorky 5 minut za nezvýšené teploty. Následoval oplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP F:

Připravila jsem 1% roztok Gencianové violeti v 70% etanolu a přidala jsem 8 kapek 28% hydroxidu amonného. V této lázni jsem vzorky ponechala 5 minut za nezvýšené teploty. Potom jsem je propláchla 10 minut v 95% etanolu a pak ve vodě. Vzorky jsem usušila při laboratorní teplotě.

T A B U L K A č. 11

Barvení jódem za přítomnosti kyselin./Zdřevnatělé buňkové stěny se jódem za přítomnosti kyselin nebaví na modro/ /7/

POSTUP A:

Koncentrovaný roztok jódu jsem zředila v poměru 1 : 5 destilovanou vodou a přidala jsem 10 kapek kyseliny octové. V této lázni jsem nechala vzorky 10 minut odležet za nezvýšené teploty. Potom jsem je sušila jednu hodinu při laboratorní teplotě.

POSTUP B:

Koncentrovaný roztok jódu jsem zředila v poměru 1 : 10 destilovanou vodou a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

V této lázni jsem ponechala vzorky 5 minut za nezvýšené teploty. Následoval oplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP F:

Připravila jsem 1% roztok Gencianové violeti v 70% etanolu a přidala jsem 8 kapek 28% hydroxidu amonného. V této lázni jsem vzorky ponechala 5 minut za nezvýšené teploty. Potom jsem je propláchla 10 minut v 95% etanolu a pak ve vodě. Vzorky jsem usušila při laboratorní teplotě.

T A B U L K A č. 11

Barvení jódem za přítomnosti kyselin./Zdřevnatělé buňkové stěny se jódem za přítomnosti kyselin nebarví na modro/ /7/

POSTUP A:

Koncentrovaný roztok jódu jsem zředila v poměru 1 : 5 destilovanou vodou a přidala jsem 10 kapek kyseliny octové. V této lázni jsem nechala vzorky 10 minut odležet za nezvýšené teploty. Potom jsem je sušila jednu hodinu při laboratorní teplotě.

POSTUP B:

Koncentrovaný roztok jódu jsem zředila v poměru 1 : 10 destilovanou vodou a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP C:

Koncentrovaný roztok jódu jsem zředila v poměru 1 : 20 destilovanou vodou a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A.

POSTUP D:

Koncentrovaný roztok jódu jsem zředila v poměru 1 : 1 95% etanolem. V této lázni jsem nechala vzorky odležet 5 minut při nezvýšené teplotě. Následoval proplach 0,1 N roztoku HCl a sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP E:

Koncentrovaný roztok jódu jsem zředila v poměru 1 : 1 destilovanou vodou a dále jsem barvila stejným způsobem jako v postupu D.

POSTUP F:

Vzorky obarvené stejným způsobem jako v postupu E jsem proprala v metanolu a nechala jsem je 5 minut v řídkém škrobovém mazu. Následoval oplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

T A B U L K A č. 12

Barvení roztoky jódu za vyšší teploty.

POSTUP A:

Vzorky jsem předupravila 5 minut v benzylalkoholu

za nezvýšené teploty. Koncentrovaný roztok jódu jsem zředila v poměru 1 : 10 destilovanou vodou. V této lázni jsem nechala vzorky odležet 3 minuty při 80 °C a dále jsem je proprala v koncentrované HCl zředěné v poměru 1 : 1 destilovanou vodou. Následovalo sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP B:

Vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A, ale bez předúpravy.

POSTUP C:

Nepředupravené vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu A, ale při teplotě 60 °C.

Vzorky v postupech D, E, F jsem předupravila 10 minut ve 25% roztoku NaOH za nezvýšené teploty.

POSTUP D:

Připravila jsem lázeň o tomto složení:

- 100 ml 95% etanolu
- 1 ml koncentrovaného roztoku jódu
- 5 ml kyseliny octové

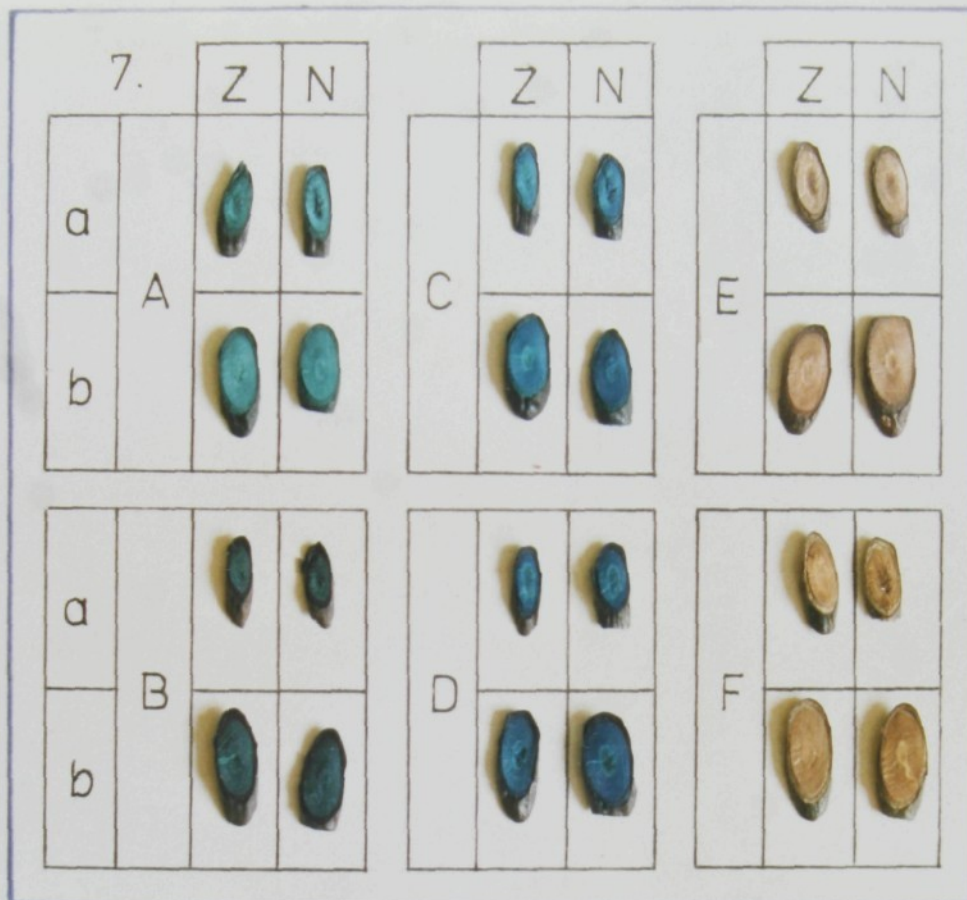
V této lázni jsem barvila vzorky 5 minut při nezvýšené teplotě. Následoval proplach vodou a sušení při laboratorní teplotě.

POSTUP E:

Vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu D, ale barvicí lázeň obsahovala 5 ml koncentrovaného roztoku jódu.

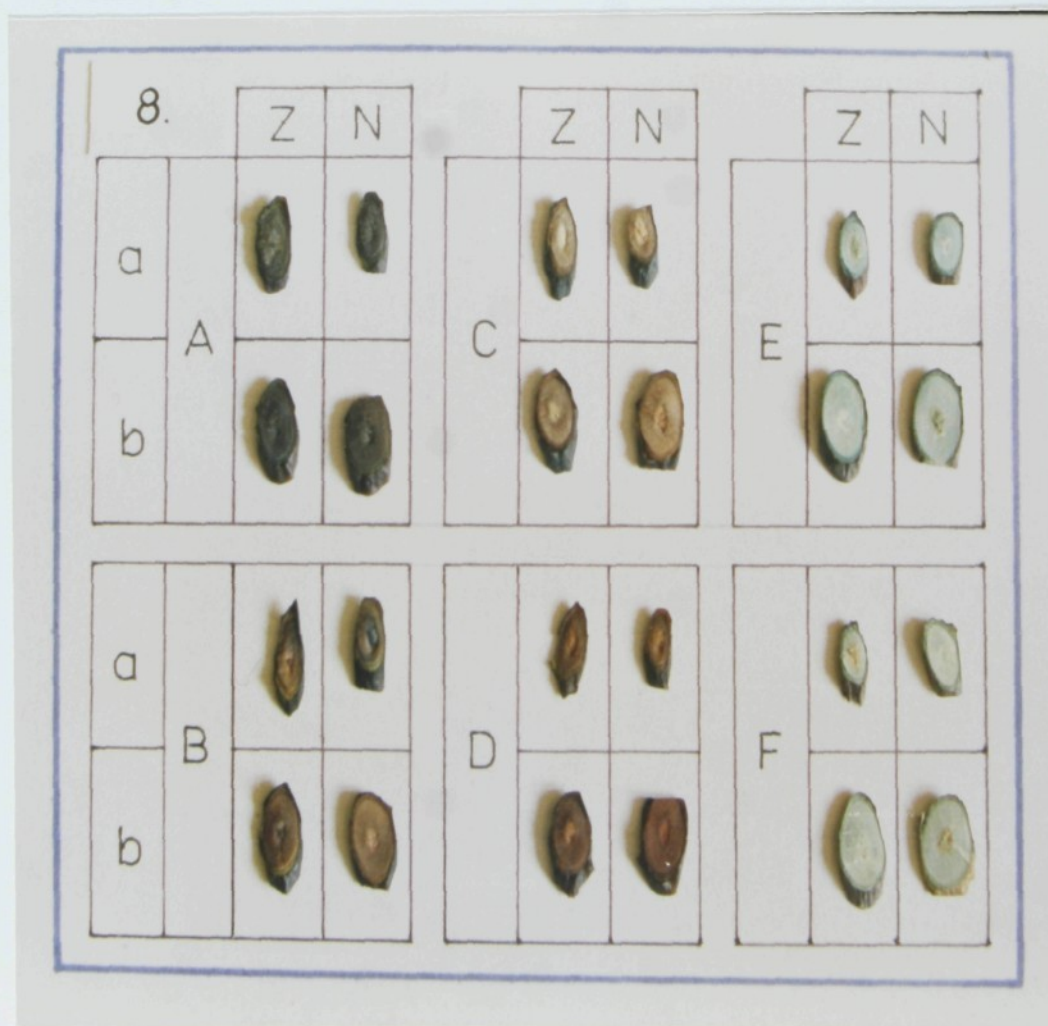
POSTUP F:

Vzorky jsem barvila stejným způsobem jako v postupu D, ale barvicí lázeň obsahovala 10 ml koncentrovaného roztoku jódu.



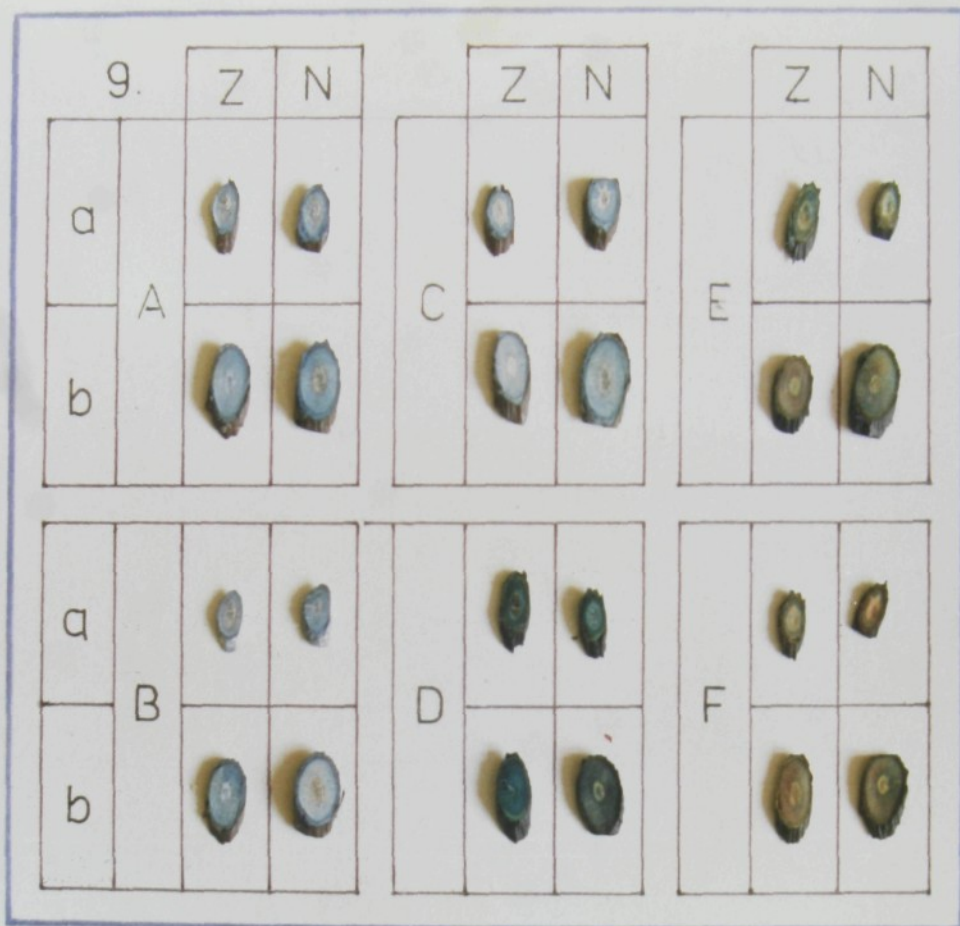
TABULKA

Č.7



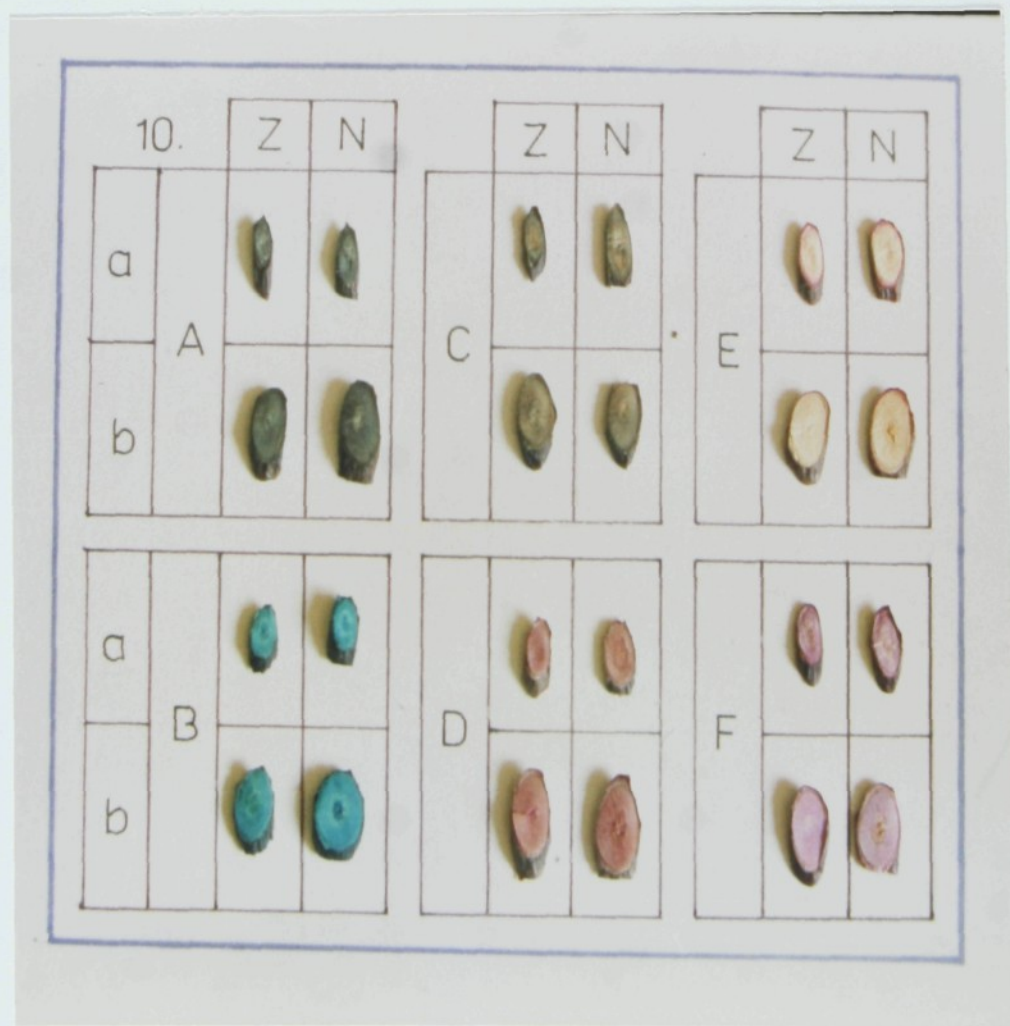
TABULKA

Č.8



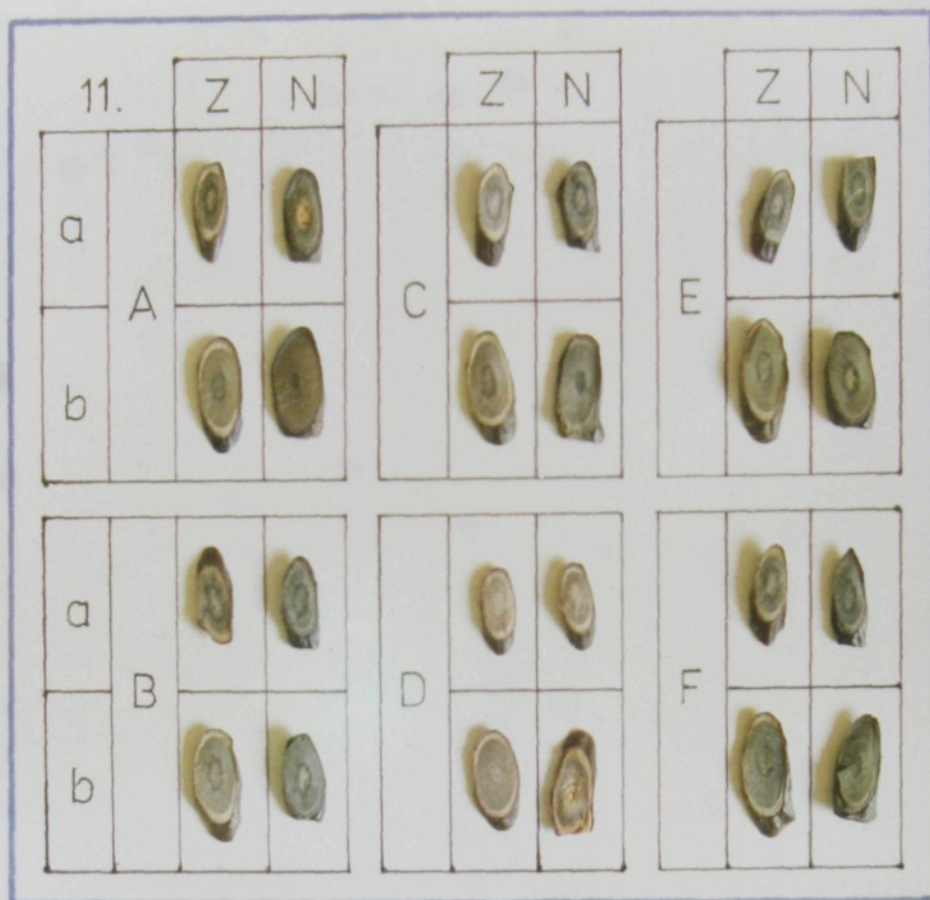
TABULKA

Č. 9



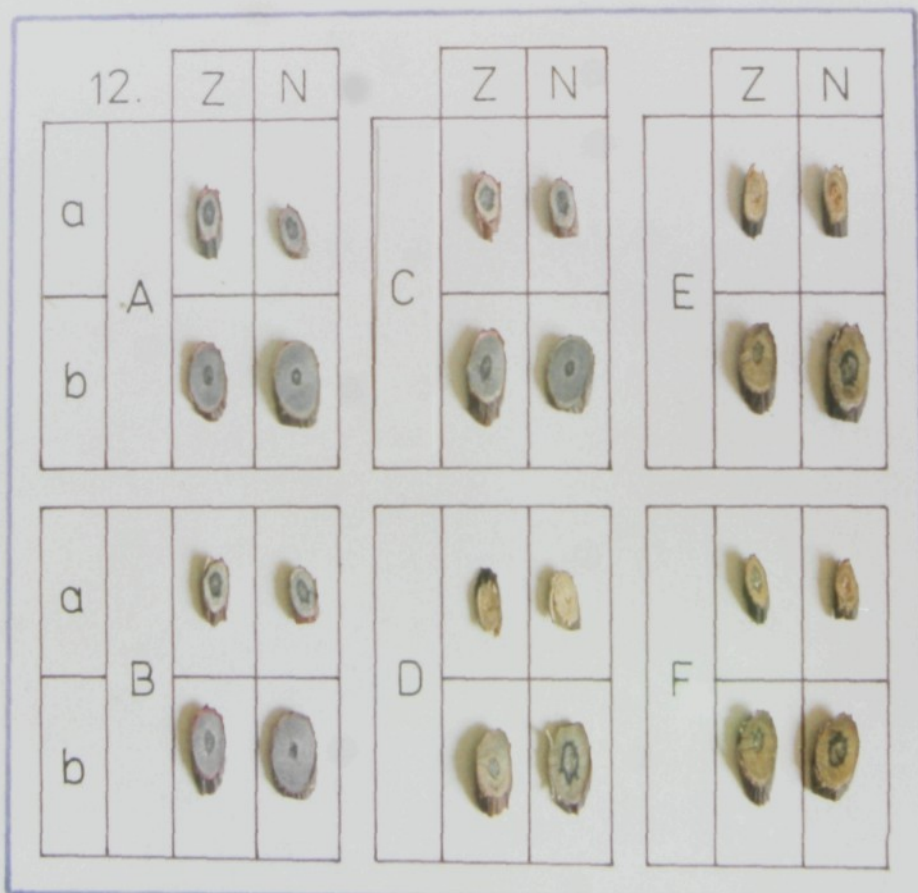
TABULKA

Č. 10



TABULKA

Č. 11



TABULKA

Č. 12

V. Z Á V Ě R

Na základě zadání diplomové práce jsem vyzkoušela některé značky palet přímých, kyselých, reaktivních a chromolánových barviv. Dále jsem testovala barvitelnost roztoky jódu. Pro zlepšení barvitelnosti dřeva jsem prováděla jeho zpracování v roztocích louhu sodného a předupravovala jsem vzorky dřeva neutrálně sulfitovým způsobem.

Experimenty jsem prováděla při laboratorní teplotě a také při vyšších teplotách.

Dosažené výsledky jsou podrobně dokumentovány barevnými fotografiemi v experimentální části. Závěrem je možno výsledky shrnout takto:

a/ Největší difference ve vybarvení zdravého a napadeného dřeva byly dosaženy při aplikaci roztoků jódu. U zdravých vzorků je možno pozorovat proužek neprobarvené tkáně při okraji.

/ tabulka 11, postup A, B, E, F /

b/ Dobrá úroveň rozlišení byla dosažena barvením v lázni s Genciánovou violetí. U napadených vzorků je možno pozorovat hnědý střed a hnědou obroučku, na rozdíl od zdravých vzorků, u kterých je střed světlý. / tabulka 10, postup F /

V citované tabulce jsou difference ve vybarvení poněkud zkresleny nepřesným barevným podáním fotografie. V reálu jsou tyto difference zřetelnější.

c/ Průměrné výsledky ve stupni rozlišení byly dosaženy
barvivy: -Saturnová zeleň LB /tabulka 8, postup E,F/
-Columbia blau B /tabulka 9, postup A,B,C/
-Methylenová modř 2B + roztok laktofenolu
/tabulka 10, postup B/

Závěrem bych chtěla konstatovat, že výsledky uvedené v předkládané diplomové práci je nutno považovat za úvod do řešení celé problematiky. Uvedené úspěšné metody v identifikaci zdravého a napadeného dřeva by bylo ještě účelné dále rozpracovat a je možno předpokládat, že při šířeji pojatém výzkumu, než mi povoloval rozsah mé diplomové práce by se dosáhlo takových výsledků, které umožní výrazně rozlišit zabarvení zdravého a napadeného dřeva.

Mnou dosažené výsledky předávám VÚŠO do Holovous k odzkoušení, popřípadě dalšímu rozpracování a využití.

S E Z N A M P O U Ž I T É L I T E R A T U R Y

1. V.Bojňanský a kol. : Virové choroby rostlin,
Slovenské vydavateľstvá zemédělské liter.
Bratislava 1963
2. P.G. Ploaie: Micoplasma - SI Bolile proliferative
la plante, Editura "Ceres", Bucuresti 1973
3. J. Zichová: Perzistence a eliminace mikroorganismů
typu mykoplasma v laboratorních a přírodních
podmínkách, Kandidátská disertační práce, Praha
1986
4. D. Mulder: De proliferatieziekte van appel, ven
virusziekte, Wageningen 1956, str.72-75
5. Kol. autorů: Ochrana ovocných dřevin proti virusovým
chorobám, Bratislava 1963
6. A. Blažej a kol.: Chemie dřeva, Alfa, Bratislava 1963
7. F. Kozmál: Výroba papíru v teorii a praxi, Slovenské
vydavateľstvá tech. lit., Brno 1958
8. C. Blatný: Choroby a škůdci ovocných rostlin,
Nakladatelství ČAV, Praha 1965
9. A. Blažej, Š. Šutá, Vlastnosti textilních vláken,
Alfa, Bratislava 1982
10. J.M. Kogen: Chemie barviv, SNTL, Praha 1960
11. V. Felix: Chemicko technické textilní rozborý II,
Průmyslové vydavatelství, Praha 1951
12. O. Myšínský: Zkušebnictví v textilním průmyslu,
ROH-Práce, Praha 1952