



Reverse

EUROPEAN PROJECT
TO PRESERVE BIODIVERSITY



INTERREG IVC

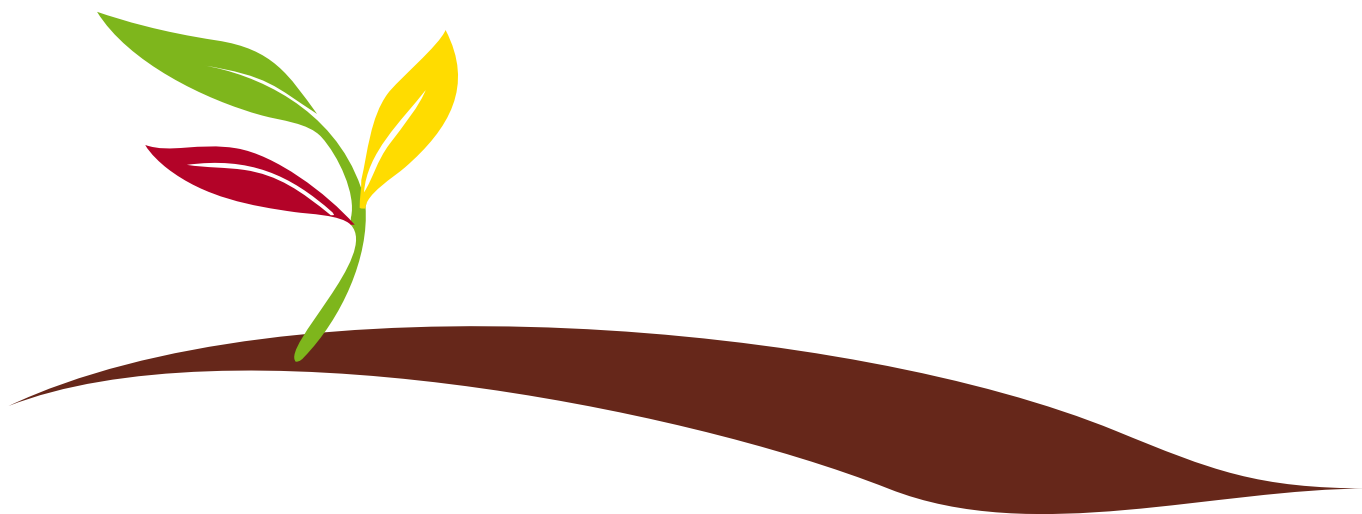
INNOVATION & ENVIRONMENT
REGIONS OF EUROPE SHARING SOLUTIONS



European Union

European Regional Development Fund

NOVÉ POZNATKY Z GENETIKY A ŠĽAHTENIA POĽNOHOSPODÁRSKÝCH RASTLÍN



centrum výskumu rastlinnej výroby piešťany

Piešťany, 2012

CENTRUM VÝSKUMU RASTLINNEJ VÝROBY PIEŠŤANY
- Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany
SEKCIA GENETIKY, ŠĽACHTENIA A SEMENÁRSTVA
ODBORU RASTLINNEJ VÝROBY SLOVENSKEJ AKADÉMIE
PÔDOHOSPODÁRSKYCH VIED

**NOVÉ POZNATKY
Z GENETIKY A ŠĽACHTENIA
POĽNOHOSPODÁRSKYCH RASTLÍN**

*THE NEW KNOWLEDGES FROM GENETIC AND
BREEDING OF AGRICULTURAL CROPS*

Zborník z 19. medzinárodnej vedeckej konferencie

Piešťany, 6. novembra 2012
1. vydanie

**Názov: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín.
Zborník z 19. medzinárodnej vedeckej konferencie, Piešťany, 6. november 2012.**

Zostavovateľ: Ing. Valéria Šudyová, CSc.

Recenzent: prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc., SPU Nitra

© Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

ISBN 978-80-89417-41-4

Obsah

Prednášky

Križanová, K., Psota, V., Sachambula, L.: 100 rokov šľachtenia jačmeňa v Sládkovičove.....	7
Martinek, P., Kadlíková, M., Křen, J., Neudert, L.: Vliv evoluce a lidské činnosti na dosažení současné úrovně odrůd pšenice a odhad dalšího vývoje.....	11
Nesvadba, V., Krofta, K., Polončíková, Z., Henychová, A.: Šlechtění chmele pro specifické vůně	20
Matúšková, K., Hanková, A., Rückschloss, L.: Šľachtiteľský pokrok v úrode zrna pšenice na VŠS Vígľaš-Pstruša.....	24
Korbelová: Distribúcia vírusu mozaiky rajčiaka (ToMV) v rastlinách rajčiaka jedlého po umelej infekcii.....	28
Gálusová, T., Mészáros, P., Piršelová, B., Matušíková, I.: Úloha PR proteínov v obrane sóje fazuľovej proti ťažkým kovom.....	31
Michalcová, V., Dušínský, R., Sabo, M., Al Beyroutiová, M., Hauptvogel, P., Švec, M.: Molekulárna taxonómia pšenice Kamut®.....	35
Černý, I., Mátyás, M., Veverková, A.: Analýza vplyvu poveternostných podmienok ročníka a biologického materiálu na úrodu slnečnice ročnej.....	39
Žofajová, A.: Využitie dihaploidných línií v šľachtení rastlín.....	43
Benediková, D.: Výstupy projektu REVERSE a ich realizácia pri ochrane biodiverzity	46
Mendel, E., Čičová, I.: Diseminácia odporúčaní Akčného plánu projektu REVERSE pri ochrane biodiverzity.....	49
Hauptvogel, P., Gregová, E., Jezerská, Z.: Záchrana krajových odrôd ryže v južnom Kirgizsku.....	53
Fejér, J., Šalomon, I., Gruľová, D.: Produkčná schopnosť nadzemnej biomasy novošľachtenca mäty priepornej (<i>Mentha x piperita</i> L.).....	57

Postery

Benková, M.: Implementácia výstupov a praktických skúseností projektu REVERSE pri ochrane biodiverzity aplikovateľná v regiónoch Slovenska.....	60
Čičová, I.: Aplikácia výsledkov projektu REVERSE do vzdelávania mladej generácie.....	63
Ďurechová, D., Libantová, J.: Príprava vektorového konštruktú na charakterizáciu promotora chitinázy izolovaného z rosičky okrúhlostej.....	65
Faragó, J., Pšenáková, I., Michálková, I.: Elicitácia produkcie polyfenolov v bunkových suspenzných kultúrach chmeľu.....	67
Faragová, N., Faragó, J., Mihalčík, P.: Vplyv pestovania GM <i>Bt</i> -kukurice na metabolickú diverzitu a priemernú utilizáciu C-zdrojov pôdnych baktérií.....	70
Mihálik, D., Gubišová, M., Ondreičková, K., Klčová, L., Klemková, T., Čertík, M., Hudcovicová, M., Gubiš, J., Kraic, J.: Zlepšenie nutričnej hodnoty obilnín genetickou modifikáciou ich genómu.....	74
Múdry, P., Čičová, I.: Perspektívy mapovania slovenského genofondu druhov rodu láskavec (<i>Amaranthus</i> sp. polymorfizmom enzýmov.....	76
Muchová, D., Lichvárová, M., Gregová, E., Pauk, J., Lantos, C., Veličková, S.: Kompozícia HMW gluténínov dihaploidných línií pšenice letnej	78
Nesvadba, V., Henychová, A., Polončíková, Z., Ježek, J.: Šlechtění chmele (<i>Humulus lupulus</i> L.) na nízke konstrukce ..	80

Pastirčák, M.: Prieskum výskytu listových patogénov pšenice ozimnej na Slovensku.....	82
Pšenáková, I., Faragó, J., Zacharová, L., Nesvadba, V., Henychová, A.: Genetická a chemická variabilita kultúrnych a divorastúcich chmeľov.....	84
Šimková, L., Jašková, K., Kochanová, Z., Sedláková, B., Luxová, M.: Vplyv kremíka na bielkovinový obraz klíčnych rastlín kukurice (<i>Zea mays</i> L.) v podmienkach zasolenia.....	86
Šudyová, V., Šliková, S.: Reakcia špachtencov rajčiaka jedlého na umelú infekciu <i>Tomato mosaic virus</i>	88
Index.....	91

100 ROKOV ŠĽACHTENIA JAČMEŇA V SLÁDKOVIČOVE

100 YEARS OF BARLEY BREEDING IN SLÁDKOVIČOVO

KLÁRA KRIŽANOVÁ¹, VRATISLAV PSOTA², LENKA SACHAMBULA²

¹HORDEUM, s.r.o. Nový Dvov

²Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Brno

Set of spring barley cultivars bred in Sládkovičovo were monitored for their malting parameters and agronomic traits. Evident breeding progress were recognized. Reduction of nitrogenous substances accumulation, increasing of extract and improving of amylolytic, proteolytic and cytolytic modification was achieved by breeding. Breeding progress is reflected as in increasing of yield and other yield components as in improvement of starch modification, increasing of amylolytic and proteolytic enzymes modification, in improving of wort quality and powdery mildew resistance.

Key words: barley; breeding progress, malting quality; yield components

ÚVOD

Šľachtenie rastlín na území dnešnej Slovenskej republiky začalo o 5 – 15 rokov neskôr ako v okolitých krajinách a oproti Anglicku o viac než 30 rokov neskôr (Jamárik 1970). Do roku 1918 bolo historicky spojené so šľachtením v bývalom Rakúsko-Uhorsku, predovšetkým s pracoviskom Országos Magyar Királyi Növényenyvesztő Intézet v Magyaróváre, ktoré bolo založené v roku 1909 (Grabner 1913).

Rovnako, ako v okolitých krajinách, aj na Slovensku dochádzalo najprv k primitívnemu výberu osiva z lepších porastov a jeho výmene medzi jednotlivými poľnohospodármi. Na strednom a dolnom Považí a v úrodnej časti južného Slovenska sa pestoval staroslovenský typ jačmeňa, ktorý sa vyznačoval skorosťou a pri dozrievaní bol odolný proti suchu (Lekeš 1985).

Prvé informácie o šľachtení jačmeňa jarného na Slovensku pochádzajú z roku 1899, kedy sa na veľkostatku grófa F. Dezasse v Bohuniciach (predtým Bohumicz) začalo s výberom slovenských krajových odrôd. Najprv bol použitý hromadný a potom individuálny výber. Získali sa odrody podobné hanáckym (Grabner 1913). Po roku 1908 bolo šľachtenie ukončené a konkrétne záznamy o vyšľachtených odrodách pravdepodobne neexistujú. Začiatok šľachtienia jačmeňa jarného (hanácky typ) formou hromadného výberu z krajových odrôd sa datuje v Sládkovičove (predtým Diószeg) od roku 1909 (Chmelař 1926). Všetky šľachtiteľské pokusy zahájené pred rokom 1912 ale po krátkom čase zanikli (Jamárik 1970). Systematické šľachtiteľské práce na veľkostatku Hospodárskej cukrovarníckej a liehovarníckej účastinnej spoločnosti v Diószegu sa rozvíjali od roku 1912. Medzi prvých šľachtiteľov patrila Ing. Adler, ktorý použil metódu hromadného výberu z krajového materiálu najprv pri pšenici, neskôr šľachtenie rozšíril aj na jačmeň jarný. V roku 1928 sa evidujú začiatky kombinačného kríženia krajových odrôd s niektorými vhodnými zahraničnými odrodami a zámerného šľachtienia jačmeňa jarného na rezistenciu proti chorobám.

V rokoch 1920-1948 bolo na Slovensku vyšľachtených 27 odrôd jačmeňa jarného, bohužiaľ o hospodárskych vlastnostiach väčšiny týchto odrôd sa nezachovali pravdepodobne žiadne významnejšie informácie.

V rokoch 1912 až 1945 bolo na Šľachtiteľskej stanici v Sládkovičove vyšľachtených niekoľko odrôd jačmeňa jarného z odrody Proskowetzova Haná pedigree. Boli vyšľachtené odrody Diosecký 62 (1925), Diosecký 236 (1925), Diosecký 496 (1926), Diosecký 736 (1929) a Diosecký 738 (1936), individuálnym výberom z jačmeňa Opavský Kneifel odrody Diosecký Kneifel (1942). Vyznačovali sa vysokou sladovníckou kvalitou, avšak na druhej strane nestabilnými úrodami, boli viac poliehavé a ich odolnosť proti chorobám bola nízka. Neskôr pomocou kríženia sa zlepšila úrodnosť v spojení s veľmi dobrou sladovníckou kvalitou. Z vyšľachtených odrôd v týchto vlastnostiach vynikala najmä odroda Slovenský 802 (1946), ktorá sa udržala v rajonizácii až do roku 1967.

V šľachtení sladovníckych jačmeňov sa v období od roku 1946 - 1970 na Šľachtiteľskej stanici Sládkovičovo dosiahli veľmi významné úspechy. Už v roku 1946 boli povolené a dané do praxe 4 odrody: Slovenský dunajský trh, Slovenský jemný, Slovenský kvalitný a Šprinter (výber z populácie portugalského pôvodu). Tieto odrody nemalou mierou prispeli k zvyšovaniu hektárových úrod, najmä po prechode poľnohospodárstva na veľkovýrobné formy hospodárenia. Na Slovensku do roku 1960 boli v rajonizácii jačmeňov jarných až na 90 % zastúpené odrody vyšľachtené na ŠS Sládkovičovo. Najväčšie rozšírenie mala odroda Slovenský dunajský trh (1946-1969), ktorá pre svoje hospodárske vlastnosti a úrodnosť bola rajonizovaná aj v Čechách a spolu s odrodou Slovenský 802 boli štandardnými odrodami sladovníckej kvality v bývalom Československu. Požiadavky na odrody rozvojom poľnohospodárskej veľkovýroby neustále vzrastali. Okrem vysokej úrody a kvality sa požadovala aj vhodnosť odrôd pre mechanizáciu a odolnosť proti chorobám. V roku 1965 bola povolená odroda Dvoran a v roku 1967 odroda Sladar. V rokoch 1967-1973 sa tieto odrody pestovali na 60-65 % všetkých pestovateľských plôch na Slovensku. Odroda Dvoran sa v období 1970-1975 pestovala v bývalých krajinách ZSSR na výmere asi 1 milión hektárov (Haraj 1968).

Od roku 1970 do roku 2000 bolo vyšľachtených 19 odrôd jačmeňa jarného: Fatran (1980), Horal (1982), Orbit (1986), Novum (1988), Galan (1990), Jubilant (1991), Sladko (1992), Svit (1992), Donum (1993), Stabil (1993),

Garant (1994), Pax (1994), Zlatan (1994), Kompakt (1995), Amos (1995), Vladan (1996), Progres (1998), Expres (1999) a Cyril (2000). Mnohé z týchto odrôd v rokoch 1988 až 2000 významne ovplyvňovali pestovanie jačmeňa jarného na území bývalej ČSSR a neskôr na pestovateľských plochách v SR a ČR. Odroda Jubilant mala významné zastúpenie aj v Maďarsku, ako sladovnícka odroda sa pestovala na vyše 40 % bežných pestovateľských plôch. Odroda Kompakt svojimi výnimočnými vlastnosťami patrila medzi tzv. preferované odrody u spracovateľov sladovníckeho jačmeňa v SR a ČR. Jej pestovanie sa rozšírilo aj na územie Maďarska a Chorvátska. Odroda Expres patrila k odrodám, ktorá pestovateľovi pri dodržaní technológie pestovania sladovníckeho jačmeňa priniesla vždy istý zisk vo forme dopestovania kvalitnej suroviny pre sladovnícky priemysel. Odroda Progres bola štandardnou odrodou na úrodový potenciál v registračných pokusoch ÚKSÚP-u. Od roku 2000 po súčasnosť bolo vyšľachtených 11 odrôd: Ludan (2002), Nitran (2003), Ezer (2004), Pribina (2005), Poprad (2006), Nadir (2006), Slaven (2007), Levan (2008), Donaris (2009), Sladar (2009) a Karmel (2010). Metodika tvorby súčasných odrôd bola prispôbená požiadavkám spracovateľského priemyslu a prvovýroby s dôrazom na zlepšovanie kvantitatívnych a kvalitatívnych vlastností nových odrôd v meniacich sa podmienkach pestovateľského prostredia. V tomto období sa dosiahli významné úspechy v šľachtení jačmeňa jarného na odolnosť proti múčnatke trávovej a to vyšľachtením odrôd s odolnosťou Mlo (Ludan, Nitran, Ezer, Slaven, Levan, Donaris, Sladar a Karmel) (Dreiseitl, Križanová 2012), odrôd s výberovou sladovníckou kvalitou (Nitran, Levan, Donaris, Sladar a Karmel) (Križanová, Psota a kol. 2010), odrôd s vysokým úrodovým potenciálom (Pribina, Slaven, Ludan). Odrody Nitran, Ezer, Sladar a Pribina boli okrem SR registrované aj v iných krajinách EÚ.

MATERIÁL A METÓDY

Osivo starých odrôd jarného jačmeňa vyšľachtených v Sládkovičove bolo získané z Génovej banky Slovenskej republiky CVRV, osivo súčasných odrôd poskytla firma HORDEUM s.r.o. Sládkovičovo. Súbor 35 odrôd jačmeňa jarného bol v roku 2011 vysiaty v šľachtiteľskej škôlke pracoviska HORDEUM s.r.o. Sládkovičovo, v kukuričnej výrobnínej oblasti v nadmorskej výške 125 m. Pokus bol zasiaty 22. 3.2011, predplodina bola cukrová repa. Každá odroda bola pestovaná na parcele 1 x 13 m² pri dodržaní technológie pestovania jačmeňa jarného. Agronomické znaky boli hodnotené podľa metodiky ÚKSÚP-u, hodnotenie odolnosti odrôd proti prirodzenému výskytu múčnatky trávovej (*Blumeria graminis f.sp. hordei*) a hnedej škvrnitosti (*Pyrenophora teres Drechs.*) bolo hodnotené stupnicou 1-9 (9 – odolná proti napadnutiu, 1 – úplne napadnutá). Omlátené osivo bolo vytriedené a podiel zrna na site 2,5 mm bol sledovaný v Sladařském ústavu VÚPS v Brne. Vyrobené vzorky sladu a sladina boli analyzované podľa metodík MEBAK (2006) a EBC (2009).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z dosiahnutých výsledkov (Tab.1) je zrejماً postupná tendencia zlepšovania agronomických znakov šľachtením. Priemerná výška odrody bola 75 cm, s variačným rozpätím 65 – 97 cm. Najnižšia bola odroda Novum (1988) 65 cm, naopak najvyššia odroda Slovenský jemný (1946) 97 cm. Z dosiahnutých výsledkov je zrejماً tendencia postupného skracovania výšky šľachtením. Odrody vyšľachtené od 80-tych rokov minulého storočia po súčasnosť boli nižšie v priemere o 20 cm ako odrody z 50-tych a 60-tych rokov minulého storočia. Výška rastlín ovplyvnila aj odolnosť jednotlivých odrôd proti poliehaniu. V tomto znaku sme zaznamenali najvyššie rozdiely medzi starými a novšími, resp. modernými odrodami. Odrody Slovenský dunajský trh (1946), Slovenský jemný (1946), Sladar (1967), Dvoran (1965), Diosecký Kneifel (1938), s bodovými hodnoteniami odolnosti proti poliehaniu 2 a 4 patrili medzi odrody s najvyššou výškou rastlín, najnižšou pevnosťou slamy a nízkou odolnosť týchto odrôd proti poliehaniu ovplyvnila aj ich náchylnosť k múčnatke trávovej hodnotená bodom 4.

Medzi odrodami sme zaznamenali výrazné rozdiely v odolnosti proti múčnatke trávovej (*Blumeria graminis f.sp. hordei*). Ako odolné proti múčnatke trávovej bola hodnotená väčšina odrôd registrovaná po roku 2000, napr. odrody Ludan (2002), Nitran (2003), Ezer (2004), Slaven (2007), Levan (2008), Donaris (2009), Sladar (2009) a Karmel (2010). Rezistencia týchto odrôd je podmienená účinným génom odolnosti mlo (Dreiseitl, Križanová 2012) a ich odolnosť v poľných podmienkach bola hodnotená bodom 9. Odrody so špecifickými génmi rezistencie, voči ktorým je v populácii patogéna vysoká virulencia boli menej odolné alebo náchylné, bodové hodnotenie 4-7. Z ekonomického aj ekologického hľadiska sa v tomto znaku dosiahol významný šľachtiteľský pokrok.

V súbore sledovaných odrôd bola skupina odrôd stredne náchylná proti hnedej škvrnitosti (bodové hodnotenie 5-6), napr. Pribina (2005) 5, Levan (2008) 6, Pax (1994) 5, Zlatan (1994) 5. Vyššie bodové hodnotenie (8-9) mali napr. odrody Slaven (2007) 9, Donaris (2009) 8, Sladar (2009) 9 a Karmel (2010) 8, Ludan (2002) 9, Nitran (2003) 8, Ezer (2004) 8, zo starších odrôd napr. Galan (1990) 8, Donum (1993) 8, Jubilant (1991) 8. Odolnosť najstarších odrôd proti hnedej škvrnitosti sa výrazne neodlišovala od odolnosti odrôd registrovaných v 80-tych a 90-tych rokoch minulého storočia. Výsledky hodnotenia odolnosti boli ovplyvnené infekčným tlakom patogéna v danom ročníku a na danej lokalite.

Infekčný tlak hrdze jačmennej a rynchospóriovej škvrnitosti bol v danom ročníku a v danej lokalite veľmi nízky, hodnotenie odolnosti odrôd by bolo vzhľadom k podmienkam nepreukazné.

Priemerná úroda odrôd jačmeňa jarného v sledovanom súbore bola $5,10 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ s variačným rozpätím $2,92 - 6,69 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. Najvyššia úroda bola zaznamenaná pri skupine najnovších odrôd Karmel (2010) $6,50 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, Sladar (2009) $6,69 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, Levan (2008) $6,54 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, Slaven (2007) $6,42 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. Najnižšiu úrodu sme zaznamenali pri skupine najstarších odrôd Slovenský jemný (1946) $4,00 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, Sladar (1967) $2,92 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, Dvoran (1965) $3,69 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$, Diosecký Kneifel (1938) $3,46 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ a pri odrodách Donum (1993) $3,92 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$ a Nadir (2006) $3,77 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$. Vyšľachtenie odrôd so špecifickou alebo všeobecnou adaptabilitou na podmienky prostredia deklaruje šľachtiteľský pokrok, ktorého význam zvyšuje aj vysoký podiel odrody na výške úrody.

Priemerná hmotnosť tisíc semien bola 44 g. Odrody Karmel (2010) a Sladar (2009) mali HTS vyššiu o 6 g v porovnaní s najstaršou odrodou Diosecký Kneifel (1938) 41 g. 14 odrôd malo hmotnosť tisíc semien vyššiu ako priemer. Najvyššiu HTS mali odrody Karmel (2010) a Sladar (2009) 47 g, Slaven (2007), Nitran (2003), Expres (1999) 46 g, zo starších odrôd Garant (1994) a Progres (1998) 46 g. Najnižšiu HTS mala odroda Horal (1982) 39 g.

V súbore sledovaných odrôd sa diferencovali neskoršie odrody s vegetačnou dobou 110 dní ako odrody Nitran (2003), Nadir (2006) a Galan (1990) a skoré odrody s dĺžkou vegetačnej doby 107 dní Progres (1998), Expres (1999) a Donaris (2009). Ostatné odrody patrili podľa dĺžky vegetačnej doby medzi stredne skoré a nezaznamenali sme medzi nimi väčšie rozdiely.

Z dosiahnutých výsledkov (Tab. 1) je možné vysledovať určitú tendenciu k postupnému znižovaniu akumulácie dusíkatých látok v zrne pri novších odrodách.

Obsah extraktu vypovedá o úrovni modifikácie škrobu počas sladovania. U tohoto významného technologického a ekonomického znaku je viditeľný výrazný výsledok šľachtiteľského úsilia. Posun pri extrakte priniesli postupne odrody Slovenský 802 (1946) 80,4 %, Dvoran (1965) 81,2 %, Donum (1993) 83,4 %; Nitran (2003) 84,3 % a Karmel (2010) 84,6 %. Genetický zisk v tomto znaku bol ovplyvnený znížením akumulácie dusíkatých látok v zrne a zvýšením aktivity enzymatického aparátu obilky v priebehu sladovania pri moderných odrodách. Odrody zo začiatku 21. storočia vykazovali až o 4 % vyšší obsah extraktu než odrody vyšľachtené v prvej polovici 50-tych rokov minulého storočia.

Vývoj šľachtiteľského pokroku pri diastatickej mohutnosti, tj. aktivity amylytických enzýmov (predovšetkým α -amyláz) je veľmi zaujímavý. Zdá sa, že pokiaľ do konca 70-tych rokov minulého storočia dosahovala väčšina odrôd hodnôt diastatickej mohutnosti vyšších než $300 \text{ }^\circ\text{WK}$, napríklad odrody Diosecký 802 (1946) $373 \text{ }^\circ\text{WK}$ a Sladar (1967) $316 \text{ }^\circ\text{WK}$. V 70-tych a hlavne 80-tych rokoch boli vyšľachtené odrody s nižšou diastatickou mohutnosťou, napríklad odrody Fatran (1980) $205 \text{ }^\circ\text{WK}$ a Orbit (1986) $144 \text{ }^\circ\text{WK}$. V 2. polovici 90-tych rokov minulého storočia a na začiatku tohoto storočia došlo k výraznému zvýšeniu aktivity amylytických enzýmov a hodnoty diastatickej mohutnosti sa bežne pohybujú nad $300 \text{ }^\circ\text{WK}$.

V prípade proteolytického rozlúštenia vyjadreného hodnotou Kolbachovho čísla došlo k významnému šľachtiteľskému pokroku, tj. k postupnému zlepšovaniu modifikácie dusíkatých látok. V prvých odrodách bola aktivita proteolytických enzýmov na úrovni 35-38 %. Od 80-tych rokov má väčšina vyšľachtených odrôd vysoké hodnoty proteolytického rozlúštenia a majú v podstate tendenciu k proteolytickému prelúšteniu.

Relatívny extrakt pri $45 \text{ }^\circ\text{C}$ vyjadruje aktivitu proteolytických enzýmov a α -amylázy. Koreluje do určitej miery s hodnotou Kolbachovho čísla. Aktivita enzýmov ovplyvňujúcich hodnotu relatívneho extraktu pri $45 \text{ }^\circ\text{C}$ sa postupne zvyšovala.

Značný šľachtiteľský pokrok bol zaznamenaný v kvalite sladiny vyjadrený úrovňou prekvasenia. Posun v kvalite zloženia sladiny priniesli postupne odrody Slovenský dunajský trh (1946) 80,6 %, Dvoran (1965) 81,6, Donum (1993) 84,1 %. Cez hraniciu 84,5 % sa dostali odrody Nitran (1993), Slaven (2007).

Aktivita enzýmov degradujúcich bunkové steny bola šľachtením taktiež výrazným spôsobom zvýšená. Jednou z prvých odrôd, ktorá splnila požiadavky na nízky obsah B-glukánov v sladine bola odroda Kompakt (1993) 93 mg/l. Mala 4-7 krát nižší obsah B-glukánov v sladine než odrody vyšľachtené v prvej polovici 20. storočia.

V súčasnej dobe sa kladie dôraz aj na vlastnosti, ktoré môžu ovplyvniť kvalitu finálneho produktu. K týmto znakom patrí zákal sladiny. Je to relatívne nový znak, na ktorý sa iba teraz začíná šľachtiť. Rada nových i starých odrôd požiadavky (tj. max. 4 jEBC) na tento znak spĺňa, ale veľa, hlavne nových odrôd, má s týmto znakom problém.

ZÁVER

Štúdia zahŕňa výsledky sledovania sladovníckych a agronomických vlastností odrôd jačmeňa jarného vyšľachtených v Sládkovičove. Na sledovaných odrodách je zachytený šľachtiteľský progres. Šľachtením bolo dosiahnuté zníženie akumulácie dusíkatých látok, zvýšenie extraktívnosti a zlepšenie amylytického, proteolytického a cytolitického rozlúštenia. Šľachtiteľský progres sa odrazil vo zvýšení úrody, zlepšení úrodovných znakov, v odolnosti k múčnatke trávovej, ako aj v zlepšení modifikácie škrobu, zvýšení modifikácie amylytických a proteolytických enzýmov a v zlepšení kvality sladiny.

Podakovanie: "Mikrosladovanie a analýza sladu a sladiny boli realizované za finančnej podpory projektu MŠMT ČR MSM6019369701 "Výzkum sladařských a pivovarských surovin a technologií".

LITERATÚRA

- DREISEITL, A. – KRIŽANOVÁ, K.: Powdery mildew resistance genes in spring barley cultivars registered in Slovakia from 2000-2010. In: *Cereal Research Communications*, 40(4), pp. 494-501 (2012), DOI:10.1556/CRC.40.2012.008
- EBC Analysis committee: Analytica-EBC. Carl, Getränke-Fachverlag, Nürnberg 2009.
- GRABNER, E.: Die Entwicklung und der heutige Stand der Pflanzenzüchtung in Ungarn. In: *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung* 1, 2:187-222, 1913.
- HARAJ, C.: Príspevok do seriálu "Poľnohospodársky a potravinársky výskum", orgánu Ústredia poľnohospodárskeho a potravinárskeho výskumu, Bratislava, 1968.
- JAMÁRIK, J.: Vývoj šľachtienia rastlín od roku 1870 do roku 1948. In: *100 rokov šľachtienia rastlín na Slovensku. Priroda* : Bratislava 1970.
- KRIŽANOVÁ, K. – PSOTA V. a kol.: Šľachtenie jačmeňa jarného na sladovnícku kvalitu. In: *Potravinárstvo*, roč. 4, č.2 (2010), s. 39-44. ISSN 1338-0230
- LEKEŠ, J. a kol.: *Ječmen*. Státní zemědělské nakladatelství, 1985
- MEBAK Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission. Brautechnische Analysenmethoden Rohstoffe. MEBAK, Freising-Weihenstephan, Germany, 2006.

Adresa autorov:

Klára Križanová, Ing., Ph.D., HORDEUM s.r.o., Nový Dvůr 1052, 925 21 Sládkovičovo, Slovenská republika, e-mail: krizanova@hordeum.sk

Vratislav Psota, Ing., CSc., Lenka Sachambula, Dr., Ing., Výzkumný ústav pivovarský a sladařský, a.s., Sladařský ústav, Mostecká 7, 614 00 Brno, Česká republika, e-mail: psota@brno.beerresearch.cz, sachambula@brno.beerresearch.cz

Tabuľka 1: Agronomické vlastnosti, úrodnotvorné znaky a analýza jačmeňa a sladu odrôd jačmeňa jarného

Názov odrody	Rok povolenia	Doba do klasenia	Doba do plnej zrelosti	Výška rastliny	Odolnosť proti poľiehamiu	Blumeria graminis f.sp. hordei	Pyrenophora teres	Úroda	Podiel zrna nad 2,5 mm	HTS	Dusíkaté látky v jačmeni	Extrakt sladu	Relatívny extrakt 45 ° C	Kolbachovo číslo	Diastatická mohutnosť	Konečný stupeň prekvasenia	Friabilita	b-glukány v sladine
Diosecký Kneifel	1938	68	109	93	2	4	7	3,2	41	91,6	13,2	78,5	38,1	38,9	367	76,7	64	656
Slovenský jemný	1946	65	109	95	4	4	7	4,0	43	92,6	11,7	80,3	32,3	40,2	282	79,9	70	470
Slovenský 802	1946	65	109	97	2	4	6	3,5	41	89,7	11,7	80,4	37,4	42,9	373	77,4	69	381
Slovenský dunajský trh	1946	66	109	90	4	4	6	4,6	42	91,3	12,2	80,1	34,5	35,4	300	80,6	61	726
Dvoran	1965	65	109	87	4	4	7	3,7	42	92,2	11,4	81,2	36,6	40,0	235	81,3	75	522
Sladar (1967)	1967	67	108	85	2	4	7	2,9	42	89,5	12,3	80,0	38,4	40,8	316	80,1	67	380
Fatran	1980	67	108	75	6	5	7	5,2	44	91,5	10,6	81,6	38,7	46,9	205	76,3	79	432
Horal	1982	68	109	78	5	5	6	4,4	39	89,5	10,4	81,4	36,6	44,7	225	76,5	76	435
Orbit	1986	67	109	72	7	6	6	5,3	43	91,8	10,2	81,3	33,5	42,5	144	81,2	85	251
Novum	1988	67	108	65	9	5	7	5,2	42	90,1	10,6	82,5	40,7	45,8	252	79,7	81	215
Galan	1990	68	110	75	8	6	8	5,9	45	92,4	9,9	83,2	42,7	47,7	202	82,3	85	254
Jubilant	1991	67	109	70	8	5	8	5,3	43	94,2	9,9	82,3	40,0	46,5	249	80,3	92	112
Sladko	1992	68	109	72	8	6	7	5,1	43	91,8	10,4	82,9	48,9	52,4	285	83,8	84	228
Svit	1992	69	109	73	8	6	6	6,2	45	92,1	10,4	81,5	37,6	44,1	216	78,5	82	233
Donum	1993	66	109	68	9	6	8	3,9	44	91,0	9,6	83,4	38,2	49,1	207	84,1	87	225
Stabil	1993	65	108	71	9	6	8	4,9	44	92,7	10,0	82,2	38,5	41,8	292	82,7	90	202
Garant	1994	66	108	70	7	5	7	5,7	46	92,4	9,6	82,0	36,9	44,8	209	80,5	85	291
Pax	1994	66	109	70	8	4	5	5,8	45	92,6	11,1	81,3	36,3	41,3	253	79,9	78	303
Zlatan	1994	68	109	70	9	5	5	5,3	45	93,2	11,6	81,0	35,2	36,5	278	78,4	65	441
Kompakt	1995	68	109	69	7	6	7	4,8	45	94,3	11,5	82,0	44,7	50,8	346	81,2	87	93
Amos	1995	65	109	70	9	5	7	4,3	46	89,5	10,7	81,6	36,3	42,5	201	77,7	77	359
Vladan	1996	65	109	69	9	7	9	4,2	45	92,7	11,9	81,8	38,2	46,8	329	79,9	89	212
Progres	1998	65	107	71	9	5	7	6,3	46	93,1	9,6	83,0	38,6	48,0	198	80,2	85	206
Expres	1999	65	107	74	9	6	7	5,4	46	93,4	11,4	81,6	43,9	49,2	316	83,5	84	193
Ludan	2002	65	109	72	9	9	9	5,9	44	94,5	10,4	83,2	41,0	45,7	258	82,7	86	255
Nitran	2003	71	110	70	8	9	8	5,7	46	94,3	9,2	84,3	44,3	50,6	381	84,6	92	176
Ezer	2004	68	109	75	9	9	8	5,8	42	93,1	10,2	84,0	41,0	49,5	295	84,5	92	144
Pribina	2005	65	108	70	9	6	5	4,4	45	92,1	9,9	83,7	39,5	47,8	184	82,7	89	166
Nadir	2006	70	110	68	7	5	7	3,8	44	93,7	11,1	82,8	41,4	46,1	279	81,7	86	217
Poprad	2006	65	108	70	9	5	7	4,8	41	91,9	9,8	83,1	41,4	45,2	231	83,6	86	225
Slaven	2007	65	109	74	9	9	9	6,4	46	96,2	10,2	84,0	45,4	48,3	280	84,9	93	126
Levan	2008	63	108	70	9	9	6	6,5	44	94,4	10,5	84,1	44,5	51,0	245	83,6	91	121
Donaris	2009	62	107	70	9	9	8	5,5	44	92,4	10,1	84,1	37,5	44,3	317	84,5	93	167
Sladar	2009	63	108	72	9	9	9	6,7	47	95,4	10,0	84,2	43,1	48,9	317	84,9	92	122
Karmel	2010	69	109	76	9	9	8	6,5	47	96,7	9,9	84,6	39,1	51,5	290	84,0	91	147
Priemer		66	109	75	7	6	7	5,1	44	92,6	10,7	82,3	39,5	45,4	267	81,3	83	277
Max		71	110	97	2	4	5	6,7	39	96,7	9,2	78,5	32,3	35,4	144	76,3	61	93
Min		62	107	65	9	9	9	2,9	47	89,5	13,2	84,6	48,9	52,4	381	84,9	93	726

VLIV EVOLUCE A LIDSKÉ ČINNOSTI NA DOSAŽENÍ SOUČASNÉ ÚROVNĚ ODRŮD PŠENICE A ODHAD DALŠÍHO VÝVOJE

THE INFLUENCE OF EVOLUTION AND HUMAN ACTIVITY ON THE ACHIEVEMENT OF CURRENT LEVEL OF WHEAT VARIETIES AND THE ESTIMATION OF FUTURE DEVELOPMENT

PETR MARTINEK¹, MICHAELA KADLÍKOVÁ¹, JAN KŘEN², LUBOMÍR NEUDERT²

¹Agrotest fyto, s.r.o., Kroměříž, ²Mendelova univerzita v Brně

The most important characteristics of wheat varieties are not only their yield ability and required grain quality, but as well as a level of certain achievement in a given environment with the use of a particular crop management practice. The characteristics of varieties, which are now taken for granted, have formed during a long period of evolution and human activity, and this can be considered cultural heritage. The main changes that which took place during this period of development are presented. Based on past changes, the future development of varieties is estimated. It is desirable to increase the amount of above-ground biomass of the stand while maintaining or increasing values of harvest index, provided sufficient adaptability to specific soil and climatic conditions of the environment exists. At present, varieties are considered simply as consumer goods which are necessary to assure growing profitability of wheat. In the Czech Republic, the liberalized access of breeding companies to the market with too many varieties has resulted in an enormous increase in the number of both registered and unregistered varieties, which makes the growers' choice more difficult. Thus, the role of advertising by breeding and seed companies has been highlighted, and at same time the importance of the system of recommending varieties to growers has been weakened. The possibility of improving this situation is discussed.

Keywords: wheat, evolution, domestication, assortment of varieties, development trends

ÚVOD

Pšenice (*Triticum* spp.) je nejrozšířenější plodinou, která společně s rýží (*Oryza sativa* L.) a kukuřicí (*Zea mays* L.) zaujímá největší pěstební plochy ve světě. Je nejvýznamnější plodinou mírného pásma, její průměrný výnos se v současnosti ve světě pohybuje okolo 3 tun z hektaru a je nižší oproti kukuřici a rýži, které jsou pěstovány v teplejších oblastech.

Na konzumaci obilovin bezprostředně závisí více než tři čtvrtiny lidské populace, na pšenici 35 % lidí (podle statistik FAO). Světovou potřebu potravin se však stále nedaří uspokojit. I přes mírný trend poklesu počtu obyvatel strádajících hladem a podvýživou v období 2005-2007 nebyl dostatek potravin pro 848 miliónů lidí, což představuje asi 13 % populace (<http://www.fao.org>). Vzhledem k očekávanému nárůstu počtu obyvatel na 8,3 miliardy v roce 2030 a 9,3 miliardy v roce 2050 bude zabezpečování dostatku potravin stále větší problém.

Evoluční schéma a vývoj kulturních druhů pšenice

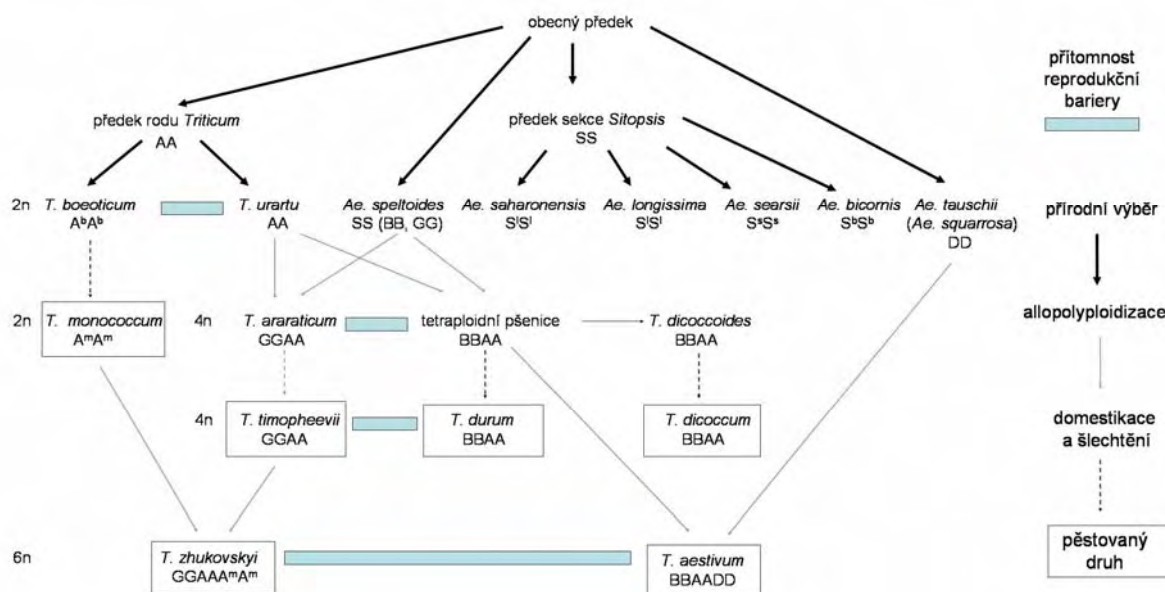
Rod pšenice (*Triticum* spp.) patří do čeledi lipnicovitých *Poaceae* (R. Br.) Barnh., podčeledi *Pooideae*, tribu *Triticeae* Dumort. Podle databáze GRIN trib *Triticeae* v současnosti zahrnuje 109 různých rodů, jejichž genomy (soubory chromozomů) obsahují sedm chromozomů a u allopolyploidních druhů násobky sedmi chromozomů. Mezi rody jsou různě silně příbuzenské vazby, někteří jejich zástupci se mohou navzájem křížit, mezi jinými jsou reprodukční bariéry.

Rod pšenice zahrnuje řadu rozmanitých druhů, současné moderní odrůdy pšenice patří primárně pouze ke dvěma allopolyploidním druhům: hexaploidní pšenici (*Triticum aestivum* L. $2n = 6x = 42$; BBAADD) a tetraploidní pšenici [*T. turgidum* L. (Thell), $2n = 4x = 28$; BBAA], používanou především pro výrobu těstovin a velmi omezeně pro výrobu málo-kynoucích druhů chleba. Kulturní diploidní jednozrnka *T. monococcum* L. ($2n = 2x = 14$; A^uA^u) se pěstuje jen vzácně v horských oblastech středozemí. Pšenice špalda (*T. spelta* L.) je hexaploidní pluchatou pšenicí, která se rovněž pěstuje velmi omezeně většinou jako produkt ekologického zemědělství. Zajímavá je větev pšenice, zahrnující částečně domestikovaný tetraploidní druh *T. timopheevii* (Zhuk.) Zhuk. ($2n = 4x = 28$; GGAA) a odvozený hexaploidní *T. zhukovskyi* Menabde et Erizjan ($2n = 6x = 42$; GGAA^bA^b). Tato vývojová větev sice nevedla k vytvoření druhů využitelných pro současnou pěstitelskou praxi, uplatnil se zde však v principu obdobný proces, který vedl ke vzniku dnešní *T. aestivum*, avšak existence genetických bariér způsobuje jen velmi obtížnou křížitelnost mezi těmito vývojovými větvemi (Gontscharov, 2011).

Uvnitř tribu *Triticeae* byla evoluce ovlivněna vnitrodruhovou a mezidruhovou hybridizací provázenou introgrésí genů a rychlou diverzifikací diploidních a polyploidních předků (Obr. 1).

Podle odhadů se tribus *Triticeae* oddělil od výchozího předka přibližně před 35 miliony let a skupina *Triticum* se oddělila asi před 11 miliony let.

Podstatné je, že průběh evoluce probíhal jak monofyleticky (výchozí společný diploidní předek se rozpadl do několika větví, které se staly základem současných diploidních druhů), tak i polyfyleticky (křížení rozdílných druhů doprovázené zdvojením počtu chromosomů se stalo základem vzniku tetraploidních a hexaploidních druhů). Studium příbuzenských vztahů se zabývala řada autorů, výsledky studia z poslední doby ukazuje schéma na obrázku 1, vyjadřující příbuzenské vztahy mezi jednotlivými druhy *Triticum* a *Aegilops* (mnohoštět).



Obrázek 1. Schéma evoluce uvnitř tribu *Triticeae* (podle Gontscharov, 2011)

Křížení plané diploidní pšenice *Triticum urartu* ($2n = 2x = 14$; AA) s prapůvodní formou *Ae. speltoides* ($2n = 2x = 14$; SS, nedochovala se do dnešní doby) umožnilo vytvoření tetraploidních pšeníc ($2n = 4x = 28$; BBAA). U tetraploidních pšeníc došlo během evoluce k vytvoření genetického systému zabráňujícímu párování homeologických chromosomů (mutace *Ph1*, která se nachází na dlouhém rameni chromosomu 5B), což významně přispělo ke zvýšení genetické stability tetraploidních a následně i hexaploidních druhů. Křížení tetraploidních pšeníc s *Ae. squarrosa*, syn. *Ae. tauschii* ($2n = 2x = 14$; DD) vedlo ke vzniku hexaploidních pšeníc s celkovým počtem 42 chromosomů s genomy B, A a D. Ke vzniku tetraploidní pšenice *T. turgidum* L. došlo asi před 0,5 milionem let a stáří hexaploidní pšenice se odhaduje dle archeologických nálezů asi jen na 10 tisíc let (Gustafson *et al.*, 2009).

U allopolyploidů docházelo následkem procesu zdvojení počtu chromosomů k rychlým evolučním změnám, doprovázeným genetickými změnami (nenáhodná eliminace kódujících a nekódujících sekvencí DNA, duplikacemi a delecemi, epigenetickými změnami jako je například metylace DNA kódujících a nekódujících částí, blokování přepisu některých genů „gene silencing“, aktivace retroelementů spojená se změnami exprese přílehlých genů). Proces allopolyploidizace vedl ke zvýšení plasticity a adaptability genomu. Proto je považován za významný faktor, který výrazně usnadnil vytvoření kulturních tetraploidních a hexaploidních forem pšenice. Specifická sestava genomů pocházejících z rozdílných druhů přispěla ke zvýšení plasticity a adaptability takto vzniklých forem (Feldman a Levy, 2005) a tento proces významně přispěl k vytvoření současných kulturních druhů.

Přítomnost genomu D v hexaploidní pšenici významným způsobem ovlivnila technologické vlastnosti lepkové bílkoviny. Chléb s dobrou porézní strukturou střídy lze uspokojivě upéct pouze z některých hexaploidních pšeníc, kde chromosomy 1D a 6D nesou alely pro vhodné viskoelastické charakteristiky lepkové bílkoviny, schopné zadržovat oxid uhličitý v procesu kynutí těsta.

Přehled jednotlivých druhů rodu *Triticum*, jejich rozřídění podle genomů a pluchtosti oblek je uveden v tabulce 1. Řada z uvedených druhů může nést významné vlastnosti využitelné pro zlepšování současných pěstovaných druhů pšenice.

Tabulka 1. Systematika rodu *Triticum* (podle Gontscharov, 2011)

Sekce	Skupina	Druh	(2n)	Genom
<i>Monococcon</i> Dum.	Pluchaté	<i>T. urartu</i> Thum. ex Gandil.	14	A ^u
		<i>T. boeoticum</i> Boiss.	14	A ^b
		<i>T. monococcum</i> L.	14	A ^b
	Nahozrné	<i>T. sinskajae</i> A. Filat. et Kurk.	14	A ^b
<i>Dicoccoides</i> Flaksb.	Pluchaté	<i>T. dicoccoides</i> (Körn. ex Aschers. et Graebn.) Schweinf.	28	BA ^u
		<i>T. dicoccum</i> (Schrank) Schuebl.	28	BA ^u
		<i>T. karamyshevii</i> Nevski	28	BA ^u
		<i>T. ispahanicum</i> Heslot	28	BA ^u
	Nahozrné	<i>T. turgidum</i> L.	28	BA ^u
		<i>T. durum</i> Desf.	28	BA ^u
		<i>T. turanicum</i> Jakubz.	28	BA ^u
		<i>T. polonicum</i> L.	28	BA ^u
		<i>T. aethiopicum</i> Jakubz.	28	BA ^u
		<i>T. carthlicum</i> Nevski	28	BA ^u
<i>Triticum</i>	Pluchaté	<i>T. macha</i> Dekapr. et Menabde	42	BA ^u D
		<i>T. spelta</i> L.	42	BA ^u D
		<i>T. vavilovii</i> (Thum.) Jakubz.	42	BA ^u D
	Nahozrné	<i>T. compactum</i> Host	42	BA ^u D
		<i>T. aestivum</i> L.	42	BA ^u D
		<i>T. sphaerococcum</i> Perciv.	42	BA ^u D
<i>Timopheevii</i> A.Filat. et Dorof.	Pluchaté	<i>T. araraticum</i> Jakubz.	28	GA ^u
		<i>T. timopheevii</i> (Zhuk.) Zhuk.	28	GA ^u
		<i>T. zhukovskiyi</i> Menabde et Erizjan	42	GA ^u A ^b
<i>Compositum</i> N.P. Gontsch.	Pluchaté	<i>T. palmovae</i> G.Ivanov (syn. <i>T. erebuni</i> Gandil.)	28	DA ^b (DA ^u)
		<i>T. dimococcum</i> Schieman et Staudt	42	BA ^u A ^b
		<i>T. kiharae</i> Dorof. et Migusch.	42	GA ^u D
		<i>T. soveticum</i> Zhebrak	56	BA ^u GA ^u
		<i>T. borisii</i> Zhebrak	70	BA ^u DGA ^u
	Nahozrné	<i>T. flaksbergeri</i> Navr.	56	GA ^u BA ^u

Pozn.: zeleně jsou vyznačeny původní druhy, žlutě jsou vyznačeny druhy, u kterých existují literární údaje o jejich domestikaci, bíle přírodní a umělé hybridy.

Původ pšenice

Centrum rozvoje pšenice se nachází v oblasti Blízkého východu v prostoru tzv. "úrodného pŕlměsíce", který se rozprostírá od přímořských oblastí Izraele přes severní část Sýrie po Irák. Teritorium rozšíření planých druhů *Aegilops* je však mnohem větší. Archeologické nálezy dokládají, že plané formy dvouzrnky (*T. dicoccoides* Schweinf.) a ječmene se vyskytovaly v lidských sídlech již před 19 tis. lety (lokality Ohalo II - v blízkosti Galilejského jezera), což je období zasahující do mladého paleolitu. Počátky pěstování pšenice úzce souvisejí se vznikem zemědělství v pravěkém období lidstva. V období 12. - 11. tisíciletí př. n. l. ovlivnila proces domestikace planých forem změna podnebí v oblasti středomoří, která přinesla poněkud humidnější podmínky a přispěla k rozvoji zemědělství. Došlo k expanzi termofilních rostlin, z nichž některé byly využitelné pro pěstování. Postupně došlo ke změně zaměření lovců a sběračů na pěstování rostlin a na usedlý způsob hospodaření, později došlo k urbanizaci sídel a rozvoji kultury. Domestikované (kulturní) druhy pšenice se postupně rozšiřovaly do Evropy a severní Afriky, kde se staly nejrozšířenějšími pěstovanými plodinami po celou dobu pravěkého a historického období (Caligari a Brandham, 1999; Gustafson *et al.*, 2009).

První nálezy domestikované jednozrnky (*T. monococcum* L.) a dvouzrnky (*T. dicoccum* Schrank) pocházejí z doby 9400 - 9000 let př. n. l. (lokality Cafer Höyük XIII-X, střední Anatolie), počátek jejich širšího rozšíření spadá do období druhé poloviny 8. tisíciletí př. n. l. Nejstarší nálezy nahozrné pšenice pocházejí z doby 8800 - 8400 př. n. l. Na našem území je doložen výskyt jednozrnky a dvouzrnky již od neolitu (Opava, Kateřinky, jáma 13A - 4500 př. n. l.), častý výskyt dvouzrnky *T. dicoccum* je zaznamenán v období neolitu až po dobu bronzovou (4500 - 700 př. n. l.).

Změny během domestikace

Změny vyvolané člověkem lze studovat na základě porovnání rozdílů výchozích (planých) a kulturních forem pšenice ve srovnávacích polních pokusech. U pšenice převažuje samosprašnost, kdy předčasně vyspělé uvolněné prašníky uvnitř kvítků umožňují opylení ještě před jejich otevřením (kleistogamie). Pro domestikaci je výhodnější pěstování samosprašných forem, protože to umožňuje lepší kontrolu přenosu znaků do potomstev a eliminaci rizika ztráty vybraných vlastností nekontrolovaným sprášením s okolními rostlinami.

Plané formy pšenice mají obvykle pluchaté zrno, jejich klasové větveno se ve zralosti rozpadává na jednotlivá internodia klínovitého, případně válcovitého tvaru. Podstatnou změnou byl přechod od rozpadavých klasů k nerozpadavým. Pluchy u většiny planých druhů pevně obalují zrno a jsou účinnou ochranou vůči vlivům

vnějšího prostředí a hmyzu. Snadnější možnost získání zrna vedla k širšímu uplatnění nahozrných pšeníc *T. durum* a *T. aestivum*.

Během domestikace došlo rovněž k významnému snížení doby inhibice klíčení zrna (dormance). U některých planých druhů trav, zvláště jednoletých z oblasti okolo Středozevního moře nebo stepního prostředí, je delší období dormance nezbytné pro jejich přežití ve vlhkém prostředí od doby dozrávání semen na počátku léta do začátku období dešťů na podzim. Některé adaptace planých druhů spočívají v prodloužení schopnosti klíčit dva roky nebo i více let, což ochraňuje populaci před zničením v extrémně suchých nebo vlhkých letech. Dalšími vlastnostmi kulturních pšeníc je vzpřímený růstový morfortyp, synchronizované odnožování a dozrávání, zvýšení produkce obiliek vyvinutím přídatných plodných kvítků, zvýšení počtu klasů na rostlině, redukce osin, síly a tloušťky plev a rozvoj produkce zrna. Postupně docházelo ke zkracování délky stébla a snižování nebezpečí poléhání, zvětšování klasu, zvýšení sklizňového indexu a výnosu.

Zajímavé je, že v procesu domestikace se více uplatňovaly tetraploidní a hexaploidní druhy. Výskyt odlišných vzájemně homeologických genomů u allopolyploidů podněcuje některé genetiky k názoru, že v takovýchto případech může docházet k projevu permanentní heteroze (Ozkan *et al.*, 2002).

Význam šlechtění a vývoj pšenice v posledním období

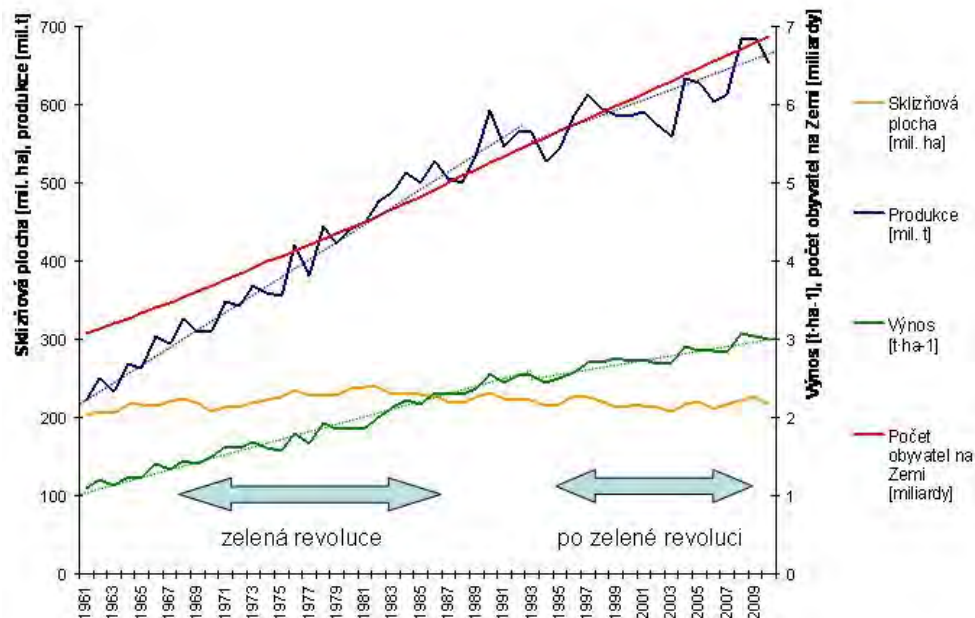
Do konce 19. století veškerá pěstovaná pšenice existovala ve formě vysoce heterogenních krajových odrůd (landrace) vzniklých hromadným výběrem, kdy tyto byly představovány morfologicky uniformními směsmi samosprašovaných linií a jejich segregantů. Dodatečná selekce vedla k dalšímu zvyšování výnosu, lepší kvalitě a adaptaci k různým půdně-klimatickým podmínkám a pěstitelským postupům. Nástup moderního šlechtění během minulého století vedl k vytváření geneticky uniformních odrůd - linií, které více vyhovovaly potřebám praxe. Na straně druhé genetický základ mnohých odrůd byl vystaven rizikům snížení genetické proměnlivosti. Genové banky se proto snaží uchovávat tuto proměnlivost.

Znalost vědeckých základů dědičnosti vedla k intenzivní šlechtitelské činnosti, tvorbě liniových odrůd a ke značnému vzrůstu výnosů. Zvyšování výnosové schopnosti odrůd bylo dosahováno především změnami proporcí rostlin a architektury porostů (zvýšení hustoty porostu) a prodloužením životnosti asimilačního aparátu (Austin *et al.*, 1980), který je výsledkem šlechtění na odolnost k biotickým a abiotickým stresovým faktorům prostředí. Předpokladem pro zvyšování výnosů je dostatečný **výnosový potenciál** a současně dostupnost a využitelnost zdrojů energie. Výnosový potenciál je definován jako výnos odrůdy pěstované v prostředí, na které je adaptována, za dostatku živin a vody, které nejsou limitovány, bez výskytu chorob, škůdců, plevelů a dalších stresových faktorů, které jsou pod účinnou kontrolou (Fischer a Evans, 1999). Jedná se tedy o výnos odrůdy za ideálních podmínek. Při reálném předpokladu, že by sklizňový index mohl u pšenice dosáhnout hodnoty 0,6 (Austin *et al.*, 1980) by bylo možné teoreticky vypočítat výnosový potenciál jako násobek hmotnosti nadzemní biomasy porostu vyprodukované za ideálních podmínek tímto koeficientem. Na rozdíl od termínu výnosový potenciál je třeba odlišovat termín **potenciál výnosu**, který je definován jako maximální výnos plodiny v reálných podmínkách daného prostředí za simulovaných přijatelných fyziologických a agronomických předpokladů (Fischer a Evans, 1999).

Při tvorbě výnosu mají důležitou úlohu genetické předpoklady odrůd během vývoje rovněž schopnost příjmu a transportu živin, úložná kapacita (sink) klasu, která stimuluje přísun asimilátů do zrna v období po antezi (Wang *et al.*, 1998). Proto jsou vyhledávány genové zdroje zajišťující dostatečnou míru adaptability na dané podmínky prostředí a s dostatečným počtem metamerních orgánů, využívaných rostlinou pro reagování na změny prostředí rovněž pro zajištění reprodukce (Miralles a Slafer, 2007). Tyto mají hierarchické uspořádání a jsou tvořeny počtem generativních odnoží, klásků v klase a kvítků v klásku (Masle-Meynard a Sebillotte, 1981; Reynolds *et al.*, 2005; Sreenivasulu a Schnurbusch, 2011; Martinek *et al.*, 2012).

Období od zavedení celosvětové statistiky FAO v roce 1961 po počátek devadesátých let minulého století se vyznačovalo rychlým, téměř lineárním růstem celosvětových výnosů a produkce a je označováno jako „zelená revoluce“. Bylo podmíněno výrazným zvýšením výnosové schopnosti odrůd, která byla doprovázena řadou fyziologických a morfologických změn rostlin. Hlavní příčiny tohoto jevu lze spatřovat ve výrazném zvýšení hmotnosti zrna klasu a zkrácení délky stébla (zvýšení hodnoty sklizňového indexu). To umožnilo nejen zlepšit odolnost k poléhání a zvýšit počet klasů na jednotku plochy. Zajímavé však je, že se nepodařilo šlechtitelskou činností dosáhnout podstatnějšího zvýšení sušiny nadzemní biomasy porostu. Případný nepatrný až mírný vzestup sušiny nadzemní biomasy je u současných odrůd vnímán jako důsledek prodloužení doby životnosti listů, vzpřímeného postavení praporcových listů, lepší využitelnosti světla porostem a případných změn ve velikosti kořenového systému, zatímco výkon fotosyntézy zůstal prakticky nezměněn (Reynolds *et al.*, 2000). Od poloviny 90. let se nacházíme v období „po zelené revoluci“ (post green revolution), kdy se předchozí vzestupný trend výnosů a produkce začal zpomalovat hlavně v důsledku ekologických a energetických limitů prostředí (Obr. 2). Rovněž je pozorován trend snižování stability výnosů a produkce a postupné zpomalení nebo až zastavení trendu zkracování délky stébla u nových odrůd. Literární údaje o zastavení nebo zpomalení trendu zkracování délky stébla nejsou pro oblast střední Evropy k dispozici a bylo by zapotřebí tento jev prověřit experimentální studií. Pamětníci, kteří znají délku rostlin odrůd pěstovaných před 20 lety (Slávia, Hana, Viginta, Danubia, Selekt, Regina, Zdar) by mohli potvrdit malý výškový rozdíl od současných odrůd.

Další zkracování délky stébla je sice geneticky proveditelné, v současnosti však již je omezováno ekologickými limity (Foulkes *et al.*, 2011). Při stejné úrovni sklizňového indexu (HI) lze dosahovat stejného výnosu buď menším počtem klasů s větší hmotností zrna, nebo vyšším počtem menších klasů. Zvyšování HI v situaci, kdy se zmírilo, nebo zastavilo zkracování délky stébla, nutně vede k tvorbě odrůd s vyšší produktivitou klasu. V podmínkách střední Evropy se tento trend projevuje u nových odrůd tendencí tvořit výnos zvýšenou produktivitou klasu při středním nebo i nižším počtu klasů. Zvyšování HI za předpokladu zachování vysokého počtu klasů v porostu by vedlo k selekci na tenčí stéblo a k opětovnému zvýšení rizika poléhání.



Obrázek 2. Vývoj výnosů, produkce a pěstebních ploch pšenice a počtu obyvatel na Zemi

Současný vývoj odrůd pšenice naznačuje, že vyšší výnos může být dosahován snadněji, pokud je tvořen větším podílem polysacharidové (škrobové) složky a menším podílem složky bílkovinné. Je to zřejmé i z výsledků ÚKZÚZ, kde pšenice s nejvyšší potravinářskou kvalitou (E a A) doprovázenou v průměru vyšším obsahem dusíkatých látek v zrna mají obvykle nižší výnosy než pšenice s nepotravinářskou kvalitou (C). To zřejmě souvisí s množstvím metabolické energie, kterou rostlina potřebuje na syntézu jednotkového množství bílkovin a škrobů a tento rozdíl může do budoucna zvýrazňovat vzestup koncentrace CO₂ v atmosféře v souvislosti s trendem globálního oteplování (Nátr, 2000). Současné odrůdy dosahují vysokých výnosů vyšším podílem škrobů v zrna a nižším podílem bílkovin. Na tento jev zřejmě reagovala i změna výkupní normy ČSN 46 1100-2 pro potravinářskou pšenici v České republice v roce 2001, kdy došlo ke snížení nejnižšího přípustného limitu pro obsah bílkovin v zrna pro výkup potravinářské pšenice z původních 12,5 % na 11,5 %. Požadavky na vyšší obsah bílkovin v zrna jsou při prodeji oceněny příslušnými příplatky (systém převzat z Německa), zohledňujícími nutnost vyšších nákladů hlavně na dusíkaté hnojení.

Pokud se nepodaří u pšenice zvyšovat produkci sušiny biomasy na jednotku plochy například zlepšením výkonnosti fotosyntézy, potom nebude jiná možnost než dále pokračovat ve stávajících trendech měnění proporcí rostlin. Alternativně by řešení mohlo spočívat ve využití některých genových zdrojů se změněnou morfologickou strukturou klasu s větší fotosyntetickou nebo úložnou kapacitou klasu (Martinek *et al.*, 2011; 2012), případně s větší kořenovou soustavou.

Úvahy o dalším vývoji

Vzestupu výnosového potenciálu bylo u pšenice dosahováno především zkracováním délky stébla, zvyšováním produktivity klasu, počtu klasů na jednotce plochy porostu a zlepšováním odolnosti ke stresovým faktorům prostředí, které umožňovalo prodloužit životnost asimilačního aparátu. Dlouhodobý proces domestikace a relativně krátké období intenzivního šlechtění vedlo tedy k morfologickým změnám rostlin, které umožnily zvýšení podílu zrna na celkové biomase porostu.

Otázkou zůstává, jakým směrem se bude ubírat další šlechtitelský proces. Pokud budou zachovány výše uvedené trendy, bude vývoj probíhat cestou zvyšování hodnoty sklizňového indexu a spíše zvyšováním hmotnosti zrna klasu než dalším zkracováním délky stébla. Zvyšování hustoty porostu má rovněž svá omezení, neboť může vést opětovně k riziku poléhání. Většina studií se shoduje, že raná vývojová stádia, kdy dochází k zakládání počtu generativních orgánů ve vegetačních vrcholech klasu, jsou významná pro tvorbu vyššího počtu obilok a délka období od opylení do období zralosti může ovlivnit jejich hmotnost. Zvyšování asimilační schopnosti porostů během tvorby zrna může být jednou z cest dalšího zvyšování genetického výnosového potenciálu. Samozřejmě velmi žádoucí by bylo zvyšování čistého výkonu fotosyntézy genetickou cestou pro

dosažení větší produkce biomasy na jednotku plochy porostu. Toho by šlo teoreticky dosáhnout změnou C3 cyklu trikarboxylových kyselin (Krebsův cyklus) na C4 metabolický cyklus (Calvinův cyklus). Podobná změna se již podařila uskutečnit u rýže pomocí transgenoz. C4 metabolický systém může pracovat efektivněji, protože nevyžaduje energii potřebnou pro fotorespiraci. Poslední údaje naznačují, že vytvoření C4 pšenice je možné dosáhnout cestou transgenoz tří genů pocházejících z kukuřice, což v experimentálních podmínkách může zvýšit biomasu porostu až o 40 % (Hu *et al.*, 2012). Problémem mohou být odlišné požadavky C4 rostlin na světlo a teplo, což by mohlo vést ke změnám rozšíření takové pšenice.

Šlechtění je pokládáno za významný intenzifikační faktor rostlinné výroby. Přestože ekonomové dovedou porovnat efektivitu nákladů na tvorbu odrůd a nákladů na energetické vstupy do prostředí, ve kterém se uskutečňuje produkce, je pochopitelné, že význam odrůd od významu prostředí nelze od sebe oddělovat. Šlechtění se stalo kontinuálním procesem, ve kterém jsou kříženy nejlepší odrůdy jako rodičovští partneři a kde dochází k výběru ještě výnosnějších a kvalitnějších odrůd než výchozí rodiče. Kromě nesporných pozitivních přínosů může současný systém šlechtění přinášet i nebezpečí zvyšování genetické podobnosti vznikajících odrůd. Vzhledem k tomu, že odrůdy se pěstují v monokulturách (s geneticky shodnými jedinci) na velkých plochách a vzhledem k antagonistickým vztahům mezi rostlinami-hostiteli a nejrůznějšími houbovými patogeny, může snadněji docházet k vyselektování a rozšíření virulentních forem patogenů, schopných překonávat geny rezistence pěstovaných odrůd. Z tohoto důvodu je žádoucí využívání nových genů rezistence a obecně genů pro nové vlastnosti.

Použitelné donory rezistencí proti biotickým a abiotickým faktorům prostředí a donory nových vlastností lze hledat mezi krajovými odrůdami a zvláště pak mezi planými druhy. Využití planých diploidních druhů může spočívat v tvorbě tzv. „syntetické pšenice“. Jedná se obvykle o křížení tetraploidní *T. durum* Desf. ($2n = 4x = 28$; BBA^uA^u) s planým diploidním donorem, zde jako příklad je uveden *Ae. tauschii* ($2n = 2x = 14$; D¹D¹). Pro překonání sterility vzniklého F₁ hybridu (s genomy BA^uD¹) se používá technologie zdvojení počtu chromozomů (BBA^uA^uD¹D¹), například pomocí kolchicinu. Během tvorby syntetické pšenice se v laboratorních podmínkách navozuje obdobný proces allopolyploidizace, jaký se uplatňoval během evoluce. Syntetické pšenice se již bez velkých potíží dají křížit s běžnými odrůdami hexaploidní pšenice a tímto způsobem může dojít k přenosu požadované vlastnosti z planého druhu prostřednictvím syntetické pšenice, která zde funguje jako prostředník pro přenos požadovaných genů. Obdobné principy umožnily vytvořit i umělé allopolyploidní druhy využitelné jako nové zemědělské plodiny. Jedná se o tritikale (\times *Triticosecale* Wittmack), které je křížencem pšenice a žita a tritordeum (\times *Tritordeum* Ascherson *et* Graebner), které vzniklo z křížení ječmene čilského (*Hordeum chilense* Roemer *et* Schultes) s pšenicí (Martin *et al.*, 1999).

Nejnovější genetické metody umožňují realizovat přenosy genů mezi nepříbuznými druhy pomocí technik genomového inženýrství a tyto metody zahájily novou kapitolu v historii šlechtění zemědělských plodin (Li *et al.*, 2012).

Využití nabídky odrůd v České republice

Využití dlouhodobých zkušeností v aplikovaném výzkumu a poradenství v rostlinné produkci by mělo vést ke správné volbě odrůd a optimalizaci pěstebních technologií polních plodin. Základem je interakce $G \times P \times T$, která je považována za jednotné východisko pro rozvoj šlechtění i pěstování polních plodin (G = odrůda a její biologický potenciál; P = pěstitelem neovlivnitelné nebo málo ovlivnitelné složky prostředí představované půdně-klimatickými podmínkami lokality, počasím, cenami vstupů a výstupů a pod.; T = pěstitelem ovlivnitelná složka prostředí představovaná pěstební technologií jako souborem pěstitelských opatření v průběhu vegetace plodiny modifikovanou podle požadavků odrůdy, podmínek lokality, průběhu počasí, intenzity hospodaření, způsobu využití produkce, cen vstupů a výstupů a podobně) Optimalizace tohoto systému (sladění všech složek na základě jejich významu a funkcí) má být zaměřena na maximální realizaci biologického potenciálu výnosu a kvality produkce, rentabilitu vstupů a omezení negativních dopadů hospodaření na životní prostředí.

Podobně jako volba plodin v rámci osevního postupu je správná volba odrůd (G) významným racionalizačním opatřením rostlinné produkce. Výběr odrůd a odrůdové skladby je odborně náročné rozhodování vyžadující široké agronomické zkušenosti, znalosti půdně-klimatických podmínek lokality a objektivní informace o agrobiologických zvláštích odrůd. I při splnění uvedených podmínek je nutné brát v úvahu omezenou předvídatelnost průběhu počasí v jednotlivých ročních a s tím spojené riziko výskytu škodlivých činitelů - abiotických (vyzimování, sucho, intenzivní srážky, poléhání) a biotických (choroby a škůdci). Proto je volba odrůd z hlediska předpokládaného rizika a jeho omezení důležitým odpovědným podnikatelským rozhodnutím.

Výběr odrůd by proto neměl být ovlivněn výjimečnými výsledky, které nejsou potvrzeny v letech s dostatečným projevem škodlivých faktorů. Zemědělská praxe má u nově registrovaných odrůd často k dispozici převážně pouze firemní charakteristiky vytvořené na základě podkladů z ověřování odrůd v zemích jejich původu, které mnohdy nejsou dostatečně ověřeny a potvrzeny v půdně-klimatických podmínkách České republiky (ČR). V současnosti (28. 10. 2012) je dle databáze ÚKZÚZ (Ústřední kontrolní a revizní ústav zemědělský) k dispozici 101 registrovaných odrůd ozimé a 25 odrůd jarní pšenice (*T. aestivum* L.). Liberalizace přístupu šlechtitelských firem na trh s odrůdami se projevila v ČR enormním nárůstem počtu registrovaných odrůd a i určitým podílem odrůd pěstovaných na základě Evropského katalogu. Zemědělci velmi důvěřují

zavádění nových odrůd, neboť ty jsou obvykle prezentovány tak, že vzbuzují naději na snadnější dosažení vysokého výnosu i požadované kvality. Tato skutečnost vede ke zvýraznění úlohy reklamy prováděné šlechtitelskými a semenářskými firmami a současně dochází k oslabení významu systému doporučování odrůd pro zemědělskou praxi. Na využívání odrůd má významný vliv způsob a jejich propagace prováděný firmami, které ne vždy využívají objektivní argumenty.

Odrůdy pšenice se tak staly obdobou běžného spotřebního zboží, od kterého je očekáváno dosažení co největšího zisku než budou nahrazeny novými odrůdami jako novinkami. Za této situace je nezbytné vytvořit stabilní finančně zajištěný systém zkoušek odrůd pro Seznam doporučených odrůd (SDO), který by navazoval na registrační zkoušky a z rozsáhlého souboru registrovaných vybíral nejvhodnější odrůdy pro širší zemědělskou praxi. Měl by zajišťovat nárůst výnosu a především jeho stabilitu, včetně stability jakosti podle účelu využití produkce. Prováděním zkoušek je ze zákona pověřen ÚKZÚZ, komise pro SDO je jeho poradním orgánem. U pšenice je za provádění zkoušek garantem Agrární komora. Zkoušení odrůd pro SDO je prováděno na zkušebních stanicích ÚKZÚZ, souběžně s registračními zkouškami pokročilých nových šlechtění a rovněž na vybraných dalších pracovištích (šlechtitelské stanice, soukromé pokusné stanice). Financovány jsou částečně z prostředků ÚKZÚZ a z dotačního titulu ministerstva zemědělství (§ 2a § 2d zákona č. 252/1997 Sb. o zemědělství ve znění pozdějších předpisů - 9.A b4).

Odrůdy do zkoušek pro SDO přihlašují majitelé odrůd registrovaných v ČR. Přijetí a výsledky zkoušek doporučuje a hodnotí komise pro SDO. Z důvodu finanční závislosti na přihlašujících firmách nemá komise SDO možnost vybrat do pokusů soubor odrůd, který by zaručoval po prozkoušení plynulý přínos pro zemědělskou praxi. Firmy často v zájmu jejich obchodní strategie některé odrůdy nepřihlásí. Důvodem může být obava, že při zkoušení by se objevily negativní vlastnosti, jež nevyhovují jejich reklamním účelům a marketingovým záměrům. Tyto odrůdy však množí a prodávají. Někdy naopak přihlásí do pokusů pro SDO pro ně méně perspektivní odrůdy a při objevení kladných vlastností to využijí pro další reklamu. Někdy stáhnou odrůdu před ukončením dvouletého cyklu z dalšího zkoušení (přihlášky se podávají každoročně znovu). V současnosti je situace taková, že je ve zkouškách pro SDO zastoupeno cca 45 % odrůd prodáváných a pěstovaných v praxi.

Informace z firemních katalogů bývají často účelově upravené, zdůrazňují se v nich kladné vlastnosti a zapominají se uvést negativní vlastnosti, případně se uvádějí v hodnotách, jež neodpovídají standardní metodice zkoušek. Do praxe se dostávají odrůdy obchodovatelné na základě Společného evropského katalogu, případně ještě nedozkoušené v registračních zkouškách, ale již intenzivněji množené. Mnohdy jsou odrůdy zemědělcům inzerovány na základě zkoušek, které neproběhly v podmínkách ČR. Aby se zabránilo sestupnému trendu podílu zastoupení v praxi vysévaných odrůd zkoušených pro SDO pšenice, je nutné posílit rozhodovací pravomoci komise při výběru odrůd do zkoušení bez ohledu na požadavky firem vlastnicích odrůdy nebo zajišťujících množení jejich osiva. To je možné pouze dlouhodobou stabilizací finančních prostředků na podporu zkoušení odrůd pšenice. Za zvážení by stálo například zavedení státem garantovaného pojištění porostů odrůd prověřených zkoušením v pokusech pro SDO proti poškození nepříznivými činiteli prostředí. Toto opatření by pak mohlo ve svém důsledku zvýšit zájem majitelů o zařazení jejich odrůd do pokusů pro SDO a zároveň přispět k eliminaci škod z pěstování více rizikových odrůd.

Poděkování. Práce byla podpořena projektem mezinárodní spolupráce Kontakt ME10063 Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy ČR a projektem NAZV Q111A133 Ministerstva zemědělství ČR.

LITERATURA

- AUSTIN, R.B., BINGHAM, J., BLACKWELL, R.D., EVANS, L.T., FORD, M.A., MORGAN, C.L., TAYLOR, M.: Genetic improvements in winter wheat yields since 1900 and associated physiological changes. *J. Agric. Sci. Camb.*, 94, 1980: 675–689.
- CALIGARI, P.D.S., BRANDHAM, P.E. (Eds.): Wheat taxonomy: the legacy of John Percival. In: *Wheat – yesterday, today and tomorrow*. The Linnean Society of London, Special Issue No 3, 2001, The University of Reading, UK, 12-13. July, 1999: 190p.
- EVANS, L.T., FISCHER, R.A.: Yield potential its definition, measurement, and significance. *Crop Sci.*, 39(6), 1999: 1544–1551.
- FELDMAN, M., LEVY, A.A.: Allopolyploidy - a shaping force in the evolution of wheat genomes. *Cytogenet. Genome Res.*, 109, 2005: 250–258.
- FOULKES, M.J., SLAFER, G.A., DAVIES, W.J., BERRY, P.M., SYLVESTER-BRADLEY, R., MARTRE, P., CALDERINI, D.F., GRIFFITHS, S., REYNOLDS, M.P.: Raising yield potential of wheat. III. Optimizing partitioning to grain while maintaining lodging resistance. *J. Exp. Bot.* 62, 2011: 469–486.
- GONCHAROV, N.P.: Genus *Triticum* L. taxonomy: the present and the future. *Plant Syst. Evol.* 295(1), 2011: 1–11.
- GUSTAFSON, J.P., RASKINA, O., MA, X-M., NEVO, E.: Wheat evolution, domestication, and improvement (Chapter 1), Published Online: 10. Nov., 2009: 5–30.

- HU, L., LI, Y., XU, W.G., ZHANG, Q.C., ZHANG, L., QI, X.L., DONG, H.B.: Improvement of the photosynthetic characteristics of transgenic wheat plants by transformation with the maize C4 phosphoenolpyruvate carboxylase gene. *Plant Breed.*, 131(3), 2012: 385–391.
- LI, J., YE, X., AN, B., DU, L., XU, H.: Genetic transformation of wheat: current status and future prospects. *Plant Biotechnology Reports*, 6(3), 2012: 183–193.
- MARTIN, A., ALVAREZ, J.B., MARTIN, L.M., BARO, F., BALLESTEROS, J.: The development of tritordeum: a novel cereal for food processing. *J. Cereal Sci.*, 30, 1999: 85–95.
- MARTINEK, P., DOBROVOLSKAYA, O.B., WATANABE, N., PENG, Z-S., VYHNÁNEK, T.: Vliv morfologické struktury klasu na formování výnosu pšenice a příslušné genetické zdroje. Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie „Biodiverzita v poľnohospodárskej krajine a v ekosystéme“ Medzinárodná konferencia projektu REVERSE-INTERREG IVC, Piešťany 2012: 35–43.
- MARTINEK, P., DOBROVOLSKAYA, O.B., POKOROVÁ, P., VÁŇOVÁ, M.: Formování výnosových prvků u linií pšenice s odlišnou morfológií klasu. Zborník z 18. medzinárodnej vedeckej konferencie „Nové poznatky z genetiky a šlachtenia poľnohospodárskych rastlín“, VÚRV Piešťany, 2011: 56–62.
- MASLE-MEYNARD, J., SEBILLOTTE, M.: Etude de l'hétérogénéité d'un peuplement de blé d'hiver. II. Origine des différentes catégories d'individus du peuplement; éléments de description de sa structure. *Agronomie*, 3, 1981: 217–224.
- MIRALLES, D.J., SLAFER, G.A.: Sink limitations to yield in wheat: how could it be reduced? *J. Agric. Sci.*, 145(2), 2007: 139–149.
- NÁTR, L.: Koncentrace CO₂ a rostliny. ISV nakladatelství, Praha, 2000: 257s.
- OZKAN, H., LEVY, A.A., FELDMAN, M.: Rapid differentiation of homeologous chromosomes in newly-formed allopolyploid wheat. *Israel J. Plant Sci.*, 50(1), 2002: 65–76.
- REYNOLDS, M.P., PELLEGRINESHI, A., SKOVMAND, B.: Sink-limitation to yield and biomass: a summary of some investigations in spring wheat. *Annals Appl. Biol.*, 146(1), 2005: 39–49.
- REYNOLDS, M.P., van GINKEL, M., RIBAUT, J.M.: Avenues for genetic modification of radiation use efficiency in wheat. *J. Exp. Bot.*, 51(Special Issue): 2000: 459–473.
- SHAKED, H., KASHKUSH, K., OZKAN, H., FELDMAN M., LEVY, A.A.: Sequence elimination and cytosine methylation are rapid and reproducible responses of the genome to wide hybridization and allopolyploidy in wheat. *Plant Cell*, 13(8), 2001: 1749–1759.
- SREENIVASULU, N., SCHNURBUSCH, T.: A genetic playground for enhancing grain number in cereals. *Trends in Plant Science*, 17(2), 2011: 91–101.
- WANG, Z.L., YIN, Y.P., HE, M.R., CAO, H.M.: Source-sink manipulation effects on postanthesis photosynthesis and grain setting on spike in winter wheat. *Photosynthetica*, 35(3), 1998: 453–459.

Adresy autorů:

Ing. Petr Martinek, CSc., Ing. Michaela Kadlíková, Agrotest fyto, s.r.o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž, Česká republika, tel.: +420 573 317 152, e-mail: martinek.petr@vukrom.cz, kadlikova.michaela@vukrom.cz
Prof. Ing. Jan Křen, CSc., Ing. Lubomír Neudert, Ph.D. Mendelova univerzita v Brně, Ústav agrosystémů a bioklimatologie, Agronomická fakulta, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, tel.: +420 545 133 106, e-mail: kren@mendelu.cz, neudert@mendelu.cz

ŠLECHTĚNÍ CHMELE (*Humulus lupulus* L.) PRO SPECIFICKÉ VŮNĚ HOP (*Humulus lupulus* L.) BREEDING AIMED AT SPECIFIC AROMA

VLADIMÍR NESVADBA, KAREL KROFTA, ZDĚNKA POLONCIKOVA, ALENA
HENYCHOVÁ

Chmelařský institut s.r.o., Žatec

Saaz semi-early red bine hops (Saazer) is the standard of the highest quality aroma. It shows balanced ratio of all characteristic flavors with a higher ratio of spicy aroma. Harmonie and Rubin shows higher ratio of herbal aroma, whereas Vital is typical for fruity flavor. A new variety Kazbek shows higher ratio of citrus aroma and its cones have therefore distinctly different flavor in comparison with other Czech hop varieties. Many perspective genotypes with the tinge of citrus, strawberry, menthol and soap flavors have been developed to comply with the demands of breweries, which need them for new types of beer.

Key words: hop, Humulus lupulus L., hop varieties, aroma, flavor, essential oils, breeding, perspective genotypes, new types of beer.

ÚVOD

Výběry z populací planých chmelů se staly základem pro pěstování chmele (Nesvadba, V. a kol., 2011). Tímto způsobem vznikaly původní krajové odrůdy, např. žatecký, ústěcký, dubský, hřebčí chmel atd. Právě kvalita piva vařeného z těchto krajových odrůd jednoznačně prokázala, že nejlepší chmele pro vaření piva pocházejí z žatecké oblasti. O tomto období nelze hovořit jako o záměrném šlechtění. Prošlechtování českého chmele bylo započato klonovou selekcí v populačních porostech metodou pozitivních výběrů. Zásadní význam pro české chmelařství mají výsledky šlechtitelské práce doc. Karla Osvalda. Klony, které byly registrovány v roce 1952 pod označením Osvaldovy klony 31, 72 a 114 doposud patří mezi nejvýznamnější odrůdy, které zaujímají stále převážnou část osázených ploch ve všech chmelařských oblastech. Výrazným znakem je jemná a ušlechtilá chmelová vůně, která je dána jedinečnou skladbou chmelových silic. Skladba složek chmelových silic se vyznačuje poměrně nízkým obsahem myrcenu a významným obsahem β -farnesenu (15-20 % rel.).

V 60. letech se ve šlechtění chmele díky práci Lubomíra Venta a později i Františka Beránka začíná uplatňovat hybridizace chmele, tj. šlechtění pomocí křížení. Tato metoda je použitelná pro získání i vysoce produktivních genotypů chmele, zvyšuje efektivnost šlechtitelské práce, rozšiřuje variabilitu u potomstev křížení, čímž umožňuje při výhodné volbě rodičovských párů výběr rostlin s požadovanými znaky. K volnému pěstování byly v roce 1994 registrovány první hybridní odrůdy chmele Bor a Sládek. Od roku 1996 bylo registrováno 8 dalších hybridních odrůd chmele. Všechny české odrůdy chmele, které byly nově vyšlechtěny, mají dobrou pivovarskou hodnotu, která je dána genetickým podílem Žateckého poloraného červeňáku v jejich původu. Jedním z důležitých výběrových kritérií šlechtění je vůně chmele, která je u českých odrůd chmelová s různou intenzitou dle obsahu silic. Dlouholetá šlechtitelská činnost byla zaměřena především na výběr jemných aromatických chmelů, v posledních letech však stoupá zájem některých pivovarů o odrůdy se specifickou vůní. Jedná se o nechmelové vůně, které mají výrazné citrusové, ovocné, česnekové, květinové aroma. Proto se šlechtitelé chmele zaměřili při výběru na chmele se specifickou vůní.

Sekundární metabolity u chmele mají velký význam pro jejich identifikaci i využití v praxi (Pšenáková a kol., 2011). Chmelová vůně je dána množstvím a složením jednotlivých složek chmelových silic (Krofta, K., Čepička J., 2000). Chmelové silice jsou nejdůležitější skupinou obsahových látek chmele odpovědných za aroma chmele a piva. Chmel obsahuje 0,5 až 3,0 % hmotnosti silic, které jsou obsaženy v lupulinových žlázách chmelové hlávky. Chmelové silice jsou složitou směsí několika set přírodních látek různého chemického složení. Některé z nich jsou zastoupeny řádově v desítkách procent, řada dalších se vyskytuje v malém až stopovém množství. Všechny se však společně podílí na vzniku charakteristického chmelového aroma. Složky chmelových silic je možno rozdělit do tří skupin látek. Největší podíl připadá na uhlovodíkovou frakci, která tvoří 70 až 80 % celkové hmotnosti silic. Frakce kyslíkatých sloučenin představuje přibližně 20–30 % hmotnosti silic. Z hlediska chemického složení jednotlivých složek je v porovnání s frakcí terpenickou mnohem rozmanitější (alkoholy, aldehydy, ketony, epoxidy, estery). Sirná frakce chmelových silic představuje přibližně pouze 1,0 % celkové hmotnosti. Obsah silic se nejčastěji stanovuje destilační metodou jako podíl, který vytéká s vodní parou ze 100 g chmele při varu. Složení chmelových silic se určuje plynovou chromatografií (Krofta, K., 2008).

METODIKA

Základem pro šlechtění chmele jsou genetické zdroje – jedná se o rozpracovaný šlechtitelský materiál, registrované odrůdy a plané chmele. Genetické zdroje (Nesvadba V., Krofta K., 2005) jsou podporovány Českou republikou (MZe 33083/03-300 6.2.1. – MZe ČR). Šlechtění je zaměřeno na křížení vhodných rodičovských komponentů. Výběr je zaměřen na specifické vůně matečných rostlin. Získaná potomstva jsou následně využívána pro další šlechtění. Potomstva jsou pěstována na stanovišti 2 roky, kdy po dvou letech následuje výběr nejlepších jedinců. Ti jsou následně množeni a testováni v šlechtitelských školkách. Perspektivní genotypy jsou

po důkladných testacích (5–8 let) přihlášeny do státních registračních zkoušek. Pro hodnocení potomstev, šlechtitelského materiálu a nových odrůd jsou využívány základní statistické parametry. Nadějně genotypy jsou testovány z pivovarského hlediska. Pokusné várky piva jsou vařeny v pokusném minipivovárku Chmelařského institutu s.r.o. Žatec. Objem jedné várky činí 50 litrů. Při každé přípravě pokusné várky je zachován stejný postup, pouze se mění způsob zvoleného chmelení nebo použitá odrůda chmele. Pivo je vařeno tradiční technologií spodního kvašení (varna, spilka, sklep), vždy ze standardních surovin: ječného sladu, vody, pivovarských kvasnic. Pouze se mění chmelový vzorek pro stanovení vlivu daného chmele na kvalitativní parametry piva.

Obsah silic se nejčastěji stanovuje destilační metodou jako podíl, který vytěká s vodní parou ze 100 g chmele při varu. Složení chmele se určuje výhradně plynovou chromatografií (Krofta, K., - metodika). Silice byly ze chmele izolovány destilační metodou. Tímto způsobem bylo identifikováno více než 50 látek různého chemického složení (monoterpeny, seskviterepeny, alkoholy, estery, ketony a další). Vybrané složky chmelových silic byly dle senzoričského charakteru zařazeny do 5 skupin s dominantním charakterem aroma následovně:

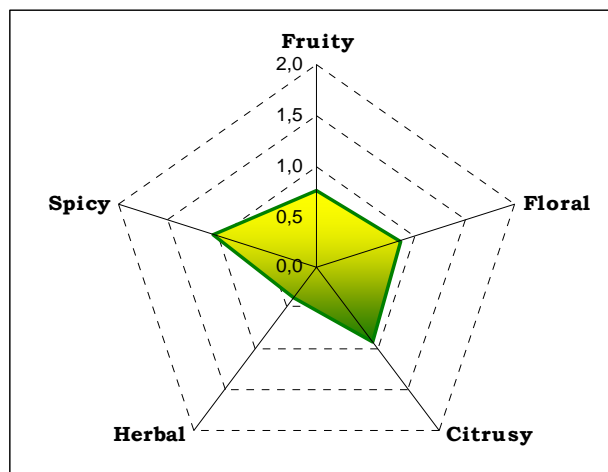
Tabulka 1: Složky silic dle senzoričského charakteru

<i>Ovocné/fruity</i>	<i>Květinové/floral</i>	<i>Citrusové/citrusy</i>	<i>Bylinné/herbal</i>	<i>Kořenité/spicy</i>
isobutylisobutyrát 2+3 methylbutylisobutyrát 2-nonanon S-methylthiohexanoát methylnonanoát 2-undekanon methyldekadienoát	linalool geraniol farnesol 2-dekanon	limonen	beta pinen beta phelandren beta selinen alfa selinen gama kadinen delta kadinen humulenepoxid I humulenepoxid II	myrcen alfa kopaen karyofylen farnesen humulen karyofylenepoxid

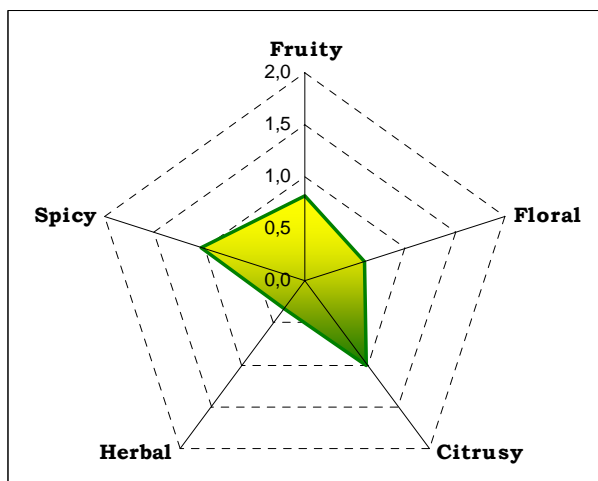
VÝSLEDKY A DISKUSE

České odrůdy chmele byly vždy charakteristické chmelovým aroma, které je slabě kořenité. Vůně chmele Žateckého poloraného červeňáku je považována za standard kvality pro ostatní odrůdy chmele. Z grafu 1 je patrné, že jednotlivé charakteristiky vůni jsou vyrovnané. Jemné chmelové aroma vykazuje i nově registrovaná česká odrůda Saaz Late. Z grafu 2 je patrné, že charakteristiky vůni jsou téměř shodné. Jak u Žateckého poloraného červeňáku, tak i u odrůdy Saaz Late převládá vůně kořenitá.

Graf 1: Charakter chmelového aroma ŽPČ

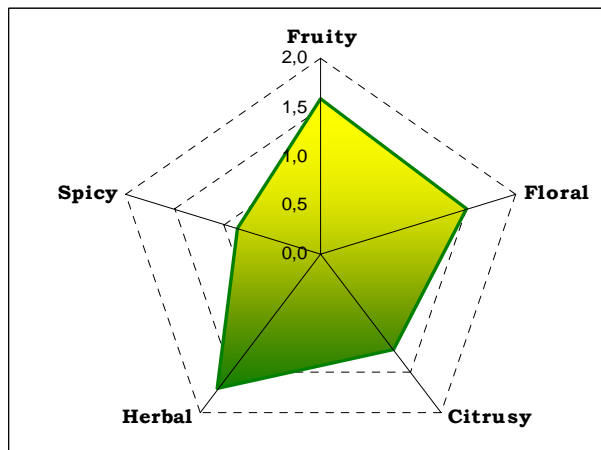


Graf 2: Charakter chmelového aroma Saaz Late

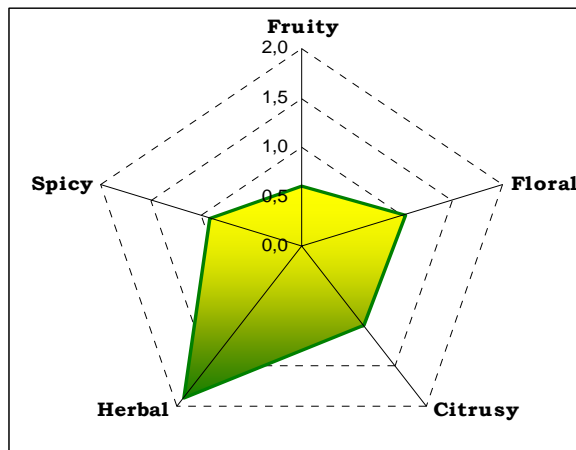


Další skupinou jsou odrůdy, které jsou charakteristické bylinnou vůní. Odrůda Harmonie (Graf 3) vykazuje poměrně vyrovnané složení vůně s nepatrně vyšším podílem právě vůně bylinné. Odrůda Rubín (Graf 4) je charakteristická velmi vysokým podílem bylinné vůně. Tyto odrůdy je nutné sklízet v technologické zralosti, protože při stárnutí hlávek přechází chmelové aroma až na aroma nepříjemné.

Graf 3: Charakter chmelového aroma Harmonie

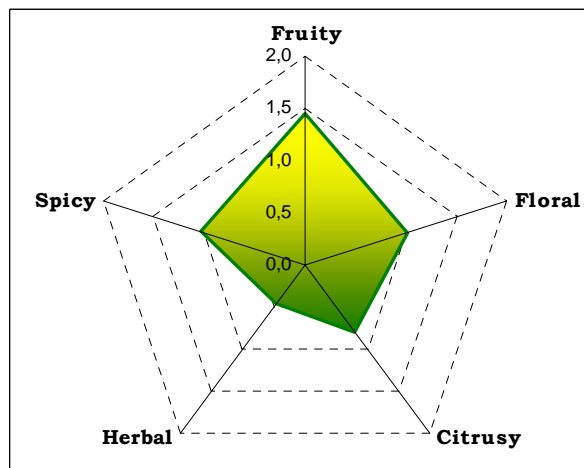


Graf 4: Charakter chmelového aroma Rubín

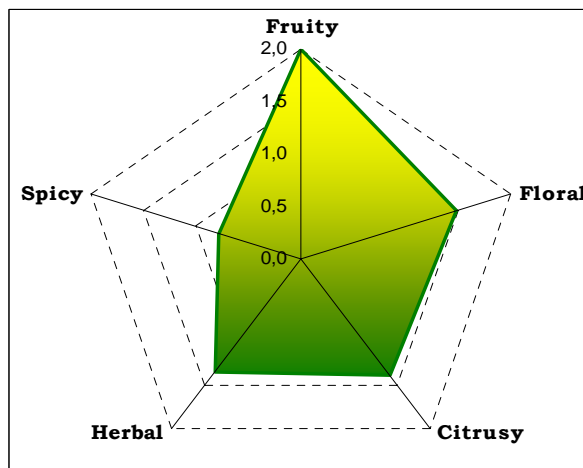


Ovocná vôňe pri vyrovnanom pomere ostatných charakteristik vône sa neprejavuje negatívne. Vyšší podíl této vône vykazuje odrůda Premiant (Graf 5), ještě výraznější podíl má nová vysokoobsažná odrůda Vital (Graf 6).

Graf 5: Charakter chmelového aroma Premiant

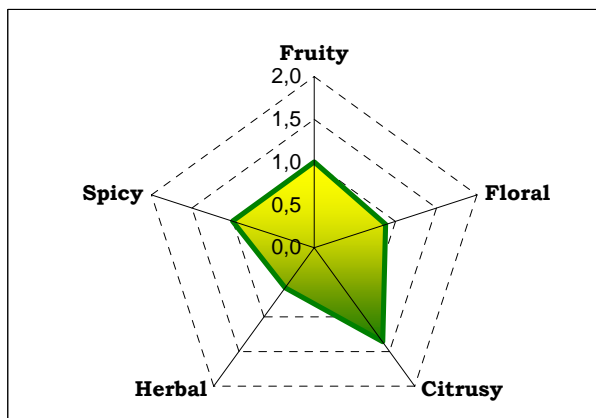


Graf 6: Charakter chmelového aroma Vital



Z pohľadu chmelového aroma jsou kořenité, bylinné i ovocné vône považovány za chmelovou. Ovšem jen pokud se nejedná o několikanásobně vyšší podíl jedné charakteristiky vône. Velmi výraznou specifickou vůní je vůně citrusová. Jedná se o velmi intenzivní vůni, která je výrazně odlišná od vône chmelové.

Graf 7: Charakter chmelového aroma Kazbek



V rámci rozšíření sortimentu odrůd byla pro svou specifickou vůni v roce 2008 zaregistrována odrůda Kazbek. Tato odrůda byla získána výběrem z potomstva hybridního materiálu, který má v původu ruský planý chmel. Je charakteristická mohutným vzrůstem, válcovitého až kyjovitého tvaru. Chmelové hlávky jsou podlouhlé, středně až hustě nasazené. Špičky krycích listenů jsou odkloněné od chmelové hlávky. Aroma chmelových hlávek je kořenité-citronové (Graf 7). Obsah alfa kyselin je 5 – 8 % a beta kyselin 4 – 6 %. Výnos je v rozmezí 2,1-3,0 t z hektaru. Jedná se o pozdní odrůdu aromatického typu, která je vhodná pro druhé

chmelení, případně studené chmelení.

Odrůdy byly testovány z pivovarského hlediska, testace byla zaměřena na české aromatické chmele (100 % chmelení). Všechna testovaná piva byla vařena klasickou technologií (varna – spilka – sklep). Z výsledků uvedených v tabulce 2 je patrné, že nejlépe bylo hodnoceno pivo chmelené odrůdou Bohemie a naopak nejméně bodů získalo pivo chmelené odrůdou Kazbek. Tyto výsledky poukazují, že odrůda Kazbek se výrazně odlišuje od ostatních českých aromatických odrůd. Proto její využití je výrazně odlišné od současných českých odrůd chmele.

Tabulka 2: Výsledky degustace pív

Číslo vzorku	Vzorek chmele	EPM %	Hořkost EBC	Počet bodů	Pořadí
1	Sládek	11,5	36,3	154	3
2	Harmonie	11,4	38,1	167	2
3	Kazbek	11,1	40,3	148	4
4	Bohemie	11,4	41,0	181	1

V současné době je ve šlechtění řada perspektivních genotypů se specifickými vůněmi. Jedná se o genotypy aromatické i hořké. Velmi perspektivní genotypy s různým charakterem vůní byly vybrány i z potomstev vyšlechtěných na nízké konstrukce.

ZÁVĚR

Šlechtěním chmele se v České republice získala řada odrůd s různým charakterem vůně. Z pohledu specifické vůně je nejzajímavější odrůda Kazbek, která je již testována v řadě českých i zahraničních pivovarů. V rámci rozpracovaného šlechtitelského materiálu se získala řada nadějných vůní chmele, které mají nádech vůně citrusové, jahodové, mentolové, mýdlové. Řada těchto genotypů je již testována v pivovarských pokusných várkách v různých typech pív. Jejich specifická vůně nejvíce vynikne při studeném chmelení v průběhu dokvácení. Očekáváme, že v budoucnu budou vedle odrůdy Kazbek registrovány další chmelové odrůdy se specifickými vůněmi.

Poděkování. Tento příspěvek byl zpracován v rámci výzkumného projektu EUREKA LF 11008 a výzkumného záměru MSM 148643470, které podporuje MŠMT ČR.

LITERATURA

- KROFTA, K. – ČEPIČKA, J., Stanovení chmelových silic metodou mikroextrakce na tuhou fázi (SPME). *Kvasný průmysl*, 46, 2000. 235-241.
- KROFTA, K.: Hodnocení kvality chmele 4/08, Metodika pro praxi 4/2008, Chmelařský institut Žatec, 2008.
- NESVADBA, V. – KROFTA, K.: Genetic sources of hops in Czech Republic. In: *International Hop Growers Convention*, Proceedings of the Scientific Commission, George, South Africa 20 – 25 February 2005: 25.
- NESVADBA, V. – KROFTA, K. – MARZOEV, A. – PŠENÁKOVÁ, I. – FARAGÓ, J. – MURSALIEV, M. – KYRDALIEV, K. – POLONČÍKOVÁ, Z. – HENYCHOVÁ, A.: Variability of wild hops (*Humulus lupulus* L.) International hop growers convention „Proceedings of the Scientific Commission, 19 – 23 June 2011, Lublin, Poland: 20.
- PŠENÁKOVÁ, I. – FARAGÓ, J. – NESVADBA, V. – KROFTA, K.: Polyphenol and flavonoid contents in genetic resources and wild type plants of hop (*Humulus lupulus* L.). In: *Book of Abstracts from International conference Applied Natural Sciences 2011*, Častá – Papiernička, 5.-7. October 2011, 94.

Adresa autorů:

Ing. Vladimír Nesvadba, PhD., Bc. Zdenka Polončíková, Ing. Karel Krofta, PhD., Bc. Alena Henychová, Chmelařský institut s.r.o., Kadaňská 2525, 438 01 Žatec, Česká republika. Email: nesvadba@chizatec.cz

ŠĽAČHTITEĽSKÝ POKROK V ÚRODE ZRNA PŠENICE NA VŠS VÍGLEAŠ BREEDING PROGRESS IN GRAIN YIELD OF WHEAT ON RBS VÍGLEAŠ

KATARÍNA MATÚŠKOVÁ, ANDREA HANKOVÁ, ĽUBOMÍR RÜCKSCHLOSS

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

*The main objective of the thesis was to analyze the impact of human activities on manifest and overall development of selected biological characteristics of the winter wheat. Authors used lines and varieties of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) bred at the Research and Breeding Station Vígľaš Pstruša in period between 40th of the 20th century to the present. These were divided into four blocks according to the breeding period. The oldest lines and varieties were placed into the first block and lines and varieties arising after 1990 were placed into the fourth. Long term, established by doc. Baier in 1957, was sown with biological material. The trial was based on 12 different nutrition variants with increasing nitrogen doses, either alone (0-40-80-120 N.ha kg⁻¹), or combined with P and K nutrition (60 kg of P₂O₅ and 60 kg of K₂O) in two repeated sequences. Experiment was specific for analyzing genetic progress (drift) through a set of lines and varieties of winter wheat, bred on a single location, during relatively long time period (65 years). The genetic (breeding) progress was analyzed and achieved in the same environment, particularly through active involvement of breeders working in this workplace.*

Key words: wheat, genetic progress, grain yield

ÚVOD

Pšenica patrí medzi najstaršie človekom využívané plodiny našej planéty. Význam pšenice pri dnešnej expanzii ľudstva sa stále zvyšuje, a to i napriek intenzívnej propagácii iných rastlinných druhov dôležitých z hľadiska zdroja energie a bielkovín a významu v zdravej výžive ľudstva. Výroba obilnín, na prvom mieste pšenice bola a je kľúčovou otázkou slovenského poľnohospodárstva.

Zámerná a intenzívna šľachtiteľská pozornosť sa venuje pšenici už takmer 200 rokov. Pšenica sa tak zaradila k najprešľachtenejším druhom kultúrnych rastlín. Svojou morfológickou stavbou, fyziologickými a hospodárskymi znakmi sa viac približuje teoretickým produkčným možnostiam než iné druhy. V existujúcej, často doposiaľ nevyužitej genetickej variabilite však stále zostávajú významné rezervy ďalšieho šľachtiteľského zlepšovania tohto druhu. Jednotlivé druhy rastlín sa vyznačujú širokou genetickou variabilitou, ktorá umožňuje ich prispôsobovanie sa meniacim podmienkam prostredia. Táto významná vlastnosť sa využíva pri tvorbe nových kultivarov s vyššími a stabilnejšími úrodami, odolnejších proti chorobám a škodcom, s vyššou technologickou a nutričnou kvalitou. Kľúčový význam šľachtienia spočíva v tvorbe výkonnejšieho biologického materiálu schopného efektívne využiť prostredie na tvorbu vysokých, kvalitných a stabilných úrod.

MATERIÁL A METÓDY

V práci bolo použitých 16 biologických materiálov pšenice letnej formy ozimnej (*Triticum aestivum* L.) vyšľachtené na Výskumno-šľachtiteľskej stanici Vígľaš-Pstruša (ďalej len VŠS) v období od 40. rokov 20. storočia až po súčasnosť. Boli to línie a odrody, ktoré mali vo svojom čase také vlastnosti, na základe ktorých boli prihlásené do firemných skúšok, prípadne až do štátnych odrodových skúšok. Viaceré z nich však nakoniec dosiahli v týchto skúškach v sledovaných parametroch hodnoty iba na úrovni vtedajších kontrolných odrôd (napríklad úrodnosť pohybujúca sa na úrovni len okolo 100 % vzhľadom na kontrolné odrody), prípadne mali slabšie hodnoty niektorých parametrov (napríklad bol v testovaných rokoch silný tlak patogénov a iné) a v konečnom dôsledku neprešli odrodovými skúškami a nezískali osvedčenie o odrode. Najstaršou z nich je odroda Vígľašská červená. Je to stará krajová odroda pestovaná v 40-tich rokoch. Kontrolnou odrodou bola vzhľadom na jej ekostabilitu a časový prierez jednotlivými etapami odroda Viginta.

Poľné experimenty boli vykonané na pozemkoch VŠS vo Vígľaši-Pstruši. Patria do zemiakovo - pšeničnej výrobnjej oblasti (III-C2). Nadmorská výška je 375 m. Laboratórne experimenty boli vykonané v laboratóriách Výskumného ústavu rastlinnej výroby v Piešťanoch. Na matematicko-štatistické spracovanie údajov bol použitý štatistický balík Statsoft Statistica 8.0.

Materiál bol vysiaty na stacionárnom pokuse, ktorý bol na VŠS Vígľaš-Pstruša založený doc. Baierom v roku 1957 ako experimentálny základ pre štúdium princípov minerálnej výživy rastlín a vplyvu hnojív a činiteľov prostredia na rastliny. Varianty hnojenia na stacionárnom pokuse sa od založenia pokusu nemenili. Pokus bol založený v 4 blokoch pšeníc, ktoré boli do blokov rozdelené podľa obdobia vyšľachtienia daného biologického materiálu (Tabuľka 1). V každom bloku boli zaradené 4 biologické materiály a kontrolná odroda (Viginta). Pokus bol vykonaný v dvoch opakovaniach.

V pokuse bolo dodržaných 12 variantov výživy (Tabuľka 2). Zároveň je každé štyri roky zapracúvané organické hnojivo v podobe maštalného hnoja v dávke 40 t.ha⁻¹. Maštalný hnoj sa aplikuje v každom variante hnojenia, okrem variantu 021.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Experiment vykonaný v našej práci bol špecifický tým, že analyzoval genetický pokrok (zisk) pomocou súboru línií a odrôd pšenice letnej formy ozimnej, vyšľachtených v jedinej lokalite počas relatívne dlhej časovej

etapy (65 rokov). Analyzovaný bol teda genetický (šľachtiteľský) pokrok dosiahnutý v jednom, tom istom prostredí, najmä aktívnou činnosťou šľachtiteľov pôsobiacich na tomto pracovisku.

Z výsledkov trojfaktorovej analýzy rozptylu (Tabuľka 3) vyplýva, že obdobie, hnojenie, rok a tiež interakcie faktorov hnojenie \times rok a obdobie \times rok štatisticky významne ($P < 0,01$) ovplyvnili výšku úrody zrna pšenice. Najväčší podiel na variabilite v úrode zrna mal rok testovania (77,5 %). Druhým v poradí bolo obdobie, z ktorého pšenice pochádzali (kedy boli vyšľachtené), ktoré sa na variabilite vo výške úrody zrna podieľalo 12,1 %. Podiel výživy (hnojenia) na úrode bol 6,7 %. Podiely interakcií hnojenie \times rok a obdobie \times rok na výšku úrody boli 2,2%, resp. 0,7 %.

Porovnanie priemerných úrod zrna všetkých 16 odrôd a línií zoskupených do blokov podľa období ich vzniku (B1-B4) umožňuje konštatovať, že priemerná úroda zrna pšenice za všetky hodnotené ročníky 2007, 2008 a 2009 spolu narástla z 5,53 t.ha⁻¹ v líniách a odrodách obdobia B1, v ktorom boli zaradené vývojovo najstaršie línie a odrody až na 6,60 t.ha⁻¹ v líniách a odrodách obdobia B4, v ktorom boli zaradené najnovšie, modernejšie línie a odrody. Línie a odrody pochádzajúce z obdobia B1 a B4 sa v priemerných úrodách zrna navzájom štatisticky významne odlišovali ($P < 0,05$), rovnako aj línie a odrody z období B2 a B3, zatiaľ čo medzi líniami a odrodami z období B2 a B3 neboli štatisticky významné rozdiely ($P > 0,05$). Nárast úrod medzi týmito obdobiami bol nízky (Tabuľka 4). Šľachtiteľským procesom sa teda v procese šesť a pol desaťročia významne zvyšovala úrodnosť vígľášskych pšeníc, šľachtiteľský program bol teda v tomto smere efektívne naplánovaný aj vykonaný.

Porovnanie priemernej úrodnosti línií a odrôd zo všetkých testovaných variantov minerálnej výživy ukázalo, že celkový progres v úrodnosti vígľášskych pšeníc za 65 rokov (1940-2005) dosiahol hodnotu 1,07 t.ha⁻¹, čo je celkovo 16,2 %. Ročný priemerný nárast úrodnosti bol teda 16,49 kg.rok⁻¹, čo je priemerný medziročný nárast o 0,25 %. Preukázaná hodnota priemerného ročného genetického pokroku v úrodnosti je mierne nižšia ako býva publikovaná pri podobných štúdiách pri pšenici. Treba ale poznamenať, že žiadna z doteraz publikovaných vedeckých štúdií neanalyzovala genetický pokrok dosiahnutý v jedinej, navyše geograficky veľmi malej a klimaticko-pôdnej špecifickej lokalite, teda nepoužila súbory pšeníc vyšľachtené iba v jedinej lokalite. V našej práci hodnotu genetického pokroku v úrodnosti zrna zvyšovalo porovnanie pšeníc pochádzajúcich z rôznych historických období, naopak negatívny vplyv na genetický pokrok by mal mať ich pôvod z jedného šľachtiteľského programu i jedného pracoviska. Výsledky však ukazujú jasný šľachtiteľsko-genetický pokrok, ktorým šľachtiteľské pracovisko vo Vígľáši-Pstruši počas svojej histórie prispelo k zvyšovaniu úrodnosti tvorených línií a odrôd pšenice.

Neprekvapujú mierne rozdielne údaje rôznych autorov o podiele odrôd na raste úrod (genetickom zisku, resp. genetickom pokroku), ktoré boli zistené analyzovaním šľachtiteľského pokroku pri pšeniciach pochádzajúcich z rôznych častí (regiónov, štátov) sveta, vykonaných so súbormi odlišných odrôd, v rôznych testovacích lokalitách s rôznymi pôdnymi a klimatickými podmienkami, šľachtených v rôznych obdobiach a s dlhodobými rozdielnymi cieľmi (úroda, kvalita, rezistencia). Schmidt, Worrall (1984) publikovali, že genetický zisk v úrodnosti pšeníc pochádzajúcich z obdobia 1960-1980, z dvoch vybraných oblastí USA, bol 0,75 %, resp. 1,5 % za rok. Donmez et al., (2001) na inom súbore amerických ozimných odrôd pšenice deklarovali priemerný ročný genetický zisk 0,44 %, pričom pri starších odrodách bol 0,16 % a pri novších 0,63 %. Na pôvodom mexických pšeniciach vyšľachtených v rokoch 1950-1982 zistili Waddington et al., (1985) ročný genetický zisk 1,1 %. Mexické odrody pochádzajúce z inej časovej etapy (1962-1988) testovali Sayre et al., (1997) a odhalili ročný genetický zisk 0,88 %. Ročný genetický zisk pri juhočínskych pšeniciach mal podobné hodnoty (Zhou et al., 2007), dva rozdielne zložené súbory ozimných pšeníc vyšľachtené v období 1949-2000, testované v dvoch rôznych lokalitách, ukázali v ich experimentoch ročný genetický zisk 0,31 %, resp. 0,74 %. V Európe boli podobné analýzy vykonané napríklad vo Veľkej Británii. Shearman et al., (2005) analyzovaním relatívne malého súboru 8 odrôd ozimnej pšenice pochádzajúcich z obdobia 1972-1995 zistili lineárny genetický zisk v úrodnosti v priemere 1,2 % ročne. Vysoko výpovedný, sedemročný (2002-2008) poľný experiment so 47 východosibirskými jarnými pšenícami pochádzajúcimi z obdobia 1900-2000 vykonali Morgounov et al., (2010) a priemerný ročný genetický zisk stanovili na 0,7 %.

ZÁVER

Vyššie úrody dosahované reálne v praxi postupom času možno okrem genetického pokroku pripísať lepším technológiám pestovania, najmä zlepšenej výžive a ochrane rastlín proti chorobám, škodcom a burinám. Odroda ako intenzifikačný faktor začala hrať rozhodujúcu úlohu najmä v druhej polovici 20. storočia. K podobnému zvyšovaniu úrod pšenice postupne dochádzalo i na Slovensku (Užík, 2000; Užík, Žofajová, 2003). V tomto období boli vyšľachtené krátkosteblové odrody pšenice, ktoré efektívnejšie využívali vyššie dávky živín a tak zabezpečili zvýšenie úrod obilnín na dvojnásobok. Použitie šľachtiteľských metód teda podstatnou mierou prispeli k zvyšovaniu úrod.

LITERATÚRA

DONMEZ, E. - SEARS, R. G. - SHROYER, J. P. - PAULSEN, G. M.: Genetic gain in yield attributes of winter wheat in the Great Plains. In: *Crop Science*, 41, 2001, p. 1412-1419.

- MORGUNOV, A. - ZYKIN, V. - BELAN, I. - ROSEEVA, L. - ZELENSKIY, YU. - FERNEY GOMEZ-BECERRA, H. - BUDAK, H. - BEKES, F.: Genetic gains for grain yield in high latitude spring wheat grown in Western Siberia in 1900-2008. In: *Field Crop Research*, Vol. 117, 2010, p.101–112.
- SAYRE, K. D. - RAJARAM, S. - FISCHER, R. A.: Yield potential progress in short bread wheats in Northwestern Mexico. In: *Crop Science*, 37, 1997, p. 36-42.
- SHEARMAN, V.J. - SYLVESTER-BRADLEY, R. - SCOTT, R.K. – FOULKES, M.J.: Physiological Processes Associated with Wheat Yield Progress in the UK. In: *Crop Science*, Vol. 45, 2005, p. 175-185.
- SCHMIDT, J.W. - WORRALL, W. D.: Trends in yield improvement through genetic gains. In: S. Sakamoto (Ed.), *Proceedings of 6th International Wheat Genetics Symposium*, 1984, pp. 691–700. Plant Germ-plasm Institute, Kyoto, Japan.
- UŽÍK, M. – ŽOFAJOVÁ, A.: Pokrok v agronomických znakoch pri Česko-slovenských odrodách pšenice letnej f. ozimnej povolených v rokoch 1923-1995. In *Acta fytotechnika et zootechnika*, Nitra, Slovaca Universitas Agriculturae Nitriae, Vol. 4, 2003, s. 93-100.
- UŽÍK, M.: Súčasný stav vo výskume a šľachtení pšenice. In: *Perspektívy genetiky, šľachtienia a semenárstva rastlín*. Zborník referátov k tematickým okruhom odbornej diskusie. Nitra : SPU, 2000. - S.71-79.
- WADDINGTON, S. R. - RANSOM, J. K. - OSMANZAI, M. - SAUNDERS, D. A.: Improvement in the yield potential of bread wheat adapted to Northwest Mexico. In: *Crop Science*, Vol. 26, 1985, p. 698-703.
- ZHOU, Y. - ZHU, H. Z. - CAI, S. B. - HE, Z. H. - ZHANG, X. K. - XIA, X. C. - ZHANG, G. S.: Genetic improvement of grain yield and associated traits in the southern China winter wheat region: 1949 to 2000. In: *Euphytica*, Vol. 157, 2007, p. 465–473.

Tabuľka 2: Varianty výživy stacionárneho pokusu na VŠS Vígl'aš-Pstruša

Variant výživy	Dávky a forma minerálnej výživy		
	N(NH ₄ NO ₃)	P (P ₂ O ₅)	K (K ₂ O)
011	0	0	0
012	0	60	60
013	40	60	60
014	80	60	60
015	120	60	60
016	150	60	60
021*	0	0	0
022	40	0	0
023	80	0	0
024	120	0	0
025	80	60	0
026	80	0	60

Tabuľka 1: Rozdelenie analyzovaných pšeníc do blokov podľa obdobia vyšľachtenia

Číslo bloku	Kód/názov línie/odrody pšenice	Pôvod	Obdobie vyšľachtenia	Rok získania osvedčenia o odrode
B1	Viginta - kontrola			1984
	Vigľašská červená	stará krajová odroda	40. roky 20. storočia	
	PS-2	Vir 43822 × Mironovská 808	1968	
	PS-4	Fakír × Kaukaz	1971	
	PS-5	Florian × Kaukaz	1971	
B2	Viginta - kontrola			1984
	PS-102	Cap. Wilm. × Kaukaz	1971	
	PS-8	(Solo × Kaukaz) × SO-892	1979	
	PS-9	BU-17 × S-281	1979	
	PS-13	Taw 4523/74 × SK-3879	1978	
B3	Viginta - kontrola			1984
	PS-15	Regina × Viginta	1983	
	PS-17	Agra × Taw-28886/77	1981	
	PS-18	PS-6 × STH-60	1985	
	PS-19/94	Torysa × Taw 603282	1988	
B4	Viginta - kontrola			1984
	PS-11	Astella × Estica	1996	
	Vanda			2001
	Veldava			2005
	Pavlina			2005

Tabuľka3: Priemerné štvorce z analýzy rozptylu úrody zrna línií a odrôd

Zdroj variability	df	Úroda zrna (t.ha ⁻¹)
Hnojenie	7	21,00**
Obdobie	3	37,94**
Rok	2	243,21**
Hnojenie × Obdobie	21	0,74
Hnojenie × Rok	14	6,96**
Obdobie × Rok	6	2,192**
Hnojenie × Obdobie × Rok	42	1,019
Chyba	672	0,735
Spolu	767	

*p<0,05; **p<0,01, p - vplyv štatisticky významný na hladine $\alpha=0,05$ alebo $\alpha=0,01$

Tabuľka 4: Priemerné hodnoty úrody zrna línií a odrôd v jednotlivých blokoch - obdobiach vyšľachtenia línií a odrôd

Obdobie vyšľachtenia	Úroda zrna (t.ha ⁻¹)
B1 (1940-1971)	5,53 ^a
B2 (1971-1979)	5,92 ^b
B3 (1981-1988)	5,97 ^b
B4 (1996-2005)	6,60 ^c
\bar{x}	6,01

Priemery v rámci stĺpca s rozdielnymi koeficientmi (a, b, c) sú štatisticky významne odlišné na hladine významnosti $\alpha=0,05$.

Adresa autorov: Ing. Matúšková Katarína PhD, CVRV Piešťany, VŠS Vigľaš Pstruša, matuskova@vurv.sk; Ing. Hanková Andrea PhD., CVRV Piešťany, VŠS Vigľaš Pstruša, hankova@vurv.sk; Ing. Rückschloss Lubomír, CVRV Piešťany, VŠS Vigľaš Pstruša, ruckschloss@vurv.sk

DISTRIBÚCIA VÍRUSU MOZAIKY RAJČIAKA V RASTINÁCH RAJČIAKA JEDLÉHO (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) PO MECHANICKEJ INOKULÁCII

DISTRIBUTION OF TOMATO MOSAIC VIRUS IN TOMATO PLANTS AFTER MECHANICAL INOCULATION

ERIKA KORBEOVÁ¹, OTAKAR KÚDELA², TIBOR ROHÁČIK³

¹ZELSEED spol. s r.o., Horná Potôň

²Virologický ústav SAV Bratislava

³SELEKT Výskumný a šľachtiteľský ústav a.s., Bučany

Tomato is one of the most widely cultivated crops in world. The areas of planted tomato plants involving glasshouses are suitable niche for the increased incidence of pests including plant viruses. The amount of viral species that infect tomato crops were described.

Using mechanical inoculation the interaction of Tomato mosaic virus (ToMV:P0) with a set of the tomato varieties was studied in this work. The analysis included the monitoring of symptoms development and their morphological manifestation. Distribution of virus was investigated by DAS-ELISA tests. Experiments indicated that the distribution of the virus in tested susceptible varieties was consistent. Differences were found in manifestations of infection, i.e. morphology and intensity of symptoms. Causes and factors influencing these differences are discussed.

Key words: ToMV, tomato, mechanical inoculation, DAS-ELISA, plant-virus interaction

ÚVOD

Rajčiak jedlý (*Solanum lycopersicum* L.), vďaka svojim nutričným vlastnostiam a širokému priemyselnému využitiu, patrí vo svete k najpestovanejším poľnohospodárskym plodinám.

V celosvetovom merítku sa v súčasnosti vyprodukuje viac ako 130 miliónov ton tejto plodiny (FAOSTAT, 2010). Na území SR sa podľa údajov Štatistického úradu sa dopestuje približne 37 tisíc ton rajčiaka (Zelená správa, príloha č. 2, 2010).

Veľkoplošné pestovanie v poľných a skleníkových podmienkach a lokálny monokultúrny charakter spôsobujú, že rastliny sú počas svojho vegetačného obdobia vystavené škodlivým účinkom širokého spektra patogénov, ako sú vírusy, baktérie, huby a nematódy. K najpočetnejším patogénom so závažným dopadom na kvalitatívne a kvantitatívne parametre produkcie patria rastlinné vírusy. Niektoré zdroje uvádzajú, že až 136 vírusových druhov infikuje rastliny rajčiaka jedlého (Hanssen et al. 2010).

Medzi závažné vírusové patogény patrí vírus mozaiky rajčiaka (Tomato Mosaic Virus – ToMV). Taxonomicky patrí vírus do čeľade *Virgaviridae* a rodu *Tobamovirus*. Vírusovú časticu tvorí proteínový kapsid a jedna molekula ssRNA. Genóm kódujú štyri základné bielkoviny RNA dependentnú RNA polymerázu, methyltransferázu, helikázu, pohybový (movement) proteín a kapsidovú bielkovinu. Prvé dve bielkoviny zabezpečujú replikáciu, pohybový proteín pohyb vírusu z bunky do bunky a na dlhšie vzdialenosti. Komplex methyltransferáza helikáza je syntetizovaný zo subgenomickej RNA. Vírus je prenosný infekčnou šťavou a je stabilný za nepriaznivých podmienok prostredia. V rastlinných zvyškoch v suchej pôde prežíva až 2 roky a tiež perzistuje po dlhý čas v skleníkových konštrukciách. Vírus je celosvetovo rozšírený (Descriptions of plant viruses, 1997).

Infekcia sa prejavuje žltými mozaikovými symptómami na listoch, listovými deformáciami a často drastickou redukciou produkcie plodov (Svodoba et al., 2006).

Na elimináciu škodlivých účinkov tohto vírusu sa v poľnohospodárskej praxi využívajú prirodzené gény rezistencie Tm-1, Tm-2 a Tm-2² (Pelham, 1972).

Na území SR sa systematický virologický prieskum vírusov rajčiaka jedlého doposiaľ nerealizoval.

Cieľom našej štúdie bolo získanie primárnych informácií o charaktere interakcie tohto vírusu so štandardnými citlivými a rezistentnými odrodami, hybridmi a líniami vyselektovanými v rámci šľachtiteľských programov ZELSEED, spol. s r.o., štandardizovať kultivačné podmienky a podmienky pre citlivú a špecifickú diagnostiku metódou DAS-ELISA.

MATERIÁL A METÓDY

Biologický materiál:

V pokusoch sme použili odrody MONALBO, MARMANDE (Taiwanská Génová Banka), ktoré sú deklarované ako citlivé na infekciu ToMV, rezistentnú odrodu MOBACI (Taiwanská Génová Banka) a kolekciu rajčiakov pochádzajúcich z firmy ZELSEED spol. s r.o. (L255/04, TOMANOVA, MILICA F1).

Pre mechanickú inokuláciu bol použitý izolát ToMV kmeň 0, ktorý bol získaný z NAK-TUINBOW. Kmeň sa udržiaval pasážovaním na citlivej odrode MONALBO, uchovávaný bol vo forme lyofilizátu +4 °C a vo forme odobratých infikovaných listov skladovaných pri teplote –80 °C (dlhodobé skladovanie) a –20 °C (krátkodobé

skladovanie). Infekčné inokulum bolo pripravené homogenizáciou infikovaného listu v PBS tlmivom roztoku, pH 7,2. Rastliny boli infikované mechanicky v štádiu troch pravých listov. Pre účel kontroly časť rastlín nebola infikovaná a časť rastlín sa použilo ako placebo (tlmivý roztok + carborundum).

Kultivačné podmienky:

Semená použitých odrôd a línií boli vysadené do sterilného záhradného substrátu v plastových kvetináčoch. Rastliny boli kultivované v rastových komorách (IVL – van den Berg Klimatechniek BV) a fytotróne za definovaných fyzikálnych podmienok.

Identifikácia vírusovej infekcie:

Prítomnosť vírusu v rastlinách bola identifikovaná vizuálne, podľa charakteristických symptómov a imunochemickou metódou DAS-ELISA. DAS-ELISA bola prevedená použitím mikrotitračných platní (Clark a Adams, 1977) aplikáciou špecifických polyklonálnych protilátok z firmy LOEWE BIOCHEMICA podľa postupu odporúčaným výrobcom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Interakcia ToMV s rastlinou rajčiaku môže byť v zásade dvoch typov: citlivé odrody reagujú tvorbou príznakov, ako napr. mozaika, listové deformácie, zakrpatenosť, rozsiahlejšie chlorózy. Tento typ infekcie môže viesť až k odumretiu infikovanej rastliny. Druhý typ interakcie je odolnosť hostiteľskej rastliny voči infekcii, pri ktorej nedochádza k vzniku charakteristických symptómov alebo sa tvoria na infikovaných prípadne susedných listoch drobné nekrotické lézie. Distribúciu vírusu ToMV sme sledovali metódou DAS-ELISA na infikovaných rastlinách MONALBO, MARMANDE, MILICA F1, TOMANOVA a L255/04 odobratím infikovaného listu, susedného neinfikovaného a apikálneho listu v čase 5 dní po infekcii, kedy na citlivých odrodách neboli ešte prítomné príznaky. Výsledky testu ukázali, že vírus sa už v priebehu 5 dní od infekcie rozšíril do celého rastlinného systému. Na hybride MILICA F1 bola zistená najnižšia koncentrácia vírusu v testovanom rastlinnom materiáli. V priebehu ďalšej kultivácie (7 dní a dlhšie) sa na týchto rastlinách objavili charakteristické príznaky infekcie. Tento test má význam aj z hľadiska identifikácie rezistentných alebo tolerantných odrôd resp. línií.

Ďalším experimentom chceme monitorovať prítomnosť, resp. neprítomnosť vírusu po mechanickej infekcii oficiálne deklarovaných rezistentných odrôd.

Šírenie vírusu v rastlinách rajčiaku, infekčné prejavy a intenzitu symptómov ovplyvňuje viacero biotických a abiotických faktorov ako sú napr. zmesné vírusové infekcie, bakteriálna a hubová kontaminácia, typ odrody, aktivity dominantných génov rezistencie a iných rezistentných mechanizmov, teplota, vlhkosť, intenzita a dĺžka osvetlenia. Tieto faktory môžu zásadne ovplyvniť výsledky štúdií interakcie a distribúcie vírusu v rastline a výber potencionálne rezistentných hybridov a línií v rámci šľachtiteľských programov. V našich pokusoch sa potvrdilo, že je dôležité aplikovať ochranné opatrenia na zamedzenie vzniku hubových, prípadne bakteriálnych ochorení a optimalizovať svetelné a teplotné podmienky v kultivačných zariadeniach typu rastovej komory a fytotrónu. Optimalizáciou resp. vylúčením týchto faktorov sme zistili, že v našich podmienkach je najvhodnejšie aplikovať teplotu 24 °C a 12, prípadne 14 hodinovú svetelnú expozíciu. Tiež sa ukázalo, že je vhodné upraviť intenzitu umelého osvetlenia, čo v našich podmienkach bolo zníženie pod 18 000 Luxov.

V kontexte týchto pokusov, získaných skúseností sa nám podarilo navodiť také infekčné a kultivačné podmienky, ktoré nám v súčasnosti umožňujú testovať potrebnú škálu odrôd, hybridov a línií na vnímavosť voči ToMV, jednoznačne identifikovať typickú vrcholovú mozaiku, listové deformácie spôsobené vírusom, respektíve lokálne, vrcholové a systémové nekrózy a v rámci týchto pokusov vyselektovať potencionálne rezistentné línie a hybridy.

ZÁVER

Okolo 55 ochorení rajčiaku jedlého vyvolaných rôznymi patogénmi (baktérie, huby, vírusy, háďatká) bolo doposiaľ popísaných (Nowicki et al., 2011). Tieto ochorenia spôsobujú významné hospodárske škody na produkcii tejto plodiny. Jednou z možností riešenia týchto problémov je štúdium a identifikácia molekulárnych mechanizmov interakcie patogén-hostiteľ, poznanie mechanizmov rezistencie a šľachtenie rezistentných odrôd. V našej práci sme sa zamerali na primárne charakteristiky interakcie ToMV-rajčiak jedlý, ktoré by mali byť ďalej využité v programe šľachtenia tejto plodiny na rezistenciu voči tomuto vírusu.

LITERATÚRA

- CLARK, M. F. - ADAMS, A. N. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.*, 34, 1977, s. 475-483.
- HANSEN, I.M. – LAPIDOT, M. – THOMMA, B.P.H.J. 2010. Emerging viral diseases of tomato crops. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 23, (5), 2010, s. 539-548.

- NOWICKI, M. – FOOLAD, M.R. – NOWAKOWSKA, M. – KOZIK, E.U. 2011. Potato and tomato late blight caused by *Phytophthora infestans*: An overview of pathology and resistance breeding. *Plant Disease*, 96 (2), 2011, s. 4-17.
- PELHAM, J. 1972. Strain-genotype interaction of tobacco mosaic virus in tomato. *Ann. Appl. Biol.*, 71, 1972, s. 219-228.
- SVOBODA, J. – ČERVENA, G. – RODOVA, J. 2006. First report of Pepper mild mottle virus in pepper seeds produced in the Czech Republic. *Plant Protection Science*, 42, 2006, s. 34-37.

Adresy autorov:

Ing. Erika Korbelová, ZELSEED spol. s r.o., 930 36 Horná Potôň 1269, SR, e-mail: korbelova@zelseed.sk
RNDr. Otakar KÚDELA, PhD., Virologický ústav SAV, Dúbravská cesta 9, 845 05 Bratislava, SR, e-mail: Otakar.Kudela@savba.sk
Doc. Ing. Tibor ROHÁČIK, CSc., SELEKT Výskumný a šľachtiteľský ústav a.s., 919 28 Bučany, SR, e-mail: t.rohacik@stonline.sk

ÚLOHA PR PROTEÍNOV V OBRANE SÓJE FAZUĽOVEJ PROTI ŤAŽKÝM KOVOM

THE ROLE OF PR PROTEINS IN DEFENSE OF SOYBEAN AGAINST HEAVY METALS

TERÉZIA GÁLUSOVÁ¹, PATRIK MÉSZÁROS², BEÁTA PIRŠELOVÁ¹, ILDIKÓ MATUŠÍKOVÁ²

¹Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre

²Ústav genetiky a biotechnológií rastlín, SAV, Nitra

*Pathogenesis-related proteins play an important role in plant defense against biotic and abiotic stress factors. Some recent works suggest that they might play role in defense against heavy metals in environment. This work brings a comprehensive picture of changes in the profile and intensity of the activity of individual chitinase isoforms in different plant parts of soybean (*Glycine max* (L.) Merril cvs. Bólyi 44 and Cordoba) exposed to arsenic and cadmium ions. In different plant parts we recorded various number of different chitinase isoforms. In the roots of both varieties are detectable four chitinase isoforms with different sizes and in different developmental stages of leaves 4-5 overall chitinase isoforms. Plants respond more strongly to the applied dose of cadmium compared with the applied dose of arsenic. Our results confirm the role of chitinases in the defense responses to heavy metals, which is apparently more complex than it has been previously supposed.*

Key words: PR Proteins, Chitinases, Glycine max (L.) Merr.

ÚVOD

Znečisťovanie životného prostredia ťažkými kovmi je jedným z kľúčových environmentálnych problémov súčasnosti vo svete. Z abiotických zložiek prostredia je najviac kontaminovaná pôda; ťažké kovy sa v nej nachádzajú v rôznych koncentráciách, oxidačných stupňoch i väzbách. Limity obsahu ťažkých kovov v pôdach sú najprepracovanejšie z dôvodu rizika ich ekotoxicity a kumulácie v abiotických a biotických zložkách prostredia. Ťažké kovy vyvolávajú v rastlinách zmeny v ultraštruktúre vegetatívnych orgánov, spôsobujú vädnutie, chlorózy a nekrózy listov, zmeny v transpirácii a fotosyntéze, čo v konečnom dôsledku vedie k zníženiu produkcie biomasy rastlín a poklesu výnosov poľnohospodárskych plodín (Carbonell-Barrachina et al., 1995).

PR proteíny (z angl. Pathogenesis related proteins - proteíny súvisiace s rastlinnou patogenézou) sú v rastlinách syntetizované ako odpoveď na biotický a abiotický stres. Prvýkrát boli zistené po napadnutí *Nicotiana tabacum* vírusom tabakovej mozaiky (Van Loon, 1985). PR proteíny tvoria mimoriadne početnú a rôznorodú skupinu proteínov, v súčasnosti ich rozdeľujeme do 17 skupín (Van Loon a Van Strien, 1999; Christensen et al., 2002). Sú to väčšinou monoméry s molekulovou hmotnosťou v rozpätí od 5 po 75 kDa (Sels et al., 2008). V poslednom čase bola venovaná značná pozornosť chitinázam (PR 3 proteínom) aj vo vzťahu k ťažkým kovom. Ich syntéza v rastlinách môže byť vyvolaná napr. suchom, slanosťou, poranením, ťažkými kovmi v životnom prostredí (Xie et al., 1999). Viacerí autori však zaznamenali zmenenú aktivitu izoforiem chitináz aj v rastlinách vystavených účinkom ťažkých kovov (Metwally et al., 2005; Békésiová et al., 2008). Zmeny aktivity izoforiem chitináz na ťažké kovy závisia od rastlinného druhu, odrody, typu a koncentrácie aplikovaného ťažkého kovu (Békésiová et al., 2008). Zvýšená aktivita chitináz sa často prejavuje v genotypoch senzitivných na kovy (Metwally et al., 2005). Sója fazuľová (*Glycine max* (L.) Merr.) je pre vysoký obsah bielkovín, minerálnych látok a oleja najhodnotnejšou strukovinou a je zaradovaná ku strategickým plodinám. Ide o rastlinný druh pomerne citlivý na prítomnosť ťažkých kovov v životnom prostredí (Ferreira et al., 2002). Medzidruhová a vnútrodrohová variabilita tolerance rastlín k ťažkým kovom už bola viackrát preukázaná (Metwally et al., 2005; Stoeva et al., 2005). Existuje však málo poznatkov o obranných mechanizmoch rastlín, ktoré odrodovú variabilitu daných druhov podmieňujú. Cieľom našich experimentov bolo zhodnotiť vplyv iónov arzénu a kadmia na profil a intenzitu chitinázových izoforiem v rôznych častiach rastlín sóje fazuľovej [*Glycine max* (L.) Merr.] cvs. Bólyi 44 a Cordoba.

MATERIÁL A METÓDY

Vysterilizované semená sóje fazuľovej [*Glycine max* (L.) Merr.] cv. Bólyi 44 a cv. Cordoba sme nechali naklíčiť na Petriho miskách (Ø 12 cm) po dobu 3 dní. Keď korene dosiahli dĺžku 5 – 8 mm, vysadili sme ich do plastových črepníkov (Ø 25 cm, objem 1 500 ml) do zmesi rašelinovej zeminy BORA (pH 5 – 7; vlhkosť 65%) a perlitu (v pomere 4:1) a zaliali sme ich destilovanou vodou, ktorej množstvo zodpovedalo maximálnej sorpčnej kapacite pôdy (700 ml). Na rastliny v štádiu prvých asimilačných listov (12. deň nádobového pokusu) sme aplikovali roztoky kovov (50 mg.kg⁻¹ pôdy Cd²⁺, 5 mg.kg⁻¹ pôdy As³⁺) vo forme roztokov Cd(NO₃)₂.4H₂O a As₂O₃, resp. destilovanú vodu (kontrola). Nádobové pokusy sme uskutočnili v rastovej komore s kontrolovanou klímou pri teplote 23 °C. Po 10 dňoch rastu rastlín v kontrolnej a kontaminovanej pôde sme odobrali vzorky

koreňov a rôznych vývinových štádií listov, zamrazili tekutým dusíkom a uskladnili pri teplote -80°C . Ontogenetické štádium listov rastlín sme stanovili v rastovej fáze V2 (El-Shemy, 2011) nasledovne: prvý asimilačný list sme označili ako spodný list (jednoduchý), druhý asimilačný list ako vrchný list 1 (zložený, trojpočetný) a tretí asimilačný list ako vrchný list 2 (zložený, trojpočetný; v smere od koreňa ku vrcholu výhonku). Enzymovú aktivitu chitináz v hrubých proteínových extraktoch koreňov a listov (Hurkman a Tanaka, 2003) sme detekovali na polyakrylamidových géloch (SDS PAGE) podľa Pana et al. (1991). Intenzitu proteínových frakcií (bandov) zodpovedajúcej miere akumulácie chitináz sme vyhodnotili softvérom Scion Image. Údaje boli spracované a vyhodnotené v štatistickom programe JMP IN 8.0.2. Na porovnanie jednotlivých charakteristík súboru sme použili Studentovt-test a Tukeyov test ($\alpha = 0,05$).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V koreňoch a listoch analyzovaných rastlín sóje fazuľovej sme detekovali proteíny s chitinázovou aktivitou. Z celkovo 5 detekovaných izoform chitináz len 2 s veľkosťou ~ 62 kDa a ~ 50 kDa boli prítomné vo všetkých sledovaných častiach rastlín (Tabuľka 1, Obrázok 1). Na druhej strane v koreňoch oboch odrôd sóje sme detekovali 4 rôzne izoformy chitináz s veľmi podobnými intenzitami. Významné zmeny aktivity izoform chitináz stresovaných rastlín v porovnaní s kontrolnými vzorkami sme nezaznamenali. V jednotlivých vývinových štádiách listov (Tabuľka 1) sme zaznamenali rôzny počet izoform chitináz. Rastliny reagovali výraznejšie na aplikovanú dávku kadmia v porovnaní s aplikovanou dávkou arzenu.

Z pozorovania získaných profilov chitináz vyplýva, že kým v koreňoch oboch odrôd sú v danom systéme detekovateľné 4 izoformy s rôznymi veľkosťami (~ 62 kDa, ~ 50 kDa, ~ 36 kDa, ~ 16 kDa), v listoch rôznych vývinových štádií celkovo 4-5 izoform o veľkostiach ~ 62 kDa, ~ 50 kDa, ~ 36 kDa, ~ 30 kDa a ~ 18 kDa. Profil koreňov bol najviac porovnateľný s profilom spodných listov.

U listov jednotlivých vývinových štádií sme zaznamenali rozdiely v počte aj aktivite izoform chitináz (Tabuľka 1, Obrázok 1). Kým v spodnom liste a vrchnom liste 1 bolo prítomných 5 izoform týchto enzýmov, vo vrchnom liste 2 len 4 rôzne izoformy (absentovala izoforma o veľkosti ~ 30 kDa). Intenzita jednotlivých chitinázových frakcií (bandov) vo vzorkách z vrchných listov (1 aj 2) je výrazne nižšia u odrody Bólyi 44 ako u odrody Cordoba. Zároveň pre aktivity izoform chitináz v listoch platí, že klesá v poradí $\text{SL} > \text{VL1} > \text{VL2}$. Tento jav sme pozorovali u oboch odrôd, pričom uvedené výsledky boli získané z 3 nezávislých biologických opakovaní.

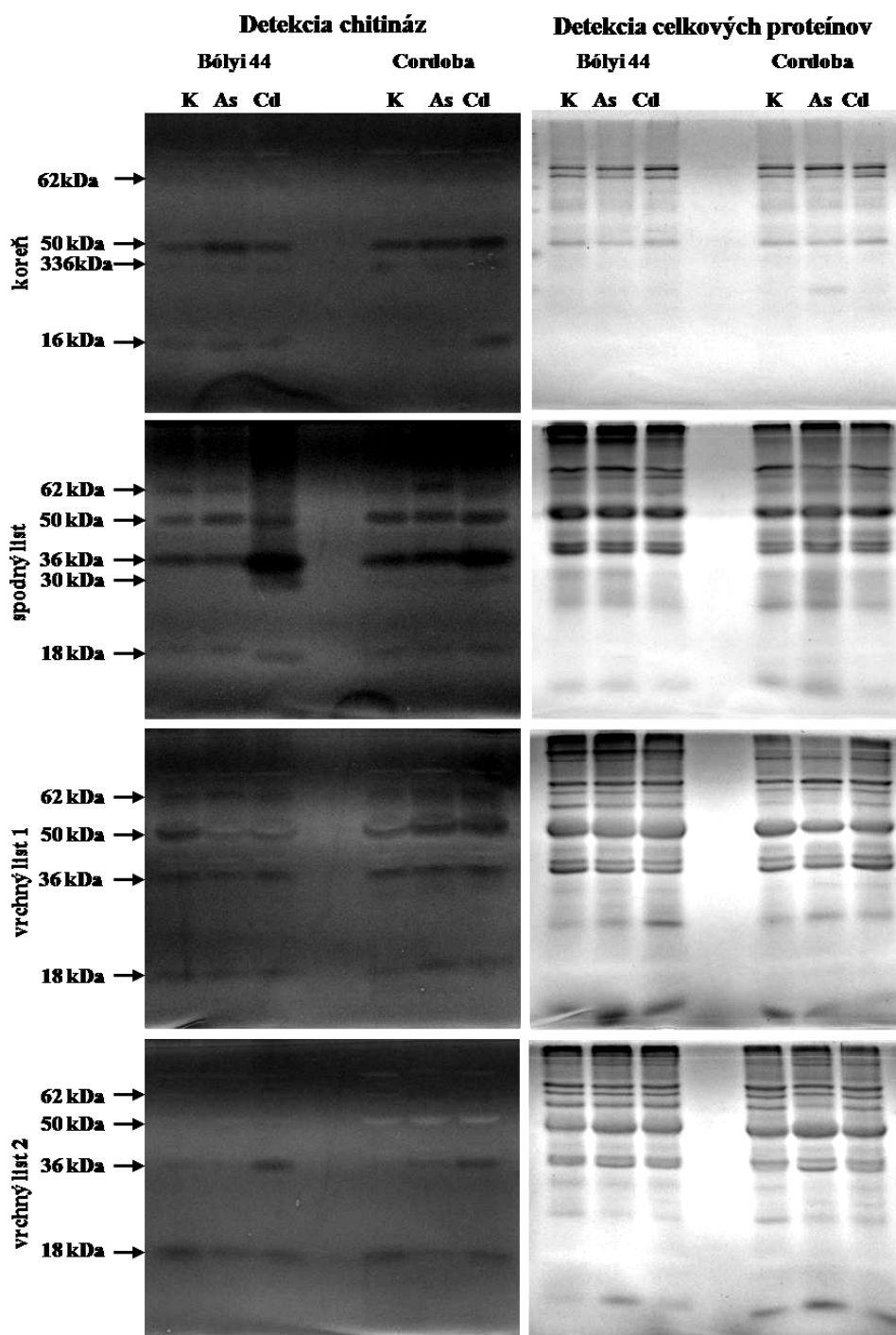
Metwally et al. (2005) v koreňoch a listoch *Pisum sativum* detekovali celkovú aktivitu chitináz. Rozdiely v aktivite jednotlivých izoform chitináz sú pravdepodobne dané rôznou funkciou izoform v rastlinných pletivách.

Tabuľka 1: Akumulácia izoform chitináz detekovaných z proteínových extraktov rôznych častí rastlín študovaných odrôd Bólyi 44 a Cordoba vystavených účinku iónov arzenu (5 mg.kg^{-1}) a kadmia (50 mk.kg^{-1}) vzhľadom ku kontrole (K).

Testovaná časť rastliny	Izoforma (kDa)	Bólyi 44			Cordoba		
		K	As 5	Cd 50	K	As 5	Cd 50
koreň	62	1	nd	nd	1	nd	nd
	50	1	$1,022 \pm 0,321$	$1,087 \pm 0,277$	1	$1,115 \pm 0,296$	$1,295 \pm 0,417$
	36	1	$0,866 \pm 0,212$	$0,903 \pm 0,133$	1	$0,964 \pm 0,078$	$1,577 \pm 0,545$
	16	1	$1,184 \pm 0,170$	$1,508 \pm 0,539$	1	$1,021 \pm 0,094$	$1,365 \pm 0,641$
spodný list	62	1	$1,006 \pm 0,171$	$0,909 \pm 0,140$	1	$1,032 \pm 0,312$	$0,974 \pm 0,081$
	50	1	$1,395 \pm 0,182$ **	$1,48 \pm 0,365$ *	1	$0,912 \pm 0,114$	$1,137 \pm 0,091$ *
	36	1	$1,313 \pm 0,246$ *	$1,42 \pm 0,220$ *	1	$0,966 \pm 0,147$	$1,510 \pm 0,185$ **
	30	1	$1,029 \pm 0,116$	$1,648 \pm 0,309$ **	1	$0,968 \pm 0,111$	$0,999 \pm 0,253$
	18	1	$1,198 \pm 0,238$	$1,203 \pm 0,154$ *	1	$0,987 \pm 0,183$	$0,966 \pm 0,134$
vrchný list 1	62	1	$1,051 \pm 0,181$	$1,11 \pm 0,138$	1	$1,083 \pm 0,153$	$1,126 \pm 0,177$
	50	1	$1,032 \pm 0,187$	$1,709 \pm 0,351$ **	1	$1,247 \pm 0,170$ *	$1,396 \pm 0,189$ **
	36	1	$0,938 \pm 0,057$	$1,932 \pm 0,641$ *	1	$0,977 \pm 0,086$	$1,530 \pm 0,366$ *
	30	-	-	+	-	-	+
	18	1	$0,930 \pm 0,061$	$0,982 \pm 0,196$	1	$1,043 \pm 0,259$	$1,070 \pm 0,081$
vrchný list 2	62	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	50	nd	nd	nd	nd	nd	nd
	36	1	$1,242 \pm 0,184$ *	$1,936 \pm 0,707$ *	1	$1,111 \pm 0,166$	$1,623 \pm 0,129$ ***
	18	1	$0,928 \pm 0,208$	$1,009 \pm 0,315$	1	$1,13 \pm 0,435$	$1,32 \pm 0,165$

Frakcie chitináz, ktoré neboli prítomné vo všetkých vzorkách neboli kvantifikované; indikovaná je ich prítomnosť (+) alebo absencia (-) a skratka nd znamená nedetegovanú izoformu chitinázy v danej vzorke.

Hodnoty zodpovedajú aritmetickému priemeru \pm smerodajná odchýlka ($n = 4$). Hladiny významnosti rozdielov: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.



Obrázok 1: Akumulácia izoforiem chitináz v proteínových extraktoch z rôznych častí rastlín študovaných odrôd sóje fazuľovej vystavených účinkom iónov arzénu ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a kadmia ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) v porovnaní s kontrolnými vzorkami (K).

ZÁVER

Výsledky doterajších pozorovaní naznačujú, že chitinázy sú stabilnou zložkou obranného systému rastlín voči kovom, pričom môžu zohrávať aj oveľa špecifickejšiu úlohu ako sa doteraz predpokladalo (Békésiová et al., 2008). V súčasnosti však nie je možné vysloviť jednoznačné závery o ich úlohe v procese obrany rastlín voči

ťažkým kovom. Ďalšie analýzy týchto obranných proteínov by mohli prispieť k pochopeniu obranných mechanizmov rastlín voči nepriaznivým podmienkam životného prostredia.

Pod'akovanie: Práca bola vypracovaná v rámci riešenia projektov KEGA 044UKF-4/2012, VEGA 2/0062/11, VEGA 1/0509/12 and UGA VII/11/2012.

LITERATÚRA

- BÉKÉŠIOVÁ, B. – HRAŠKA, Š. – LIBANTOVÁ, J. – MORAVČÍKOVÁ, J. – MATUŠÍKOVÁ, I. 2008. Heavy metal stress induced accumulation of chitinase isoforms in plants. In: *Molecular Biology Reports*. ISSN 1573-4978, 2008, vol. 35, no. 4, p. 579 – 588.
- CARBONELL-BARRACHINA, A. A. - BURLÓ, F. - BURGOS-HERNÁNDEZ, A. - LÓPEZ, E., MATAIX, J. 1997. The influence of arsenite concentration on arsenic accumulation in tomato and bean plant. In: *Scientia Horticulturae*. ISSN 0304-4238, vol. 71, p. 167-176.
- EL-SHEMY, H. A. 2011. Soybean and health. Rijeka: InTech, 2011. 502 p. ISBN 978-953-307-535-8.
- FERREIRA, R. R. – FORNAZIER, R. F. – VITÓRIA, A. P. – LEA, P. J. – AZEVEDO, R. A. 2002. Changes in antioxidant enzyme activities in soybean under cadmium stress. In: *Journal of plant nutrition*. ISSN 1522-2624, 2002, vol. 25, no. 2., p. 327-342.
- CHRISTENSEN, A. B. – CHO, B. H. – NAESBY, M. – GREGERSEN, P. I. – BRANDT, J. – MADRIZ-ORDENANA, COLLINGE, D. B. – THORDAL-CHRISTENSEN, H. 2002. The molecular characterization of two barley proteins establishes the novel PR-17 family of pathogenesis-related proteins. In: *Molecular Plant Pathology*. ISSN 1364-3703, 2002, vol. 3, no. 3, p. 135-144.
- METWALLY, A. et al. 2005. Genotypic variation of the response to cadmium toxicity in *Pisum sativum* L. In: *Journal of Experimental Botany*. ISSN 1460-2431, 2005, vol. 56, p. 167 – 178.
- SELS, J. – MATHYS, J. – DE CONICK, M. A. – CAMMUE, B. P. A. – DE BOLLE, M. F. C. 2008. Plant pathogenesis-related (PR) proteins: A focus on PR peptides. In *Plant Physiology and Biochemistry*. ISSN 0981-9428, 2008, vol. 46, no. 11, p. 941-950.
- STOEVA, N. – BEROVA, M. – ZLATEV, Z. 2005. Effect of arsenic on some physiological parameters in bean plants. In: *Biological plantarum*. ISSN 1573-8264, 2005, vol. 49, no. 2, p. 293 – 295.
- VAN LOON, L. C. 1985. Pathogenesis-related proteins. In: *Plant Molecular biology*. ISSN 0167-4412, 1985, vol. 4, p. 111 – 116.
- VAN LOON, L. C. - VAN STRIEN, E. A. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. In: *Physiological and Molecular Plant Pathology*. ISSN 0885-5765, 1999, vol. 55, p. 85-97.
- XIE, Z. P. – STAEHELIN, C. – WIEMKEN, A. – BROUGHTON, W. J. – MÜLLER, J. – BOLLER, T. 1999. Symbiosis-stimulated chitinase isoenzymes of soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). In: *Journal of Experimental Botany*. ISSN 1460-2431, 1999, vol. 50, p. 327-333.

Adresy autorov:

Terézia GÁLUSOVÁ, Beáta PIRŠELOVÁ: Katedra botaniky a genetiky, Fakulta prírodných vied, Univerzita Konštantína Filozofa v Nitre, Nábřežie mládeže 91, 949 74 Nitra, e-mail: terezia.galusova@ukf.sk
Ildikó MATUŠÍKOVÁ, Patrik MÉSZÁROS: Ústav genetiky a biotechnológií rastlín, Slovenská akadémia vied, Akademická 2, P.O. Box 39A, 950 07 Nitra, e-mail: ildiko.matusikova@savba.sk

MOLEKULÁRNA TAXONÓMIA PŠENICE KAMUT®

MOLECULAR TAXONOMY OF KAMUT® WHEAT

VERONIKA MICHALCOVÁ¹, ROMAN DUŠINSKÝ¹, MIROSLAV SABO²,
MAJA AL BEYROUTIOVÁ¹, PAVOL HAUPTVOGEL³, MIROSLAV ŠVEC¹

¹Univerzita Komenského v Bratislave

²Slovenská technická univerzita v Bratislave

³Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

*Tetraploid Kamut brand wheat is interesting crop because of its unique nutritional properties and also because of its unclear taxonomy. There are few studies based on cytological and comparative methods which classify this wheat as *Triticum turgidum* subsp. *polonicum*, *T. turgidum* subsp. *turanicum*, *T. turgidum* subsp. *turgidum* or *T. turgidum* subsp. *durum*. That were questions about this crops' taxonomical identity that inspired us to create this project. In our experiments we worked with 50 tetraploid wheat genotypes, one sample of diploid wheat *Triticum urartu* and one diploid sample of *Aegilops speltoides*. For our purposes we chose molecular PCR method TERGAP (Transposable Elements – Resistance Gene Analog Polymorphism), which is based on resistance gene primer and retrotransposon primer combination. For statistical evaluation of molecular data we used Arlequine software. Accordig to our molecular experiments and also to statistics we suggest that Kamut® belongs into *polonicum* subspecies, but it is also possible that this unique wheat is a hybrid between *Triticum turgidum* subsp. *polonicum* and *T. turgidum* subsp. *turanicum* subspecies.*

Key words: Kamut®, taxonomy, TERGAP, statistics

ÚVOD

Obilnina zvaná Kamut patrí medzi tetraploidné pšenice, známa je pod prezývkou „Tutanchamónova pšenica“ alebo „Khorasan wheat“ (čo je zároveň alternatívny názov pre poddruh *Triticum turgidum* subsp. *turanicum*). Názov „kamut“ znamená v staroegyptskom jazyku „pšenica“. Táto pšenica storočia preživala na poliach poľnohospodárov v Egypte a Malej Ázii bez kontaktu s modernými šľachtiteľskými a poľnohospodárskymi metódami (Hammer 2000), do zvyšku sveta sa však nerozšírila. Od roku 1990 je registrovaná ako obchodná značka pod názvom „QK-77“ (Quinn 1999). Dnes je jej pestovanie podmienené zmluvami a certifikátom pre organické plodiny. Je hojne pestovaná na území USA a taktiež v limitovanej oblasti Rakúska (Grausgruber a kol. 2004).

Vďaka storočiam, počas ktorých bol Kamut® pestovaný v izolácii, sa u tejto plodiny zachovali pôvodné vlastnosti. Je to rastlina vysoká v priemere 127 cm, zrno je dva až trikrát väčšie ako býva u bežných odrôd pšenice. Obsahuje o 20-40% viac proteínov, má vyššie hladiny ôsmich z deviatich minerálov, viac lipidov a mastných kyselín a o vyše 65% viac aminokyselín. Vzhľadom na vysoký obsah lipidov, ktoré poskytujú viac energie ako uhľohydráty, je Kamut popisovaný ako vysokoenergetická obilnina. Taktiež v ňom boli identifikované alely prolaminu, ktoré sú zodpovedné za vysokú kvalitu cestovín. Má sladkú chuť, takže v potravinárstve poskytuje tú výhodu, že do výrobkov nie je potrebné pridávať väčšie množstvo cukru (Quinn 1999). Taktiež bolo dlhšie známe, že u ľudí citlivých na lepok nespôsobuje také prudké alergické reakcie ako ostatné odrody (Grausgruber a kol. 2004). Táto informácia však bola vyvrátená, zistilo sa totiž, že Kamut vyvoláva rovnaké alergické reakcie ako *Triticum turgidum* subsp. *durum* (Simonato a kol. 2002). Znamená to, že napriek počiatočnému nadšeniu nie je pre celiatikov vhodná.

O najbližšom príbuznom Tutanchamónovej pšenice sa stále vedú spory. Pôvodne bola priradená k poddruhu *Triticum turgidum* subsp. *polonicum* (Kuckuck 1959). Niektoré skupiny vedeckých pracovníkov ju príbuzensky priradujú k *T. turgidum* subsp. *turanicum* (Percival 1921), iné k *T. turgidum* subsp. *turgidum* alebo *T. turgidum* subsp. *durum* (Brouwer 1972).

MATERIÁL A METÓDY

Izolácia vzoriek DNA

V našich experimentoch sme pracovali s 50 vzorkami tetraploidných pšeníc. Vzorky DNA sme izolovali pomocou CTAB extrakčného pufru [200 mmol.l⁻¹ Tris-HCl (pH 8.0), 1,4 mol.l⁻¹ NaCl, 20 mmol.l⁻¹ EDTA, 2% (w/v) CTAB, 0,2% (v/v) 2-merkaptotanol] a komerčne predávaného kitu High Pure PCR Product Purification Kit (Roche) zo zrn nasledovných poddruhov: *Triticum timopheevii* subsp. *timopheevii* (Zhuk.) (TIM), *Triticum timopheevii* subsp. *armeniicum* (Jakubz.) (ARM), *Triticum turgidum* subsp. *dicoccoides* Thell. (DCS), *Triticum turgidum* subsp. *dicoccum* (Schrank) (DIM), *Triticum turgidum* subsp. *turgidum* (Jakubz.) (TRG), *Triticum turgidum* subsp. *carthlicum* (Nevski) (CAR), *Triticum turgidum* subsp. *durum* (Desf.) (DUR), *Triticum turgidum*

subsp. *turanicum* (Jakubz.) (TRN), *Triticum turgidum* subsp. *polonicum* L. (PLN), ďalej z tetraploidného druhu *Triticum ispahanicum* Heslot (ISP), jednej vzorky pšenice Kamut®, jednej vzorky *Aegilops speltoides* Tausch. (SPE) a jednej diploidnej vzorky druhu *Triticum urartu* (Tumanian ex Gandilyan) (URA), ktorú sme v konštrukcii fylogenetického stromu použili ako "outgroup". V príspevku použivame nomenklatúru pšenice podľa Génovej Banky v Beltsville, USA (GRIN – Germplasm Resources Information Network).

TERGAP

Izolovanú DNA sme analyzovali pomocou metódy TERGAP. Kvôli snahe vyhnúť sa nešpecifickým produktom sme v PCR použili "hot start" polymerázu TrueStart *Taq* (Fermentas). Reakčná zmes obsahovala: 1 × zmes PCR pufrov 1:1 (GoTaq, Promega; TrueStart, Fermentas); 1 U *Taq* polymerázy (TrueStart, Fermentas); 2,0 mM MgCl₂; 0,25 mM dNTP; 0,4 μM primery a 30 ng templátovej DNA v celkovom objeme 12,5 μl. Navrhli a otestovali sme 17 primerových kombinácií, pričom jeden primer bol vždy odvodený zo sekvencií analógov génov rezistencie a druhý zo sekvencie retrotranspozónov typu *Claudia* alebo *Jeli*. PCR cyklus sme optimalizovali nasledovne: počiatočná denaturácia 95°C (2 min); 34 cyklov s teplotami 94°C (45 sek), 54°C (45 sek), 72°C (2min); záverečná polymerizácia 72°C (7 min). Výsledky amplifikácie sme hodnotili elektroforeticky na 1,5% agarózovom géli, fragmenty sme separovali počas 2,5 h pri konštantnom napätí 100 V (3,5 V/cm vzdialenosti elektród). Gél sme následne dofarbovali 30 min v roztoku etidium bromidu s finálnou koncentráciou 5 μg/ml.

Konštrukcia fylogenetického stromu

Profily bandov DNA sme vizualizovali pomocou systému Vilber Lourmat Gel Documentation a detegované bandy sme triedili na základe veľkosti v bp pomocou Bio-1D software (Vilber Lourmat, France). Na základe prítomnosti alebo neprítomnosti bandov určitej veľkosti sme manuálne zostrojili binárnu maticu. Fylogenetickú analýzu sme robili v programe PHYLIP, verzia 3.69 (Felsenstein 2005), za zvolenia 500 bootstrapových opakovaní. Výsledky sme analyzovali programom PARS za použitia Wagnerovej parsimónie. Konsenzus strom sme vytvorili zvolením programu CONSENSE. Výsledný fylogenetický strom sme vizualizovali v programe Mega5 (Tamura et al. 2011).

Štatistické hodnotenie binárnych dát

Na stanovenie priemerných párových diferencií medzi populáciami sme použili softvér Arlequin (verzia 3.5), v rámci ktorého sme si zvolili distančnú metódu Pairwise difference a použili sme Neiov koeficient.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Fylogenetický strom skonštruovaný na základe binárnych dát bol štatisticky preukazne rozdelený na dva hlavné klastre (obr. 1). Tieto klastre boli reprezentované taxómni nesúcimi genómy GGAA (lína *timopheevii*) a BBAA (lína *turgidum*). Do línie *timopheevii* sa zaradili výlučne vzorky z poddruhov *Triticum timopheevii* subsp. *timopheevii* a *T. timopheevii* subsp. *armeniicum*.

Taxóny línie *turgidum* síce neboli zoradené tak striktné ako taxóny *timopheevii*, ale nahozrnné a plevnaté pšenice boli jasne rozdelené. Vzorky poddruhov *durum*, *turgidum* a *carthlicum* sa rozdelili do samostatných klastrov, okrem vzorky CAR10, ktorú považujeme za hybridný genotyp. Vzorky plevnatých pšeníc (*dicoccoides*, *dicoccum* a *ispahanicum*) klastrovali spolu bez ďalšieho rozdelenia. Poddruhy *dicoccum* a *dicoccoides* sú si veľmi blízko príbuzné, čo je pravdepodobná príčina ich spoločného zoskupovania sa v rámci stromu. Vzorky patriace do poddruhu *dicoccum* boli premiešané so vzorkami druhu *ispahanicum*, čo bolo pravdepodobne zapríčinené blízkou geografickou lokalizáciou týchto taxónov počas ich evolúcie. Blízku príbuznosť týchto dvoch taxónov nám potvrdili aj ďalšie analýzy (nepublikované).

V klastroch nahozrnných pšeníc sa do spoločnej skupiny zoskupili vzorky *turgidum* a *carthlicum*; a vzorky *turanicum*, *polonicum* a *durum* vytvorili ďalší zhluk. Vzorky z poddruhu *durum* vytvorili samostatnú skupinku v rámci spomínaného zhluku. Vzorky *T. turgidum* subsp. *turanicum* a subsp. *polonicum* boli premiešané v spoločnom zhluku, čo si vysvetľujeme ich veľmi blízkou príbuznosťou, čo potvrdzuje aj ich takmer rovnaká morfológia. Vzorka pšenice Kamut® sa taktiež zaradila do tohoto zhluku, a to presne na hranicu medzi vzorkami poddruhov *turanicum* a *polonicum*. Na základe nášho dendrogramu môžeme konštatovať, že vzorka TRN1 je fylogeneticky najstaršia spomedzi vzoriek TRN a PLN. V priebehu evolúcie sa postupne diferenciovali ďalšie genotypy TRN (použité v našich experimentoch), nasledoval Kamut® a genotypy PLN. Na základe tejto domnienky môžeme Kamut® považovať za evolučný krok medzi poddruhmi *turanicum* a *polonicum*. Taktiež je možné, že Tutanchamónova pšenica je prirodzeným hybridom medzi týmito dvoma poddruhmi.

Naše štatistické analýzy klasifikovali Kamut® ako genotyp najbližšie príbuzný poddruhu *Triticum turgidum* subsp. *polonicum*, čo potvrdzujú aj molekulárne analýzy a taktiež skoršia hypotéza Kuckucka a kol (1959).



Obrázok 1: Fylogenetický strom skonštruovaný pomocou PHYLIP 3.69, vzorku URA sme použili ako outgroup. V krúžku vzorka pšenice Kamut®.

ZÁVER

Cieľom našich experimentov a štatistických analýz bola taxonomická klasifikácia pšenice Kamut®. Molekulárna analýza nám dala dve možnosti riešenia tejto otázky: Kamut® môže byť evolučným krokom medzi poddruhmi *Triticum turgidum* subsp. *turanicum* and *T. turgidum* subsp. *polonicum*, alebo môže byť hybridom medzi týmito dvoma poddruhmi. Štatistické analýzy jednoznačne definovali Kamut® ako člena poddruhu *polonicum*. Výsledky molekulárnej aj štatistických analýz sú veľmi podobné, a navrhujeme preto zaradenie pšenice Kamut® do poddruhu *Triticum turgidum* subsp. *polonicum*.

Pod'akovanie: "Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0661-10 a č. APVV-0197-10.

LITERATÚRA

- BROUWER, W.: In: *Handbuch des Speziellen Pflanzenbaues*, Band 1. Berlin, 1972.
 FELSENSTEIN, J. : PHYLIP (Phylogeny Inference Package) version 3.6. Distributed by the author. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle, 2005.

- GRAUSGRUBER, H. – SAILER, C. – RUCKENBAUER, P. : Khorasan wheat, Kamut® and 'Pharaonerkorn': Origin, characteristics and potential. In: Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 2004, 55, 75-80.
- HAMMER, K. – FILATENKO, A.A. – KORZUN, V. : Microsatellite markers - a new tool for distinguishing diploid wheat species. In: *Genet. Resour. Crop Evol.*, 2000, 47, 497-505.
- KUCKUCK, H.: Neuere Arbeiten zur Entstehung der hexaploiden Kulturweizen. In: *Z. Pflanzenzüchtg.*, 1959, 41, 205-226.
- PERCIVAL, J.: The wheat plant. A monograph. Duckworth & Co., London, 1921.
- QUINN, R.M.: Kamut®: Ancient Grain, New Cereal. In: ASHS Press, Alexandria, VA. 1999, 182-183.
- SIMONATO, B. – PASINI, G. – GIANNATTASIO, M. – CURIONI, A.: Allergenic potential of Kamut® wheat. In: *Allergy*, 2002, 57, 653-654.
- TAMURA, K. – PETERSON, D. – PETERSON, N. – STECHER, G. – NEI, M. – KUMAR, S.: MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. In: *Mol. Biol. Evol.*, 2011, 28(10), 2731–2739.
- USDA, ARS, National Genetic Resources Program. *Germplasm Resources Information Network – (GRIN)* [Online Database].

Adresa autorov:

Mgr. Veronika Michalcová¹, RNDr. Roman Dušínský, CSc.¹, Ing. Miroslav Sabo², Ing. Pavol Hauptvogel, PhD³, Mgr. Maja Al Beyroutiová¹, doc. RNDr. Miroslav Švec, CSc.¹

¹Katedra genetiky, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava

²Katedra matematiky a konštruktívnej geometrie, Fakulta civilného inžinierstva, Slovenská Technická Univerzita v Bratislave, Radlinského 11, 813 68 Bratislava

³Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany

Kontaktný e-mail: michalcova@fns.uniba.sk

ANALÝZA VPLYVU POVETERNOSTNÝCH PODMIENOK ROČNÍKA A BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU NA ÚRODU SLNEČNICE ROČNEJ (*HELIANTHUS ANNUUS L.*)

ANALYZE OF THE YEAR WEATHER CONDITIONS AND BIOLOGICAL MATERIAL ON SUNFLOWER YIELD (*HELIANTHUS ANNUUS L.*)

IVAN ČERNÝ, MARTIN MÁTYÁS, ALEXANDRA VEVERKOVÁ

Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre

The aim of this experiment was find the impact of year weather conditions and hybrids on sunflower yield. Field polyfactorial experiment was carried out at the experimental base of Centre of Plant Biology and Ecology FAFR SUA in Nitra Dolná Malanta in the years 2010 and 2011. Year and hybrids were the factors of the experiment. During every experimental year the change of inner energy (ΔU) was evaluated for thermodynamic characteristic analysis and the impact of changes on yield forming. From the results follow, the sunflower has got critical thermodynamic phase in the period of months from July to August. For the yield formation is requirement, that input power of precipitation prevailed over the thermal during months July to August. The year and hybrids influenced the yield statistically high significantly. The highest yield ($4,19 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$) was found by NK Kondi. More positive year for sunflower growing was year 2011.

Key words: sunflower, thermodynamics conditions, hybrids, achene yield

ÚVOD

Poveternostné podmienky ročníka majú dominantné postavenie z hľadiska ich vplyvu na proces tvorby úrody poľných plodín (Brandt *et al.* 2003).

Za rozhodujúce poveternostné podmienky sa považujú potreba vlhky a teplota vzduchu, od ktorej sa následne odvíja teplota pôdy a teplota pôdneho roztoku (Brandt *et al.* 2003; Aiken 2006; Švelucha 1982).

Priebeh uvedených základných meteorologických faktorov (zrážky a teplota) v čase a množstve má prvoradý vplyv na fyziologické procesy rastlín a stiera aj účinnosť ostatných faktorov vplývajúcich na úrodu. (Fiala, 1980).

Podľa Černého (2011) predstavuje analýza termodynamických podmienok prostredia jednu z mnohých alternatív formovania produkčného procesu poľných plodín.

Podľa Kudrnu (1985) kritériom pre posúdenie vplyvu základných poveternostných podmienok v sústave Es → Ers (energia slnečného žiarenia → energia rastlinných spoločenstiev) je hodnota vnútornej energie (ΔU), ktorá predstavuje tú časť energie bunkových systémov, ktorá udržuje v aktivite transformačné procesy.

Ďalším z významných faktorov, podieľajúcich sa a ovplyvňujúcich tvorbu úrody slnečnice ročnej je optimálne realizovaný výber hybridu (Kulcsárovej 2011).

Z výsledkov početnej skupiny experimentov vyplýva, že pri uvedenej činnosti je potrebné sa riadiť nielen tolerantnosťou, resp. rezistenciou hybridu k prevládajúcim a najvýznamnejším patogénom, ale i stabilitou úrody nielen po stránke množstva úrody, ale i kvalitatívneho obsahu a úrody tukov (Málek, 2010).

Cieľom práce bolo poukázať na vplyv poveternostných podmienok prostredia a biologického materiálu na výšku úrody nažiek slnečnice ročnej.

MATERIÁL A METÓDY

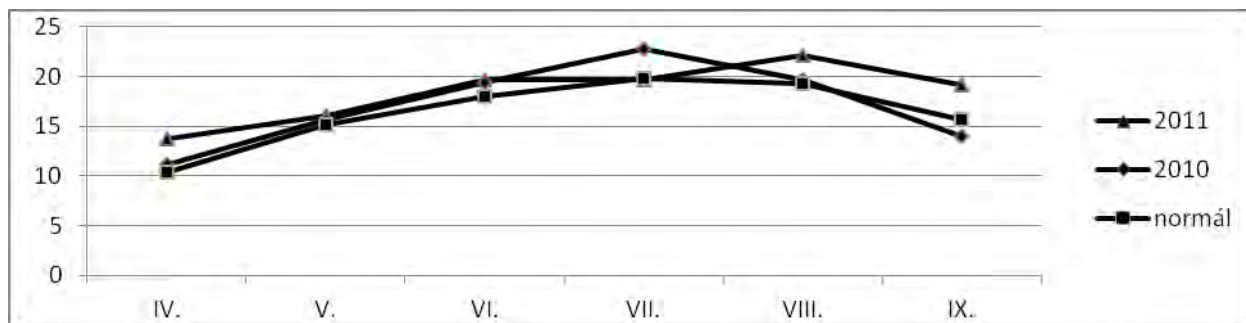
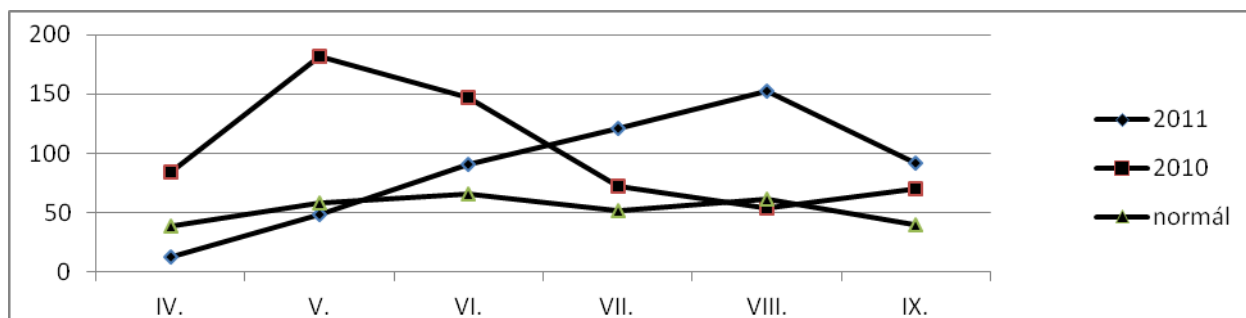
Poľný polyfaktorový pokus bol realizovaný v rokoch 2010 a 2011 na experimentálnej báze Strediska biológie a ekológie rastlín FAPZ SPU v Nitre Dolná Malanta. Sledovaná lokalita sa nachádza v kukuričnej výrobní oblasti charakterizovanej ako teplá a mierne suchá, s miernou zimou a dlhým slnečným svitom. Pokusy boli realizované na hnedozemi kultizemnej.

Predplodinou slnečnice ročnej (*Helianthus annuus L.*), v rámci 7 honového osevného postupu, bol jačmeň siaty jarný (*Hordeum sativum L.*). Základné hnojenie bolo uskutočnené bilančnou metódou, na základe agrochemického rozboru pôdy na predpokladanú výšku úrody $3 \text{ t}\cdot\text{ha}^{-1}$.

Obrábanie pôdy (podmietka, hlboká jesenná orba) a spôsob založenia porastu (medziriadková vzdialenosť 0,70 m, vzdialenosť v riadku 0,22 m) boli realizované v súlade so zásadami konvenčnej technológie pestovania slnečnice ročnej. V rámci biologického materiálu boli použité hybridy NK Dolbi (dvojlíniový skorý hybrid), NK Kondi (dvojlíniový stredne neskorý hybrid), NK Tristan (dvojlíniový skorý hybrid).

Poveternostné charakteristiky experimentálneho územia boli získané z Agrometeorologickej stanice FZKI SPU v Nitre (Obrázok 1, 2).

Pokus bol založený metódou kolmo delených dielcov, pričom stupne faktorov boli rozmiestnené v náhodnom usporiadaní v 3 opakovaníach

Obrázok 2: Priemerné mesačné teploty za roky 2010 a 2011(°C)**Obrázok 1:** Mesačný úhrn zrážok za roky 2010 a 2011 (mm)

Na zhodnotenie vplyvu hlavných agroklimatických podmienok v sústave slúži hodnota vnútornej energie (ΔU), ktorej výpočet bol vykonaný nasledovne.

Množstvo transformovanej kinetickej energie na potencionálnu vyjadruje vzťah:

$$T = \frac{Y_{prod}}{tc}, \quad S = \frac{Y_{prod}}{hs}$$

kde T je súčiniteľ pre teploty a S je súčiniteľ pre zrážky, potom: $Y_t = T \cdot tcn$, $Y_{hs} = S \cdot hsn$, kde: Y_t je energia teploty potrebná na úrodu a Y_{hs} je energia zrážok potrebná na úrodu.

Y_{prod} – produktívna úroda ($t \cdot ha^{-1}$)

hs – úhrn mesačných zrážok počas vegetácie plodiny

hsn – zrážky v príslušnom období (napr. mesiac, dekáda, pentáda a pod.)

tc – suma priemerných denných mesačných teplôt počas vegetácie plodiny

tcn – priemerná denná teplota vzduchu v príslušnom období (napr. mesiac, dekáda pentáda a pod.)

Hodnota úrody Y_t alebo Y_{hs} predstavuje množstvo energie sústavy $E_s \rightarrow E_{rs}$ (Kudrna, 1989), ktorá je v určitom danom období k dispozícii pre určitú výšku úrody, t.j. zmenu celkovej vnútornej energie sústavy (ΔU).

$$\Delta U = \frac{Y}{tc} tcn - \frac{Y}{hs} hsn = T \cdot tcn - S \cdot hsn = Y_t - Y_{hs}$$

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z analýzy vplyvu termodynamických podmienok prostredia na úrodu nažiek slnečnice ročnej, v rokoch 2010 – 2011, vyplýva značná variabilita základných poveternostných charakteristík. V pestovateľskom roku 2011, v rozsahu ktorého bola dosiahnutá vyššia úroda nažiek (Y_{max}) boli poveternostné podmienky pre tvorbu úrody odlišné v porovnaní s rokom 2010, v ktorom získaná úroda nažiek bola nižšia (Y_{min}) (Tab. 1).

Priemerná úroda nažiek za nami sledované obdobie rokov 2010 a 2011 bola $3,26 t \cdot ha^{-1}$. Priemerná úroda nažiek v roku 2010 bola na úrovni $2,62 t \cdot ha^{-1}$ a v roku 2011 $3,9 t \cdot ha^{-1}$ (Tab. 3). V roku 2010 dosiahol najvyššiu úrodu nažiek hybrid NK Kondi ($2,89 t \cdot ha^{-1}$) a najnižšiu NK Dolbi ($2,38 t \cdot ha^{-1}$) (Tab. 3). V roku 2011 bola dosiahnutá najvyššia úroda nažiek hybridom NK Kondi ($4,19 t \cdot ha^{-1}$) a najnižšia hybridom NK Tristan ($3,44 t \cdot ha^{-1}$) (Tab. 3). Vplyv hybridu na úrodu nažiek v nami sledovanom období rokov 2010 - 2011 bol štatisticky vysoko preukazný.

Fábry (1990), z hľadiska priebehu poveternostných podmienok ročníka, považuje v počiatočných fázach vegetačného obdobia slnečnice ročnej za optimálne, keď so zvyšovaním priemerných denných teplôt sa úmerne zvyšuje aj úhrn zrážok. Pre rastovú fázu dozrievania, resp. koniec vegetačného obdobia autor považuje za

vhodný postupný pokles priemerných teplôt a úhrnu zrážok, čo potvrdzujú aj výsledky dosiahnuté v našich pokusoch. Pre obidva experimentálne roky bol badateľný postupný pokles teplôt ku koncu vegetačného obdobia, priebeh zrážok bol však pre jednotlivé roky rozdielny. V roku 2010 (Y_{min}) bol na začiatku vegetačného obdobia zaznamenaný intenzívny nárast zrážok s ich následným razantným poklesom. V roku 2011 (Y_{max}) bol pozorovaný postupný nárast úhrnu zrážok od začiatku vegetačného obdobia, vrátane mesiaca august, s následným poklesom až do konca vegetačného obdobia (Obr. 1a 2).

Podľa Černého (2011) by v období formovania úrody nažiek mal prevážiť príkon energie zo zrážok (Y_{hs}) nad príkonom energie z teplôt (Y_t). Autor za kritickú termodynamickú fázu slnečnice ročnej považuje obdobie mesiacov júl – august. V roku 2011 (Y_{max}) boli hodnoty vnútornej energie ΔU v prvej polovici vegetačného obdobia kladné, v priebehu kritickej termodynamickéj fázy (júl - august) boli naopak záporné. V roku 2010 (Y_{min}) bola tendencia priebehu termodynamických podmienok vegetačného obdobia, v porovnaní s rokom 2011, opačná (Tab. 3, Obr. 3).

Tabuľka 1: Priemerné úrody ($t \cdot ha^{-1}$) jednotlivých hybridov za obdobie rokov 2010 - 2011

Rok	Hybrid			Arit. priemer
	NK Dolbi	NK Kondi	NK Tristan	
2010	2,38	2,89	2,58	2,62
2011	4,07	4,19	3,44	3,90
Arit. priemer	3,23	3,54	3,01	3,26

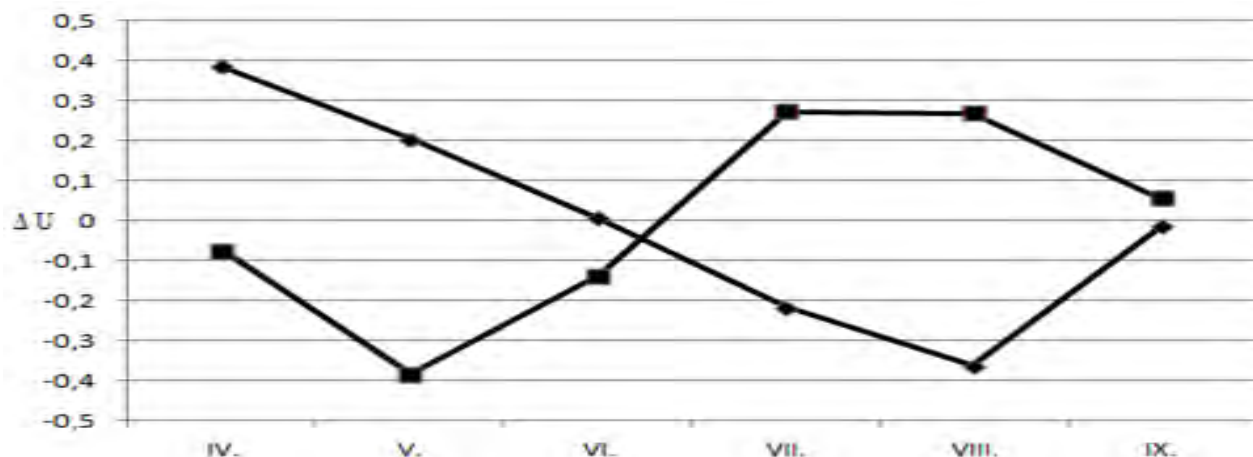
Tabuľka 2: Analýza rozptylu pre Úrodu nažiek

	Stupne	SČ	PČ	F	p
Abs. člen	1	570,3100	570,3100	9788,951	0,000000
rok	1	24,3076	24,3076	417,223	0,000000
hybrid	2	3,0145	1,5072	25,870	0,000000

Tabuľka 3: Zmeny vnútornej energie pre slnečnicu ročnú

Mesiac	Y max 3,9 $t \cdot ha^{-1}$ (2011)			Y min 2,62 $t \cdot ha^{-1}$ (2010)		
	Yt	Yhs	ΔU	Yt	Yhs	ΔU
Vegetačné obdobie						
IV.	0,484	0,099	0,385	0,284	0,359	-0,076
V.	0,569	0,364	0,205	0,399	0,782	-0,384
VI.	0,692	0,685	0,007	0,496	0,633	-0,137
VII.	0,696	0,914	-0,218	0,583	0,311	0,272
VIII.	0,781	1,145	-0,364	0,501	0,233	0,268
IX.	0,678	0,692	-0,014	0,358	0,301	0,057

Obrázok 3: Termodynamická krivka vnútornej energie



ZÁVER

Z výsledkov dvojročných experimentov vyplýva štatisticky vysoko preukazný vplyv poveternostných podmienok ročníka a biologického materiálu na výšku úrody nažiek slnečnice ročne.

V rozsahu vegetačného obdobia experimentálnych rokov (2010 - 2011) bola maximálna úroda (Y_{max}) nažiek získaná v roku 2011 (úhrn zrážok 518,7 mm, priemerná teplota 18,4 °C). Úroveň minimálnej úrody nažiek (Y_{min}) bola dosiahnutá v roku 2010, v rozsahu ktorého bol úhrn zrážok na úrovni 610,2 mm a priemerná teplota počas vegetačného obdobia 17,1 °C. Rozdiel v úrode nažiek bol 1,28 t.ha⁻¹, z hľadiska poveternostných charakteristík za sledované obdobie rokov bol rozdiel v priemerných teplotách 1,3 °C a v úhrne zrážok 91,5 mm.

Pri tvorbe maximálnej úrody (2011) bola v kritických obdobiach rastu hodnota vnútornej energie záporná, naopak pri formovaní minimálnej úrody prevládal príkon tepla nad zrážkami.

Pod'akovanie: Práca bola financovaná Vedeckou grantovou agentúrou Ministerstva školstva Slovenskej republiky, číslo projektu VEGA 1/0388/09/8 Racionalizácia pestovateľského systému slnečnice ročnej (*Helianthus annuus L.*) v podmienkach globálnej zmeny klímy.

LITERATÚRA

- AIKEN, R. M.: LAMM, F. R. 2006. Irrigation of oilseed crops. In: *Proc. Central Plains Irrigation Conference*, Colby, KS., 2006, p. 162 - 172.
- BRANDT, S. A. - NIELSEN, D. C. - LAFOND, G.P. - RIVELAND, N. R. 2003. Oilseed Crops for Semiarid cropping systems in the Northern Great Plains. In: *Agronomy Journal*, vol. 94, p. 231 - 240.
- ČERNÝ, I. - VEVERKOVÁ, A - PAČUTA, V - KOVÁR, M. 2011. Tvorba úrody slnečnice ročnej vplyvom teplotných a vlhkosťných podmienok pestovateľskej lokality. In: *Acta fytotechnica et zootechnica*, roč. 14, 2011, č. 1, s.17 - 21, ISSN 1335 - 258X.
- FÁBRY, A. 1990. *Jarné olejnin*. Praha, MZaV ČR, 240 s.
- FIALA, J. 1980. *Analýza vlivu hlavních meteorologických faktorů na utváření výnosů zelené píče*. Bratislava: Príroda, Vedecké práce VÚLP, 1980, s. 77-89.
- KUDRNA, K. 1985. *Zemědělské soustavy*. Praha: SZN, 1985, 720 s., ISBN 07 - 007 - 85.
- KULCSÁROVÁ, M. 2011, *Výskyt chorób slnečnice ročnej a možnosti ich regulácie v integrovanom systéme pestovania*: Autoreferát dizertačnej práce. Nitra SPU, 2011. 25 s.
- LOOMIS, R. S.: CONNOR, D. J. 1992. Productivity and Managment in Agricultural Systems. In: *Crop Ecology*. 1992, 538 p.
- MÁLEK, B. 2010. Výber hybridu slnečnice pro osev 2011. In: *Kvety olejnin*, vol. 15, no. 14, p. 8-14.
- ŠVELUCHA, V. S. 1982. *Periodicita rastu poľnohospodárskych plodín a jej usmerňovanie*. Bratislava: Príroda, 1982, 466 s.

Kontaktná adresa: doc. Ing. Ivan Černý, Katedra rastlinnej výroby FAPZ SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: ivan.cerny@uniag.sk; Ing. Martin Mátyás., Katedra rastlinnej výroby FAPZ SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: xmatyas@is.uniag.sk; Ing. Alexandra Veverková, Katedra rastlinnej výroby FAPZ SPU Nitra, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, e-mail: xveverkova@is.uniag.sk

VYUŽITIE DIHAPLOINÝCH LÍNIÍ V ŠĽACHTENÍ OBILNÍN UTILIZATION OF DIHAPLOID LINES IN CEREALS BREEDING

ALŽBETA ŽOFAJOVÁ

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

Production of double haploids (DH) through androgenesis is an important and promising method for genetic improvement of cereals. In the paper aims and results of long term research are presented. The research was aimed at: cultivation of donor plants, in vitro cultivation, responsibility of parental cultivars on the anther culture technique, estimation of genetic control of in vitro traits, selection of optimal generation for DH production, comparison of DH lines with conventional cultivars, evaluation of wheat DH lines from the point of storage proteins, maize x wheat and barley x Hordeum bulbosum hybridization. Haploid plants are very important in many research disciplines as plant biotechnology, genetic transformation, molecular genetic but also in traditional plant breeding.

Key words: double haploid, cereals, androgenesis, anther culture

V klasickom šľachtení musí byť pestovaných a sledovaných niekoľko segregujúcich generácií, aby sa dosiahla určitá úroveň homozygotnosti, čo následne umožňuje selekciu na požadované znaky. Z tohto dôvodu je produkcia dihaploidov (DH) významná, nakoľko umožňuje šľachtiteľom získať homozygotné rastliny z hybridných jedincov počas jednej generácie. Pri pšenici sú dihaploidy tvorené buď pomocou medzirodovej hybridizácie s kukuricou alebo indukciou androgenézy v peľnicových alebo mikrospórových kultúrach. Podobne pri jačmeni dihaploidy sú produkované z kultivovaných peľníc, resp. mikrospór a využíva sa tiež metóda kríženia s *Hordeum bulbosum*. Vzdialená hybridizácia pri tvorbe dihaploidov je aj v súčasnosti považovaná za doplnok ku konvenčným šľachtiteľským programom. Androgenézou sa môže potenciálne produkovať veľké množstvo dihaploidov, avšak stále je nevyhnutné rozpracovávať túto metódu (zloženie kultivačných médií, vplyv genotypu, predošetrenie ai.), nakoľko mnohé agronomicky významné odrody pšenice majú nízku alebo žiadnu odozvu na androgénnu indukciu (Basu et al. 2011, Ferrie, Caswell 2011).

Vo výskumných programoch VÚRV Piešťany sme pozornosť venovali tvorbe DH línií obilnín a najmä pšenice letnej f. ozimnej technikou peľnicových kultúr. Vytvorené DH línie boli využívané priamo v šľachtiteľských programoch, z ktorých východiskové donorové populácie pochádzali. V práci uvádzame prehľad výskumných tém spojených s tvorbou dihaploidov obilnín, ktoré sme riešili v ostatných rokoch vo VÚRV Piešťany. Niektoré zámery boli v čase riešenia porovnateľné s tým, čo sa riešilo v zahraničí (napr. hodnotenie rezpozibility rodičovských odrôd na techniku peľnicových kultúr), iné si vyžiadali podmienky pracoviska (napr. pestovanie donorových rastlín).

Pestovanie donorových rastlín

Podmienky pestovania donorových rastlín majú veľký vplyv na mikrosporogenézu. Na súbore hybridných populácií F₂ a F₃, sme overovali pestovanie v poľných podmienkach a súčasne v skleníku (s čiastočnou reguláciou tepla) na tvorbu DH línií. Vyššiu priemernú indukciu procesu androgenézy sme zistili pri donorových rastlinách zo skleníka, ale vyšší počet zelených rastlín sme získali z donorových rastlín z poľných podmienok.

In vitro kultivácia

- Výber indukčného a regeneračného média (N6, MN6, C17, P4mod ai.)
- Overenie pridania kolchicínu do indukčného média (overenie zvýšenia frekvencie symetrického delenia jadra a zvýšenia tvorby embryoidov)
- Sledovanie vplyvu teploty *in vitro* kultivácie peľníc jačmeňa na androgenézu
- Peľnicové kultúry ovsu

Responzibilita rodičovských odrôd na techniku peľnicových kultúr

V zahraničí údaje o responzibilitate odrôd (genotypov) na techniku peľnicových kultúr sú súčasťou databáz odrôd a sú veľmi prospešné pri výbere kombinácií pre DH produkciu. Tuvesson et al. (2000) uviedli postup, ktorý používajú pri tvorbe dihaploidných línií pšenice. Rodičovský genotyp ktorý produkuje viac ako 1 zelenú haploidnú rastlinu/klas je používaný ako rodič v kombináciách, kde sa používa technika peľnicových kultúr. Zistili významný vzťah medzi počtom zelených haploidov kombinácií a počtom zelených rastlín rodičov, ktorí boli predtým charakterizovaní v preskríningu technikou peľnicových kultúr. Medzi priemerným počtom zelených rastlín v F₁ generácii a priemernou responzibilitou rodičov predtým hodnotených technikou peľnicových kultúr neboli významné rozdiely.

Na súbore 31 domácich a zahraničných odrôd pšenice, ktoré boli v šľachtení využívané do kríženia, overovali sme ich androgénnu responzibilitu. Cieľom experimentu bolo tiež porovnať v tomto znaku odrody zo

západnej Európy s odrodami z východnej Európy. Pri 85,7 % odrôd sme získali kalusy a embryoidy, pričom odrody z oboch geografických častí Európy mali rovnaké zastúpenie. Regenerácia bola však úspešnejšia pri odrodách z východnej Európy (1,74 zelených rastlín verus 0,95).

Odhad genetickej kontroly in vitro znakov

Cieľom práce bolo určiť androgénnu rezpozibilitu F_2 resp. F_3 hybridných populácií pšenice letnej f. ozimnej a ich rodičovských odrôd a prípadne determinovať genetickú variabilitu. Podobne ako iní autori aj my sme zistili, že rezpozibilita genotypov pri technike peľnicových kultúr je kontrolovaná aditívnymi génovými účinkami s neúplnou dominanciou a pri regeneračnej schopnosti sa prejavil aj heterózný efekt (Žofajová, Užík 2004).

Výber optimálnej generácie pre tvorbu dihaploidov

Pretože sa jedná o drahé technológie v porovnaní s konvenčnými metódami, je potrebné venovať pozornosť výberu optimálnej generácie pre tvorbu dihaploidov. V mnohých šľachtiteľských programoch sú DH línie tvorené priamo z F_1 generácie z medziodrodového kríženia. Tento postup umožňuje maximálne šetrenie času. Nedostatkom je, že rekombinácia prebieha iba počas jednej generácie a mnoho génov je vo väzbovej nerovnováhe, čo by mohlo znamenať, že populácia nebude mať maximálne množstvo realizovanej genetickej variability.

Z dihaploidov je vyradovaný vysoký počet línií z dôvodu nízkeho počtu agronomicky vhodných rekombinantov. Východiskom je oddialiť tvorbu do neskorších generácií a robiť klasickú selekciu pred tvorbou dihaploidov. V súčasnosti sa využívajú viaceré postupy. Jedným z nich je využiť ako východiskový materiál pre tvorbu DH línií predselektované jedince z F_2 alebo F_3 generácie, ktoré sú najprv zhodnotené v poľných podmienkach.

Medziodrodovým párovým krížením sme vytvorili 10 kombinácií jačmeňa siateho f. jarná, ktoré boli v generácii F_2 spolu s rodičovskými a kontrolnými odrodami hodnotené v poľnom pokuse. Ako východiskový materiál pre tvorbu DH línií technikou peľnicových kultúr sme na základe hodnotenia agronomických znakov vybrali 5 populácií. Potvrdili sme opodstatnenosť zaradenia klasickej predselektcie pred tvorbou dihaploidov. Pri všetkých populáciách a rodičovských odrodách bol indukovaný proces androgenézy, pričom vyššie percento respondujúcich peľnic vykázali populácie (13,41 %), než rodičovské odrody (5,04 %) (Žofajová, Užík 2003).

Porovnanie DH línií s klasickými odrodami

5 DH línií jačmeňa siateho f. jarná boli v produktivite a v kvalite porovnateľné s odrodami získanými klasickým šľachtením (kontroly), čo naznačilo ich agronomickú rovnocennosť a reálnu využiteľnosť v šľachtení.

57 DH línií pšenice letnej f. ozimnej boli porovnané s líniami vybranými klasickým šľachtiteľským postupom. DH línie pochádzajúce z 3 krížení mali v priemere nižšiu úrodu zrna než línie, pri 1 krížení bola úroda zrna porovnateľná a DH línie z kríženia 11 (Ilona x SK 656-2) mali vyššiu úrodu zrna. Vyššia úroda zrna bola spojená s vyššou výškou porastu. V hmotnosti 1000 zrn, v obsahu bielkovín a v tvrdosti zrna neboli medzi porovnávanými skupinami línií rozdiely. V obsahu mokrého lepku mali DH línie v priemere vyššie hodnoty ako línie.

10 DH línií pšenice letnej f. ozimnej sme z hľadiska produktivity porovnali v poľnom pokuse s kontrolnými odrodami. Zistili sme, že DH línie boli agronomicky rovnocenné s odrodami, ktoré pochádzajú z klasického šľachtienia. DH línie sa vyznačovali vyšším zberovým indexom a hmotnosťou 1000 zrn pri priemernom počte klasov na plochu.

Hodnotenie dihaploidných línií pšenice letnej f. ozimnej z hľadiska zásobných bielkovín a porovnanie s rodičovskými odrodami (Žofajová et al. 2004)

Analýza vysokomolekulárnych (HMW) glutenínových podjednotiek je vhodná pre predselekciu rodičov na kríženie, v raných generáciách a v udrzovacom šľachtení. Výhodou tejto analýzy je, že spresňuje výber pre postupy s využitím dihaploidov alebo pre vlastnú selekciu.

Technikou peľnicových kultúr sme v roku 2003 získali 9 dihaploidných línií pšenice letnej f. ozimnej z populácie kríženia F_3 generácie (pochádzala z rodičovských línií SK 656-2 a SO 1441, ktoré boli vybrané na základe širokého spektra hospodársky významných znakov a vlastností vrátane pekárenskej kvality). Elektroforetickými analýzami bol potvrdený pôvod línií. V DH líniách sa vyskytovali vysokokvalitné HMW podjednotky 5+10, ktoré boli doplnené ďalšími pozitívne pôsobiacimi podjednotkami 7+8. Na základe bodového hodnotenia jednotlivých podjednotiek sme stanovili hodnotu Glu-skóre línií, ktoré bolo 8. Bola detegovaná pšenično-ražná translokácia 1R/1B v líniách i rodičoch. Predpokladali sme, že línie majú stredne dobrú technologickú kvalitu.

*Medzirodová hybridizácia (pšenica x kukurica, jačmeň siaty x *Hordeum bulbosum*)*

Pre tvorbu DH pšenice sme využili tiež medzirodovú hybridizáciu pšenice s kukuricou najmä pri hybridných populáciách, ktoré sa javili rekalcitrantnými v androgénnej kultúre. Pri niektorých populáciách sme získali viacej zelených rastlín v porovnaní s technikou peľnicových kultúr (Žofajová et al. 2011). Pri jačmeni siatom f. jarná sme overovali produkciu dihaploidov technikou peľnicových kultúr a krížením s *Hordeum bulbosum*.

ZÁVER

Homozygotné (izogénne) línie predstavujú jedinečný genetický materiál pre mapovanie populácií, pre využitie v genomike a v molekulárnom šľachtení. Okrem zistenia a spresnenia podmienok, ktoré riadia, kontrolujú a ovplyvňujú proces androgenézy, zvažujú sa tiež aj iné možnosti ako zvýšiť efektívnosť tejto metódy. Perspektívnym sa javí identifikácia responzívnych genotypov pomocou molekulárnych markerov a prípadne pomocou klasických šľachtiteľských metód introdukovať gény ovplyvňujúce responzibilitu (Redha & Talaat 2008).

Pod'akovanie: Práca bola realizovaná za finančnej podpory MP SR v rámci úlohy „Využitie biotechnologických metód pri tvorbe nových typov rastlín“

LITERATÚRA

- BASU, S. K. – DATTA, M. – SHARMA, M. – KUMAR, A.: Haploid production technology in wheat and some selected higher plants. Australian journal of crop science, 5 (9 spec. issue), 2011, pp. 1087-1093
- FERRIE, A. M. R. – CASWELL, K. L.: Isolated microspore culture techniques and recent progress for haploid and doubled haploid plant production. Plant cell, tissue and organ culture 104, 2011, 3, 399-406
- REDHA, A. – TALAAT, A.: Improvement of green plant regeneration by manipulation of anther culture induction medium of hexaploid wheat. In: Plant cell, tissue and organ culture, 92, 2008, 141-146
- TUVESSON, S. – LJUNGBERG, A. - JOHANNSON†, N. – KARLSSON, K.E. – SUIJS, L.W., JOSSET, J.P.: Large-scale production of wheat and triticale double haploids through the use of a single-anther culture method. Plant Breeding, 119, 2000, 455-459.
- ŽOFAJOVÁ, A. – GUBIŠ, J. – GUBIŠOVÁ, M. – BOJNANSKÁ, K. – HAVRELETOVÁ, M.: Tvorba dihaploidov pšenice letnej f. ozimná In: Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín: zborník z 18. medzinárodnej vedeckej konferencie, Piešťany, 8.-9. november 2011. - Piešťany : CVRV-VÚRV, 2011. ISBN 978-80-89417-29-2, 197-199
- ŽOFAJOVÁ, A. – LAJCHOVÁ, Z. – UŽÍK, M.: Tvorba dihaploidných línií pšenice letnej f. ozimnej a ich hodnotenie v gliadínach a glutenínach In: Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín: Zborník z 11. odb. seminára 24. - 25. novembra 2004 / Ed. M. Užík. Piešťany : VÚRV, 2004, s. 169 - 170. CD
- ŽOFAJOVÁ, A. – UŽÍK, M.: Hodnotenie dihaploidných línií pšenice letnej f. ozimnej In: Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín: Zborník z 11. odb. seminára 24. - 25. novembra 2004 / Ed. M. Užík. Piešťany : VÚRV, 2004, s. 53 - 56. CD
- ŽOFAJOVÁ, A. – UŽÍK, M.: Hodnotenie F2 populácií jačmeňa sateho jarného pre tvorbu dihaploidných línií In: Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín: Zborník z 10. odborného seminára 26. - 27. novembra 2003 / Ed. M. Užík. Piešťany : VÚRV, 2003, 39-41

Adresa autora:

Ing. Alžbeta Žofajová, PhD., Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany. E-mail: zofajova@vurv.sk

VÝSTUPY PROJEKTU REVERSE A ICH REALIZÁCIA PRI OCHRANE BIODIVERZITY

OUTPUTS OF THE REVERSE PROJECT AND THEIR REALISATION FOR THE BIODIVERSITY CONSERVATION

DANIELA BENEDIKOVÁ

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

Project under the European Regional Development Fund INTERREG IVC: REVERSE "Regional exchanges and policy make for protecting and valorising biodiversity in Europe" is project of multilateral cooperation and was solved under the coordination of Conseil Régional d'Aquitaine in France at the 2010 till 2012 years. The program allows interregional cooperation by bringing together regional and local authorities from the different countries to collaborate on common projects. Regional and local authorities have the opportunity to exchange, transfer and develop its experiences in regional policy and jointly contribute to the approaches and instruments of regional policy. In the project are involved 14 international subjects from 7 countries. Within the frame of Slovakia the Research Centre of Plant Production Piešťany (PPRC), Gene bank of Slovakia participated in the solution under the coordination of doc. Ing. Daniela Benediková, PhD. The charters Biodiversity and Agriculture, Biodiversity and Tourism and Biodiversity and Land planning are the key outputs of the REVERSE project. It form a set of sector policy recommendations aimed at policy makers at European level, to improve the effectiveness of regional policies in conserving biodiversity while promoting economic development.

Key words: biodiversity conservation, regional cooperation, European charter, agriculture, tourism, land planning

ÚVOD

Program INTERREG IVC spája regionálne a miestne orgány z rôznych krajín pri práci na spoločných projektoch čím umožňuje medziregionálnu spoluprácu na obdobie rokov 2007 – 2013. Program INTERREG IVC je súčasťou cieľa Európskej teritoriálnej spolupráce v rámci Štrukturálnych fondov EÚ pre programové obdobie 2007-2013. Slovenský partner CVRV Piešťany sa na riešení projektu pod názvom „REVERSE - Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“ podieľal v rokoch 2010 až 2012. Rozširovanie ľudských aktivít nad úmernú hranicu zapríčiňuje, že genetická a druhová rozmanitosť je na ústupe. Cieľom projektu REVERSE bolo zachovanie biodiverzity a zabrániť v čo najväčšej miere jej stratám cez medziregionálnu spoluprácu a cez zvýšenie efektivity politik regionálneho rozvoja. V predkladanej práci sú popísané dosiahnuté výsledky a výstupy projektu v ochrane biodiverzity a ich uplatnenie na podmienky rôznych regiónov Slovenska. Príklady výstupov vo forme aplikovania dobrých skúseností prispievajú k ekonomickému rozvoju Európskych regiónov v oblasti ochrany biodiverzity a poľnohospodárstva, turizmu a územného plánovania.

MATERIÁL A METÓDY

Projekt REVERSE je medzinárodným projektom iniciatívy INTERREG IVC so 14 partnermi zo siedmich krajín Európy: Nemecko, Taliansko, Slovensko, Estónsko, Grécko, Francúzsko, Španielsko. Vedúcim partnerom bol Regional Council of Aquitaine z Francúzska, hlavnou koordinátorkou projektu bola Camille Massol. Doba riešenia je od 1. 1. 2010 do 31. 12. 2012. Za Slovenskú republiku sa na riešení podieľali riešitelia z CVRV Piešťany, sekcia Génová banka SR, koordinátorkou bola doc. Ing. Daniela Benediková, PhD.. Financovanie projektu bolo zabezpečené z Európskeho regionálneho a rozvojového fondu (ERDF). Finančné prostriedky pridelené na riešenie projektu sa čerpajú formou refundácií.

Hlavným cieľom projektu REVERSE bolo cestou medziregionálnej spolupráce zvýšiť efektivitu politik regionálneho rozvoja v oblasti ochrany biodiverzity a napomôcť tak zachovaniu prírodného dedičstva európskych regiónov. Jedným z ďalších cieľov bolo tiež identifikovať regionálne postupy (metodológie, projekty, procesy, techniky), ktoré sa ukázali ako úspešné a majú potenciál byť prenesené do rôznych geografických oblastí. Tam, kde to bude možné, tieto dobré postupy budú prenesené a aplikované do tvorenia regionálnej politiky jednotlivých partnerov.

Riešenie prebiehalo v rámci troch komponentov, účastníci sa stretali na zasadnutiach riadiaceho výboru, interregionálnych seminároch a konferenciách. Na záver projektu boli vypracované tri dokumenty odporúčaní s akčným plánom pre oblasť poľnohospodárstva, turizmu a územného plánovania. Samostatným výstupom je kniha úspešných regionálnych prípadových štúdií pre Európu v už spomínaných troch oblastiach. Posledným výstupom je podpísanie záväzku na ochranu biodiverzity, ktorým sa rôzne subjekty príslušných regiónov zaviazujú vyvíjať svoje aktivity tak, aby ochraňovali biodiverzity v Európe. oblasti odporúčaní bude pripravená záverečná správa.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Doba riešenie projektu je od 1.1.2010 až do 31.12.2012 takže je možné uvádzať väčšinu už dosiahnutých výsledkov a výstupov projektu, ktoré boli plánované do konca roku 2012. Riešenie prebiehalo v rámci troch komponentov: manažment a koordinácia, komunikácia a šírenie výsledkov a výmena skúseností a tvorba politík. V rámci aktivít manažmentu a koordinácie bola podpísaná partnerská zmluva a bol pridelený rozpočet jednotlivým projektovým partnerom. Celkom bolo zorganizovaných sedem zasadnutí Riadiaceho výboru projektu v rôznych regiónoch Európy (Paríž, Bordeaux Francúzsko, Murcia Španielsko, Perugia Taliansko, Chania Grécko, Tallin Estónsko, Brusel Belgicko. Riešitelia priebežne riešili plánovanú problematiku a organizovali plánované aktivity projektu podľa akčného plánu a v polročných časových úsekoch vypracovávali správy o plnení projektu. Celkom bolo doteraz zaslaných 5 správ.

V rámci komponentu „Komunikácia a šírenie výsledkov“ bolo pripravených šesť Interrregionálnych stretnutí. Na stretnutiach jednotliví partneri prezentovali dosiahnuté výsledky z riešenia projektu a pripravovali sa záverečné dokumenty výstupov projektu. Hmatateľným výstupom celého projektu podľa Akčného plánu je okrem iného i organizovanie regionálnych seminárov, konferencií, vydávanie spravodajcov, organizovanie ďalších akcií pre verejnosť ako sú výstavy, dni otvorených dverí, tlačové konferencie a iné. Samostatným výstupom je webová stránka <http://reverse.cvr.sk>, kde sú priebežne prezentované akcie a výstupy projektu.

Najdôležitejším výstupom je sprievodca dobrými praktikami, alebo kniha úspešných regionálnych štúdií pre Európu ktorá prezentuje 47 aktivít od všetkých projektových partnerov. Z tohto celkového počtu sa 21 týka problematiky biodiverzity a poľnohospodárstva, 13 sa týka územného plánovania a 13 aktivít je zameraných na turizmus. Vedúci partner vytlačil tieto praktiky v počte 250 výtlačkov a boli prístupné na záverečnej konferencii v Bruseli 25. septembra 2012 a tiež sú prístupné na web stránke projektu www.reverse.aquitaine.eu.

Ďalšie záverečné tri dokumenty „European agriculture and biodiversity charter“, „European tourism and biodiversity charter“ a „European land planning and biodiversity charter“ sú praktickými výstupmi pre európske subjekty pracujúce s biodiverzitou. Prvý dokument na 47 stranách rozpracoval nielen aktuálne akcie a vzájomný vplyv poľnohospodárstva na biodiverzitu a naopak, ale hlavne v svojich odporúčaniach a akčnom pláne predkladá praktické námety na riešenie uvedenej problematiky ochrany biodiverzity. Materiál obsahuje celkom 9 odporúčaní a ku každému uvádza akčný plán odpovedajúci danej problematike. Pre naše aktivity je významné najmä odporúčanie číslo 5 zaoberajúce sa problematikou „Ochrany a uchovania biodiverzity cez existujúce genetické zdroje pre výživu a poľnohospodárstvo ako i uchovanie vedomostí a kultúrneho dedičstva“. Pre problematiku biodiverzity a turizmu bol vypracovaný dokument s piatimi odporúčaniami a akčným plánom a pre biodiverzitu a územné plánovania je ponúknutých 9 odporúčaní. V závere každého dokumentu je vypracovaný terminologický slovník, zoznam použitých skratiek a zoznam použitej literatúry a legislatívy, ktoré sú rovnaké pre všetky tri dokumenty.

Samostatným výstupom platným pre každý región bude vlastný dokument „Local charter“, ktorý vypracuje každý riešiteľ projektu pre všetky tri témy, kde bude prezentovať vlastné odporúčania ochrany biodiverzity aplikovateľné domácimi subjektmi. Tento dokument bude vypracovaný do konca roku 2012 a bude zaslaný vedúcemu partnerovi do Bordeaux vo Francúzsku.

Dôležitým európskym výstupom projektu je i získanie celkom 100 podpisov za projekt na tzv. „REVERSE CHARTER commitment“. Podpisom sa regionálne subjekty zaväzujú vykonávať svoje aktivity v súlade s pravidlami ochrany biodiverzity a výsledkami projektu. Za Slovensko je potrebné získať celkom 8 -10 podpisov a zaslať ich vedúcemu partnerovi projektu do konca roku 2012.

ZÁVER

Projekt REVERSE „Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“ je trojročný projekt, ktorý vďaka medziregionálnej spolupráci zvýši efektivitu politík regionálneho rozvoja v oblasti ochrany biodiverzity. Projekt je založený na výmene skúseností medzi 14 európskymi partnermi pracujúcimi v oblasti ochrany biodiverzity a špecificky je zameraný na tri sektory a to poľnohospodárstvo, turizmus a územné plánovanie. Zníženie straty biodiverzity napomôže k zachovaniu prírodného dedičstva európskych regiónov.

Slovenský partner zorganizoval viacero akcií na ktorých boli prezentované problematiky ochrany a zníženia straty biodiverzity v našom regióne. Veľmi dobre je rozpracovaná problematika spolupráce so základnými školami, obcami regiónu a ďalšími zodpovednými subjektmi za ochranu biodiverzity. Významným výstupom je zaradenie troch aktivít do knihy 47 dobrých skúseností a štúdií v rámci projektu. Je to uchovanie biodiverzity genetických zdrojov rastlín a kultúrneho dedičstva v ex situ kolekciiach Génovej banky SR, spolupráca so základnými školami vo výchove mladej generácie k správne mu vzťahu k ochrane prírody a krajiny a v sektore turizmus je to ochrana biodiverzity cez budovanie a udržiavanie náučného včelárskeho chodníka v obci Kálnica. Európsky akčný plán ochrany biodiverzity v jednotlivých regiónoch, identifikuje dobré skúsenosti a praktiky

daných regiónov pri ochrane biodiverzity a ukladá dosiahnuté výsledky zahraničných riešiteľov implementovať podľa možností v našich podmienkach a regiónoch Slovenska.

Pod'akovanie: *Propagačné aktivity súvisiace s ochranou biodiverzity pre širokú verejnosť boli financované z projektu v rámci Európskeho regionálneho a rozvojového fondu INTERREG IVC: REVERSE No.0500R2 „Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“.*

LITERATÚRA

- DIANIŠKOVÁ, M., GÁLOVÁ, K., PAULEN, V., TRTALA, A. 2012: Program INTERREG IVC v rámci Cieľa Európska teritoriálna spolupráca, Interný manuál Ministerstva hospodárstva SR, platný od 26.7.2012, Vydalo MH SR, 257 s..
- BOROT DE BATISTINY, A., HAMON, B. AND MASSOL C. 2012: Enhancing biodiversity and boosting economic development, Bordeaux, Aquitaine Regional Council, France, 167 pp.

Adresa autora:

doc. Daniela BENEDIKOVÁ, PhD., Plant Production Research Center Piešťany, Research Institute of Plant Production Piešťany, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany, Slovak Republic. (corresponding author email: benedikova@vurv.sk)

DISEMINÁCIA ODPORÚČANÍ AKČNÉHO PLÁNU PROJEKTU „INTERREG IVC - REVERSE“ V OCHRANE BIODIVERZITY

DISSEMINATION OF THE RECOMMENDATIONS OF THE ACTION PLAN OF THE „INTERREG IVC - REVERSE“ IN BIODIVERSITY CONSERVATION

LUBOMÍR MENDEL, IVETA ČIČOVÁ

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

In the paper are briefly presented a set of recommendations and action plan of REVERSE project to better take biodiversity into account in European sectoral policies (agriculture, land planning and tourism). Guidance to the Head of the necessary implementing measures under the INTERREG IVC - REVERSE are conducted through a series of challenges and recommendations that have been developed in detail in the individual action plans in the sector of agriculture, land planning and tourism. Based on the conclusions and recommendations of the round table organized at a high level with the participation of all 14 European project partners REVERSE, together with representatives of the European Environment Agency, the International Union for Conservation of Nature, the European Commission and the European Parliament on the creation and direction of a common policy in the field of biodiversity in the EU of 25th September 2012 has been formulated a set of recommendations for better usability and connectivity of biodiversity within the European sectoral policies (agriculture, land planning and tourism).

Key words: biodiversity, Gene bank, INTERREG IVC, REVERSE project, European regions, sectoral policies, agriculture, land planning, tourism, action plan,

ÚVOD

Projekt mnohostrannej spolupráce v rámci Európskeho regionálneho rozvojového fondu INTERREG IVC - REVERSE „Regional exchanges and policy making for protecting and valorising biodiversity in Europe“ (Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe), umožňuje interregionálnu spoluprácu, kde majú regionálne a miestne orgány možnosť si vymieňať, prenášať a rozvíjať svoje skúsenosti v regionálnej politike a spoločne vytvárať nástroje regionálnej politiky vedúce k ochrane biodiverzity (Benediková, D. a kol., 2011). Program nadväzuje na pozitívne skúsenosti získané v rámci programu Iniciatívy Spoločenstva INTERREG IIIC z predchádzajúceho programového obdobia 2000-2006, do ktorého sa zapojilo viac ako 2650 projektových partnerov z celej EÚ, ktorí implementovali celkovo 269 projektov. V programovom období 2007-2013 je pre program INTERREG IVC vyčlenených celkovo 321 mil. EUR z Európskeho fondu regionálneho rozvoja (ERDF). Jedným z hlavných cieľov projektu je identifikovať regionálne postupy (metodológie, projekty, procesy, techniky), ktoré sa ukázali ako úspešné a majú potenciál byť prenesené do iných geografických oblastí. Tam, kde to bude možné, tieto dobré postupy budú prenesené a aplikované do tvorby regionálnej politiky jednotlivých partnerov projektu.

MATERIÁL A METÓDY

Od roku 2010 je projekt REVERSE riešený v Centre výskumu rastlinnej výroby Piešťany pracovníkmi oddelenia génovej banky SR. Všetky činnosti a aktivity spojené s 3-ročným riešením projektu sú prezentované na web stránke <http://reverse.cvr.v.sk>.

Cieľom príspevku je na regionálnej a národnej úrovni rozšíriť povedomie farmárov a zástupcov odvetvia poľnohospodárstva, v spolupráci s orgánmi verejnej správy, chránenými oblasťami, univerzitami a výskumnými ústavmi a farmárskymi združeniami o technických, sociálnych a ekonomických výhodách vyplývajúcich z ochrany biodiverzity a o aktivitách spojených s projektom REVERSE, ktoré sa bezprostredne dotýkajú terajších, ale aj budúcich aktivít nevyhnutne spojených so záchranou, ochranou a dlhodobým udržovaním biologickej diverzity.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vychádzajúc z definície biologickej diverzity, ktorá je všeobecne popisovaná ako variabilita medzi živými organizmami pochádzajúca zo všetkých zdrojov, vrátane suchozemských, morských a iných vodných ekosystémov a ekologických komplexov, ktorých sú súčasťou, čo zahŕňa rozmanitosť v rámci druhov, medzi druhmi ako aj rozmanitosť ekosystémov (OSN, 1992). So znižujúcou sa diverzitou prírodných spoločenstiev súvisí aj znižovanie diverzity v agrosystéme. Strata variability poľnohospodárskych plodín bola opísaná genetickou eróziou, čo je zložitý proces a je prevažne spojený so zavedením moderných odrôd (Van De Wouw a kol., 2009 a 2010). Ilustratívny je príklad z Talianska, kde podľa odhadov v rokoch 1950-1980 bola relatívne vysoká miera genetickej erózie 13,2 %, v rokoch 1950-1980 bola 0,48-4 % (Hammer, Laghetti, 2005; Hammer, Teklu, 2010; Heal a kol., 2004). Obdobná situácia je v mnohých európskych regiónoch a štátoch. Európsky projekt INTERREG IVC - REVERSE sa zameriava na podporu biodiverzity v európskom meradle a to podporou pozitívnych akcií zameraných na zlepšenie ochrany biodiverzity v jednotlivých regiónoch prostredníctvom projektových partnerov. Usmernenia vedúce k potrebnej realizácii opatrení v rámci projektu INTERREG IVC -

REVERSE sú vykonávané prostredníctvom výziev a série odporúčaní, ktoré boli detailne rozpracované v jednotlivých akčných plánoch v sektore poľnohospodárstvo, územné plánovanie a cestovný ruch. Na základe záverov a odporúčaní z okrúhleho stola organizovaného na vysokej úrovni za účasti všetkých 14 európskych partnerov projektu REVERSE, spolu so zástupcami Európskej agentúry pre životné prostredie, Medzinárodnej únie pre ochranu prírody, Európskej komisie a Európskeho parlamentu o tvorbe a smerovaní spoločnej politiky v oblasti biodiverzity v EÚ z 25. septembra 2012 bol vytýčený súbor odporúčaní pre lepšiu využiteľnosť a prepojitelnosť biodiverzity v rámci európskych sektorových politík (poľnohospodárstvo, územné plánovanie a cestovný ruch). Spoločne boli lokalizované 2 hlavné okruhy problémov: a) *Synergia medzi praktikami v poľnohospodárstve a biodiverzitou* b) *Ochrana a propagácia agrobiodiverzity*. V sektore poľnohospodárstvo bolo vytýčených 10 odporúčaní s následným akčným plánom.

Problematika 1. *Synergia medzi praktikami v poľnohospodárstve a biodiverzitou* zahŕňa a) vyvinúť európsky farmársky systém hodnotenia (EFES), ktorý by bol schopný posúdiť vplyv poľnohospodárskej činnosti a poľnohospodárskych podnikov na biologickú rozmanitosť. EFES by mal byť vytvorený na základe ukazovateľov navrhnutých Európskou agentúrou pre životné prostredie v rámci stratégie EÚ 2020 biodiverzita "Naša životná poisťka, náš prírodný kapitál" b) prepojiť verejnú finančnú podporu správnych poľnohospodárskych postupov spojených so zachovaním biologickej rozmanitosti c) zvýšiť úroveň ochrany a ekonomickú podporu vysoko prírodnej poľnohospodárskej krajiny (HNVF) v európskych štátoch d) zvýšiť povedomie v poľnohospodárskom sektore a v širokej verejnosti o význame zachovania prirodzenej a kultivovanej biodiverzity

Problematika 2. *Ochrana a propagácia agrobiodiverzity* zahŕňa a) zachovať a udržať biologickú rozmanitosť z existujúcich genetických zdrojov pre výživu a poľnohospodárstvo, ako aj dedičstvo vedomostí a kultúry s nimi spojené b) zriadiť a podporiť európske siete podieľajúce sa na zachovaní biodiverzity, posilniť a riadiť agrobiodiverzitu s cieľom podporiť regionálne a národné iniciatívy a vytvárať nové entity, taktiež podporiť prenos vedomostí na *in situ* a *ex situ* uchovávanie biodiverzity c) stanoviť jasný európsky právny rámec o uvádzaní osiva a množiteľského materiálu, ktorý bude uznávať právo farmárov k výmene a predaju ich vlastného množiteľského materiálu (semená, cibul'oviny, hlúzy) pre zachovanie biologickej rozmanitosti, dynamické riadenie alebo šľachtiteľské účely, bez toho, aby boli splnené prísne zákonné požiadavky platné v súčasnosti d) podporiť dynamické *on-farm* zachovanie genetických zdrojov, uplatňovanie protokolov participatívneho šľachtienia rastlín e) vykonávať a podporovať špecifické marketingové akcie na podporu pestovania ohrozených miestnych odrôd a chov miestnych plemien f) podporovať a rozširovať *GMO-free* regióny v Európskej únii. V rámci prezentovaných 10 odporúčaní možno pre Slovenskú republiku z akčného plánu pre jednotlivé odporúčania vybrať najaktuálnejšie aktivity:

-implementácia navrhovaných ukazovateľov SEBI (Streamlining European Biodiversity Indicators) sledovať vplyv poľnohospodárskej činnosti na biodiverzitu a vývoj situácie, na miestnej a farmárskej úrovni, vrátane použitia a konzervácie poľnohospodárskych genetických zdrojov a zachovania biodiverzity pôdy

-definovať opravné a kompenzačné nástroje v ochrane biodiverzity

-zlepšiť definície obmedzenia k intenzívnej poľnohospodárskej činnosti v prírodných chránených územiach a sústavy Natura 2000

-aplikovať systém hodnotenia EFES, tak aby farmári prevádzkujúci k biodiverzite šetrné farmárčenie (postupy) mali prístup k špeciálnym Rural Development Policy (RDP) fondom na základe EFES skóre

-uľahčiť prístup farmárov k úverom (prostredníctvom verejných záruk) pre konkrétne investície umožňujúce obmedziť vplyv poľnohospodárskej činnosti na životné prostredie, zachovanie biologickej rozmanitosti a prispieť k prepojeniu krajinných prvkov, čím by narastalo vytváranie tzv. zelenej infraštruktúry

-začleniť nové RDP špecifické opatrenia pre farmárov, ktorí prijímajú postupy, ktoré prispievajú k zelenej infraštruktúre, takisto začleniť priame platby v rámci SPP prvého piliera odmeňovania, ktoré majú pozitívny vplyv na biodiverzitu

-podporovať koncept vysoko prírodnej poľnohospodárskej krajiny (HNVF)

-definovať HNVF na národnej a regionálnej úrovni, výberom vhodných homogénnych ukazovateľov na európskej úrovni, na základe dostupných ukazovateľov

-využiť krajové odrody a plané druhy plodín ako indikátory pre definíciu HNVF

-zvýšiť povedomie farmárov o hodnote HNVF, na európskej, národnej a regionálnej úrovni, v spolupráci s orgánmi verejnej správy, chránenými oblasťami, univerzitami a výskumnými ústavmi a farmárskymi združeniami

-vytvoriť a zmapovať HNVF na národnej a regionálnej úrovni

-vytvoriť komunikačný plán pre farmárov a zástupcov odvetvia poľnohospodárstva a pozdvihnúť ich povedomie, pokiaľ ide o technické a ekonomické výhody vyplývajúce z ochrany biodiverzity

-podporiť participatívne projekty zamerané na zapojenie farmárov, chovateľov, cestovné kancelárie, ekologické združenia, farmárske združenia, obchodné organizácie a politiky zapojené do rozhodovania o opatreniach na ochranu agrobiodiverzity a zmiernenie vplyvu poľnohospodárskej činnosti na biodiverzitu

-posilniť úsilie, pokiaľ ide o distribúciu a prenos osvedčených postupov pre poľnohospodárskych odborníkov a šíriť už existujúce komunikačné médiá ohľadom biodiverzity a väzieb medzi poľnohospodárstvom a širšou biodiverzitou

- usporadúvať dni otvorených dverí a vzdelávacie dni na zvýšenie povedomia zástupcov či profesionálnych manažérov priamo na poli alebo na referenčných farmách
- presadzovať a podporovať vytváranie trvalých regionálnych a národných súpisov ohrozených genetických zdrojov a dedičstva vedomostí o potravinách a poľnohospodárstve prostredníctvom prieskumu vidieckych oblastí, najmä však okrajových a horských oblastí
- podpora zachovania a koordinácie *ex situ* kolekcí, inventarizácie týchto zdrojov (semenné banky, *in vitro*, sady, botanické záhrady)
- podpora efektívneho *in situ* (*on-farm*) zachovania genetických zdrojov ohrozených genetickou eróziou poskytovaním stimulov pre poľnohospodárov v budúcom európskom programe pre rozvoj vidieka.
- zmeniť pravidlá týkajúce sa stimulov, finančné prostriedky sú v súčasnosti spojené s veľkosťou obrábanej pôdy, a nie s hodnotou verejných uchovávaných zdrojov
- vykonávať "prioritné činnosti" odporúčané v druhom FAO Globálnom akčnom pláne (GPA) pre rastlinné genetické zdroje pre výživu a poľnohospodárstvo na úrovni EÚ, národnej a regionálnej úrovni, taktiež podporovať tvorcov politík, aby poskytovali finančnú podporu na činnosti členských štátov určenú na dosiahnutie cieľov druhého FAO GPA.
- uprednostniť *in situ* a *ex situ* uchovávanie prostredníctvom Európskej siete, podpory prenosu poznatkov o ochrane a využívaní genetických zdrojov
- podporiť stabilnú spoluprácu medzi výskumnými ústavmi a farmármi, ktorí sa podieľajú na ochrane / spravovaní biodiverzity
- zdieľať osvedčené postupy v oblasti agrobiodiverzity a prispieť tým k rozvoju Programu rozvoja vidieka
- podporovať Európsku komisiu v právnych predpisoch týkajúcich sa uvádzania osiva a množiteľského materiálu, ako aj vhodných stratégií zameraných na šírenie množiteľského materiálu, a tým uľahčiť prístup farmárov ku genetickým zdrojom
- poskytnúť stimuly pre dynamické spravovanie genetických zdrojov, financovanie projektov, charakterizáciu, hodnotenie, množenie a šľachtenie rôznych druhov materiálov, za účelom získania odrôd vhodných pre low-input poľnohospodárstvo
- podporovať šírenie vedomostí o zvláštnostiach a o možnosti využitia genetických zdrojov, poskytovať stimuly pre vzdelávanie, vytváranie sietí, organizáciu stretnutí, konferencií a publikácií, tak aby genetické zdroje našli podporu medzi farmárskymi subjektmi ako aj konečnými spotrebiteľmi
- vypracovať európsky program na podporu odbytu miestnych tradičných ohrozených genetických zdrojov (program by mal zahŕňať posúdenie súčasnej situácie, pokiaľ ide o produkciu miestnych, tradičných, ohrozených odrôd a miestnych ohrozených plemien, rozvoj výrobných kritérií, certifikačné postupy a označovanie, ako aj posúdenie finančných potrieb a možností zdrojov)
- podporovať vytvorenie národnej organizácie zaoberajúcej sa uvádzaním výrobkov na trh z miestnych tradičných odrôd a miestnych plemien. (Organizácia by mala zahŕňať širokú škálu zúčastnených strán a záujmových skupín, ako sú farmári, výrobcovia potravín, organizácie cestovného ruchu, obchodné organizácie a obchodné agentúry)
- zvýšiť informovanosť verejnosti ako aj marketingovú podporu regionálnych výrobcov ohrozených odrôd a plemien operujúcich na určitom území
- rozvíjať systematickú propagáciu výrobkov z miestnych tradičných odrôd a miestnych plemien v mladej generácii, cez vyučovanie na školách a semináre s odborníkmi v tejto oblasti. (Iniciatíva pomôže farmárom na mnoho rokov získať spotrebiteľov pre svoje produkty z miestnych, tradičných a ohrozených odrôd ako aj miestnych ohrozených plemien)
- vytvoriť európske nariadenie s cieľom identifikácie tzv. *GMO-free* regiónov v Európskej únii
- založiť, rozvíjať a aplikovať na vedeckých výsledkoch komunikačné plány zamerané na farmárov a širokú verejnosť, ktoré zdôrazňujú následky využívania GMO týkajúce sa životného prostredia, sociálnych a ekonomických otázok

ZÁVER

Medzi hlavné ciele plnenia projektu INTERREG IVC - REVERSE patrí šírenie vedomostí a dobrých skúsenosti partnerov projektu v oblasti ochrany biodiverzity rastlín v sektoroch poľnohospodárstvo, územné plánovanie a cestovný ruch, ktoré majú demonštrovať a preukázať účinnosť týkajúcu sa zachovania biodiverzity. Nevyhnutným predpokladom naplnenia stanovených cieľov projektu tvoria koncepčné rámce a odporúčania spoločne vytýčené z dlhodobých najlepších skúseností v ochrane biodiverzity rastlín v jednotlivých regiónoch Európy s rôznym stupňom poznania, využívania a ochrany biodiverzity. Možno vysloviť nádej, že odporúčania vytýčené v akčnom pláne budú postupne implementované nielen zúčastnenými partnermi projektu a neskôr aj na národných úrovniach, ale aj v myslí všetkých obyvateľov Európy pri svojich každodenných aktivitách. Týmto spôsobom projekt INTERREG IVC - REVERSE svojim dielom prispeje k ochrane biodiverzity ako nášho prírodného a kultúrneho dedičstva spoločnosti národov Európy.

Viac informácií je dostupných na stránkach projektu: <http://reverse.aquitaine.eu> resp. <http://reverse.cvrv.sk>.

Pod'akovanie: Práca bola financovaná v rámci Európskeho regionálneho a rozvojového fondu INTERREG IVC: REVERSE No.0500R2 „Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“.

LITERATÚRA

- BENEDIKOVÁ, D. a kol. 2011, Realizácia a plnenie úloh projektu INTERREG IVC: REVERSE „Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Zborník z 18. medzinárodnej vedeckej konferencie, Piešťany, 8.-9. november 2011. Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Piešťany, 2011, s. 63-64.
- European Agriculture and Biodiversity Charter. 2012, 46 p. [citované: 2012-10-17].
http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/agriculture_charter_web.pdf.
- European Land Planning and Biodiversity Charter. 2012, 38 p. [citované: 2012-10-17].
http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/landplanning_charter_web.pdf.
- European Tourism and Biodiversity Charter. 2012, 30 p. [citované: 2012-10-17].
http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/tourism_charter_web.pdf.
- European Commission, 2011. Our life insurance, our natural capital: an EU biodiversity strategy to 2020 COM(2011)244/Final. [citované: 2012-10-17].
http://ec.europa.eu/environment/nature/biodiversity/comm2006/pdf/2020/1_EN_ACT_part1_v7%5B1%5D.pdf.
- European Commission - Directorate General for Agriculture and Rural Development, 2008. Health Check of the Common Agricultural Policy [citované: 2012-10-17].
http://ec.europa.eu/agriculture/healthcheck/before_after_en.pdf.
- HAMMER K. - LAGHETTI G., 2005. Genetic erosion - examples from Italy. *Gen. Res. Crop Evol.* 52: 629-634.
- HAMMER K. - TEKLU Y., 2008. Plant genetic resources: selected issues from genetic erosion to genetic engineering. *Journal of Agriculture and Rural Development in the Tropics and Subtropics* Vol. 109, 1: 15-50.
- HEAL, G. - WALKER, B. - LEVIN, S. - ARROW, K. - DASGUPTA, P. - DAILY, G. - EHRLICH, P. - GORAN MALER, K. - KAUTSKY, N. - LUBCHENCO, J. - SCHNEIDER, S. - STARRETT, D. 2004. Genetic diversity and interdependent crop choice in agriculture. *Resource and Energy Economics* 26: 175-184.
- OSN, 1992. Convention on Biological Diversity, Rio de Janeiro. <http://www.cbd.int>.
- SLÁDOK, M. a kol. : 2009. Program INTERREG IVC v rámci Cieľa Európska teritoriálna spolupráca, Interný manuál Ministerstva hospodárstva SR, 238 s.
- REVERSE Charter, Commitment to protect biodiversity in Europe. 2012, 6 p. [citované: 2012-10-17].
http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/commitment_charter_print.pdf.
- Van De WOUW, M. - KIK, C. - Van HINTUM, T. - Van TREUREN, R. - VISSER B. 2009. Genetic erosion in crops: concept, research results and challenges. *Plant Genetic Resources* 8(1): 1-15.
- Van De WOUW, M. - Van HINTUM, T. - KIK, C. - Van TREUREN, R. - VISSER B., 2010. Genetic Diversity trends in twentieth century crop cultivars: a meta analysis. *Theor Appl Genet* 120: 1241-1252.

Adresa autorov:

Ing. Lubomír Mendel, PhD., Ing. Iveta Čičová, PhD.

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany, Slovenská Republika (korešpondencia: mendel@vurv.sk)

ZÁCHRANA KRAJOVÝCH ODRÔD RYŽE V JUŽNOM KIRGIZSKU RESCUE LANDRACES OF RICE IN SOUTHERN KYRGYSZTAN

PAVOL HAUPTVOGEL¹, EDITA GREGOVÁ¹, ZUZANA JEZERSKÁ²

¹Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

²Slovenské centrum pre komunikáciu a rozvoj, n.o.

*Among the cereals, rice and wheat share equal importance as leading food sources for human race. Rice is a staple food for nearly one-half of the world's population. In the food industry the term "rice" is used for fruit of two main types of this genus - *Oryza sativa* and *Oryza glaberima*. The aim of this study was the identification and characterization of the landrace rice "Uzgen" in Kyrgyzstan. In frames of the research we have established a qualitative analysis of autochthonic Uzgen rice for its certification, production management and marketing. We conducted chemical analyses on rice samples for the content of proteins, ash, fat, carbohydrates, energy value, starch and dietary fibre. The protein content according to Kjeldahl averaged 8.04%, values were higher by 2.33% comparing to the protein content declared in the database of the business network. The ash content of rice samples was in average 1.68%. The amount of carbohydrates in the variety "Ak uruk" ranged from 76.80 to 72.11 g, and the starch content averaged 70.29%. Energy value was 1519.79 to 1480.25 kJ/100 g. In the molecular identification of gliadins using electrophoresis (A-PAGE) we found heterogeneity among the tested varieties, in contrast the varieties "Ak uruk" and "Kuimul" were shown to be lines. The research on the samples of rice varieties from southern Kyrgyzstan demonstrates the importance of the variety "Ak uruk" for its preservation of its diversity in future.*

Key words: landrace, rice, qualitative analysis, proteins, ash, fat, carbohydrates, energy value, starch, dietary fibre, gliadins.

ÚVOD

Ochrana a zachovávanie akýchkoľvek genetických zdrojov rastlín je na celom svete strategicky a hospodársky významná úloha, nielen z pohľadu súčasných potrieb ľudskej civilizácie, ale najmä pre jej budúcnosť. Z tohto pohľadu je dôležitá najmä potreba záchrany a využitia všetkých foriem genofondu rastlín a to divorastúcich druhov v príbuzenskom vzťahu s pestovanými druhmi, pestovaných vyšľachtených odrôd, starých (reštrigovaných) odrôd, krajevých odrôd a populácií, šľachtených línií a špeciálnych genetických zdrojov. Pre ľudskú výživu má rozhodujúci význam 30 druhov poľnohospodárskych plodín, ktoré zabezpečujú až 95 % potreby energie a bielkovín v ľudskej potrave, z toho šesť najdôležitejších plodín tvorí približne 75 % tejto potreby a z nich sú najdôležitejšie ryža, pšenica a kukurica.

V potravinárstve ako "ryža" označujeme plody dvoch hlavných druhov rodu *Oryza* – *Oryza sativa* a *Oryza glaberima* a podľa botanickej nomenklatury patrí medzi obilniny a je najdôležitejšou potravinou na zemi. Existuje len jeden botanický druh ryže, ale veľké množstvo jej odrôd. Jednotlivé odrody sa od seba odlišujú vzhľadom zrníka a obsahom hlavných zložiek (škrob, amyloextrín a ďalšie sacharidy) a na celom svete sa pestuje okolo 2 tisíc genotypov ryže. Dnes poznáme vyše 10 000 odrôd ryže siatej (Garris a kol., 2004). Horské odrody pestované na terasovitých poličkách (až do výšky 2700 m n.m.) sú menej náročné na pestovanie, menej úrodné, ale chutnejšie. Barinné odrody poskytujú vyššie úrody, ale sú náročnejšie na pestovanie. Neolúpané zrno ryže siatej obsahuje 12 % vody, 10 % bielkovín, 2 % tuku, 62 % škrobu, 10 % celulózy a vitamíny radu B.

Poľnohospodárstvo je dôležitou súčasťou ekonomiky Kirgizska a z tohto dôvodu je poľnohospodárstvo v Kirgizsku primárnym zamestnaním a zdrojom výživy. Podľa údajov medzinárodnej organizácie pre výživu a poľnohospodárstvo (<http://faostat.fao.org/>) v Kirgizsku pestovali ryžu v roku 2009 na ploche 6 268 ha a produkciou 20 170 t.

V cieľoch záchrany krajovej odrody ryže v južnom Kirgizsku bola determinácia, kvalitatívna charakterizácia, genetická identifikácia autochtónnej kirgizskej odrody ryže siatej a jej záchrana cestou zlepšenia podmienok v poľnohospodárskej produkcii v južnom Kirgizsku a využitie prístupu roľníkov na trhu. Zároveň sme predpokladali zníženie chudoby ohrozených skupín obyvateľstva - roľníkov v okolí Uzgenu v Ošskej oblasti v južného Kirgizska.

MATERIÁL A METÓDY

Prieskum a zber autochtónnych vzoriek Uzgenskej ryže sme vykonávali štandardnými metódami, v rámci zberových expedícií, pričom odber vzoriek ryže sme vykonali v súlade s predpismi a legislatívnymi normami v množstve potrebnom na účely identifikácie druhu alebo ich vlastností. Monitoring a identifikáciu autochtónnych vzoriek ryže sme robili v Uzgenskej oblasti v obci Šorobašat, kde sa táto ryža už dlhoročne pestuje a udržuje miestnymi roľníkmi. Veľkosť zozbieranej vzorky ryže predstavovala kolekciu semien - zrn, ktorou sa zachová genetická variabilita daného druhu pre potrebu ochrany genetického zdroja, s dôrazom na udržanie životaschopnosti populácie v ich prírodnom prostredí a ekosystéme. Vzorky ryže sme zozbierali na 10 lokalitách, a to: Čup Alma, Dubitle, Karool, Kuimul, MTF, NKVD, Šorobašat – juh, Šorobašat – juhovýchod, Šorobašat – východ a Šorobašat – západ. Okrem toho sme za účelom kontrolných vzoriek získali dve vzorky ryže z obchodnej siete v Kirgizsku a sedem vzoriek z obchodnej siete v Slovenskej republike. V rámci týchto lokalít sme zozbierali odrody pôvodnej autochtónnej ryže Ak uruk, Kara Kulturuk, odrôd pochádzajúcich z Uzbekistanu Kazim, Nazer a Tokol a ryže z obchodnej siete v Kirgizsku s názvom Ris Kitajskij a Ris Uzgenskij.

Stanovenie kvalitatívnych ukazovateľov sme vykonali chemickými analýzami biologického materiálu na obsah bielkovín, popola, tukov, sacharidov, energetickej hodnoty, škrobu a potravinovej vlákniny. Obsah bielkovín bol stanovený v homogenizovanej vzorke ryže v endosperme - vo vnútornej časti zrna a vo vonkajšej časti v otrubách (perikarp) metódou Kjeldahla a hodnota dusíka bola prepočítaná koeficientom 5,7. Hrubá vláknina bola stanovená podľa Henneberga a Stohmanna v otrubách ryže. V akreditovanom laboratóriu ŠVPU Bratislava bol popol bol stanovený podľa STN ISO 2171, obsah tuku gravimetricky, obsah škrobu podľa STN 461011-37 a obsah sacharidov a energetická hodnota sme zistili výpočtom.

V rámci genetickej charakterizácie vzoriek ryže sme využili elektroforetické analýzy zásobných bielkovín, analýzu profilov zásobných bielkovín zrna gliadínov a glutenínov sme uskutočnili pomocou polyakrylamidovej gélovej elektroforézy v kyslom prostredí (A-PAGE) a v prítomnosti dodecylsulfátu sodného (SDS-PAGE). Gluteníny sme extrahovali, separovali a vizualizovali podľa štandardnej techniky SDS-PAGE (Wrigley et al., 1992). Homogenitu a heterogenitu bielkovinových zložiek sme porovnávali podľa kompletného bielkovinového profilu v SDS-PAGE, kde nastáva separácia na základe rozličnej molekulovej hmotnosti. Gliadíny vzoriek ryže sme analyzovali s využitím gélovej elektroforézy v kyslom prostredí (A-PAGE) štandardnou metódou ISTA (Bushuk and Zillman, 1978).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Kirgizsko je krajina s veľkými pohoriami kde pastviny tvoria 45 % a necelých 10 % tvorí orná pôda. Orná pôda sa nachádza v dvoch regiónoch, a to na juhozápade (Ošská, Džalalabatská oblasť) a na severozápade (Talas, Ču). V Kirgizsku poľnohospodárska pôda zaberá 10 mil. ha a v rastlinnej výrobe je najrozšírenejšie pestovanie pšenice, zemiakov, bavlny, zeleniny a cukrovej repy. Kirgizsko je krajinou vysokých pohorí a rozsiahlych dolín a vo veľkej miere je vyplnené horskou sústavou Ťanšanu a Altaja s nadmorskou výškou v rozsahu 401 až 7 439 m. Pôdy sú veľmi diferencované, v najnižšie položených oblastiach sa nachádzajú sivé pôdy a nachádza sa tam polopúšťové až stepné rastlinstvo v sub-alpinských zónach. Toto geomorfologické zloženie a geografická poloha predurčuje v krajine bohatú rôznorodosť biologických zdrojov. Na území Kirgizska sa vyskytuje viac než 12300 druhov živočíchov, 7723 rastlinných druhov, z toho 3780 vyšších rastlín (z ktorých má 1600 agronomickú a hospodársku hodnotu), 3676 z nižších rastlín a 261 druhov mikroorganizmov (Dzunusova, 2008).

V rámci analýz sme analyzovali na vybrané kvalitatívne ukazovatele 7 vzoriek z roku 2010 (č. 1 odroda Kara Kulturuk z lokality Karool, č. 3 odroda Kazim z lokality NKVD, č. 6 odroda Ak uruk z lokality Šorobašat – S, č. 9 odroda Ak uruk z lokality Šorobašat – W, č. 10 odroda Ak uruk z lokality Kuimul a kontrolné vzorky č. 11 odroda K1, Natural Lagris a č. 16 odroda K6, červená nelúpaná Biolinie) a 8 vzoriek z roku 2011 (č. 18_11 odroda Kazim z lokality Kuimul, č. 19_11 odroda Ak uruk z lokality Kuimul, č. 20_11 odroda Ak uruk z lokality Šorobašat, č. 21_11 odroda Kara Kulturuk z lokality Šorobašat, č. 22_11 odroda Tokol z lokality Šorobašat, č. 23_11 odroda Ak uruk z lokality Šorobašat a kontrolne vzorky z obchodnej siete Kirgizska č. 24_11 odroda Ris Uzgenskij a č. 25_11 odroda Ris Kitajskij).

V rámci hodnoteného súboru 15 odrôd boli hodnoty priemeru a mediánu bez výraznejších rozdielov čo nám preukázal aj výpočet smerodajnej odchýlky. Výraznejšie boli hodnoty koeficientu variability v obsahu popola a nižšie v obsahu tuku a dusíka stanoveného podľa Kjeldahla (tab. č. 1).

Tabuľka č. 1. Základné štatistické ukazovatele kvalitatívnych ukazovateľov vzoriek ryže

Charakteristika/znak	Priemer	Medián	Min.	Max.	Sm.odch.	Koef.var.	Sm.chyba
Bielkoviny (Nx5,7) (%)	8,04	7,59	6,31	11,08	1,31	16,30	0,34
Popol (%)	1,68	1,60	0,36	3,41	0,78	46,41	0,20
Tuk (%)	2,12	2,23	0,97	2,74	0,45	21,48	0,12
Sacharidy (g/100g)	76,04	76,08	72,11	79,03	1,93	2,54	0,50
Energet. hodnota (kJ/100 g)	1499,26	1498,23	1476,99	1538,75	20,19	1,35	5,21
Škrob (%)	70,29	70,88	64,53	76,98	3,15	4,48	0,81
Potravinová vláknina (%)	1,43	1,44	1,27	1,57	0,10	7,03	0,04
Dusík-Kjeldahl (%)	1,36	1,32	0,77	1,93	0,28	20,55	0,07

Obsah bielkovín stanovených podľa Kjeldahla bol v priemere 8,04 %, z toho vyšší obsah ako 10 % mali vzorky odrody Kazim (11,08) a Kara Kulturuk (10,06), pričom je potrebné zdôrazniť, že obsah bielkoviny v ryži nie je veľký, ale ich biologická hodnota je veľmi vysoká. Obsah bielkovín vo vzorkách odrody Ak uruk bol v rozsahu 7,59 až 9,45 %, čo z hľadiska deklarovaného obsahu bielkovín u výrobkov v obchodnej sieti a taktiež aj v databáze USDA bol vyšší o 2,33 %. Naopak, odrody mali obsah na úrovni deklarovaných hodnôt alebo nižší (Kazim - 7,53, Tokol - 7,51, Ris Uzgenskij - 7,50, K6, červená nelúpaná - 7,14, Kara Kulturuk - 6,91, Ris Kitajskij - 6,50 a K1, Natural - 6,31 %).

Obsah popola vo vybraných vzorkách ryže bol v priemere 1,68 %, pričom minimálna hodnota bola 0,36 ktorú mala vzorka Ris Kitajskij a maximálna hodnota bola vo vzorke Kazim 3,41 %. Vzorky odrody Ak uruk obsahovali popol od 1,74 do 2,59 %. Nižšie hodnoty boli vo vzorkách z obchodnej siete.

Ryža obsahuje pomerne málo množstvo tuku (500 mg/100g) a je vo všeobecnosti uvádzaná ako potravina chudobná na tuky. Vyššie množstvo (2 %) obsahuje neolúpané zrno ryže. V našich analyzovaných vzorkách bol vyšší obsah tuku vo vzorkách z roku 2010 a pohyboval sa od 2,19 do 2,74 % a nižší bol v roku 2011 a to od 0,97 do 2,32 %. Z hľadiska štatistických analýz v obsahu tuku sme nezistili významnejšie rozdiely. Najvyšší obsah mali vzorky K1, Natural (2,74 %), Kazim (2,49 a 2,02 %) a odrody Ak uruk, kde sa obsah tuku pohyboval v rozmedzí 1,51 až 2,50 %. Nad 2 % mali aj odroda Kara Kulturak (2,04 a 2,19). Nízky obsah bol vo vzorke Ris Uzgenskij (1,65 %) a Ris Kitajskij (0,97 %).

Sacharidy alebo glycidy je spoločný názov pre skupinu opticky aktívnych polyhydroxyderivátov karbonylových zlúčenín, ktoré sa nachádzajú vo všetkých živých organizmoch a vírusoch. Patria preto medzi takzvané primárne metabolity. Sacharidy plnia mnohé funkcie a sú zdrojom energie, majú štruktúrnú a zásobnú funkciu, sú súčasťou enzýmov, hormónov a nukleových kyselín a biologických membrán (Anonym, 1998). Sacharidy sme analyzovali vo vzorkách ryže z Kirgizska a ich obsah po prepočte v g/100g bol v priemere 46,043, pričom hodnota mediánu bola na úrovni priemeru a koeficient variability bol veľmi nízky a mal hodnotu 2,54. V jednotlivých vzorkách bol obsah sacharidov nasledovný: odrode Ris Kitajskij (79,03 g), K1, Natural (78,72 g), K6, červená nelúpaná (77,62 g), Ak uruk (76,96 g), Kazim (76,91 g), Ak uruk (76,80 g), Ris Uzgenskij (76,63 g), Ak uruk (76,08 g), Kara Kulturak (76,03 g), Tokol (75,78 g), Kara Kulturak (75,45 g), Ak uruk (75,41 g), Ak uruk (74,65 g), Kazim (72,46 g) a Ak uruk (72,11 g). V databáze USDA sa uvádza, že v 100 g výrobku je 79 g, z toho vyplýva, že vo všetkých analyzovaných vzorkách bol obsah sacharidov nižší. Stanovili sme aj obsah škrobu s percentuálnym podielom podľa STN 461011-37, jeho priemerná hodnota bola 70,29. V literatúre sa uvádza, že neolúpané zrno ryže sietej obsahuje 62 % škrobu a z hľadiska posúdenia jednotlivých vzoriek ryže z Kirgizska môžeme uviesť, že obsah škrobu bol vysoký a hodnoty boli nasledovné: Ris Kitajskij (76,98 %), K1, Natural (75,12 %), K6, červená nelúpaná (72,48 %), Ris Uzgenskij (71,73 %), Kara Kulturak (71,25 %), Ak uruk (71,21 %), Kazim (70,91 %), Tokol (70,88 %), Ak uruk (od 68,90 do 67,01 %), Kara Kulturak (68,83 %) a Kazim (64,53 %).

Energetická hodnota stravy vyjadruje množstvo energie, ktoré nám daná potravina alebo pokrm môže poskytnúť. V našich analýzach sme stanovili energetickú hodnotu v kJ/100 g vzorky. Vyššia energetická hodnota, ako uvádza databáza USDA (1527 kJ/J = 365 kcal) bola v kontrolnej vzorke K1, Natural (1538,75). Nižšie hodnoty, ako uvádza databáza výživy boli v týchto vzorkách: Kara Kulturak (1521,95 a 1478,13), Ak uruk (od 1519,79 do 1480,25), K6, červená nelúpaná (1512,22), Kazim (1499,68 a 1498,23), Ris Uzgenskij (1478,98), Ris Kitajskij (1477,82) a Tokol (1476,99).

Potravinová vláknina bola stanovená v múke ryže podľa STN 560031 a keďže na jej analýzy bolo potrebné väčšie množstvo vzorky, bola stanovená len u 6 vzoriek. Priemerná hodnota potravinovej vlákniny v múke ryže bol 1,43 g, pričom minimálna hodnota bola 1,27 a maximálna 1,57 s nižším koeficientom variability (7,02). Divorastúca ryža obsahuje 1,8 a ryža pre výživu 1,3 g. Vo vzorkách odrody Ak uruk bol obsah od 1,57 do 1,49, K6 - červená nelúpaná obsahovala 1,45, Kara Kulturak 1,43, Kazim 1,39, a K1 - Natural 1,27. Obsah potravinovej vlákniny vo vzorkách odrody Ak uruk bol vyšší ako deklarujú odporúčané údaje a z tohto hľadiska môžeme uviesť, že odroda Ak uruk je vhodné pre výživu a najmä pre jej certifikáciu ako produktu ekologického poľnohospodárstva.

Súčasťou práce s genetickými zdrojmi rastlín je popis znakov a vlastností za účelom rozlíšenia a detekcie hospodársky najcennejších genotypov pre ďalšie využitie. V rámci elektroforetickej analýzy vzoriek s využitím SDS-Page sme heterogenitu medzi odrodami nezistili. Polymorfizmus gliadínov bol dostatočný na charakterizáciu jednotlivých genotypov pre odrody ryže. Elektroforéza gliadínov vykazovala vyššiu hodnotu polymorfizmu ako glutenínové podjednotky, ktoré boli monomorfné a z tohto dôvodu gliadínové bloky mali lepšie využitie v identifikácii populácií. V rámci elektroforetického stanovenia gliadínov (A-PAGE) sme medzi odrodami zistili heterogenitu a niektoré odrody vykazovali líniovosť a to najmä odrody Ak uruk a Kuimul. Výskum vzoriek odrôd ryže preukazuje cennosť tohto genofondu pre jej zachovanie.

Z hľadiska celkového posúdenia významu pestovania ryže v Kirgizsku podľa pestovateľskej plochy jej nemožno priradiť významné miesto. Avšak z pohľadu významu zachovania pôvodne pestovanej odrody ryže Ak uruk (s pôvodne používaným názvom registrovanej odrody Arpašali) je jej význam nesmierny a možno uviesť, že až unikátny. Práve na zachovaní autochtónnych genetických zdrojov rastlín v rámci FAO a ďalších organizácií je zdôrazňovaný ich strategický a hospodársky význam.

ZÁVER

V rámci zhromažďovania vzoriek sme zozbierali 25 vzoriek ryže na lokalitách Karool, Čup Alma, NKVD, Dubitle, MTF, Šorobašat (z juhu, juhovýchodu, východu a západu), Kuimul a ako kontrolné vzorky z obchodnej siete na Slovensku (7) a Kirgizsku (2). Obsah bielkovín vo vzorkách podľa Kjeldahla bol v priemere 8,04 % a vo vzorkách odrody Ak uruk bol v rozsahu 7,59 až 9,45 %, čo z hľadiska deklarovaného obsahu bielkovín u výrobkov v obchodnej siete a taktiež aj v databáze bol vyšší o 2,33 %. Obsah potravinovej vlákniny vo vzorkách

odrody Ak uruk bol vyšší ako deklarujú odporučené údaje a z tohto hľadiska môžeme uviesť, že odroda Ak uruk je vhodná pre výživu a najmä pre jej certifikáciu ako produktu ekologického poľnohospodárstva. Niektoré odrody ryže v južnom Kirgizsku vykazovali líniivosť a to najmä odrody Ak uruk a Kuimul a sú vhodné pre ďalšie využitie a výsledky poukazujú na cennosť genofondu ryže z Uzgeniu pre jej zachovanie.

Vďaka aktivitám Slovenského centra pre komunikáciu a rozvoj, no. a Medzinárodným verejným fondom PANGEA a nášho výskumného pracoviska bol zahájený proces registrácie autochtónnej odrody Ak uruk ako cenného genetického zdroja Kirgizska.

Podakovanie: Táto práca bola podporovaná Slovenským centrom pre komunikáciu a rozvoj, n.o., s príspevkom SlovakAid SAMRS/2009/08 projektom „Ryža z Uzgeniu - stratégia na zníženie chudoby a rozvoj malého podnikania prostredníctvom podpory tradičného poľnohospodárstva v južnom Kirgizsku“ a Operačným programom Výskum a vývoj v rámci projektu „Implementácia výskumu genetických zdrojov rastlín a jeho podpora v udržateľnom rozvoji hospodárstva Slovenskej republiky“, ITMS kód projektu: 26220220097, spolufinancovaný z Fondu regionálneho rozvoja EÚ

LITERATÚRA

- BUSHUK, W., ZILLMAN, R. R., 1978. Wheat cultivar identification by gliadin electrophoreogram. I. Apparatus, method, and nomenclature. *Can. J. Plant. Sci.* 58:505-515.
- DZUNUSOVA, M. a kol., 2008. National report on the state of plant genetic resources for food and agriculture in Kyrgyzstan. Bishkek, 48 s.
- GARRIS ET AL.; TAI, TH; COBURN, J; KRESOVICH, S; McCOUCH, S., 2004. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L.". *Genetics* 169 (3): 1631–8.
<http://faostat.fao.org/>
- WHO/FAO (1998) Carbohydrates in human nutrition. FAO food and nutrition paper no. 66. FAO, Rome.
- WRIGLEY, C. W., 1992. Identification of cereal varieties by gel electrophoresis of the grain proteins. Heidelberg, Springer-Verlag, p. 17-41.

Adresa autorov:

Ing. Pavol Hauptvogel, PhD.

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Email: hauptvogel@vurv.sk

Mgr. Zuzana Jezerská

Slovenské centrum pre komunikáciu a rozvoj, n.o., Pražská 11, 811 04 Bratislava, Email: jezerska@sccd-sk.org

Ing. Edita Gregová, PhD.

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Email: gregova@vurv.sk

PRODUKČNÁ SCHOPNOSŤ NADZEMNEJ BIOMASY NOVOŠLACHTENCA MÄTY PIEPORNEJ (*MENTHA* × *PIPERITA* L.)

ABILITY OF BIOMASS PRODUCTION OF THE NEW-BREED VARIETY OF MINT (*MENTHA* × *PIPERITA* L.)

JOZEF FEJÉR, IVAN ŠALAMON, DANIELA GRUĽOVÁ

Prešovská univerzita v Prešove

Production ability of biomass of new-breed variety of peppermint – PO-MENTH_PIP-1 was tested on experimental field of Presov University in Presov. The plot experiments were done during the years 2011 – 2012. Yield of biomass was compared to the control variant registered variety Perpeta. The weight, in both experimental years as well as an average of two years, was higher in new-breed variety in comparison to the variety Perpeta. The differences were statistically significant.

Key words: biomass, essential oil, Mentha × piperita L., secondary metabolites, yield

ÚVOD

Mäta pieporná *Mentha* × *piperita* L. je trváci bylinný druh, u ktorého sa predpokladá, že vznikol krížením druhov mäty vodnej (*Mentha aquatica* L.) a mäty klasnatej (*Mentha spicata* L.). Patrí medzi jeden z najviac využívaných a pestovaných druhov rodu *Mentha*. Nadzemná biomasa je dôležitou surovinou pre farmaceutický, kozmetický a potravinársky priemysel. Má široké uplatnenie aj ako zložka čajových zmesí. Silica z tejto rastliny patrí medzi najpopulárnejšie a najviac používané. Hlavné obsahové zložky tvoria mentol a mentón. Odroda s vysokým úrodovým potenciálom vňate ako základnej suroviny, spolu s vysokým obsahom silice a v nej žiadaných sekundárnych metabolitov, je rozhodujúcim prvkom pre pestovateľskú prax. Registrácia špeciálnych plodín, vrátane liečivých, aromatických a koreninových rastlín je v Slovenskej republike dobrovoľná. Realizuje sa na základe testov odlišnosti, uniformity a stability. Hospodárska hodnota, v prípade mäty piepornej, nie je podmienkou hodnotenia v rámci štátnych odrodových pokusov pre registráciu novej odrody. V našich pokusoch sme testovali aj produkčnú schopnosť biomasy novošľachtenca, ktorá sa porovnávala s jedinou registrovanou odrodou v SR - Perpetou.

MATERIÁL A METÓDY

Poľný experiment bol realizovaný na školskom pozemku Prešovskej univerzity. Pôdnym typom pokusnej plochy je fluvizem typická, stredne ťažká. Klimatický región stanovišťa je pomerne teplý, suchý, kotlinový, kontinentálny, s teplotnou sumou ($TS \geq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$) 2800 – 2500. V pokuse založenom v roku 2011 blokovou metódou, bol testovaný novošľachtenc (PO-MENTH_PIP-1), ktorý bol vytvorený konvenčnou metódou šľachtenia - selekciou a následným hodnotením klonov. Výsadba rastlín sa uskutočnila 28. apríla, v štyroch opakovaníach, na parcelkách s plochou 3 m². Ako kontrolný variant bola použitá registrovaná odroda Perpeta. Pri medziriadkovej vzdialenosti 0,4 m a vzdialenosti rastlín v riadku 0,2 m sa zabezpečilo 25 rastlín na m² (Obrázok 1). V priebehu vegetácie sa uskutočňovalo mechanické ošetrovanie a ničenie burín. Zber sa urobil ručne odstrihnutím rastlín tesne nad pôdou pred kvitnutím, keď rastliny mali vytvorené súkvetia a ojedinele sa vyskytovali rozkvitnuté kvietky. V roku 2011 to bolo 3. augusta a v roku 2012 25. júla. Následne sa zväžila biomasa. Získané údaje boli štatisticky vyhodnotené programom Statgraphics 5.0.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Dosiahnutá úroda čerstvej nadzemnej biomasy je uvedená v tabuľke 1. Odroda Perpeta dosiahla úrodu v priemere dvoch pokusných rokov 2,894 kg.m⁻² (t.j. 2,894 t.ha⁻¹), pri PO-MENTH_PIP-1 bola úroda 4,493 kg.m⁻² (t.j. 4,493 t.ha⁻¹). Tento rozdiel bol štatisticky preukazný (metóda Tukey 95, tabuľka 3). Úroda vňate pri odrode Perpeta bola porovnateľná v oboch rokoch. Novošľachtenc dosiahol vyššiu úrodu v roku 2012 v porovnaní s predošlým pokusným rokom, čiže rokom založenia (Tabuľka 1). Rozdiel v úrode medzi pokusnými ročníkmi ako aj opakovaniami nebol štatisticky preukazný.

Špaldon *et al.* (1982) uvádza, že prvý zber mäty by sa mal uskutočniť pred tvorbou kvetov, t.j. asi začiatkom júla, druhý koncom augusta až začiatkom septembra. Celkovú úrodu čerstvej vňate uvádza v rozsahu 10 – 12 t.ha⁻¹. Dambrauskiene *et al.* (2008) realizovali v rokoch 2006 – 2007 experimenty s viacerými odrodami mäty za účelom posúdenia produkcie biomasy. Pri genotype z Litvy dosiahla v priemere dvoch rokov úroda čerstvej hmoty 6,9 – 7,9 t.ha⁻¹, genotype z Poľska 10,2 – 10,7 t.ha⁻¹ a odrode Krasnodarskaja 8,7 – 9,1 t.ha⁻¹. Zber v oboch rokoch bol urobený vo fáze plného kvitnutia. Gruľová (2012) pokusmi uskutočnenými v rokoch 2010 – 2012 zistila, že najvyššia produkcia vňate mäty piepornej sa v našich pôdno – klimatických podmienkach dosahuje v mesiaci júl. V mesiacoch august a september úroda z jednotky plochy klesá, čo môže súvisieť so zvyšovaním obsahu sušiny a odumieraním listov v spodných častiach rastliny.

Aziz *et al.* (2010) hodnotil v skleníkových pokusoch produkciu biomasy mäty. Hmotnosť čerstvej hmoty z jednej rastliny varíovala od 2,2 g do 144,5 g (nižšia hmotnosť bola zistená pri rastlinách ovplyvnených

stresom – na pôdach s vysokou salinitou). Produkčnú schopnosť individuálnych rastlín môžeme v našom experimente posúdiť z hodnotenia v roku založenia (2011). Pri zvolenej metóde založenia pokusu a hustote rastlín 25 ks na 1m² činila úroda vňate prepočítaná na jednu rastlinu 159,5 g pri Po-MENTH_PIP-1 a 118,5 g pri odrode Perpeta.

Pri zbere pokusov v rastovej fáze pred kvitnutím bol zaznamenaný obsah silice 0,6 % pri odrode Perpeta a 0,8 % pri PO-MENTH_PIP-1. Množstvo silice zistené Dambrauskiene *et al.* (2008) variovalo od 0,17 % do 0,60 %.

Tabuľka 1: Úroda čerstvej biomasy

Variant	Úroda čerstvej biomasy kg.m ⁻²		
	2011	2012	Priemer
PO-MENTH_PIP-1	3,985	5,001	4,493
Perpeta	2,961	2,827	2,894

Tabuľka 2: Priebeh priemerných teplôt vzduchu a zrážok počas vegetácie

Mesiac	2011		2012		Normál	
	Teplota [°C]	Zrážky [mm]	Teplota [°C]	Zrážky [mm]	Teplota [°C]	Zrážky [mm]
<i>apríl</i>	10,62	14,8	9,89	48,1	8,72	49,74
<i>máj</i>	14,35	56,8	15,06	69,0	13,95	78,4
<i>jún</i>	18,25	98,7	18,85	76,9	16,87	85,95
<i>júl</i>	18,44	165,0	21,08	147,0	18,67	99,08
<i>august</i>	19,76	18,4	*	*	18,11	78,8

Zdroj: meteorologická stanica Prešov

Tabuľka 3: Analýza rozptylu, úroda čerstvej biomasy na 1 m² (Tukey 95)

Zdroj variability	Súčty štvorcov	Stupne voľnosti	Priemerný štvorec	F	Hladina významnosti
A:BIOMASA.VARIANT	10.240000	1	10.240000	30.234	0.0003
B:BIOMASA.ROK	0.765625	1	0.765625	2.261	0.1636
C:BIOMASA.OPAKOVANIE	0.757275	3	0.252425	0.745	0.5493
Reziduálna chyba	3.3868750	10	0.3386875		
Spolu	15.149775	15			

ZÁVER

Poľným maloparcelkovým pokusom bola v priebehu dvojročného hodnotenia posudzovaná tvorba nadzemnej biomasy novošľachtenca a jednej registrovanej odrody. Úroda čerstvej vňate u novošľachtenca (PO-MENTH_PIP-1) dosiahla v priemere dvoch hodnotených rokov 4,493 kg.m⁻² (4,493 t.ha⁻¹). V porovnaní s kontrolným variantom, registrovanou odrodou Perpeta, pri ktorej bola úroda čerstvej vňate 2,894 kg.m⁻² (2,894 t.ha⁻¹), bola produkčná schopnosť štatisticky preukazne vyššia pri PO-MENTH_PIP-1. Nebol zistený preukazný rozdiel medzi opakovaniami ani ročníkmi. Môžeme teda predpokladať, že zistené rozdiely sú dané predovšetkým genotypom (odrodou).

PodĎakovanie. Príspevok bol vypracovaný v rámci riešenia projektu ITMS 2622020013 s názvom „Využitie výskumu a vývoja na vyšľachtenie nových kultivarov (prototypov) liečivých rastlín a ich odrodová registrácia“ financovaného prostredníctvom Agentúry MŠ SR pre štrukturálne fondy EÚ v trvaní od 10/2009 do 03/2012, v rámci opatrenia 2.2 Prenos poznatkov a technológií získaným výskumom a vývojom do praxe.

LITERATÚRA

AZIZ, E. – AL-AMIER, H. – BAEK, J. P. – EL-HELA, A. A. – HELALY, A. – BAHRI, B. – CRAKER, L. E. 2010. Growth and Essential Oil Production in Peppermint Accessions. In: *ACTA HORT.*, 860, p. 193 – 196.

- DAMBRAUSKIENE, E. - VIŠKELIS, P. - AND KARLELINE, R. 2008. Productivity and biochemical composition of *Mentha piperita* L. of different origin. In: *Biologija*, 2008. vol. 54, no. 2, p. 1050-1075.
- GOBERT, V.; MOJA, S.; COLSON, M. and TABERLET, P. 2002. Hybridisation in the Section *Mentha* (*Lamiaceae*) Inferred from AFLP Markers. In: *American Journal of Botany*. 2002, vol. 89, no.12, p. 2017 – 2023.
- GRUĽOVÁ, D. 2012. Interaction of habitat factors on population growth of peppermint and production of secondary metabolites. Doktorandská dizertačná práca, 2012, 133 P.
- ROD, J. A a kol. 1982. *Šľachtění rostlin*. Státní zemědělské nakladatelství Praha, 1982, s. 62 – 68.
- SÚSTRIKOVÁ, A. – ŠALAMON, I. 2004. Essential oil of peppermint (*Mentha* × *piperita* L.) from fields in Eastern Slovakia. In: *HORT. SCI. (PRAGUE)*, 2004, 31(1), p. 31 – 36.
- ŠPALDON, E., a kol. 1982. *Rastlinná výroba*. Příroda, 1982, s. 571 – 576.



„Podporujeme výskumné aktivity na Slovensku./
Projekt je spolufinancovaný zo zdrojov EŠ.“

Využitie výskumu a vývoja na
vyšľachtenie nových kultivarov (prototypov) liečivých rastlín
a ich odrodová registrácia



Začatok realizácie aktív projektu: 10/2009
Skončenie realizácie aktív projektu: 03/2012
Druh projektu: dopytovo - orientovaný
Výška poskytnutého príspevku: 428 508,22 Eur

<http://www.kafou.sk/operacny-program-vyskum-a-vyvoj/oper-vyskum-a-vyvoj/>



Prílohy



Obrázok 1 Založenie pokusu



Obrázok 2 Pokus jún 2011

Adresa autorov:

Jozef Fejér, Daniela Gruľová, Katedra ekológie, Fakulta humanitných a prírodných vied, Prešovská univerzita v Prešove, 17. Novembra 1, 081 16 Prešov, Slovenská republika, jozef.fejer@unipo.sk.

Ivan Šalamon, Centrum excelentnosti ekológie živočíchov a človeka, Prešovská univerzita v Prešove, 17. Novembra 1, 081 16 Prešov, Slovenská republika, salamon@fhpv-unipo.sk

IMPLEMENTÁCIA VÝSTUPOV A PRAKTICKÝCH SÚSENOSTÍ PROJEKTU REVERSE PRI OCHRANE BIODIVERZITY APLIKOVATEĽNÁ V REGIÓNOCH SLOVENSKA

IMPLEMENTATION OUTPUTS AND GOOD PRACTICES OF PROJECT REVERSE IN BIODIVERSITY PROTECTION APPLICABLE IN THE SLOVAK REGIONS

MICHAELA BENKOVÁ

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

The outcome of the project REVERSE which involved 14 project partners were making methodology charters for agriculture, tourism and land planning in linking biodiversity conservation and guide of good practices "Enhancing biodiversity and boosting economic development". In this document is presented a selection of successful experiences of Reverse's Partners, which have demonstrated a proven effectiveness in terms of preserving biodiversity. The good practices presented could be easily transposable in other european regions. Since 2010, the project REVERSE is solved in CVRV Piestany. The staff of the Gene bank SR department participated in the creation of publications such as the project outputs. In the guide there are also good practice and successful experiences on the theme of "Agriculture and Biodiversity", "Turism and Biodiversity" and Land planning and Biodiversity" of this team.

Key words: biodiversity, agriculture, turism, land planing, REVERSE project, good practices

ÚVOD

Projekt INTERREG IVC - REVERSE „Regional exchanges and policy making for protecting and valorising biodiversity in Europe“ je založený na výmene skúseností medzi 14 európskymi partnermi, ktorí si uvedomujú jeden z kľúčových problémov, spájajúcich biodiverzitu a hospodársky rozvoj (Benediková, 2011). Trojročný európsky projekt medziregionálnej spolupráce zahŕňa 7 európskych krajín (Estónsko, Francúzsko, Nemecko, Grécko, Taliansko, Slovensko a Španielsko) a pomáha regiónom Európy spolupracovať a vymieňať si svoje vedomosti a skúsenosti. Konkrétne sa zameriava na možnosti a nedostatky, medzery v legislatíve a politikách krajín na zachovanie biologickej diverzity v troch sektoroch: poľnohospodárstvo a produkcia potravín, územného plánovania a cestovného ruchu. Na základe praktických skúseností spätnej väzby má projekt REVERSE za cieľ podporovať úspešné iniciatívy pri zachovaní biodiverzity, pričom by sa mala zvýšiť hospodárska činnosť v rámci partnerov projektu. Ďalším cieľom je zlepšiť účinnosť odvetvových politík na podporu biodiverzity a rozvoja na európskej a regionálnej úrovni. Všetky činnosti a aktivity spojené s 3 ročným riešením projektu sú prezentované na web stránke <http://reverse.cvrv.sk>. Cieľom príspevku je poukázať na úspešné skúsenosti v riešení ochrany biodiverzity, použité v rôznych krajinách a ponúknuť ich ako možnosti uplatnenia do našich regiónov.

MATERIÁL A METÓDY

Výstupmi projektu na ktorej sa podieľalo 14 projektových partnerov bola tvorba metodických kariet v oblasti poľnohospodárstva, turizmu a krajinného plánovania v prepojení na ochranu biodiverzity a príručka „Sprievodca dobrými praktikami“ nazvaný „Enhancing biodiversity and boosting economic development“. V tejto štúdií sú prezentované úspešné skúsenosti všetkých partnerov projektu, ktoré majú demonštrovať a preukázať účinnosť činností v oblasti zachovania biodiverzity. Od roku 2010 je projekt REVERSE riešený v CVRV Piešťany pracovníkmi oddelenia génovej banky SR, ktorí sa podieľali na tvorbe publikácii ako výstupov projektu. V príručke sa nachádzajú aj odporúčania dobrých skúseností tohto kolektívu. Viac dobrých praktík je uvedených na stránke: <http://reverse.aquitaine.fr/2-good-practices>. Z každej kapitoly, spolu zo 47 štúdií vyberáme 3 príklady ochrany biodiverzity, ktoré je možné aplikovať v regiónoch Slovenska. Elektronická verzia tohto dokumentu je na stránke www.reverse.aquitaine.eu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Jedným z výstupov projektu REVERSE je príručka „Sprievodca dobrými praktikami“, ktorá zahŕňa 47 úspešných projektov z niekoľkých európskych regiónoch, týkajúcich sa ochrany biodiverzity v oblasti poľnohospodárstva, územného plánovania a cestovného ruchu. Poskytuje širokú kolekciu prípadových štúdií, ich úspešné riešenie na základe dvoch základných požiadaviek, ako je ochrana biodiverzity a posilnenie hospodárskeho rozvoja. Tieto projekty, ktoré boli pôvodne identifikované a popísané 14 partnermi Reverse projektu, sú veľmi rôznorodé, pretože zahŕňajú veľakrát malé ale i celoštátne akcie. Môžu byť finančne náročné alebo nevyžadujú žiadny rozpočet. Zahŕňajú veľmi odlišné subjekty. Sú zamerané na hory, vodné zdroje, poľnohospodárske pozemky, alebo mestské oblasti.

Cieľom tejto príručky je poskytnúť ukážky úspešných prípadových štúdií spoločného riadenia ochrany biodiverzity a hospodársky rozvoj. Praktické príklady dokazujú, že zvolené zachovanie biologickej rozmanitosti môže priniesť ekonomické a sociálne výhody.

Táto príručka je určená predovšetkým pre tvorcov politík a miestnych volených zástupcov, rovnako ako úradníci a technici pracujúci v poľnohospodárstve, územné plánovanie, cestovný ruch a životné prostredie. Všeobecnejšie môže zaujímať každého, kto sa zaoberá ochranou biodiverzity.

Avšak, všetky tieto praktické skúsenosti zdôrazňujú niekoľko hlavných dôvodov, pre ktoré sú zverejňované:

- Dostupnosť vedeckých a praktických znalostí je vždy výhodou pri zachovaní a zhodnotení biologickej rozmanitosti - a niekedy je predpokladom pre akékoľvek rozhodnutie alebo konanie.
- Zvyšovanie povedomia verejnosti, odborných pracovníkov a miestnych orgánov o výhodách zachovania biologickej rozmanitosti je zásadné pre ich budúce záväzky a angažovanosť.
- Účastnícke akcie a komunikácie boli často zaznamenané ako kritické faktory celej činnosti.
- Zo získaných skúseností môžu profitovať nielen ekologické a ekonomické, ale v mnohých prípadoch aj kultúrne a sociálne oblasti (napr. pracovné príležitosti alebo zlepšenie spolupráce medzi mestami a regiónmi a vytváranie sietí).
- Mnoho praktických príkladov ukázalo, že účinné zohľadnenie biodiverzity nevyžaduje nutne revolučné opatrenia, ale môžu byť jednoducho zavedené malé zmeny alebo prijatie z iného uhla pohľadu.

Prezentácia prípadových štúdií bola štruktúrovaná do troch kapitol. Kapitola 1 sa venuje poľnohospodárstvu a produkcii potravín (21 štúdií), Kapitola 2 sa zameriava na územné plánovanie (13 štúdií) a kapitola 3 na cestovný ruch (13 štúdií). Všetky kapitoly boli prepojené na ochranu biodiverzity. Z každej kapitoly, spolu zo 47 štúdií vyberáme 3 príklady ochrany biodiverzity, ktoré je možné aplikovať v regiónoch Slovenska.

Akcie pre posilnenie poľnohospodárstva prepojeného na ochranu biodiverzity

„Seed houses“ koncept

Prezentoval projektový partner: Bio d'Aquitaine, Francúzsko

Nové výzvy pre ochranu životného prostredia a zdravé potraviny umožnili vzkriesiť záujem o staré a krajové odrody. Ak sa majú uchovať a má sa pokračovať v ich vývoji, musia byť uchovávané *in situ*, prostredníctvom farmárov. Takto sa stanú pre verejnosť známe, uznávané a cenené. Cieľom projektu bolo: vyplnenie deficitu vhodných semien pre ekologické poľnohospodárstvo s nízkymi vstupmi (znovuobjavenie agronomických a nutričných vlastností semien starých a krajových odrôd); zachovanie regionálnych genetických zdrojov a kultúrneho dedičstva (spôsoby pestovania regionálnej agrobiodiverzity) a podieľanie sa na ich kontinuálnom vývoji; znovuobjavenie skúsenosti a praktických vedomostí medzi farmármi. Výzvou projektu bolo znovuobjaviť dedičstvo a zabrániť zániku, resp. nedostatku semien alebo informácii o metódach pestovania, pracovať na legislatívnom riešení ich ochrany a navrhnúť spoločné metódy riadenia agrobiodiverzity.

Výsledkom projektu bolo:

- Uchovávanie odrôd *in situ* 409 farmármi, ktorí pestujú krajové odrody kukurice a pšenice na vnútroštátnej úrovni.
- Vzniknuté experimentálne platformy pre selekciu odrôd: Platforma Le Change 2010 pre 111 odrôd kukurice, 25 odrôd vysokohorskej ryže, 7 slnečníc, 4 ciroky, 5 mohárov, kameliny, lupíny. Platforma Le Roc 2010 pre 100 odrôd pšenice a ďalších obilnín.
- Vzniknuté „Seed houses“ pre 100 odrôd kukurice, 15 odrôd slnečníc, 5 odrôd sóje, 8 odrôd ciroka, 10 mohárov, kameliny a lupíny, 150 odrôd zeleniny.
- Realizácia 40 kolektívnych praktických kurzov pre pestovateľov kukurice, pre 800 farmárov a odborníkov.
- Diseminácia vedomostí a skúseností na základe exkurzií.

Akcie pre posilnenie cestovného ruchu a zvýšenie povedomia verejnosti o biologickej diverzite

Geocoaching nature: zvýšenie informovanosti občanov o biologickej rôznorodosti

Prezentoval projektový partner: TTZ (Nemecko)

The geocaching @nature je projekt, ktorého cieľom je realizovať geocaching trasy v oblasti, ktorá je z hľadiska biodiverzity zaujímavá. Geocaching (z *geo* = zem + angl. *cache* = tajne skryť) je zábava, či určitý druh športu, spočívajúca v hľadaní skrytého objektu, o ktorom sú známe len jeho geografické súradnice. Miesto úkrytu sa nazýva *cache* - skrýša, schránka - keška. Účastníci ukrývajú malé nádoby, zvané geocache, s vecami a dajú dovnútra logistické informácie, potom zverejnia úkryt s jeho súradnicami na internete. Agentúra ochrany životného prostredia v Nemecku vytvorila trasu k pokladu, ktorá prechádza cez 4 stanice v Bremerhavene. Agentúra požičiava GPS zariadenie. Prvá zastávka je pri kontajnerovom termináli na severe Bremerhaven. Tu sa nachádzajú soľné močiare, ktoré sú významným miestom odpočinku a hniezdiskom pre vtáky. Ďalšie stanice sa nachádzajú v parku, kde môžu návštevníci nájsť ďalšie informácie o endemických druhoch, vyskytujúcich sa na náučnom chodníku v parku. Odtiaľ môžu pokračovať do Fehrmoor, kde je rašelinisko na severe Bremerhaven. Štvrtá a posledná stanica je na rieke Gees, ktorá sa nachádza v blízkosti centra mesta Bremerhaven. Účastníci môžu vyhľadávať tieto stanice pešo alebo na bicykli. Na každej stanici majú vyriešiť hádanku, alebo odpovedať na otázku, ktorá sa týka prírody a krajiny Bremerhaven. Ak vyriešia hádanku dovedie ich to k ďalšiemu bodu pomocou súradníc. Týmto spôsobom sa môžu oboznámiť s prírodou, jej ochranou v okolí mesta, čo je dôležité z hľadiska ochrany životného prostredia. Navyše môžu si zvyšovať svoje znalosti o miestnej lokalite a tým sa

stávajú citlivými k ochrane prírody a životného prostredia. Ponuka je určená predovšetkým deťom a dospievajúcej mládeži vo veku od 11 do 16 rokov, ale je to tiež zaujímavé i pre turistov a celé rodiny.

Akcie pre posilnenie krajinného plánovania prepojeného na ochranu biodiverzity

Miestna stratégia "Podpora atraktivity oblastí posilnením krajiny" s ohľadom na biodiverzitu

Prezentoval: Región Aquitaine (Francúzsko)

V súvislosti s prípravou miestnych dokumentov územného plánovania "SCOT", aplikácie programu LEADER a vymedzenia územného projektu volení zástupcovia územia vo Francúzsku upozornili na nutnosť vyvíjať aktivity, ktoré by zvyšovali atraktivitu tohto územia. Z tohto pohľadu sa ukázalo veľmi cenné krajinárstvo. Pretože táto oblasť ponúka príjemné životné prostredie, bolo dôležité ho posilniť a udržiavať. Prírodné bohatstvo sa tu považuje za podstatný nástroj na zlepšenie dynamiky územného rozvoja.

Vďaka regulačným nástrojom územného plánovania ("SCOT", "PLU"), ďalším miestnym nástrojom ("Krajinárske zmluvy", špecifické techniky) a finančným nástrojom (program LEADER), volení zástupcovia územia "Val de Garonne Gascony", sa rozhodli urobiť skutočné opatrenia pre politiku podporujúcu ochranu krajiny. Na základe rozsiahleho konzultačného procesu a krajinárskej listiny boli nakreslené plány krajiny tak, aby hlavný faktor bol v atraktivite a rozvoji územia. Ako prvý krok, hlavných činností bolo zvýšenie povedomia a zlepšenie komunikácie o význame a dôležitosti krajiny (súvisí to s biodiverzitou) prostredníctvom seminárov, „Dní poľa“ venovaných výletom do krajiny, konferencií, vydávaním informačných bulletinov a podobne. Tento zásadný krok bol podporený i politickou účasťou v stratégii krajinárstva. Na základe týchto krokov si volení zástupcovia a miestne subjekty uvedomili význam ich krajiny a ich úlohu vo zvýšení atraktivity územia a aby sa spoločne usilovali o rovnaký cieľ. Medzitým bol vytvorený akčný plán. Definuje priority pre činnosti týkajúce sa štyroch tém: územné plánovanie, poľnohospodárstvo, voda a cesty. V súčasnej dobe volení zástupcovia dohliadajú na realizáciu prvých akcií zaradených do tohto akčného plánu. Prostredníctvom zachovania a zvyšovania rozmanitosti krajiny, táto politika pomáha chrániť a zvyšovať biologickú rôznorodosť prostredníctvom podpory činností uprednostňujúcich biodiverzitu, napr. výsadbou miestnych druhov stromov, znovu zavedením prírodných živých plotov a kríkov. Okrem toho uvedená politika krajinného plánovania sa ukázala byť dobrým spôsobom, ako vyriešiť rôzne problémy, týkajúce sa biologickej rozmanitosti, pretože téma krajiny je veľmi konsenzuálna a konkrétna.

ZÁVER

Európsky projekt REVERSE sa zameriava na podporu biodiverzity v európskom rozsahu a to podporou pozitívnych akcií v jednotlivých regiónoch. Je postavený na základe spätnej väzby a výmeny v oblasti úspešných partnerských iniciatív 7 zúčastnených štátov. Tento projekt má za cieľ zlepšiť efektívnosť regionálnej politiky zameranej na zachovanie, valorizáciu a rozvoj biodiverzity. Pracovníci z CVRV Piešťany, Génová banka boli partnermi projektu, ktorí sa aktívne zapojili do všetkých činností, vrátane tvorby publikácií v záujme ochrany biodiverzity. Jedným z prínosných výstupov projektu REVERSE je vydanie príručky „Sprievodca dobrými praktikami“, ktorá zahŕňa 47 úspešných projektov z niekoľkých európskych regiónoch, týkajúcich sa ochrany biodiverzity v oblasti poľnohospodárstva, územného plánovania a cestovného ruchu. Cieľom tejto príručky bolo poukázať na osvedčené postupy, zamerané na ochranu biodiverzity, ktoré môžu byť ľahko presunuté do iných európskych regiónoch. Projekt REVERSE naplnil svoje ciele a na základe výmeny skúseností každej krajiny prispel k zvýšeniu povedomia dôležitosti tejto témy, ktorá bude ľahšie prenosná do všetkých spomínaných oblastí. Treba len dúfať, že strategické odporúčania sa presadia v našej miestnej, samosprávnej a národnej politike.

Pod'akovanie: *Práca bola financovaná v rámci Európskeho regionálneho a rozvojového fondu INTERREG IVC: REVERSE No.0500R2 „Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“.*

LITERATÚRA

- BENEDIKOVÁ, D. a kol. 2011. Realizácia a plnenie úloh projektu INTERREG IVC: REVERSE „Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín. Zborník z 18. medzinárodnej vedeckej konferencie, Piešťany, 8.-9. november 2011. CVRV Piešťany, 2011, s. 63-64.
- European Agriculture and Biodiversity Charter. 2012, 46 p. [citované: 2012-10-17]. http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/agriculture_charter_web.pdf.
- European Land Planning and Biodiversity Charter. 2012, 38 p. [citované: 2012-10-17]. http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/landplanning_charter_web.pdf.
- European Tourism and Biodiversity Charter. 2012, 30 p. [citované: 2012-10-17]. http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/tourism_charter_web.pdf.
- MASSOL, C. et al. 2012. Enhancing biodiversity and boosting economic development. [Bordeaux]: [Consil Regional Aquitaine] 2012, 167 p. <http://reverse.aquitaine.fr/2-good-practices>

Adresa autorov:

Ing. Michaela Benková, PhD., Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany, Slovenská Republika (korešpondencia: benkova@vurv.sk)

APLIKÁCIA VÝSLEDKOV PROJEKTU REVERSE DO VZDELÁVANIA MLADEJ GENERÁCIE

THE APPLICATION TO RESULTS REVERSE PROJECT IN EDUCATION OF THE YOUNG GENERATION

IVETA ČIČOVÁ

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

The European project REVERSE aims to promote biodiversity on a European scale by supporting action across the regions. The promotion of biodiversity begins to youngest children through primary school pupils and students. In education, biodiversity pays very little attention. This project enhances knowledge and skills and a lot of information about plants. In Slovakia preserve the biodiversity Gene Bank of Slovakia. The students see in Plant Production Research Center seeds of cereals, legumes, medicinal plants and fruit trees.

Key words: biodiversity, education, Gene bank, medicinal plants, REVERSE project

ÚVOD

Výsledky projektu REVERSE do procesu vzdelávania mladej generácie sa dostali na všetky úrovne vzdelávania, do škôlok, základných škôl a stredných i vysokých škôl. Výskumní pracovníci Génovej banky pripravili zaujímavou formou informácie a výsledky o biodiverzite, jej uchovávaní, dôležitosti jej zachovania pre ďalšie generácie. V procese vzdelávania sa tejto téme nevenuje žiadna pozornosť, čo súvisí aj so znižovaním počtu hodín biológie. Tento projekt prispel aspoň na regionálnej úrovni vo vzdelávaní mladej generácie o biodiverzite. Výstupy z projektu mali možnosť vidieť žiaci a študenti 30 škôl a dňi otvorených dverí sa zúčastnilo asi 600 detí. Školy sa zapojili aj do súťaže v kreslení „Biodiverzita očami detí“.

MATERIÁL A METÓDA

Na propagáciu biodiverzity boli použité rastliny a semená z Génovej banky SR. Výskumní pracovníci pripravili priesady liečivých rastlín, semenné vzorky poľnohospodárskych rastlín – vzorkovnicu semien, čaje z liečivých rastlín (mäta, medovka, pamajorán), ukážky rezu ovocných drevín. Na výskumnom ústave sú pripravené polička so zozbieranými liečivými rastlinami z celého Slovenska. Slúžia na množenie, regeneráciu, hodnotenie a uchovanie biodiverzity v generatívnej aj vegetatívnej forme.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V rámci projektu boli zorganizované nasledovné akcie, ktoré boli zamerané hlavne na mladú generáciu, pre deti a študentov:

- V spolupráci so Základnou cirkevnou školou sv. Márie Gorettii v Piešťanoch bola zorganizovaná akcia výsadby školského záhonu liečivých rastlín v školskej záhrade. Akcie sa zúčastnilo 40 detí, ktoré vysadili najznámejšie liečivé rastliny napríklad mäta, medovku, repik, pamajorán, bazalku, materinu dúšku. Táto spolupráca medzi výskumníkmi a deťmi má za cieľ poznávať liečivé rastliny a naučiť žiakov metodiky uchovávania biodiverzity a budovať u nich vzťah k ochrane prírody.
- Dni otvorených dverí pre deti a študentov stredných a vysokých škôl sú organizované pracovníkmi Génovej banky v priebehu celého roku. V priestoroch Génovej banky sa študenti oboznamujú s prácou výskumníkov a procesom uchovávania semien, so zisťovaním klíčivosti uložených vzoriek, nahliadnu aj do herbára a poznávajú semená obilnín, strukovín, liečivých rastlín, ovocných druhov. V prípade priaznivých poveternostných podmienok majú študenti možnosť vidieť aj záhon liečivých rastlín na Výskumnom ústave rastlinnej výroby. Môžu porovnať niekoľko druhov rodu *Mentha*, *Ocimum* a majú aj možnosť ochutnať čaje z liečivých rastlín.
- V auguste 2010 bola zorganizovaná akcia „Biodiverzita očami detí“, na ktorej deti základných škôl kreslili biodiverzitu, ktorú videli na ústave a v prírode. Výkresy sme vystavili na Výskumnom ústave rastlinnej výroby a výstavu videlo približne 200 návštevníkov. Zorganizovali sme aj hlasovanie účastníkov výstavy a najkrajšie výkresy boli odmenené. Najobľúbenejšou témou pre deti boli klásky obilnín a liečivé rastliny.
- V obci Kálnica v spolupráci s obecným úradom, základnou školou a ZO Slovenského včelárskeho zväzu sme pomohli pri rozšírení diverzity rastlín na náučnom chodníku J. M. Hurbana. Náučný chodník má 8 stanovišť a dĺžku 8,5 km. Deti zo základnej školy spolu s výskumnými pracovníkmi vysadili na stanovištia liečivé rastliny (*Origanum*, *Melissa*, *Lavandula*, *Thymus*, *Hypericum*). Táto akcia mala aj vzdelávací charakter pre deti, ale aj pre širokú verejnosť, ktorá navštívi tento chodník. Výsadba prispeje k obohateniu diverzity medonosných rastlín, ktoré by mohli zvýšiť produkciu včelieho medu.

Projekt je orientovaný na biodiverzitu, a hlavným cieľom je jej ochrana, zaistenie prežitia konkrétnych rastlinných druhov a životaschopnosť ich populácií, zriadenie rastlinných mikro rezervácií pre širšie ciele. Je veľmi dôležité šíriť vedomosti a poznatky o diverzite i v procese vzdelávania, hlavne mladej generácie, pre ktorú sa diverzita uchováva.

ZÁVER

V rámci projektu bolo zorganizovaných veľa dní otvorených dverí pre študentov stredných a vysokých škôl a deti základných škôl a predškôlkov. Deti sa dozvedeli o diverzite rastlín, o uchovávaní semenných vzoriek rastlín, mali možnosť vidieť a poznať semená obilnín, strukovín, ovocných druhov a liečivých rastlín. Deti dostali aj vzorky rastlín na vytvorenie herbára liečivých rastlín na hodine biológie. Deti si vyskúšali aj sadenie rastlín na políčka a náučný chodník, mali možnosť ochutnať čaje z liečivých rastlín. Určite by bolo veľmi vhodné zaradiť do procesu vzdelávania v rámci predmetu biológia aj hodiny venované biodiverzite, jej významu, rozširovaniu a ochrane. Výskumní pracovníci veľmi kreatívnym spôsobom priblížili deťom a študentom význam biodiverzity na Slovensku.

Pod'akovanie: Práca bola financovaná v rámci Európskeho regionálneho a rozvojového fondu INTERREG IVC: REVERSE No.0500R2 „Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“.

LITERATÚRA

- BENEDIKOVÁ, D. a kol. 2011, Realizácia a plnenie úloh projektu INTERREG IVC: REVERSE „Regionálna výmena a tvorba politiky pre ochranu a hodnotenie biodiverzity v Európe“. In: Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín. Zborník z 18. medzinárodnej vedeckej konferencie, Piešťany, 8.-9. november 2011. Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Piešťany, 2011, s. 63-64.
- European Agriculture and Biodiversity Charter. 2012, 46 p. [citované: 2012-10-17]. http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/agriculture_charter_web.pdf.
- European Land Planning and Biodiversity Charter. 2012, 38 p. [citované: 2012-10-17]. http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/landplanning_charter_web.pdf.
- European Tourism and Biodiversity Charter. 2012, 30 p. [citované: 2012-10-17]. http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/tourism_charter_web.pdf.
- OSN, 1992. Convention on Biological Diversity, Rio de Janeiro. <http://www.cbd.int>.
- manuál Ministerstva hospodárstva SR, 238 s.
- REVERSE Charter, Commitment to protect biodiversity in Europe. 2012, 6 p. [citované: 2012-10-17]. http://reverse.aquitaine.eu/IMG/pdf/commitment_charter_print.pdf.

Adresa autorov:

Ing. Iveta Čičová, PhD.

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Výskumný ústav rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, Slovenská Republika (korešpondencia cicova@vurv.sk)

PRÍPRAVA VEKTOROVÉHO KONŠTRUKTU NA CHARAKTERIZÁCIU PROMÓTORA CHITINÁZY IZOLOVANÉHO Z ROSIČKY OKRÚHLOLISTOVEJ PREPARATION OF THE VECTOR CONSTRUCT FOR CHARACTERIZATION OF THE CHITINASE PROMOTER ISOLATED FROM SUNDEW

DOMINIKA ĎURECHOVÁ, JANA LIBANTOVÁ

Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV Nitra

The chitinase promoter sequence was isolated from sundew (Drosera rotundifolia L.) using Genome Walking kit. Following sequencing, the fragment was fused to the glucuroidase (gus) gene and nopaline synthase (nos) terminator in pBinPlus binary vector. The correctness of cloning and stability of the vector construct in Escherichia coli and Agrobacterium tumefaciens was verified by restriction analysis. In the next experiments the activity pattern of this promoter will be tested in transgenic tobacco plants.

Key words: sundew, carnivorous plants, chitinase, promoter

ÚVOD

Promótoory patria medzi regulačné sekvencie zabezpečujúce expresiu génov v živých organizmoch. V súčasnosti sa prostredníctvom charakterizácie aktivity jednotlivých promótorov odhaľuje zapojenie príslušajúcich génov do biologických procesov prebiehajúcich v rastlinách. Na druhej strane dostupnosť promótorov so známym expresným profilom má využitie v biotechnologických programoch, kde je čoraz viac využívaná pletivovo-špecifická alebo indukovaná (stresom, vývinovým štádiom) expresia transgénu. Cieľom práce je prostredníctvom reportérového *gus* génu charakterizovať promótor chitinázy izolovaný z málo preskúmaného genómu mäsožravcej rastliny rosičky okrúhloľistej (*Drosera rotundifolia* L.) v transgénnych rastlinách tabaku.

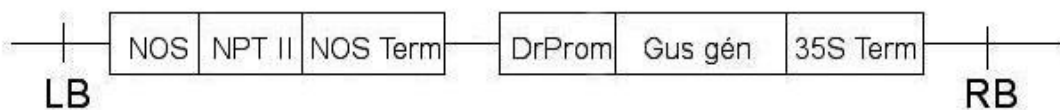
MATERIÁL A METÓDY

Izolácia promótoru chitinázy bola uskutočnená pomocou Genome Walking Kitu (Promega), následne po sekvenovaní bol pomocou primerov DrPRChitFOR 5'AGGAAGCTTTGTCCAATCGTCCA a DrPEChitREV5'AGCATGATAGTAATGCCCATGGTT v PCR reakcii amplifikovaný a izolovaný 744 pb *Hind*III - *Nco*I fragment promótoru chitinázy. Reportérové gény *gfp:gus* sme izolovali z binárneho vektora pCambia 1304 ako *Nco*I – *Nhe*I fragment. *Nos* terminátor sme izolovali z pRT100 kazetového vektora ako *Nhe*I - *Pac*I fragment. Následne sme všetky tri fragmenty klonovali do binárneho vektora pBinPlus štiepeného restriktívnymi endonukleázami *Hind*III – *Pac*I. Správnosť klonovania bola preverená restriktívnou analýzou.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

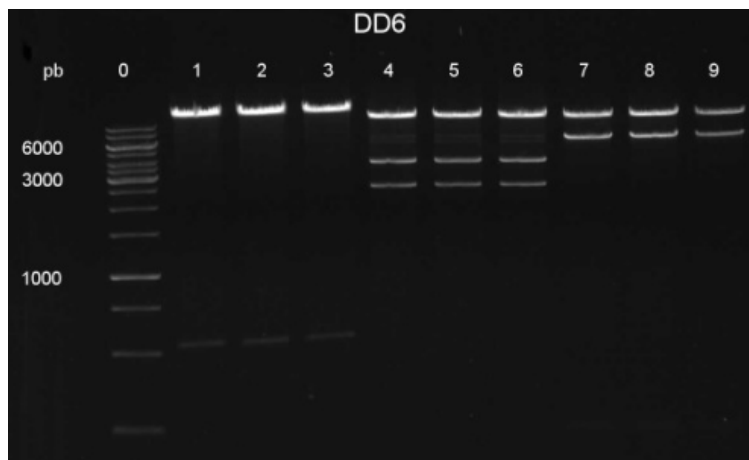
Technika „Genome Walking“ predstavuje pomerne jednoduchú metódu izolácie a sekvenčnej charakterizácie neznámych sekvencií DNA. Takýmto spôsobom sme získali DNA fragment promótoru chitinázy rosičky okrúhloľistej, ktorého sekvencia bola identifikovaná po sekvenovaní.

Na prípravu rastlinného transformačného vektora obsahujúceho expresnú jednotku promótoru droserovej chitinázy riadiaceho glukuronidázový gén (DrchitP-Gus-35STer) (Obrázok 1) sme použili štandardné klonovacie techniky. Orientáciu expresných jednotiek sme zvolili tak, aby sme eliminovali vplyv okolitého chromatinu a na aktivitu testovaného promótoru v transgénnych rastlinách tabaku. V pBinPLUS binárnom vektore bol ako selekčný markerový gén použitý gén rezistencie ku kanamycínu.



Obrázok 1 Schéma T-DNA vektorového konštraktu na testovanie aktivity promótoru chitinázy z *Drosera rotundifolia* v transgénných rastlinách. Ako selekčný markér bol použitý gén pre neomycínfosfotransferázu (*npII*) riadený nopalínsyntetázovým promótorom (*nos*). Ako terminátor bol použitý nopalínsyntetázový (*nos*) terminátor. *Gus* gén bol riadený chitinázovým promótorom (*DrProm*). Ako terminátor bol použitý *CaMV35S* terminátor (*35S Term*).

Správnosť klonovania fragmentov do pBinPlus klonovacieho vektora bola preverená restričnou analýzou.



Obrázok 2 Restričná analýza plazmidu pDD6. Restričnú analýzu sme uskutočnili pomocou enzýmov *HindIII* a *BamHI*, ktoré dali vznik fragmentov s dĺžkou 546 pb a 15 288 pb (dráhy 1, 2 a 3). Enzýmy *HindIII* a *NheI* štiepili plazmid za vzniku fragmentov s dĺžkami 2248 pb, 3275 pb a 10 311 pb (dráhy 4, 5 a 6). Enzýmy *NheI* a *PacI* štiepili plazmid na fragmenty dĺžky 224 bp, 5523 bp a 10084 pb (dráha 7, 8 a 9).

ZÁVER

Pripravený rastlinný vektorový konštrukt použijeme na transformáciu tabaku, v pletivách ktorého budeme sledovať aktivitu promótoru chitinázy izolovaného z *Drosera rotundifolia*. Porovnaním expresného profilu v pôvodnom organizme a v transgénnom tabaku, získame indície o funkcii príslušnej chitinázy v rosičke okrúhlostovej ako aj využiteľnosti promótoru v rastlinných biotechnológiách.

Pod'akovanie: Práca bola vypracovaná v rámci COST projektu FA1006.

Adresa autorov:

Ing. Dominika Ďurechová, Ing. Jana Libantová, CSc.

Ústav genetiky a biotechnológií rastlín SAV, Akademická 2, 950 07 Nitra

E-mail: dominka.durechova@savba.sk

ELICITÁCIA PRODUKCIE POLYFENOLOV V BUNKOVÝCH SUSPENZNÝCH KULTÚRACH CHMEĽU

ELICITATION OF POLYPHENOL PRODUCTION IN HOP CELL SUSPENSION CULTURES

JURAJ FARAGÓ¹, IVANA PŠENÁKOVÁ^{1,2}, IVANA MICHÁLKOVÁ¹

¹Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave

²Univerzita Konštantína Filozofa Nitra

*In this work we assessed the effect of addition of jasmonic acid (JA) to hop (*Humulus lupulus* L.) cell suspension culture on accumulation of total polyphenols and flavonoids. JA was added into the liquid media containing hop cells in concentrations of 0, 20, 40 and 100 mg.l⁻¹, respectively. We observed a positive (stimulatory) effect of all the concentrations of JA on hop secondary metabolite accumulation. In average, the highest concentration of polyphenols was detected in the genotype PRM/3 after addition of 40 mg.l⁻¹ of JA (14,7 µg.ml⁻¹, increase of 30,3% in comparison to non-elicited control). Similarly, addition of 40 mg.l⁻¹ of JA stimulated the highest increase in flavonoid accumulation (23,4%) in comparison to the control.*

Keywords: Humulus lupulus, callus culture, cell suspension culture, elicitation, polyphenols, flavonoids

ÚVOD

Chmeľ obyčajný (*Humulus lupulus* L.) patrí k technickým plodinám používaným na celom svete najmä v pivovarníckom priemysle, kde dodáva pivu svoju typickú chuť a vôňu. V poslednej dobe však boli v chmeli objavené chemické zlúčeniny, ktoré vyzdvihujú medicínsky význam rastliny (STEVENSON a kol., 1997; CHADWICK a kol., 2006). K najvýznamnejším biologicky aktívnym chemickým zlúčeninám nachádzajúcim sa v chmeli patria polyfenoly a z nich najmä flavonoidy (STEVENSON a kol., 1998). Rastlinné explantátové kultúry poskytujú možnosť alternatívnej produkcie uvedených látok využitím biotechnologických postupov (JEDINÁK a kol., 2004). Vhodnou platformou nielen pre produkciu rastlinných sekundárnych metabolitov, ale aj na štúdium biochemických pochodov v rastlinných bunkách je technika bunkovej suspenznej kultúry (GEORGIEV a kol., 2009).

Cieľom našej práce bolo otestovať možnosť použitia chemického elicítora na zvýšenie produkcie polyfenolov v bunkovej suspenznej kultúre chmeľu obyčajného. Ako elicítor bola vybraná kyselina jazmónová (JA), známa ako rastový regulátor zúčastňujúci sa na systemicko-odpovedi rastlín na poranenie a poškodenie herbivorným hmyzom (FELTON a kol., 1999).

MATERIÁL A METÓDY

Rastlinný materiál

Kalusové a bunkové suspenzné kultúry boli zakladané v laboratóriu explantátových kultúr Centra výskumu rastlinnej výroby (CVRV) v Piešťanoch pri dvoch genotypoch bezvírusového meristémového chmeľu obyčajného (K-72/6/13 a PRM/3), pestovaných *in vitro* vo forme výhonkových kultúr.

In vitro kultúry chmeľu

Kalusové kultúry boli zakladané z dvoch typov explantátov, zo segmentov listových čepelí (LS) a z internodálnych segmentov (StS), ktoré boli ukladané po 12 do 210 ml kultivačných nádob obsahujúcich 30 ml média B2D2 (MS soli [MURASHIGE a SKOOG, 1962] + WS vitamíny [WETMORE a SOROKIN, 1955] + 2 mg.l⁻¹ 6-benzylaminopurín [BAP] + 2 mg.l⁻¹ kyselina 2,4-dichlórfenoxyoctová [2,4-D]) alebo B2N2 (MS soli + WS vitamíny + 2 mg.l⁻¹ 6-benzylaminopurín [BAP] + 2 mg.l⁻¹ kyselina 2,4-dichlórfenoxyoctová [2,4-D]). Kalusové kultúry boli kultivované v kultivačných miestnostiach CVRV v podmienkach kontinuálnej tmy (T), alebo fotoperiódou (FP, 16h svetlo/ 8 h tma). Po 4 týždňoch kultivácie boli subkultivované na čerstvé živné médiá B1D1 a B1N1, ktoré obsahovali v porovnaní s pôvodnými indukčnými živnými médiami B2D2 a B2N2 polovičnú koncentráciu rastových regulátorov a na týchto médiách boli kultivované ďalšie 4 týždne. Bunkové suspenzné kultúry (BSK) boli zakladané z kalusových kultúr vložением 6 indukovaných kalusov do 100 ml Erlenmeyerových baniek obsahujúcich 40 ml tekutého živného média B1D1 alebo B1N1. Kyselina jazmónová (0-100 mg.l⁻¹ živného média) sa pridala po 1 týždni kultivácie BSK. Bunkové suspenzie chmeľu boli kultivované v podmienkach kontinuálnej tmy (T), alebo fotoperiódou (FP, 16h svetlo/ 8 h tma) na orbitálnych trepačkách pri 120 ot./min. a pri teplote 23 ± 1 °C.

Stanovenie obsahu celkových polyfenolov a flavonoidov

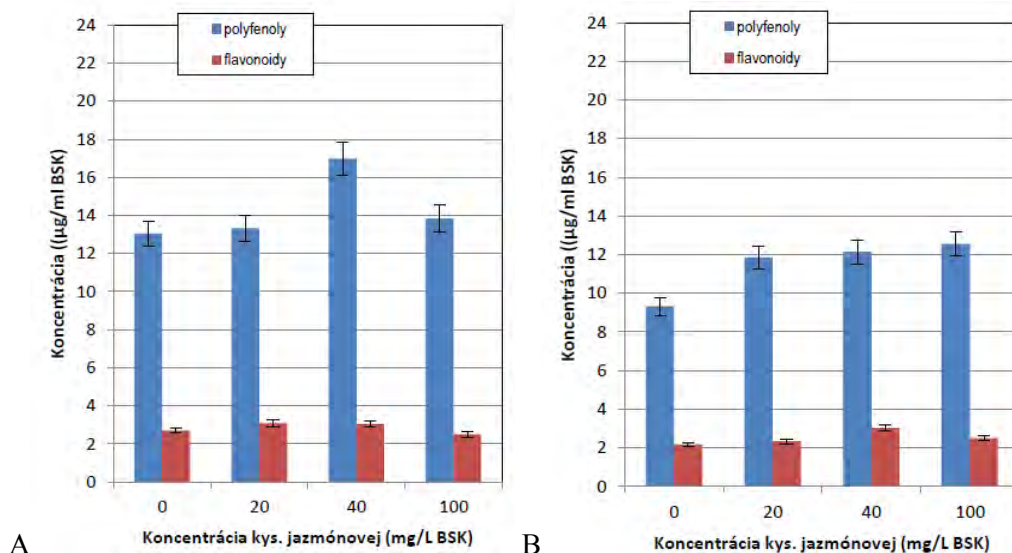
Celkové polyfenoly v extraktoch z kalusov a BSK boli stanovované spektrofotometricky metódou podľa SINGLETONA a ROSSIHO (1965), pričom obsah polyfenolov bol vyjadrený ako ekvivalent kyseliny galovej v 1g čerstvej hmotnosti kalusov alebo v 1 ml BSK. Celkové flavonoidy v extraktoch z kalusov a BSK chmeľu boli stanovované použitím spektrofotometrickej metódy opísanej RAKOTOARISONOM a kol. (1997). Celkový

obsah flavonoidov vo vzorkách bol vyjadrený ako ekvivalent kvercetínu v 1g čerstvej hmotnosti kalusov alebo v 1 ml BSK.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V kalusovej kultúre chmeľu sa celkový obsah polyfenolov pohyboval v závislosti od genotypu, typu explantátu a kultivačných podmienok v rozsahu od 49,6 do 261,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW, pričom vyššie obsahy polyfenolov boli zaznamenané pri genotype PRM/3 (69,6 – 261,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) než pri genotype K-72/6/13 (45,0 – 158,4 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu), pri LS explantátoch (priemer 149,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) než pri StS (116,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu), na médiu B1N1 (priemer 142,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) než na B1D1 (123,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) a v podmienkach tmy (priemer 144,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) oproti podmienkam fotoperiód (109,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu). Vyššie obsahy flavonoidov boli zaznamenané opäť pri genotype PRM/3 (17,2 – 58,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) než pri genotype K-72/6/13 (20,8 – 46,5 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu), pri LS explantátoch (priemer 33,1 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) než pri StS (24,7 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu), na médiu B1D1 (priemer 32,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu), než na B1N1 (24,9 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) a v podmienkach fotoperiód (priemer 32,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu) oproti podmienkam kontinuálnej tmy (27,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ FW kalusu).

Z obrázka 1 je zrejmé, že prídavok kyseliny jasmónovej do živných médií na kultiváciu bunkových suspenzií chmeľu pôsobil vo všetkých koncentráciách stimulačne na akumuláciu polyfenolov aj flavonoidov. Kým najvyššie koncentrácie polyfenolov v bunkových suspenzných kultúrach oboch genotypov chmeľu sme pozorovali pri vyšších koncentráciách JA (40 – 100 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) (17-31% zvýšenie oproti kontrole bez prídavku JA), k najvyššiemu zvýšeniu akumulácie flavonoidov pri oboch genotypoch chmeľu došlo pri stredných koncentráciách pridanej JA (20-40 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$) (9-23% zvýšenie produkcie).



Obrázok 1 Vplyv prídavku kyseliny jasmónovej na akumuláciu celkových polyfenolov a flavonoidov v bunkovej suspenznej kultúre dvoch genotypov (A: K-72/6/13 a B: PRM/3) chmeľu obyčajného.

ZÁVER

Z výsledkov experimentu vyplýva, že prídavok kyseliny jasmónovej do živného média vykazuje stimulačný účinok na akumuláciu polyfenolov a flavonoidov v bunkovej suspenznej kultúre chmeľu obyčajného, čo naznačuje vhodnosť použitia metódy elicitácie na zvýšenie produkcie polyfenolov a flavonoidov v bunkových kultúrach tohto druhu. Ďalšie zvýšenie produkcie je možné očakávať ďalšou optimalizáciou podmienok kultivácie bunkových suspenzií, voľbou vhodného času a vhodnej koncentrácie prídavku elicítora, či použitím účinnejšieho elicítora (napr. metyljasmónátu) a pod.

LITERATÚRA

- FELTON, G.W.; KORTH, K.L.; BI, J.L.; WESLEY, S.V.; HUHMANN, D.V.; MATHEWS, M.C.; MURPHY, J.B.; LAMB, C.; DIXON, R.A.: Inverse relationship between systemic resistance of plants to microorganisms and to insect herbivory. In *Current Biol.*, ISSN 0960-9822, 1999, vol. 9, no. 6, p. 317-320.
- GEORGIEV, M.I.; WEBER, J.; MACIUK, A.: Bioprocessing of plant cell cultures for mass production of targeted compounds. In *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, ISSN 0175-7598, 2009, vol. 83, no. 5, p. 809-823.
- CHADWICK, L.R.; PAULI, G.F.; FARNSWORTH, N.R.: The pharmacognosy of *Humulus lupulus* L. (hops) with an emphasis on estrogenic properties. In *Phytomedicine*, ISSN: 0944-7113, 2006, vol. 13, no. 1-2, p. 119-131.

- JEDINÁK, A., FARAGÓ, J., PŠENÁKOVÁ, I., MALIAR, T.: Approaches to flavonoid production in plant tissue cultures. In *Biologia*, ISSN 0006-3088, 2004, vol. 59, no. 6, p. 697-710.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F.: A revised medium for rapid growth and biomass of tobacco tissue cultures. In *Physiol. Plant.*, ISSN 1399-3054, 1962, vol. 15, p. 473-497.
- RAKOTOARISON, D.A.; GREISSER, B.; TROTIN, F.; BRUNET, C.; DINE, T.; LUYCKX, M.; VASSEUR, J.; CAZIN, M.; CAZIN, J.C.; PINKAS, M. 1997: Antioxidant activities of polyphenolic extracts from flowers, *in vitro* callus and cell suspension cultures of *Crataegus monogyna*. In *Pharmazie*, ISSN 0031-7144, 1997, vol. 52, p. 60-63.
- SINGLETON, V. L., ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. In *Am. J. Enol. Viticult.*, ISSN 0002-9254, 1965, vol. 3, no. 16, p. 144-158.
- STEVENS, J.F.; IVANCIC, M.; HSU, V.L.; DEINZER, M.L.: Prenylflavonoids from *Humulus lupulus*. In *Phytochemistry*, ISSN 0031-9422, 1997, vol. 44, no. 8, p. 1575-1585.
- WETMORE, R.H.; SOROKIN, S.: On the differentiation of xylem. In *J. Arnold Arbor.*, 1955, vol. 36, p. 305-317.
- STEVENS, J.F.; MIRANDA, C.L.; BUHLER, D.R.; DEINZER, M.L.: Chemistry and biology of hop flavonoids. In *J. Am. Soc. Brew. Chem.* ISSN 0361-0470, 1998, vol. 56, no. 4, p. 136-145.

Adresy autorov: RNDr. Juraj Faragó, CSc., Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metóda v Trnave, Námestie J. Herdu 2, Trnava, 917 01, SK; E-mail: juraj.farago@ucm.sk; Ing. Ivana Pšenáková, Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metóda v Trnave, Námestie J. Herdu 2, Trnava, 917 01, SK; E-mail: ivana.psenakova@ucm.sk; Ivana Micháľková, Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metóda v Trnave, Námestie J. Herdu 2, Trnava, 917 01, SK

VPLYV PESTOVANIA GENETICKY MODIFIKOVANEJ *Bt*-KUKURICE NA METABOLICKÚ DIVERZITU A PRIEMERNÚ UTILIZÁCIU C-ZDROJOV PÔDNYCH BAKTÉRIÍ

INFLUENCE OF THE GROWING GENETICALLY MODIFIED MAIZE ON METABOLIC DIVERSITY AND AVERAGE C-SOURCE UTILIZATION OF SOIL BACTERIA

¹NATÁLIA FARAGOVÁ, ¹JURAJ FARAGÓ, ²PETER MIHALČÍK

¹Univerzita cv. Cyrila a Metoda v Trnave
²Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

Using the Biolog® method, we evaluated the metabolic diversity and average C-source utilization of microbial communities in the rhizospheres of two genetically modified maize hybrids (KRABAS YG, KWS YG), containing a Bt-gene against the European cornborer, in comparison to the non-modified hybrid line (KLAUDIUS). Soil samples from the bulk soil and from rhizospheres of plants were collected in three time-points: before sowing, during spring (after sowing) and autumn (before harvest). The highest metabolic diversities of microbial communities in samples collected during spring and autumn were recorded for rhizospheres of genetically modified hybrid KRABAS YG, that exceeded the metabolic diversity of rhizosphere microbial communities of the non-modified maize hybrid KLAUDIUS by 6 to 24%. The highest average C-source utilization by microbial communities was detected during the spring collection date in the rhizosphere of control (non-modified) maize KLAUDIUS, and during the autumn collection date in rhizosphere samples from the transgenic Bt-maize KRABAS YG. Irrespective of the transgenic or non-transgenic status of maize plants, we detected higher metabolic diversities as well as higher respiration activities of microbial communities in samples from the rhizospheres in comparison to the non-rhizospheric samples from bulk soil.

Key words: average utilization of C-sources, Bt-maize, metabolic diversity, soil microorganisms

ÚVOD

Pôdne mikrobiálne spoločenstvá predstavujú nástroj pre pochopenie dynamiky zmien, pretože majú potenciál na vnímanie časovej aj priestorovej zmeny (GARLAND, 1997). Štruktúra pôdnej mikrobiálnej komunity je považovaná za indikátor antropogénnych vplyvov na pôdnu ekológiu (NIELSEN a WINDING, 2002). Pôdne mikroorganizmy sú schopné rýchlejšie reagovať na zaťaženie životného prostredia, pretože v porovnaní s vyššími organizmami sú schopné intenzívnejšej výmeny hmoty a energie s prostredím. Preto je možné pozorovať zmeny vo veľkosti, zložení a činnosti mikrobiálnych spoločenstiev skôr, ako sa vyskytnú pozorovateľné zmeny fyzikálnych a chemických vlastností (NIELSEN a WINDING, 2002, GÖMÖRYOVÁ a kol., 2009). Navyše baktérie komunikujú s rastlinami počas celého životného cyklu a preto slúžia ako presné a rýchle ukazovatele zmeny životného prostredia. Rastliny závisia od schopnosti koreňov komunikovať s mikróbmami. Taktiež veľa baktérií a húb je závislých na vzťahu s rastlinami, ktoré sú často regulované koreňovými výlučkami (BAIS a kol., 2004). Rad štúdií dokázal, že v rizosfére je väčšia populačná hustota baktérií a húb ako vo voľne ležiacej pôde (MALONEY a kol., 1997). Rastliny menia svoje rizosfére prostredie prostredníctvom asimilátov vo forme koreňových výlučkov (UREN, 2001).

MATERIÁL A METÓDA

Rastlinný materiál:

a.) geneticky modifikované hybridy kukurice MON810 (Monsanto Co., USA) pod označením KRABAS YG a KWS YG, obsahujúce vnesený *Bt*-gén pochádzajúci z pôdnej baktérie *Bacillus thuringiensis*; b.) geneticky nedomodifikované hybridy kukurice s označením KLAUDIUS

Pestovateľské prostredie a odber pôdnych vzoriek:

Pestovateľským prostredím bol poľný experiment vo VS Borovce.

Pôdne odbery boli odoberané v 3. termínoch:

1. predsejbový odber: 9.3. 2011
2. jarný odber: 22.6. 2011 (v čase fyziologického štádia rastlín BBCH 19)
3. jesenný odber: 3.10. 2011 (v čase fyziologického štádia rastlín BBCH 97-99)

Biochemické analýzy:

Biochemické analýzy boli uskutočnené pomocou identifikačných kitov Biolog® (Biolog, Inc., Hayward, USA). Sledovali sme:

- a.) priemernú utilizáciu C-zdrojov mikrobiálnych spoločenstiev (AMR) a
- b.) metabolickú diverzitu mikrobiálnych spoločenstiev (CMD).

Varianty labor. experimentov: 1. rizosfére vzorky, 2. vzorky z okolia koreňového systému kukurice satej (nerizosfére).

Varianty analýz mikroorganizmov: 1. GN bakteriálne spoločenstvá pôdy, 2. GP bakteriálne spoločenstvá pôdy.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Metabolická diverzita a priemerná utilizácia C-zdrojov bakteriálnych spoločenstiev v rizosfére kukurice siatej bola v jarnom termíne odberu štatisticky významne ovplyvnená pestovaným hybridom kukurice, typom pôdnej vzorky a použitou Biolog platničkou ($P < 0,05$; $P < 0,001$). Najvyššou metabolickou diverzitou a priemernou utilizáciou C-zdrojov mikrobiálnych spoločenstiev sa na jar vyznačovali pôdne vzorky pochádzajúce z pestovania geneticky modifikovaných hybridov *Bt*-kukurice KRABAS YG, ktoré prevýšili nemodifikované hybridy KLAUDIUS v diverzite o 55 % a ich respirácii o 35 %. Ak porovnáme metabolickú diverzitu mikrobiálnych spoločenstiev v rizosfére alebo v pôdných vzorkách zo širšieho okolia koreňov kukurice môžeme detekovať o 84 % vyššiu diverzitu v prospech rizosféry vzoriek. Metabolická diverzita mikroorganizmov v pôde bola pred sejbou hybridov kukurice vyššia o 20 % a ich respiračná aktivita o 24 %. Priemerná utilizácia C-zdrojov mikroorganizmov v rizosféry vzorkách na jar dvojnásobne prevýšila utilizáciu v okolitej pôde. Funkčná hustota mikrobiálnych spoločenstiev v rizosféry vzorkách prevýšila nameranú hustotu zo širšieho okolia koreňov kukurice KRABAS YG o 13 %, KWS YG o 132 % a KLAUDIUS až o 256 %. Metabolická diverzita gramnegatívnych baktérií prevýšila grampozitívne o 10 % a ich respiračnú aktivitu o 15 % v jarnom termíne odberu pôdných vzoriek, čo je výsledkom rozdielneho zloženia bunkových membrán a ich reakcie na voľné ióny v pôdnom sorpčnom komplexe. Respiračná aktivita mikroorganizmov v rizosfére na jar prevýšila aktivitu v okolitej pôde pri hybridoch KRABAS YG o 34 %, KWS YG o 113 % a KLAUDIUS až o 302 % (tab. č. 1).

Medzi pôdnymi vzorkami geneticky modifikovaných hybridov KRABAS YG a nemodifikovaných hybridov kukurice siatej KLAUDIUS boli na jar potvrdené štatisticky významné rozdiely v metabolickej diverzite mikroorganizmov aj v ich priemernej utilizácii C-zdrojov ($P < 0,001$). Pri porovnaní pôdných vzoriek pochádzajúcich z pestovateľských poličok geneticky modifikovaných hybridov *Bt*-kukurice KWS YG a nemodifikovaných hybridov KLAUDIUS boli v tomto jarnom termíne odberu, zaznamenané štatisticky významné rozdiely iba v respiračnej aktivite pôdných mikroorganizmov ($P < 0,05$).

Metabolická diverzita pôdných mikrobiálnych spoločenstiev a ich respiračná aktivita bola, podobne ako pri jarnom termíne odberu aj na jeseň, štatisticky významne ovplyvnená pestovaným hybridom kukurice, typom pôdnej vzorky a použitou Biolog platničkou ($P < 0,0$). Najvyššia metabolická diverzita i respiračná aktivita mikrobiálnych spoločenstiev bola na jeseň detekovaná v rizosfére geneticky modifikovaných hybridov *Bt*-kukurice KRABAS YG, a to o 62 a 70 % vyššie v porovnaní s celkovým priemerom. Naopak, najnižšie hodnoty týchto sledovaných znakov mikrobiálnych spoločenstiev boli zistené v okolí koreňového systému netransgénnych hybridov kukurice siatej KLAUDIUS. V súlade s jarným termínom odberu aj na jeseň bola detekovaná vyššia metabolická diverzita mikrobiálnych spoločenstiev (o 150 %) a ich respiračná aktivita (o 144 %) v rizosféry vzorkách v porovnaní so vzorkami odoberanými za širšieho okolia koreňového systému kukurice. Funkčná hustota a respiračná aktivita gramnegatívnych baktérií bola na jeseň dvojnásobne vyššia v porovnaní s grampozitívnymi bakteriálnymi spoločenstvami pôdy. V jesennom termíne odberu môžeme sledovať pokles metabolickej diverzity mikroorganizmov v pôdných vzorkách pri hybridoch KRABAS YG o 166 %, KWS YG o 66 % a KLAUDIUS o 128 % v porovnaní s jarným odberom pôdných vzoriek. Rovnako aj pri utilizácii C-zdrojov mikrobiálnych spoločenstiev sme na jeseň zaznamenali pokles o 59 (rizosféry vzorky) až 88 (pôdne vzorky zo širšieho okolia koreňového systému) % v porovnaní s jarným termínom odberu (tab. č. 1).

Medzi oboma hybridmi geneticky modifikovaných hybridov *Bt*-kukurice KRABAS YG a KWS YG a nemodifikovaným hybridom kukurice KLAUDIUS boli v jesennom termíne odberu zaznamenané štatisticky významné rozdiely v metabolickej diverzite pôdných mikroorganizmov aj v ich priemernej utilizácii C-zdrojov ($P < 0,001$; $P < 0,01$).

Vloženie transgénov do rastlín môže nechtiac zmeniť zloženie mikrobiálneho spoločenstva v rizosfére prostredníctvom zmeny zloženia koreňových výlučkov (OGER a kol., 1997). Porovnávacie štúdie, či existujú rozdiely medzi mikrobiálnou komunitou žijúcou v rizosfére transgénnych a netransgénnych rastlín predstavuje dôležitý krok, či prítomnosť transgénneho materiálu môže zapríčiniť zmeny v životnom prostredí. Tieto znalosti o vplyve geneticky modifikovaných rastlín na pôdnu mikrobiálnu ekológiu sú zásadné pre pochopenie dlhodobých agronomických a environmentálnych vplyvov pre rozvoj primeraných postupov na minimalizáciu možných negatívnych dopadov (FANG a kol., 2007). V prípade geneticky modifikovaných rastlín obsahujúcich *Bt*-toxín je nutné čeliť rozvoju rezistencie,

kukurica obsahujúca *Bt*-toxíny môže veľmi výrazne urýchliť vznik rezistencie, pretože pri ich použití je hmyz vystavený neustálemu selekčnému tlaku a to i v čase, kedy nepôsobí ekonomické škody (MALLET a PORTER, 1992). Pri komerčnom pestovaní *Bt*-kukurice sú v súčasnosti antirezistentné programy založené na ponechovaní časti plôch s klasickými netransgénymi odrodami tzv. refúgie.

Veľkosť refúgií sa pohybuje od 10% do 20% plôch (FROUZ a kol., 2004). V poľných podmienkach však nebol zistený žiaden vplyv kukurice MON 810 na zmeny spoločenstiev pôdných mikróbov a na proces dekompozície biomasy, oproti konvenčnej plodine kukurice. Vplyvom degradácie proteínov obsah *Bt*-toxínu v pôde exponenciálne klesá (TAPP a STOTZKY, 1998). Pre proteolytické mikroorganizmy rizosféry sú nové proteíny dodatočným zdrojom živín. Pomocou extracelulárnych proteáz sú toxíny degradované a ich

komponenty asimilované. Aktívny *Bt*-toxín je v umelých pôdnych médiách degradovaný na inaktívny peptid behom niekoľkých dní (KOSKELLA a STOTZKY, 1997).

V reálnych pôdnych podmienkach sa však môže protoxín *Bt* viazať na zložky humusu, čo môže spôsobiť oneskorené proteolytické degradácie v niektorých prípadoch až niekoľko mesiacov (SAXENA a kol., 1999). Počas tejto fázy by sa mohli ohaviť nejaké interakcie medzi druhmi z rôznych trofických úrovní, od vírusov, baktérií až po mnohobunkové, vrátane hmyzu.

ZÁVER

- Najvyššou metabolickou diverzitou mikrobiálnych spoločenstiev sa v jarnom i jesennom termíne odberu vzoriek vyznačovala rizosféra geneticky modifikovaných hybridov kukurice KRABAS YG, ktorá prevýšila diverzitu rizosféry nemoifikovaných hybridov kukurice KLAUDIUS o 6 až 24 %.
- Najvyššia priemerná utilizácia C-zdrojov mikrobiálnych spoločenstiev bola na jar detekovaná v rizosfére geneticky nemoifikovaných hybridov kukurice KLAUDIUS a na jeseň v rizosfére transgénnych rastlín *Bt*-kukurice KRABAS YG.
- Na jeseň sme zaznamenali pokles metabolickej diverzity (o 119 %) a priemernej utilizácie C-zdrojov (o 67 %) bakteriálnych spoločenstiev pôdy v porovnaní s jarným termínom odberu vzoriek bez ohľadu na typ hybridov kukurice.
- V rizosféry pôdnych vzorkách, bez ohľadu na typy hybridov kukurice siatej (transgénne alebo netransgénne), bola detekovaná vyššia metabolická diverzita a respiračná aktivita mikrobiálnych spoločenstiev v porovnaní nerizosférymi vzorkami z okolia koreňového systému kukurice siatej.

Podakovanie: Práca bola realizovaná za finančnej podpory MP SR v rámci úlohy „Využitie biotechnologických metód pri tvorbe nových typov rastlín“.

LITERATÚRA

- BAIS, H.P. – PARK, S.W. – WEIR, T.L. – CALLAWAY, R.M. – VIVANCO, J.M.: How plants communicate using the underground information superhighway. In: *Trends in Plant Science*, 2004, 9, p. 26-32.
- FANG, M. – MOTAVALLI, P.P. – KREMER, R.J. – NELSON, K.A.: Assessing changes in soil microbial communities and carbon mineralization in *Bt* and non-*Bt* corn residue-amended soils. In: *Applied Soil Ecology*, 2007, 37, p. 150-160.
- FROUZ, J. – ELHOTTOVÁ, D. – ŠOURKOVÁ, M. – KOCOUREK, F.: The effect of *Bt* corn on soil invertebrates and decomposition rates of corn post-harvest residues under field and laboratory conditions. In: *European Journal of Soil Biology*, 2008, 32, p. 645-655.
- GARLAND, J. L.: Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. In: *Microbial Ecology*, 1997, 24, 4, p. 289-300.
- GOMORYOVÁ, E. – VASS, D. – PICHLER, V. – GOMORY, D.: Effect of alginite amendment on microbial activity and soil water content in forest soils. In: *Biologia (Bratislava)*, 2009, 64, p. 585-588.
- KOSKELLA, J. – STOTZKY, G.: Microbial utilization of free clay-bound insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* and their retention of insecticidal activity after inoculation with microbes. In: *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63, 9, p. 3561-3568.
- MALLET, J. – PORTER, P.: Preventing pesticide adaptation to insect-resistant crops: are seeds and refugia the best strategy? In: *Proceedings of Royal Societies – London B*, 1992, 250, p. 165–169.
- MALONEY, P.E. – VAN BRUGGEN, A.H. – HU, S.: Bacterial community structure in relation to the carbon environment in lettuce and tomato rhizosphere and in bulk soil. In: *Microbiology Ecology*, 1997, 34, 2, p. 109-117.
- NIELSEN, M.N. – WINDING, A.: Microorganisms as indicators of soil health. *NERI Technical Report*, Roskilde, Denmark, 388, 2002, 82 s., ISBN: 87-7772-658-8.
- OGER, P. – PETIT, A. – DESSAUX, Y.: Genetically engineered plants producing opines alter their biological environment. In: *Nature Biotechnology*, 1997, 15, 4, p. 369–372.
- SAXENA, D. – FLORES, S. – STOTZKY, G.: Insecticidal toxin in root exudates from *Bt* corn. In: *Nature Biotechnology*, 1999, 402, p. 480.
- TAPP, H. – STOTZKY, G.: Persistence of the insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in soil. In: *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30, 4, p. 471–476.
- UREN, N.C.: Types, amounts, and possible functions of compounds released into the rhizosphere by soil-grown plants. In: Pinton, R., Varanini, Z., Nannipieri, P. (Eds.): *The Rhizosphere*, Marcel Dekker, New York, 2001, 19–40, ISBN 0-8493-3855-7.

Tabuľka 1: Priemerné hodnoty z AV pre hodnotenie metabolickej diverzity (CMD) a respiračnej aktivity (AMR) bakteriálnych spoločenstiev v pôdnych vzorkách pochádzajúcich z rizosféry a okolia koreňového systému geneticky modifikovaných rastlín *Bt*-kukurice (KRABAS YG, KWS YG) a nemodifikovaných hybridov kukurice (KLAUDIUS) v predsejbovom, jarnom a jesennom termíne odberu pôdnych vzoriek.

Faktor	CMD		AMR	
	jar	jeseň	jar	jeseň
Hybrid				
KRABAS YG	64,666	24,250	0,829	0,434
KWS YG	40,875	24,583	0,507	0,423
KLAUDIUS	41,458	18,125	0,612	0,305
SE	1,735	1,045	0,032	0,021
Pôdna vzorka				
Rizosféra	63,583	31,916	0,875	0,549
Okolité pôda	34,416	12,722	0,424	0,225
SE	1,417	0,853	0,026	0,017
Platnička				
GP	46,444	12,583	0,603	0,178
GN	51,555	32,055	0,696	0,597
SE	1,417	0,853	0,026	0,017
Interakcia				
Hybrid x Pôdna vzorka				
KRABAS YG x Rizosféra	68,833	36,166	0,951	0,661
KRABAS YG x Okolité pôda	60,500	12,333	0,706	0,206
KWS YG x Rizosféra	57,166	30,416	0,691	0,499
KWS YG x Okolité pôda	24,583	18,750	0,324	0,348
KLAUDIUS x Rizosféra	64,750	29,166	0,981	0,487
KLAUDIUS x Okolité pôda	18,166	7,083	0,244	0,122
SE	2,454	1,479	0,045	0,030
x	49,000	22,319	0,649	0,387
SE	1,002	0,603	0,018	0,012
Predsejbový rozbor	59,083		0,811	

Adresa autora (autorov): Ing. Natália Faragová, PhD., FPV UCM v Trnave, J. Herdu 2, 917 01 Trnava, e-mail: natalia.faragoova@ucm.sk; Ing. Peter Mihalčík, CVRV VÚRV Piešťany, Bratislavská 122, 921 68 Piešťany, e-mail: mihalcik@vurv.sk

ZLEPŠOVANIE NUTRIČNEJ HODNOTY OBILNÍN GENETICKOU MODIFIKÁCIU ICH GENÓMU

IMPROVEMENT OF NUTRITIVE VALUE OF CEREALS BY GENETIC MODIFICATION OF ITS GENOME

DANIEL MIHÁLIK¹, MARCELA GUBIŠOVÁ^{1,3}, KATARÍNA ONDREIČKOVÁ¹,
LENKA KLČOVÁ¹, TATIANA KLEMPOVÁ², MILAN ČERTÍK², MARTINA HUDCOVICOVÁ¹,
JOZEF GUBIŠ¹, JÁN KRAIC¹

¹Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

²Slovenská technická univerzita v Bratislave

³Univerzita Konštantína filozofa v Nitre

Cereal grains are the major source of polysaccharides and proteins in human consumption, but there is a lack of polyunsaturated fatty acids. Wheat and barley plants producing unusual essential polyunsaturated fatty acid GLA and SDA were prepared using biolistic transformation of immature embryos. Transgenic plants were confirmed at genomic, transcriptomic and metabolomic level.

Keywords: barley, biolistic transformation, delta-6-desaturase (D6D), gamma-linolenic acid (GLA), wheat

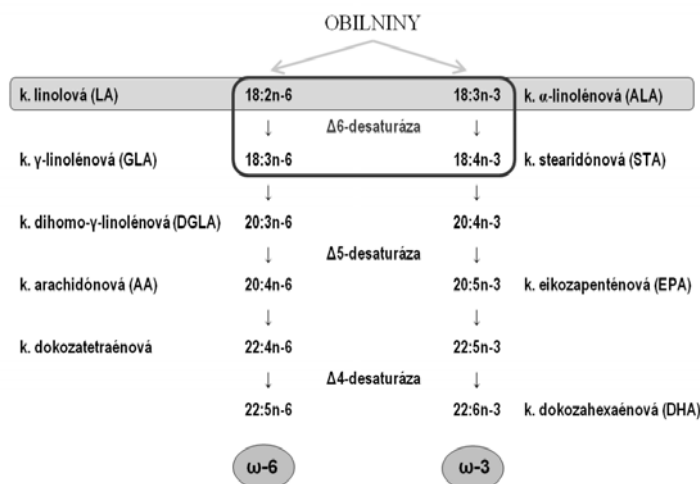
ÚVOD

Jačmeň (*Hordeum vulgare* L.) a pšenica (*Triticum aestivum* L.) patria k najpestovanejším obilninám v Európe. Využívané sú ako potravina a krmovina, jačmeň aj v sladovníctve a pivovarníctve. Ekonomický význam obilnín môže byť zvýšený introdukciou génov zlepšujúcich ich kvantitatívne a kvalitatívne ukazovatele, akými je napr. nutričná hodnota. Popri polysacharidoch, ktoré sú v obilnom zrne najviac zastúpené, sú významným zdrojom bielkovín, tuky sú však chudobné na polynenasýtené masné kyseliny. Zmeny v zložení masných kyselín nie je možné dosiahnuť klasickým šľachtením, genetická transformácia je však alternatívnym prístupom, ako tento cieľ dosiahnuť. Obilniny nie sú prirodzene schopné syntetizovať esenciálne masné kyseliny, semená však obsahujú substráty pre ich tvorbu.

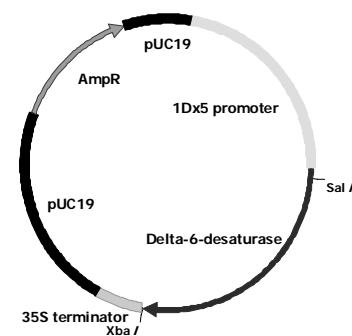
Cieľom práce bolo transformovať rastliny pšenice a jačmeňa génom pre enzým delta-6-desaturázu (D6D). Tento enzým zapojený v metabolizme masných kyselín sa zúčastňuje premeny kyseliny linolovej na kyselinu gama-linolénovú (GLA; skupina omega-6 masných kyselín) a kyseliny alfa-linolénovej na kyselinu stearidónovú (SDA; skupina omega-3 masných kyselín). Pozitívny účinok polynenasýtených masných kyselín na zdravie človeka bol popísaný v mnohých štúdiách. V klinických štúdiách mala GLA pozitívny vplyv napr. v liečbe reumatoidnej artritídy, atopického ekzému, astmy a iných zápalových ochorení, niektorých druhov rakoviny, diabetickej neuropatii, skleróze multiplex, hypertenzii a migréne. Prirodzene sa tieto polynenasýtené masné kyseliny vyskytujú v oleji morských rýb a živočíchov, produkujú ich niektoré vláknité huby, z rastlín však len niektoré agronomicky bezvýznamné druhy ako borák lekársky, hadinec, kostihoj a ríbezľa. Vzhľadom na zastúpenie obilnín v potrave človeka by mohli byť obilniny potenciálnym vhodným zdrojom polynenasýtených masných kyselín vo výžive človeka ako náhrada za nedostatočnú konzumáciu morských rýb.

MATERIÁL A METÓDY

V experimentoch boli použité nezrelé embryá jačmeňa siateho (genotyp Golden Promise) a pšenice letnej (genotypy Bobwhite, CY-45). Na genetickú transformáciu bola použitá génová puška PDS-1000/He (Biorad, USA). Na génovej puške boli nastavené požadované technické parametre optimalizované pre transformáciu cieľových rastlinných pletív. Na nastreľovanie boli použité zlaté častice veľkosti 1 µm, ktoré boli obalené plazmidmi pAHC 20 nesúci gén *bar* determinujúci rezistenciu k fosfotricínu a pLRPT nesúci syntetický gén záujmu *D6D* pod kontrolou endosperm-špecifického promotora z génu pre vysokomolekulárnu glutenínovú podjednotku 1Dx5. Regenerácia rastlín z transformovaných nezrelých štítkov prebiehala v podmienkach *in vitro* v nasledovných krokoch: 1. indukcia kalogenézy na modifikovaných živných médiách na báze MS s prídavkom rastového regulátora Dicamba v koncentrácii 2,5 mg l⁻¹ (pre jačmeň) alebo 2 mg l⁻¹ 2,4-D (pšenica), 2. indukcia regenerácie na modifikovanom MS médiu s prídavkom 2,5 mg l⁻¹ 2,4-D + 0,1 mg l⁻¹ BAP (jačmeň), resp. bez rastových regulátorov (pšenica), 3. Regenerácia rastlín na modifikovanom MS médiu bez rastových regulátorov a zakoreňovanie potenciálnych transformantov na modifikovanom MS médiu bez rastových regulátorov. Indukcia kalogenézy prebiehala v tme, ostatné fázy regenerácie v podmienkach kontinuálneho osvetlenia. Pre selekciu transformantov boli živné médiá v jednotlivých krokoch doplnené o fosfotricín v koncentrácii 1-5 mg l⁻¹ (jačmeň) alebo 5-10 mg l⁻¹ (pšenica). Prítomnosť transgénu bola analyzovaná na úrovni DNA metódou PCR pomocou primerov špecifických pre gén záujmu *D6D*, na úrovni RNA metódou reverznej PCR a na úrovni metabolitu analýzou masných kyselín v semene metódami plynovej chromatografie a hmotnostnej spektrofotometrie.



Obr. 1: Metabolizmus polynenasýtených mastných kyselín: obilniny nemajú enzým delta-6-desaturáza, preto zrno neobsahuje esenciálne mastné kyseliny GLA, SDA ani polynenasýtené mastné kyseliny s dlhším reťazcom.



Obr. 2: Plazmid pLRPT s vneseným génom pre delta-6-desaturázu pre genetickú transformáciu obilnín.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pre účely transformácie bol pripravený syntetický gén *D6D*. Výhodiskom bolo identifikovanie kódujúcej sekvencie *D6D* génu z vláknitej huby *Thamnidium elegans* (sekvencia bola depozitovaná v databáze GenBank pod číslom HM856138). Analýzou využiteľnosti kodónov, ich optimalizáciou pre obilniny a pripojením signálnej sekvencie z *Dx5* génu (za účelom nasmerovania fúzneho proteínu do endoplazmatického retikula, kde prebieha syntéza polynenasýtených mastných kyselín) bol pripravený syntetický gén *D6D* (GenBank, HM640246), ktorý bol vklonovaný do vektora s promotorom *Dx5*.

Po genetickej transformácii a *in vitro* regenerácii v prítomnosti selekčného činidla boli získané transgénné rastliny pšenice a jačmeňa produkujúce v zrne polynenasýtené mastné kyseliny GLA aj SDA. Celkovo sme získali 8 transgénných rastlín jačmeňa genotypu Golden Promise, 7 transgénných rastlín pšenice genotypu CY-45 a 1 transformant genotypu Bobwhite. Transgénný charakter rastlín bol potvrdený na úrovni DNA, RNA aj metabolitu - metódami plynovej chromatografie a hmotnostnej spektroskopie boli v semenách transgénného jačmeňa i pšenice dokázaná prítomnosť kyseliny gama-linolénovej aj kyseliny stearidónovej. Pri transgénných pšeniach bol pri 4 transformantoch genotypu CY-45 potvrdený prenos transgénu aj do T1 generácie.

ZÁVER

Genetickou transformáciou biolistickou metódou boli pripravené transgénné rastliny pšenice a jačmeňa produkujúce esenciálne polynenasýtené mastné kyseliny GLA a SDA, ktoré nie sú v obilnom zrne prirodzene prítomné. Treba podotknúť, že syntéza týchto mastných kyselín nebola dosiaľ pri pšenici ani jačmeni popísaná. Hoci zastúpenie sledovaných mastných kyselín bolo dosiaľ nízke, výsledky potvrdzujú, že vnesením génu pre enzým delta-6-desaturázu sú obilniny schopné ďalej metabolizovať substráty prítomné v zrne a syntetizovať tak esenciálne polynenasýtené mastné kyseliny majúce pozitívny účinok pre zdravie človeka.

Pod'akovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0294-11 a č. APVV-0662-11.

Adresa autorov:

Mgr. Daniel Mihálik, PhD.¹, Mgr. Marcela Gubišová^{1,3}, Mgr. Katarína Ondrejková¹, Mgr. Lenka Klčová^{1,3}, Ing. Tatiana Klemková², doc. Ing. Milan Čertík, PhD.², Mgr. Martina Hudcovicová, PhD.¹, Ing. Jozef Gubiš, PhD.¹, doc. RNDr. Ján Kraica, PhD.^{1,3}

¹Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany; e-mail: mihalik@vurv.sk

²Oddelenie biochemickej technológie, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava

³Fakulta prírodných vied, Univerzita Konštantína filozofa v Nitre, Nábřežie mládeže 91, 949 74 Nitra

PERSPEKTÍVY MAPOVANIA SLOVENSKEHO GENOFONDU DRUHOV RODU LÁSKAVEC (*AMARANTHUS SP.*) POLYMORFIZMOM EMZÝMOV

THE PERSPECTIVES OF MAPPING OF SLOVAK GENEPOOL OF AMARANTH SPECIES (*AMARANTHUS SP.*) BY ENZYME POLYMORPHISM

PAVOL MÚDRY¹, IVETA ČIČOVÁ²

¹Trnavská univerzita, Katedra biológie, Trnava

²Centrum výskumu rastlinnej výroby, Piešťany

Increasing demand for the proteomic study, breeding and practical utilization of amaranths led us to investigate a collection of forty genetic resources from Gene Bank of Plant Production Research Centre, Research Institute of Plant Production in Piešťany. For enzyme multiplicity of ACP, ADH, CAT, DIA, GLU, GOT, IDH, MDH, PGD, PGI and PGM methodology of horizontal starch gel analysis we have used. Our investigation confirmed monomorphism for ACP, DIA, GOT and PGD. The enzyme polymorphism was detected for ADH, IDH, PGI, PGM and MDH and decreased in order MDH > PGM > PGI > ADH and IDH. No enzymatic activity we have found for GLU in all seedling samples. Separation of CAT isoforms was not too unambiguous. We need devote further attention to this problem.

Key words: Amaranthus sp., isoenzymes, genetic resources, horizontal starch gel electrophoresis, molecular markers

ÚVOD

Jednou z poľnohospodársky nedocenených plodín alebo minoritných plodín je aj láskavec. Napriek tridsaťročnému intenzívnejšiemu výskumu láskavcov ich pozícia v pestovateľskej praxi nie je taká, akú by sme očakávali. I napriek pozitív, vrátane dietetických, popularita láskavcov nedosahuje popularitu tradične pestovaných plodín. So zvýšeným záujmom o výskum a pestovanie láskavca sa tvoril aj genofond odrôd druhov rodu láskavec aj na Slovensku. V súčasnosti v Génovej banke Centra výskumu rastlinnej výroby v Piešťanoch je sústredených a uchovávaných pre ďalšie generácie 91 odrôd láskavcov. Je to genofond, ktorý by mal byť využiteľný hlavne v šľachtení, vo výskume (základnom a aplikovanom) a vo výrobnnej praxi. Do akej miery budú naplnené tieto ciele, tak ako pri iných plodinách, rozhoduje množstvo informácií o každom genetickom zdroji. V súčasnosti obyčajne nie sú postačujúce iba morfológické a produkčné charakteristiky. Posledné desaťročia potvrdzujú, že úspešnosť šľachtienia a využívania nových odrôd závisí aj od poznania charakteristík získaných proteomickým, genomickým a metabolickým výskumom. Súčasťou proteomického výskumu je aj výskum multiplicity enzýmov, ktoré sú markermi ich štruktúrnych génov. Poznanie týchto molekulárno – biologických – biochemických a genetických markerov genotypovej identity, homogenity a čistoty odrody má uplatnenie hlavne v oblasti genetiky, šľachtienia a semenárstva.

Cieľom výskumu bolo: a) získať obraz o rozsahu diverzity zárodočnej plazmy časti genofonu láskavcov z Génovej banky na základe analýzy polymorfizmu enzýmov najčastejšie študovaných vo vzťahu k poľnohospodárskym plodinám, b) porovnať dosiahnuté výsledky s dosiahnutými výsledkami v zahraničí a c) vybrať enzýmy pre ďalšie analýzy celého genofonu láskavcov s najväčšou variabilitou v analyzovaných vzorkách s cieľom určenia zvláštnych polymorfnych lokusov využiteľných pre rôzne experimentálne ciele.

MATERIÁL A METÓDY

Experimentálnu prácu sme zrealizovali v roku 2012. Do analýz polymorfizmu enzýmov sme zaradili 40 genetických zdrojov láskavca z celkovej kolekcie 91 zdrojov z Génovej banky Centra výskumu rastlinnej výroby v Piešťanoch (garantom identity odrôd je Ing. Iveta Čičová, PhD.). Boli to nasledovné genetické zdroje: Ames 14356, Ames 14357, Ames 14358, Ames 22709, Amar – 2R – R – 158, ANNAPURNA, DAKOTA, FAKEL, GOLDEN, Green Thumb, KONIZ, LOVE – LIES – BLEEDING, Magic Fountains, MONTANA 3, Montana 5, Oeschberg, OLPIR, Pigmy Torch, PLAINSMAN, cv. RAWA, Velvet Curtains, 5 DF 106, 5 DF 115, 5 DF 118, 5 DF 120, DB 956, Pop 42, Pop 48, Pop 61, RRC 100 B, RRC 379, RRC 386, RRC 860, RRC 1008, RRC 1011, RRC 1012, RRC 1113, RRC 1027, RRC 1041 a RRC 1386. Analýzy polymorfizmu enzýmov sme uskutočnili na trojdňových klíčencoch láskavcov. Rast klíčencov prebiehal v termostate a analyzovaný bol polymorfizmus kyslej fosfatázy (ACP, E.C. 3.1.3.2), alkoholdehydrogenázy (ADH, E.C. 1.1.1.1), diaforázy (DIA, E.C. 1.6.99.2), β-glukozidázy (GLU, E.C. 3.2.1.21), glutamát-oxaloacetáttransaminázy (GOT, E.C. 2.6.1.1), izocitrátdehydrogenázy (IDH, E.C. 1.1.1.42), malátdehydrogenázy (MDH, E.C. 1.1.1.37), 6-fosfoglukonátdehydrogenázy (PGD, E.C. 1.1.1.44), fosfoglucoizomerázy (PGI, E.C. 5.3.1.9) a fosfoglukomutázy (PGM, E.C. 2.7.5.1). Pre porovnanie mobility zón enzymatickej aktivity láskavcov s mobilitou zón aktivity enzýmov časti koleoptily bol použitý extrakt z päťdňovej koleoptily dvojlíniového hybridu kukurice (Sc 3098 x 3150, Sempol Holding, Trnava, Slovenská republika) pestovanej za tých istých kultivačných podmienok. Podrobná a experimentálne nami overená metodológia horizontálnej elektroforézy na škrobovom géle je opísaná v prácach Múdry a Gajdošová 2009 a Múdry et al. 2011a. Metodológia je mierne modifikovaná metóda autorov Stuber et al. 1988.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

I napriek nedoceneniu druhov rodu *Amaranthus* sp., štúdium polymorfizmu enzýmov začalo ešte koncom sedemdesiatych rokov minulého storočia (Jain et al. 1980). Nasledujúce tri desaťročia bol výskum sporadický. Publikované práce sa prikláňali skôr k úzkej variabilite polymorfizmu analyzovaných enzýmov, čo sa potvrdilo aj nám pri analýzach s obmedzeným súborom analyzovaných odrôd (Múdry et al. 2011b,c). Nepotvrdila sa ani naša predstava o rozšírení variability polymorfizmu vybranej skupiny enzýmov prostredníctvom rádiomutagénu.

Z analýz polymorfizmu 11 druhov enzýmov v súbore 40 genetických zdrojov láskavca (z celkového súboru 91) vyplynuli nasledovné zistenia: a) vo vzorkách nebola zaznamenaná žiadna aktivita GLU, b) genetické zdroje boli monomorfné v ACP, DIA, GOT a PGD, c) polymorfizmus sme zaznamenali pre ADH (dva fenotypy, A fenotyp – 37 genetických zdrojov, B fenotyp 3 genetické zdroje), IDH (dva fenotypy, A – 2, B – 38), MDH (A – 1, B – 33, C – 1, D – 1, E – 4), PGI (tri fenotypy, A – 2, B – 35, C – 3) a PGM (štyri fenotypy, A – 5, B – 15, C – 19 a D – 1 genetický zdroj), d) najväčšiu polymorfnosť sme zaznamenali pre MDH a potom klesala v poradí PGM > PGI > ADH a IDH a e) analýzam polymorfizmu CAT pre ťažšiu separáciu budeme musieť ešte venovať zvýšenú analytickú pozornosť. Výsledky do značnej miery korešponujú s výsledkami publikovanými vo vedeckej literatúre, i keď v analyzovanom súbore sme nezaznamenali všetky publikované varianty polymorfizmu študovaných enzýmov. Celková variabilita polymorfizmu enzýmov bude známa až po analýze celého genofondu láskavcov.

ZÁVER

Na základe analýz polymorfizmu enzýmov časti genetických zdrojov láskavca sme zistili, že enzým GLU nevykazoval v analyzovaných vzorkách kľúčovú detekovateľnú aktivitu, enzýmy ACP, DIA, GOT a PGD boli monomorfné. Polymorfia bola zaznamenaná pre ADH, IDH, MDH, PGI a PGM. Výsledky sú v súlade s publikovanými vo vedeckej literatúre. Problematickejšia je analýza polymorfizmu enzýmov CAT, ktorá zatiaľ nebola publikovaná, a ktorej ešte budeme musieť venovať zvýšenú analytickú a interpretačnú pozornosť. Celková variabilita polymorfizmu enzýmov bude známa až po analýze celého genofondu láskavcov. Potom bude možné definitívne vyhodnotiť a posúdiť využitie polymorfizmu enzýmov pre výskumné a praktické ciele.

Pod'akovanie: Výskum bol podporený Vedeckou grantovou agentúrou MŠ SR a Slovenskou akadémiou vied VEGA (projekt č. 2/0109/09).

LITERATÚRA

- JAIN, S.K. - WU, L. - VAIDYA, K.R. 1980. Levels of morphological and allozyme variation in Indian amaranths: a striking contrast. In *The Journal of Heredity*, vol. 71, 1980, no. 4, pp. 283-285.
- MÚDRY, P. - GAJDOŠOVÁ, A. 2009. Metodológia analýzy polymorfizmu enzýmov druhov rodu láskavec (*Amaranthus* sp. L.) pre účely genetiky, šľachtienia a semenárstva. In *Zb. zo 16. vedeckej konferencie, Centrum výskumu rastlinnej výroby, Piešťany, 2009*, pp. 27-30, ISBN 978-80-89417-04-09.
- MÚDRY, P. – HRICOVÁ, A. – LIBIAKOVÁ, G. - GAJDOŠOVÁ, A. 2011a. Methodological approaches to simple enzyme polymorphism analyses of amaranth species (*Amaranthus* sp.). In *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, vol. 57, 2011, no. 1, pp. 1-11. DOI: 10.2478/v10207-011-0001-4.
- MÚDRY, P. – CHALÁNYOVÁ, M. – ČIČOVÁ, I. – HRICOVÁ, A. 2011b. Analýza polymorfizmu enzýmov ekonomicky významných druhov láskavca (*Amaranthus* sp.). In *Zborník z 18. Medzinárodnej vedeckej konferencie, Nové poznatky z genetiky a šľachtienia poľnohospodárskych rastlín, CVRV Piešťany, 2011*, s. 149-151. ISBN 978-80-89417-29-2.
- MÚDRY, P. – CHALÁNYOVÁ, M. – ČIČOVÁ, I. – HRICOVÁ, A. 2011c. Analysis of enzymes polymorphism in economically important species of amaranth (*Amaranthus* sp.). In *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, vol. 57, 2011, abstract.
- STUBER, C.W. - WENDEL, J.F. - GOODMAN, M.M. - SMITH, J.S.C. 1988. Techniques and Scoring Procedures for Starch Gel Electrophoresis of Enzymes from Maize (*Zea mays* L.). In *Technical Bulletin*, 1988, North Carolina Agric. Res. Service, North Carolina State University, Raleigh, no. 286, pp. 1-87.

Adresa pracoviska: RNDr. Pavol Múdry, CSc., Trnavská univerzita, Pedagogická fakulta, Katedra biológie, Priemyselná 4, P.O. Box č. 9, 918 43 Trnava, E-mail: pmudry@truni.sk, Ing. Iveta Čičová, PhD., Centrum výskumu rastlinnej výroby, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, E-mail: cicova@vurv.sk

KOMPOZÍCIA HMW GLUTENÍNŮV DIHAPLOIDNÝCH LÍNIÍ PŠENICE LETNEJ

HMW GLUTENIN COMPOSITION IN WHEAT DOUBLED HAPLOID LINES

DARINA MUCHOVÁ¹, MÁRIA LICHVÁROVÁ¹, EDITA GREGOVÁ¹, JÁNOS PAUK²,
CSABA LANTOS², STANISLAVA VELIČKOVÁ¹

¹Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

²Cereal Research Non-profit Company, Szeged

This work was focused on the detection of storage protein composition of 71 doubled haploid lines of bread wheat in order to identify carrying promising alleles for the improvement of bread making quality. Four combinations of the candidate winter wheat genotypes (Azzuro/Bohemia, Bazilika/Isidor, Haldor/Isidor and Hamac/Bohemia) were used for doubled haploid plant production by anther culture. The regenerated DH lines having enough seeds were selected to test their high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) using SDS-PAGE. In the following step the genotypes with the best composition of seed storage proteins were selected for the seed propagation and testing in the breeding nurseries for other desired agronomic characteristics.

Key words: wheat breeding, double haploid lines, bread-making quality, glutenins

ÚVOD

Zavádzanie inováčných technológií (*in vitro* androgenéza, bielkovinové markery) do procesu šľachtenia pšenice umožňuje vytvoriť zdravé, úrodné a vysoko kvalitné odrody v časovom horizonte minimálne o 3 – 4 roky kratšom v porovnaní s klasickým šľachtením využívajúcim konvenčné postupy.

In vitro androgenéza v peľnicových kultúrach predstavuje vysoko efektívny systém získania homozygotných línií v priebehu jednej generácie. Aj keď je metóda využívaná v šľachtiteľských programoch, stále je nevyhnutné zdokonaľovať túto techniku, keďže mnohé agronomicky významné odrody pšenice majú nízku alebo žiadnu odozvu na androgénnu indukciu (Soriano et al. 2008).

Zásobné bielkoviny zrna pšenice (gliadíny a gluteníny) môžu slúžiť ako genetické bielkovinové markery pre identifikáciu genotypov aj pre stanovenie ich homogenity, keďže sú geneticky determinované určitými lokusmi a sú polymorfné. Pri pozitívnom výbere genotypov, zameranom na pekársku akosť, sa vychádza z poznatkov viacerých autorov, ktorí uvádzajú, že podjednotky 1 a 2* lokusu *Glu-A1* majú signifikantne väčší vplyv na všetky parametre kvality než podjednotka 0. Pozitívny vplyv na pekársku kvalitu majú aj alely lokusu *Glu-1B* 7+8, 17+18, 13+16 a o niečo nižšie alely 7+9. Kľúčovú úlohu spomedzi glutenínov s vysokou molekulovou hmotnosťou (HMW-GS) zohrávajú tie, ktoré sú kódované alelami lokusu *Glu-1D* 5+10. Pekársku akosť zrna predikuje bodové hodnotenie - Glu-skóre, ktorého najvyššia hodnota môže byť 10.

Cieľom práce bolo vytvoriť nové genotypy pšenice letnej f. ozimnej s potravinárskou kvalitou v skrátanom šľachtiteľskom cykle využitím techniky peľnicových kultúr a selekciou dihaploidných línií na základe profilu HMW-GS.

MATERIÁL A METÓDY

Donorové rastliny pre tvorbu dihaploidných línií boli dopestované z osiva 4 hybridných kombinácií F₁ generácie, pochádzajúcich z VŠS Malý Šariš z r. 2007 (Azzuro/Bohemia, Bazilika/Isidor, Haldor/Isidor, Hamac/Bohemia). DH línie boli vytvorené indukciou androgenézy cez peľnicové kultúry podľa Pauk et al. (2003) v GK Szeged.

Regenerované DH línie sme analyzovali na zastúpenie HMW-GS pomocou polyakrylamidovej gélovej elektroforézy v prítomnosti dodecylsulfátu sodného (SDS-PAGE) vo VÚRV Piešťany. Z každej DH línie bolo analyzovaných 5 zrn. Bodová hodnota alel pre HMW-GS (Glu-skóre) bola stanovená podľa publikovaných výsledkov (Payne a Lawrence, 1983). Na základe analýz profilov HMW-GS boli DH línie následne selektované, s dôrazom na výber tých línií, ktoré vlastnia alely predikujúce dobrú pekársku akosť.

Vybrané DH línie boli v r. 2010-2012 premnožené a zároveň testované v šľachtiteľských škôlkach z hľadiska ďalších agronomicky dôležitých znakov a vlastností ako aj dosiahnutých parametrov pekárskej akosti.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pre tvorbu DH línií boli vybrané 4 hybridné kombinácie, v ktorých aspoň jeden z rodičov bol nositeľom priaznivých génov z hľadiska potravinárskej kvality, pričom druhý rodič bol spravidla donorom iných agronomicky cenných vlastností. Celkom bolo vytvorených 71 DH línií, pričom najvyššia efektivita produkcie dihaploidov bola dosiahnutá v kombinácii Hamac/Bohemia, kde bolo získaných až 25 dihaploidov. Rozdielnu mieru efektivity môžeme v zhode s autormi Pauk et al. (2003) pripísať hlavne genotypovej diferencii v rezpozibilitě na techniku peľnicových kultúr.

Identifikácia genotypov na základe prítomnosti špecifických bielkovín umožnila klasifikáciu DH línií v rámci jednotlivých kombinácií do 1-6 rozdielnych kategórií v závislosti na tom, ako veľmi boli v glutenínovom zložení diverzifikované ich rodičovské komponenty.

Na lokuse *Glu-1A* bola nulová alela zistená v 66 %. Podľa Witkowski et al. (2008) táto alela, aj keď má negatívny vplyv na pekársku akosť pšenice, prevláda nad kódujúcimi alelami lokusu *Glu-1A* v odrodách pšenice letnej f. ozimnej vyšľachtených v oblasti strednej a západnej Európy s chladnejšími klimatickými podmienkami, pretože je markerom dobrej zimovzdornosti. V súvislosti s otepľovaním a miernejšími zimami je možné predpokladať aj v odrodách stredoeurópskej proveniencie väčšie uplatnenie alel kódujúcich podjednotky 1 a 2*, ktoré sú zase markermi dobrej pekárskej akosti. V hodnotenom súbore DH línií boli alely kódujúce podjednotky 1 a 2* zaznamenané len v 34 % a to v dôsledku nižšieho podielu týchto podjednotiek vo východiskových materiáloch (Azzuro, Isidor).

Na lokuse *Glu-1B* bola alela 17+18 zistená až v 73,2 % s pozitívnym vplyvom na pekársku kvalitu.

Na lokuse *Glu-1D* boli alely kódujúce HMW-GS 5+10 zaznamenané v 56 DH líniách (78,9 %). Kolster et al. (1991) práve tento pár považujú za kľúčový z hľadiska pekárskej akosti pšeničného zrna. Iba za jeho prítomnosti majú podjednotky 1 a 2*, resp. 7+8, 7+9 a 17+18 pozitívnejší vplyv na kvalitu v porovnaní s ostatnými HMW-GS lokusov Glu-1A, resp. Glu-1B.

Hybridná kombinácia Azzuro/Bohemia obsahovala až 3 línie ktoré mali priaznivejšiu kombináciu glutenínových alel ako rodičovské komponenty. Jedna DH línia z tejto kombinácie dosahovala maximálnu hodnotu Glu skóre 10.

ZÁVER

Tvorba dihaploidných línií pšenice letnej spolu s využitím metód identifikácie ich genetického pozadia na základe profilu zásobných bielkovín môže významne prispieť k zvýšeniu homozygotnosti línií ako aj k skráteniu samotného procesu vyšľachtienia nových odrôd.

Pod'akovanie: *Tato štúdia vznikla vďaka podpore v rámci Operačného Programu Výskum a vývoj pre projekt: Vývoj nových typov rastlín s geneticky upravenými znakmi hospodárskeho významu ITMS: 26220220027, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja.*

LITERATÚRA

- KOLSTER P. – VAN EEUWIJK, F. A. – VAN GELDER, W. M. J. 1991. Additive and epistatic effects of allelic variation at the high molecular weight glutenin subunit loci in determining the bread-making quality of breeding lines of wheat. In *Euphytica*, vol. 55, 1991, pp. 227-285.
- PAUK, J. – MIHÁLI, R. – PUOLIMATKA, H. 2003. Protocol of wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. In *Double haploid production in crop plants*. Maluszynski et al.(Ed.) Kluwer academic publishers, Dordrecht, 2003, pp. 59-64.
- PAYNE, P. I. – LAWRENCE, G. A. 1983. Catalogue of alleles for the complex gene loci, Glu-A1, Glu-B1, and Glu-D1, which code for high-molecular-weight subunits of glutenin in hexaploid wheat. In: *Cereal Res. Commun.*, vol. 11, 1983, pp. 29-34.
- SORIANO, M. – CASTILLO, A. M. – CISTUÉ, L. 2008. Enhanced induction of microspore embryogenesis after n-butanol treatment in wheat (*Triticum aestivum* L.) anther culture. In *Plant Cell Reports*, vol. 27, 2008, pp. 805–811.
- WITKOWSKI, E. – WAGA, J. – WITKOWSKA, K. – RAPACZ, M. – GUT, M. – BIELAWSKA, A. – LUBER, H. – LUKASZEWSKI, A. J. 2008. Association between frost tolerance and alleles of high molecular weight glutenin subunits present in Polish winter wheats. In *Euphytica*, vol. 159, 2008, pp. 377–384.

Adresy autorov:

RNDr. Darina Muchová, Ing. Mária Lichvárová, Ing. Stanislava Veličková, PhD., CVRV Piešťany - VŠS Malý Šariš, 080 01 Prešov, muchova@vurv.sk, lichvarova@vurv.sk, velickova@vurv.sk
 Ing. Edita Gregová, PhD., CVRV Piešťany - VÚRV Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany, gregova@vurv.sk
 János PAUK, D.Sc., Csaba LANTOS, Ph.D., Cereal Research Non-profit Company, 6726 Szeged, Alsó kikötő sor 9., Maďarsko, janos.pauk@gk-szeged.hu, csaba.lantos@gabonakutato.hu

ŠLECHTĚNÍ CHMELE (*Humulus lupulus* L.) NA NÍZKÉ KONSTRUKCE HOP (*Humulus lupulus* L.) BREEDING AIMED AT DWARF HOPS

VLADIMÍR NESVADBA, ALENA HENYCHOVÁ, ZDĚNKA POLONČÍKOVÁ,
JOSEF JEŽEK

Chmelařský institut, s.r.o. Žatec

In 2011 many crossings were carried out with the goal to obtain new perspective genotypes suitable for hop cultivation in low trellises. Totally twenty-three thousands of new genotypes having their origin in Czech and English hop breeding material were assessed. PG/2/8 genotype shows the highest yield (3.52 kg of fresh hops/plant). Genotype 37/22/1 has the highest content of alpha acids (15.48% w.w.). Perspective genotypes were selected on the base of many assessments. They will be planted in an experimental hop garden in 2012. DNA analyses have been started.

Key words: hop, Humulus lupulus L., hop varieties, low trellises, dwarf hops, essential oils, breeding, perspective genotypes.

ÚVOD

Šlechtění chmele v České republice bylo založeno na klonové selekci, jejímž cílem bylo zušlechťování Žateckého poloraného červeňáku. Chmel obsahuje řadu významných látek pro pivovarské, farmaceutické a biomedicínské využití (De Keukeliere et al., 2003; Pšenáková a kol., 2010). V posledních letech dochází k velkým technologickým změnám, od roku 2008 začíná využívat nová technologie pěstování chmele na nízkých konstrukcích. Klasická technologie využívá konstrukce pro pěstování chmele vysoké 7 m, zatímco nová technologie je založena na systému pěstování chmele na konstrukcích vysokých pouze 3 m. Tato změna výrazně snižuje potřebu sezónní lidské práce a spotřebu pesticidů v ochraně proti chorobám a škůdcům. Hlavní důvod, proč nejsou v ČR vhodné odrůdy pro tento způsob pěstování registrovány je ten, že dosud nikdo v Evropě, s výjimkou Velké Británie (Glendinning, 2009), nepovažoval tuto technologii za perspektivní. Až problémy s dostupností sezónních pracovních sil a vysoké finanční náklady na lidskou práci nutí i naše pěstitele chmele přecházet postupně na systém pěstování chmele na nízkých konstrukcích. Tento, pro nás dosud netradiční, způsob pěstování má své začátky ve Velké Británii, kde se chmel na nízkých konstrukcích běžně pěstuje již od poloviny devadesátých let. Právě zde mají největší zkušenosti se šlechtěním nových odrůd chmele vhodných pro nízké konstrukce (Nesvadba, V. a kol., 2011). Z tohoto důvodu byl navázán kontakt na anglické pracoviště, kde se specializují na šlechtění odrůd vhodných pro pěstování na nízkých konstrukcích. Na základě této spolupráce je možné výrazně urychlit šlechtění nových českých odrůd chmele vhodných pro pěstování na nízkých konstrukcích v podmínkách ČR. Lze předpokládat, že po ukončení projektu Eureka (2014) budou vybrány perspektivní genotypy do registračních pokusů.

METODIKA

V roce 2010 byla v Anglii realizována křížení (H19, 20, 21, 22), z kterých bylo získáno cca 19 000 semen. Pro křížení byla vybrána jako samičí rostlina česká jemná aromatická odrůda Osvaldův klon 31, k opylení byly použity anglické samčí rostliny z kolekce unikátního genofondu zakrslých chmelů. Pro křížení, které bylo realizováno v České republice byly z šlechtitelské kolekce vybrány 4 matečné rostliny, které vykazovaly vlastnosti zakrslého chmele (H14, 15, 16, 18). Z volného opylení bylo získáno 3800 semen. První hodnocení rostlin bylo uskutečněno v roce 2011. U všech rostlin byly sledovány kvalitativní znaky, na základě kterých byla provedena následná selekce rostlin, s cílem získat novošlechtění, které by odpovídalo požadavkům pro pěstování na nízkých konstrukcích. Hlavní důraz byl kladen na délku internodií, na délku a postavení plodonosných pazochů, vzrůst a odolnost vůči chorobám (Darby, 2001). Z celkového souboru bylo pro další sledování vybráno 114 novošlechtění. U těchto novošlechtění byly následně provedeny předsklizňové popisy, byla hodnocena barva révy, počet rév, délka a postavení plodonosných pazochů, velikost hlávek a odolnost vůči chorobám a škůdcům chmele. U vybraných nadějných genotypů byla provedena ruční sklizeň a stanoven výnos na rostlinu. U všech sklizených vzorků byla provedena chemická analýza chmelových pryskyřic kapalinovou chromatografií (metoda HPLC, EBC 7.7), chmelových silic plynovou chromatografií.

VÝSLEDKY

Prvními výběrovými kritérii genotypů pro nízké konstrukce jsou - vzdálenost internodií (max. do 20 cm), výška rostliny (max. 3,5 m) a nízké nasazení chmelových hlávek. Tyto genotypy jsou dále hodnoceny z hlediska odolnosti k houbovým chorobám. Nejlépe hodnocené genotypy byly sklizeny, byl u nich stanoven výnos chmele v kg čerstvého chmele na rostlinu, provedeny chemické analýzy chmelových hlávek a organoleptická hodnocení (bonitace) chmele. V tabulce 1 jsou uvedeny perspektivní genotypy. Nejlepší genotyp PG/2/8 vykazuje 3,52 kg čerstvého chmele na rostlinu. Při sponu 0,75 x 3,0 m a přepočtu koeficientu sušiny 4 vykazuje tento genotyp potenciální výnos 3,85 t suchého chmele z hektaru. Jedná se o velmi vysoký potenciální výnos, ale i ostatní genotypy MA/2/21 a 38/16/1 vykazují potenciální výnos suchého chmele na úrovni 2,4 t/ha resp. 2,2 t/ha. V rámci sledovaného souboru vykazuje řada genotypů i vyšší obsah alfa kyselin. Obsah alfa kyselin nad 15 %

vykazujú dva genotypy, vzhľadom k nízkému výnosu nelze tyto genotypy považovať za perspektívni. Velký důraz při výběru je kladen na genotypy s nízkým poměrem alfa a beta kyselín, což charakterizuje aromatické chmele. Je zajímavé, že tyto genotypy jsou charakteristické širokou variabilitou podílu kohumulonu.

Tabulka 1: Perspektivní genotypy chmele pro nízké konstrukce

Genotyp			Výnos (kg/rostl.)	Alfa kys. (% hm.)	Beta kys. (% hm.)	Poměr alfa/beta	Kohumulon (% rel.)
H	R	P					
PG	2	8	3,52	6,47	3,89	1,7	23,3
MA	2	21	2,20	7,70	4,24	1,8	29,7
38	16	1	2,00	10,81	5,49	2,0	30,6
37	22	1	0,52	15,48	4,83	3,2	22,7
37	22	2	0,89	15,06	5,01	3,0	30,0
37	23	4	0,80	13,48	4,78	2,8	37,8
PG	3	7	1,20	5,90	5,98	1,0	26,2
38	9	1	1,02	8,09	7,45	1,1	28,8
39	30	1	1,53	7,03	6,37	1,1	26,0
39	33	6	0,92	7,29	6,52	1,1	18,9

ZÁVĚR

Na základě hodnocení pro další sledování bylo vybráno 6 nadějných genotypů, které budou v roce 2012 namnoženy a vysazeny do šlechtitelských porostů. Všechny nadějně genotypy byly získány z potomstva H38, dva z nich vykazují vysoký výnos (2 kg čerstvého chmele z rostliny), který je na úrovni 2,5 t/ha. Současně byly pro tento projekt vysazeny i semenáče ze společného křížení s Anglií, které vykazují v anglických podmínkách vyšší citlivost k peronospore chmelové. Vzhledem k jiným klimatickým podmínkám v České republice lze předpokládat, že tyto citlivé genotypy budou v našich podmínkách vykazovat nižší napadení peronosporou chmelovou a některé z nich budou vybrány do registračního řízení ÚKZÚZ. Dílčí výsledky poukazují, že se daří plnit zadané cíle projektu Eureka a tím, lze předpokládat, že i v České republice budou registrovány zakrslé odrůdy chmele pro pěstování na nízkých konstrukcích.

Poděkování: Tento příspěvek byl zpracován v rámci výzkumného projektu EUREKA LF 11008 „Výšlechtění jemných aromatických odrůd českého a anglického chmele vhodných pro pěstování na nízkých konstrukcích s celosvětovým uplatněním při výrobě kvalitního piva“, které podporuje MŠMT ČR.

LITERATURA

- DARBY P.; 2001: Single gene trails in hop breeding. International Hop Growers Convention, Proceedings of the Scientific Commission, Canterbury, Kent, England, 5 - 7 Auguste 2001: 76 – 80.
- DE KEUKELEIRE, J. – OOMS, G. – HEYERICK, A. – VAN BOCKSTAELE, E. (2003): Formation and accumulation of alpha acids, beta acids, desmethylxanthohumol and xanthohumol during flowering of hops (*Humulus lupulus* L.). In: J. Agric. Food Chem., vol. 51, 2003, pp. 4436–4441.
- GLENDINNING, P., 2009: Současný stav pěstování chmele na nízké konstrukci ve Velké Británii. Chmelařství, 2009, roč. 82, č. 5-6, s. 46-47.
- NESVADBA V., KROFTA K., POLONČÍKOVÁ Z.: New knowledge in czech hop breeding. International hop growers convention „Proceedings of the Scientific Commission, 19 – 23 June 2011, Lublin, Poland, 15-18.
- PŠENÁKOVÁ, I. FARAGÓ, J., NESVADBA, V., KROFTA, K.: Polyphenol and flavonoid contents in genetic resources and wild type plants of hop (*Humulus lupulus* L.). In: Book of Abstracts from International conference Applied Natural Sciences 2011, Častá – Papiernička, 5.-7. October 2011, p. 94.

Adresa autorů:

Ing. Vladimír Nesvadba, PhD., Bc. Zdenka Polončíková, Bc. Alena Henychová, Ing. Josef Ježek, Chmelařský institut s.r.o., Kadaňská 2525, 438 01 Žatec, Česká republika. Email: nesvadba@chizatec.cz

PRIESKUM VÝSKYTU LISTOVÝCH PATOGENOV PŠENICE OZIMNEJ NA SLOVENSKU

SURVEY OF WINTER WHEAT LEAF SPOT PATHOGENS IN THE SLOVAKIA

MARTIN PASTIRČÁK

Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

*In 2011, the occurrence of microscopic fungi on winter wheat (*Triticum aestivum*) leaves in Slovakia was monitored. The samples were collected from different localities in north-eastern part of Slovakia. Spectrum of fungal pathogens was determined by using the microscopic methods. Mycoflora of wheat contained parasitic and saprophytic fungal genera. The major components of the leaf spot disease complex were two fungi: *Pyrenophora tritici-repentis* and *Phaeosphaeria nodorum*. All three species of genus *Septoria* were found on wheat leaves. Fifteen fungal species were found to be associated with host leaves. The causative fungi of leaf spot diseases on winter wheat were isolated and identified as *Phaeosphaeria nodorum* (*Stagonospora nodorum*), *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) and *Pyrenophora tritici-repentis*. The group of fungal saprophytes as *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp. and *Epicoccum purpurascens* were also isolated.*

Key words: biodiversity, pathogenic fungi, Triticum, leaf spot diseases

ÚVOD

Choroby listov pšenice = listové škvrnitosti sú spôsobované širokým spektrom parazitických húb. Na Slovensku nie sú doposiaľ dostatočne publikované informácie o závažnosti výskytu parazitických mikroskopických húb spôsobujúcich listové škvrnitosti, ani čo sa týka ich rozšírenia na území v rôznych regiónoch v závislosti od jednotlivých vegetačných období. Z územia Slovenska existuje niekoľko štúdií, ktoré sa venujú biológii húb spôsobujúcich listové ochorenia. Pomerne široká pozornosť sa venuje biológii pôvodcov listových škvrnitosti na pšenici ozimnej na Slovensku a to štúdiu populácii múčnatky trávovej (Mikulová et al., 2008), hrdzi trávovej (Masár et al., 2009) alebo metódam na molekulárnu detekciu húb rodu *Stagonospora/Septoria* (Gubiš et al., 2005).

Cieľom tohto príspevku je sumárne spracovať spektrum prirodzenej mykoflóry listov ozimnej pšenice (*Triticum aestivum* L.) na základe výsledkov z mykologických analýz infikovaných rastlín na území Slovenska.

MATERIÁL A METÓDY

Na štúdium mikroskopických húb nekulturnými metódami sme použili rastlinný materiál (listy) z produkčných plôch pšenice ozimnej (*Triticum aestivum*) na severovýchode Slovenska v roku 2011. Mikroskopické huby sme determinovali priamo na listoch pomocou štandardnej svetelnej mikroskopie (OLYMPUS BX51, OLYMPUS SZ61) na základe makroskopických a mikroskopických charakteristík s použitím manuálov v súčasnosti používaných pre identifikáciu mikroskopických húb (Kiffer, Morelet, 2000) – rod *Phaeosphaeria* (Sivanesan, 1984), rod *Septoria* (Teterevnikova-Babajan, 1987), *Mycosphaerella* (Tomilin, 1979) a rod *Colletotrichum* (Sutton, 1980). Identifikované druhy mikroskopických húb boli uložené do fytopatologického herbára VÚRV Piešťany pre účely ďalšieho mykologického výskumu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výskyt mikroskopických húb na listoch pšenice sme sledovali na vybraných 10 lokalitách severovýchodného Slovenska (Prešovský kraj). Spektrum zistených druhov mikroskopických húb je uvedený v tabuľke 1. Na všetkých študovaných lokalitách sme zaznamenali výskyt hrdze *Puccinia recondita*, ktorá je jedným z najvýznamnejších patogénov na Slovensku, ale aj vo svete (Roelfs et al., 1992). Druhou najčastejšie identifikovanou skupinou patogénov boli huby rodu *Septoria* (syn. *Stagonospora*), v zastúpení druhov *Septoria tritici*, *Septoria nodorum* a *Septoria avenae* f.sp. *triticea*, a ich teleomorfných štádií z rodu *Phaeosphaeria* (syn. *Leptosphaeria*) – *Phaeosphaeria nodorum* a *Leptosphaeria avenaria* f.sp. *triticea*. Tieto dve najčastejšie zaznamenané skupiny patogénnych druhov húb boli doplnené na niektorých lokalitách aj hubami *Drechslera tritici-repentis*, *Pyrenophora tritici-repentis* a *Ascochyta* anamorfné štádium *Didymella exitialis*. Zo skupiny saprofytických húb sme zaznamenali výskyt *Alternaria* sp., *Papularia* sp., *Colletotrichum* sp., *Cladosporium* sp. a *Epicoccum purpurascens*. Spektrum listových patogénov vyskytujúcich sa na východnom Slovensku je veľmi podobné svojim zložením najvýznamnejších patogénov ako aj v iných krajinách (Šárová et al., 2003; Scott, 1988).

Tabuľka 1. Zoznam mikroskopických húb identifikovaných na listoch pšenice ozimnej na vybraných lokalitách severovýchodného Slovenska (zoznam lokalít: 1 – Giraltovce, 2 – Tulčík, 3 – Víťaz, 4 – Víťazovce, 5 – Lada, 6 – Kuková, 7 – Železník, 8 – Drienovská Nová Ves, 9 – Vranov nad Topľou, 10 – Fulianka).

Rod a druh	Lokalita									
	1 ^a	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>Puccinia recondita</i>	x	x	x	x	x		x	x	x	x
<i>Sphaerellopsis filum</i>	x				x				x	
<i>Phaeosphaeria nodorum</i>	x	x	x		x		x			
<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	x				x					
<i>Septoria avenae</i> f.sp. <i>triticea</i>	x		x	x	x	x				x
<i>Stagonospora nodorum</i>	x	x	x	x						
<i>Septoria tritici</i>	x	x	x			x	x	x	x	
<i>Cladosporium</i> sp.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Epicoccum purpurascens</i>	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Leptosphaeria herpotrichoides</i>		x								
<i>Drechslera tritici-repentis</i>			x		x		x	x		
<i>Ascochyta štádium Didymella exitialis</i>	x							x		
<i>Leptosphaeria avenaria</i> f.sp. <i>triticea</i>	x			x		x				x
<i>Papularia</i> sp.	x									
<i>Colletotrichum</i> sp.				x						

ZÁVER

Nekultivačnými mykologickými metódami sme charakterizovali druhové spektrum húb spôsobujúcich listové škvrnitosti ozimnej pšenice na vybraných lokalitách severovýchodného Slovenska. Identifikované mikroskopické huby patrili medzi druhy parazitické a v menšej miere sme identifikovali aj druhy saprofytické. Hlavná časť komplexu listových patogénov pozostávala z húb rodu *Puccinia*, *Stagonospora/Septoria* a *Drechslera*, ktoré sú často spájané s tvorbou listových škvrnitosti.

Podakovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy číslo SK-BG-0016-10 „Biodiverzita húb spôsobujúcich listové škvrnitosti pšenice na území Európskej únie“.

LITERATÚRA

- GUBIŠ, J. – HUDCOVICOVÁ, M. – ŠLIKOVÁ, S. – VANČO, B., 2005: Molecular detection of *Stagonospora nodorum* and *Septoria tritici* – causal agents of septoria leaf spot diseases in wheat. *Biologia*, Bratislava, 60/6: 681-684.
- KIFFER, E. – MORELET, M., 2000: The Deuteromycetes. Mitosporic fungi, classification and genera keys. Science Publishers Inc.
- MASÁR, Š. – HUDCOVICOVÁ, M. – GUBIŠ, J., 2009: Detection of 2NS fragment from *Triticum ventricosum* (Tausch) Ces. et al., and its effect on the resistance to wheat leaf rust (*Puccinia triticina* Eriks.). *Agriculture (Poľnohospodárstvo)*, 55 (4): 183-188.
- MIKULOVÁ, K. – BOJNANSKÁ, K. – ČERVENÁ, V., 2008: Assessment of partial resistance to powdery mildew in hexaploid wheat genotypes. *Biologia*, Bratislava, 63/4: 477-481.
- ROELFS, A.P. – SINGH, R.P. – SAARI, E.E., 1992: Rust Diseases of Wheat: Concepts and methods of disease management. Mexico, D.F.: CIMMYT. 81 pp.
- SCOTT, D.B., 1988: Leaf spot diseases on small grain cereals in south Africa: symptoms and causative fungi. *Phytophylactica* 20: 77-81.
- SUTTON, B.C., 1980: The Coelomycetes. Fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata. CMI, Kew.
- SIVANESAN, A., 1984: The bitunicate Ascomycetes and their anamorphs. J. Cramer, Vaduz.
- ŠÁROVÁ, J. – HANZALOVÁ, A. – BARTOŠ, P., 2003: Incidence of wheat leaf spot pathogens in the Czech Republic. *Cereal Research Communications*, 31: 145-151.
- TETEREVNIKOVA-BABAĀAN, D.N. (1987) Fungi of genus *Septoria* in USSR. AN Arm.SSR, Erevan.
- TOMILIN, B.A., 1979: Key to fungi of the genus *Mycosphaerella* Johans. Nauka.

Adresa autora:

Mgr. Martin Pastirčák, PhD., Centrum výskumu rastlinnej Piešťany, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany; e-mail. pastircak@vurv.sk, uefemapa@hotmail.com.

GENETICKÁ A CHEMICKÁ VARIABILITA KULTÚRNYCH A DIVORASTÚCICH CHMEĽOV

THE GENETIC AND CHEMICAL VARIABILITY OF COMMERCIAL CULTIVARS AND WILD TYPE HOPS

IVANA PŠENÁKOVÁ¹, JURAJ FARAGÓ¹, LENKA ZACHAROVÁ¹,
VLADIMÍR NESVADBA², ALENA HENYCHOVÁ²

¹Univerzita sv. Cyrila a Metoda v Trnave

²Chmelařský institut, s.r.o. Žatec

In our work we determined that the content of polyphenolic compounds is higher in cultivated varieties. The content of polyphenolic compounds among wild genotypes ranged from $11,99 \pm 1,49$ mg/g d.w. to $22,49 \pm 0,34$ mg/g d.w. Among cultivated varieties the content of polyphenols ranged between $21,67 \pm 1,06$ mg/g d.w. and $52,12 \pm 3,37$ mg/g d.w. A correlation between the content of polyphenolic compounds and genetic relatedness of genotypes was not proved. Dendrograms made according to the chemical composition and genetic relatedness were not identical in all samples, however, wild genotypes grouped into a separate cluster, as well as the variety Serebjanka, which was different from other cultivated varieties because of very low polyphenol content ($10,22 \pm 1,84$ mg/g d.w.).

Keywords: Humulus lupulus, wild type, polyphenols genetic variability, chemical variability

ÚVOD

Chmeľ obyčajný (*Humulus lupulus* L.) je rastlina známa najmä vďaka svojmu tradičnému použitiu v pivovarníckom priemysle. V minulosti bol však chmeľ využívaný v liečiteľstve pre svoje sedatívne účinky, na liečenie porúch spánku a tráviacich ťažkostí. V poslednom období narastá počet vedeckých štúdií zaoberajúcich sa pozitívnymi účinkami chmeľu na ľudský organizmus, čo otvára priestor aj pre iné využitie tejto rastliny (ZANOLI a ZAVATTI, 2008). Za mnohé biologické účinky je zodpovedná skupina polyfenolových látok hlavne prenylované flavonoidy. Je známe, že každý divorastúci genotyp, ako aj kultúrna odroda majú charakteristický obsah chemických látok, čo je jednou z možností na ich identifikáciu. Cieľom našej práce bolo vykonať analýzu genetickej príbuznosti a chemickej podobnosti na základe obsahu najdôležitejších chemických zlúčenín polyfenolov, xantohumolu, obsahu horkých kyselín a esenciálnych olejov v extraktoch šišťic komerčných odrôd a divorastúcich rastlín.

MATERIÁL A METÓDY

Rastlinný materiál

Pre genetickú a chemickú analýzu boli použité vzorky šišťic komerčných odrôd a divorastúcich genotypov chmeľu obyčajného. Vzorky boli poskytnuté z poľnej kolekcie génových zdrojov chmeľu (MZe 33083/03-300 6.2.1.) v Chmelařskom institute s.r.o. v Žatci (CHI, ČR).

Stanovenie obsahu celkových polyfenolov

Na stanovenie obsahu celkových polyfenolov v chmeľových extraktoch bola použitá metóda SINGLETONA a ROSSIHO (1965). Jej princípom je meranie absorbancie farebných produktov, ktoré vznikajú reakciou hydroxylových skupín fenolových zlúčenín s Folin-Ciocalteu reagensom. Celkový obsah polyfenolov bol vyjadrený ako ekvivalent kyseliny galovej v 1g vysušeného rastlinného materiálu (d.w.).

Genetická analýza príbuznosti genotypov chmeľu obyčajného

Pre štatistickú analýzu genetickej príbuznosti jednotlivých genotypov chmeľu boli využité molekulárne genetické metódy STS, SSR a EST-SSR. V rámci analýzy sa použili 3 STS lokusy (PATZAK a kol., 2007), 7 SSR lokusov (JAKŠE a kol., 2002) a 4 EST-SSR lokusy (PATZAK a MATOUŠEK, 2011). Hierarchická zhluková analýza bola založená na Jaccardovom (1908) genetickom podobnostnom koeficiente a neváženom párovaní skupín podľa aritmetických priemerov (UPGMA) pomocou softwaru NTSYS-pc v. 2.11V for WINDOWS (Exeter Software, New York, NY, USA).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Vo všeobecnosti vyššie hodnoty obsahu polyfenolov boli zaznamenané pre kultúrne odrody chmeľu. V týchto odrodách sa obsah pohyboval od $21,67 \pm 1,06$ mg/g d.w. (Saaz Late, Česká republika) po $52,12 \pm 3,37$ mg/g d.w. (odroda TARGET, Anglicko). Výnimkou je kultúrna odroda SEREJBANKA (Rusko), v ktorej bol stanovený najnižší obsah polyfenolov $10,22 \pm 1,84$ mg/g d.w. Celkový obsah polyfenolov vo vzorkách šišťic rastlín 5 divorastúcich genotypov chmeľu obyčajného sa pohyboval od $11,99 \pm 1,49$ mg/g d.w. (divorastúci genotyp P136, Rakúsko) po $22,49 \pm 0,34$ mg/g d.w. (divorastúci genotyp P75, USA).

Na základe genetickej príbuznosti sa v nami analyzovaných vzorkách divorastúce genotypy nachádzajú v rovnakej vetve, s výnimkou genotypu P153, ktorý pochádza z Českej republiky a je na spoločnej vetve

s českou odrodou Saaz Late. Klastrová analýza chemického zloženia zahŕňala obsah polyfenolov, α , β -horkých kyselín, ich vzájomného pomeru a obsahu silíc a živíc. V tomto prípade všetky analyzované divorastúce genotypy sa nachádzajú na jednej vývojovej vetve. Dendrogramy zostrojené na základe chemického zloženia a na základe genetickej príbuznosti sa nezhodovali pri všetkých vzorkách, divorastúce genotypy však pri oboch vytvorili samostatnú skupinu, ako aj odroda Serebjanka, ktorá sa líšila veľmi nízkym obsahom polyfenolových látok od ostatných kultúrnych odrôd ($10,22 \pm 1,84$ mg/g d.w.).

ZÁVER

Na základe klastorových analýz je zrejmé, že rozdelenie podľa genetickej príbuznosti nekorešponduje s rozdelením podľa chemického zloženia pri všetkých vzorkách, ale potvrdilo rozdiely medzi divorastúcimi a kultúrnymi genotypmi.

LITERATÚRA

- JAKŠE, J. – BANDELJ, D. – JAVORNIK, B. Eleven new microsatellites for hop (*Humulus lupulus* L.). In *Molecular Ecology Resources*. ISSN 1755-0998, 2002, vol. 2, no. 4, p. 544-546.
- PATZAK, J. – MATOUŠEK, J. Development and evaluation of expressed sequence tag-derived microsatellite markers for hop genotyping. In *Biologia Plantarum*. ISSN 1573-8264, 2011, vol. 55, no. 4, p. 761-765.
- PATZAK, J. – VRBA, L. – MATOUŠEK, J. New STS molecular markers for assessment of genetic diversity and DNA fingerprinting in hop (*Humulus lupulus* L.). In *Genome*. ISSN 0831-2796, 2007, vol. 50, no. 1, p. 15-25.
- SINGLETON, V.L. – ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. In *American Journal of Enology and Viticulture*. ISSN 0002-9254, 1965, vol. 3, no. 16, p. 144-158.
- ZANOLI, P. – ZAVATTI, M. Pharmacognostic and pharmacological profile of *Humulus lupulus* L. In *Journal of Ethnopharmacology*. ISSN 0378-8741, 2008, vol. 116, no. 3, p. 383-396.

Adresy autorov: Ing. Ivana Pšenáková, Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metóda v Trnave, Námestie J. Herdu 2, Trnava, 917 01, SK; E-mail: ivana.psenakova@ucm.sk; RNDr. Juraj Faragó, CSc, Katedra biotechnológií, Fakulta prírodných vied, Univerzita sv. Cyrila a Metóda v Trnave, Námestie J. Herdu 2, Trnava, 917 01, SK; E-mail: juraj.farago@ucm.sk; Ing. Vladimír Nesvadba, PhD, Chmelařský Institut s.r.o., Odd. šľachtění chmele, Kadaňská 2525, 438 46 Žatec, ČR; E-mail: nesvadba@chizatec.cz; Bc. Alena Henychová, Chmelařský Institut s.r.o., Odd. biotechnologie, Kadaňská 2525, 438 46 Žatec, ČR

VPLYV KREMÍKA A ZINKU NA BIELKOVINOVÝ OBRAZ KLÍČNYCH RASTLÍN KUKURICE (*Zea mays* L.) V PODMIENKACH ZASOLENIA

EFFECT OF SILICON AND ZINC ON PROTEIN CONTENT IN MAIZE SEEDLINGS (*Zea mays* L.) UNDER SALT STRESS

LENKA ŠIMKOVÁ¹, KATARÍNA JAŠKOVÁ², ZUZANA KOCHANOVÁ², BARBORA SEDLÁKOVÁ², MIROSLAVA LUXOVÁ²

¹Univerzita Komenského v Bratislave

²Botanický ústav SAV Bratislava

Soil salinity is a serious agricultural problem, which reduces the production of crops. Maize is one of economically important crops. Recently, a great attention is paid to reduction of inhibitory effect of salinity in plants. Silicon is considered as the element that reduces biotic and abiotic stress. Zinc is a biogenic element, whose effect in high concentrations is not exactly known. We observed effects of silicon and zinc on the maize seedlings in the conditions of salinity. Salt, silicon and zinc cause changes in protein content. The interaction between silicon and zinc and changes in the protein content were also studied. Protein content varied with time (24h, 48h) and with plant part (root, coleoptile).

Key words: stress, salinity, silicon, zinc, proteins

ÚVOD

Zvyšujúce sa zasolenie pôd je v súčasnosti jedným z najvýraznejších poľnohospodárskych problémov. Stále väčšia časť poľnohospodársky významnej pôdy trpí v dôsledku zavlážovania a hnojenia zasolením. Kremík (Si) je jeden z najhojnejšie sa vyskytujúcich prvkov v zemskej kôre. Je známe, že zmierňuje negatívne účinky abiotického aj biotického stresu (Ma a kol., 2011). Mechanizmus účinku kremíka na metabolizmus rastlín nie je presne známy. Zinok (Zn) z hľadiska rastlinnej výživy patrí do skupiny mikroelementov, ale zároveň je ťažkým kovom, ktorý inhibuje rast. Jeho účinok pri rôznych koncentráciách zatiaľ nie je známy. V práci sme sa zaoberali vplyvom kremíka (2,5 mM Si) na stres spôsobený zasolením (150 mM NaCl) a jeho interakciou s dvomi rôznymi koncentraciami zinku (50 µM, 500 µM Zn). Sledovali sme zmeny obsahu rozpustných bielkovín a ich izozýmové zloženie v koreni a koleoptile klíčnych rastlín kukurice.

MATERIÁL A METÓDY

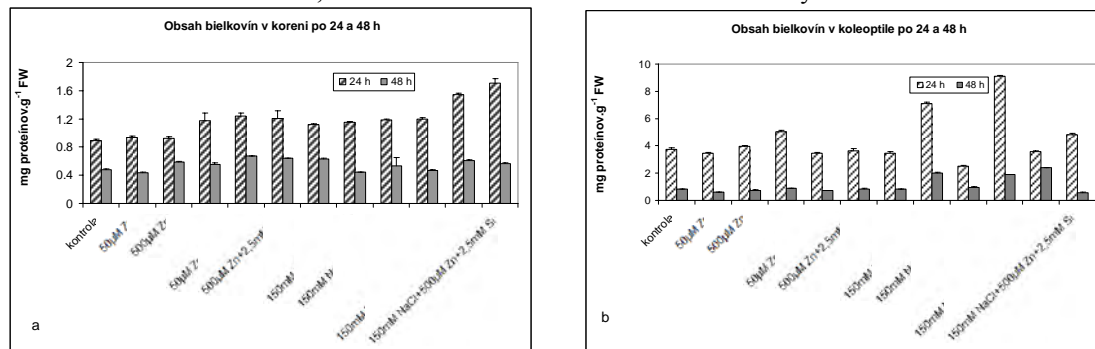
Ako biologický materiál sme použili kukuricu siatu (*Zea mays* L. cv. Valentína). Semená klíčili 72 h v tme pri 26°C. Klíčne rastliny sme pestovali v Hoaglandovom živnom roztoku (Hoagland – Arnon, 1950). Pracovali sme s 12 variantmi, ktoré sa líšili obsahom NaCl, Si a Zn: **1** - kontrola, **2** - 50 µM Zn, **3** - 500 µM Zn, **4** - 2,5 mM Si, **5** - 50 µM Zn + 2,5 mM Si, **6** - 500 µM Zn + 2,5 mM Si, **7** - 150 mM NaCl, **8** - 150 mM NaCl + 50 µM Zn, **9** - 150 mM NaCl + 500 µM Zn, **10** - 150 mM NaCl + 2,5 mM Si, **11** - 150 mM NaCl + 50 µM Zn + 2,5 mM Si, **12** - 150 mM NaCl + 500 µM Zn + 2,5 mM Si. pH sme upravili na 6 – 6,2. Každý variant obsahoval 30 rastlín. Klíčne rastliny sme pestovali v termostate pri teplote 25°C v tme, 24 a 48 h. Odoberali sme koreň a koleoptilu. Vzorok (0,5 g) sme homogenizovali v tekutom dusíku a následne treli s extrakčným činidlom (Na-fosfátový pufor, pH 7,3 pre nadzemnú časť a pH 7,8 pre koreň), filtrovali a centrifugovali pri 12 000 g 20 min. Supernatant sme prečistili gélovou fixáciou na kolóne Econo-Pack 10 DG. Obsah bielkovín v supernatante sme stanovili Bradfordovou metódou (1976) použitím BSA ako štandardu. Bielkoviny sme separovali anodickou SDS-PAGE (Laemmli, 1970) a vizualizovali pomocou farbenia striebrom, metódou Shevchenko a kol. (1996).

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Obsah rozpustných bielkovín sa v jednotlivých variantoch líšil. V prípade koreňa aj koleoptily sme zaznamenali vyššiu koncentráciu bielkovín po 24 h (Obr.1).

V koreni (Obr. 1a) boli po 24 h vo všetkých variantoch stanovené vyššie hodnoty bielkovín ako v kontrole. To je v súlade s pozorovaním, keď sme po rozdelení rozpustných bielkovín pomocou SDS-PAGE vo všetkých variantoch v porovnaní s kontrolou, pozorovali kvantitatívny nárast množstva niektorých izozýmov bielkovín. Podobne, ako my pri kukurici, pozorovali akumuláciu bielkovín v podmienkach stresu po 24 h aj Yu a kol. (2011) pri *Puccinellii tenuiflora*. Výraznejší nárast obsahu bielkovín sme zaznamenali vo variantoch obsahujúcich Si. Vo variantoch, ktoré obsahovali 50 alebo 500 µM Zn a Si sme pozorovali akumuláciu izozýmov bielkovín. Miernu akumuláciu izozýmov sme pozorovali aj vo variante, ktorý obsahoval 500 µM Zn, ale v tomto variante sme nezaznamenali zvýšený obsah bielkovín v porovnaní s kontrolou. Po 48 h sme v koreni zaznamenali nižší obsah bielkovín v porovnaní s kontrolou len vo variante s 50 µM Zn. Kvantitatívny nárast niektorých izozýmov bielkovín sme pozorovali vo variantoch pestovaných v NaCl a 500 µM Zn alebo 2,5 mM Si.

V koleoptile (Obr. 1b) sme po 24 h stanovili najvyšší obsah bielkovín vo variantoch neobsahujúcich NaCl aj vo variantoch s obsahom NaCl v prítomnosti 2,5 mM Si. Vo variante s obsahom 150 mM NaCl + 2,5 mM Si sme tiež pozorovali akumuláciu izozýmov bielkovín s malou molekulovou hmotnosťou. Pokles akumulácie izozýmov bielkovín sme zaznamenali vo variantoch s 50 μ M Zn a 50 μ M Zn + 2,5 mM Si. Izozýmy bielkovín s malou molekulovou hmotnosťou sa rôzne intenzívne akumulovali vo všetkých variantoch vystavených NaCl. Zmeny v bielkovinovom obraze medzi kontrolou a variantmi s obsahom NaCl a Si pozorovali aj Šestková a kol. (2010). Po 48 h sme najnižší obsah bielkovín namerali vo variante s 150 mM NaCl + 500 μ M Zn + 2,5 mM Si. Naopak, najvyšší obsah bielkovín sme stanovili vo variante 150 mM NaCl + 50 μ M Zn + 2,5 mM Si. Najvýraznejšie rozdiely v kvantitatívnom zastúpení izozýmov bielkovín sme pozorovali vo variante s obsahom 150 mM NaCl + 500 μ M Zn. Vyššia koncentrácia Zn (500 μ M) vyvolávala v bielkovinovom obraze výraznejšie zmeny v porovnaní s kontrolou ako nižšia koncentrácia (50 μ M). To je v súlade s pozorovaniami, že Zn má vo vysokých koncentráciách inhibičný vplyv na rast rastlín kukurice (*Z. mays* L.) (Bokor a kol. 2010). Pozorovali sme aj kvalitatívne zmeny niektorých izozýmov bielkovín, ktoré sa vo variantoch bez obsahu Zn a Si neakumulovali vôbec, zatiaľ čo v ostatných variantoch áno.



Obr. 1 Obsah rozpustných bielkovín v koreni (a) a v koleoptile (b) klíčnych rastlín kukurice siatej (*Zea mays* L. cv. Valentína), pestovaných s pridaním NaCl, Zn a Si, 24 a 48 h

ZÁVER

Najvýraznejšie zmeny v bielkovinovom obraze, v porovnaní s kontrolou, sme pozorovali po 48 h v koleoptile, vo variante, ktorý obsahoval 150 mM NaCl + 500 μ M Zn, čo poukazuje na značnú stresovú záťaž. V koreni sa po 24 h zvýšila syntéza bielkovín výraznejšie vo variantoch s obsahom Si. Môže to poukazovať na stimulačný vplyv kremíka na syntézu bielkovín, využívaných v stresových podmienkach.

PodĎakovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu výskumu a vývoja na základe zmluvy č. APVV-0140-10 a projektom VEGA 2/0024/10.

LITERATÚRA

- BOKOR, B. – VACULÍK, M. – PAVLOVIČ, A. – LUX, A. 2010. Sborník abstraktu XII. Konferencie Experimentální Biologie Rostlin, Praha, s. 141.
- BRADFORD, M. M. 1976. Anal. Biochem. 72:248-254.
- HOAGLAND, D. R. – ARNON, D.I. 1950. Circular 347. California Agricultural Experiment Station. The Collage of Agriculture University of California – Berkeley.
- LAEMMLI, U. K. 1970. Nature 277:680-685.
- MA, B. J. F. – YAMAJI, N. – MITANI-UENO, N. 2011. Proceedings of the Japan Academy, Series B. 87(7):377-385.
- SHEVCHENKO, A. – WILM, M. – VORM, O. MANN, M. 1996. Anal. Chem. 68:850-858.
- ŠESTKOVÁ, E. – JAŠKOVÁ, K. – LUXOVÁ, M. 2010. Sborník abstraktu XII. Konferencie Experimentální Biologie Rostlin, Praha, s. 151.
- YU. J. a kol. 2011. Journal of Proteome Research. 10 (9):3852-3870.

Adresa autorov:

Bc. Lenka Šimková – Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského v Bratislave, Katedra fyziológie rastlín, Mlynská dolina, 842 15 Bratislava, SR.

RNDr. Zuzana Kochanová PhD., Mgr. Katarína Jašková, RNDr. Miroslava Luxová CSc., RNDr. Barbora Sedláková PhD. – Oddelenie fyziológie rastlín, Botanický ústav, Slovenská akadémia vied, Dúbravská cesta 9, 842 23 Bratislava, SR; zuzana.kochan@gmail.com

REAKCIA ŠĽAHTENCOV RAJČIAKA JEDLÉHO NA UMELÚ INFEKCIU *TOMATO MOSAIC VIRUS*

REACTION OF TOMATO BREEDING LINES FOR ARTIFFICIAL INFECTION WITH *TOMATO MOSAIC VIRUS*

VALÉRIA ŠUDYOVÁ¹, SVETLANA ŠLIKOVÁ¹, SABÍNA RUSNÁKOVÁ²

¹Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany

²Zelseed, spol. s r.o. Horná Potôň

One of the strategies to control the incidence and damage by Tomato mosaic virus (ToMV) in tomato (Solanum lycopersicum L.) is the use of resistant genotypes. In this work, the breeding lines from Zelseed were evaluated for the reaction to two strains of virus present in ToMV Strain P0 from Netherlands and PV-0135 from Germany both mechanically transmitted. Tested genotypes were growing and infected in greenhouse during year 2009. Artificially infections produced chlorotic mosaic in tomato breeding lines and susceptible control to ToMV consisted of cultivar Marmande. We found some plants from tomato breeding lines 47/99, 245/04, L 282/04 and L 72/00 without symptoms. These could be used to breed tomato cultivars with enhanced resistance to ToMV.

Key words: Solanum lycopersicum L., breeding line, strain of Tomato mosaic virus (ToMV)

ÚVOD

Pre pestovateľa aj konzumenta je dôležitý vzhľad a chuť dopestovaných plodov. Jedným z biotických prvkov nepriaznivo ovplyvňujúcim rast rastliny a následný vývoj plodov je napadnutie sadeníc rajčiaka jedlého tobamovírusmi. Do tejto skupiny patrí vírus mozaiky papriky (*TMV – Tobacco mosaic virus*) a vírus mozaiky rajčiaka (*ToMV – Tomato mosaic virus*). Oba vírusy sú vysoko infekčné a veľmi ľahko sa šíria kontaktom medzi rastlinami. Symptomatiký prejav vírusu *ToMV* na infikovaných rastlinách závisí od teploty, intenzity osvetlenia, dĺžky dňa, veku rastliny, kmeni vírusu a odrode rajčiaka (McNeill a Fletcher 1971, Rast 1985), ale aj od kmeňa vírusu. Teplota, pri ktorej sa rastliny testujú by mala byť v rozpätí 24 - 26°C, kedy sú po umelej foliárnej inokulácii dobre viditeľné symptómy. Teploty okolo 18°C sú pre symptomatiký prejav nepriaznivé (Schuenger, Hammer 1995). Vírus si zachováva virulenciu aj po niekoľkých rokoch. Prenáša sa mechanicky pri kontakte medzi zdravou a infikovanou rastlinou alebo kontaminovanými predmetmi, na ktorých môže dlhšiu dobu aj prežívať. Na rozdiel od iných vírusov nie je známy žiadny špecifický vektor. Rezistencia rastlín je založená na génoch *Tm1*, *Tm2*, *Tm2²*. Gény *Tm2* a *Tm2²* sa prirodzene vyskytujú v mnohých komerčných odrodách rajčiaka jedlého (Loebenstein a Carr, 2006). Pôvodným zdrojom génu rezistencie *Tm-1* je *Solanum habrochaites*, v ktorom bola potvrdená rezistencia k *ToMV* kmeňom 0 a 2. Omori a kol. (1996) popísal 6 SCAR markerov majúcich blízku väzbu k tomuto génu. Zo *Solanum peruvianum* pochádzajú alely *Tm2* a *Tm2²*. Alela *Tm2* potvrdzuje rezistenciu k *ToMV* kmeňom 0 a 1, alela *Tm2²* rezistenciu ku kmeňom 0,1 a 2 (Lanfermeijer a kol. 2003, 2005). Rastliny s geneticky podmienenou rezistenciou proti vírusu môžu reagovať hypersenzitívnou reakciou a to tvorbou nekrotických lézií v oblasti infekcie cez programovanú smrť bunky (Dempsey a kol. 1993). V inom prípade rastliny s rezistenciou pravdepodobne kódujú proteín, ktorý priamo alebo nepriamo rozpoznáva špecifické produkty *Avr* génu.

MATERIÁL A METÓDY

V spolupráci s firmou Zelseed, špecializovanej na šľachtenie najmä zeleniny bolo v roku 2009 uskutočnené testovanie línií rajčiaka jedlého na odolnosť k vírusu *ToMV* (*Tomato mosaic virus*) spôsobujúceho mozaiku rajčiaka. Na testovanie bol poskytnutý z f. Zelseed súbor 8 línií. Z každej línie bolo vysiatych 12 rastlín v dvoch opakovaníach. Ako kontrola bola do experimentu zaradená senzitivná odroda Marmande.

Inokulácia rastlín a hodnotenie

Na umelú inokuláciu rastlín v štádiu plne vyvinutých dvoch pravých listov bolo použité inokulum vírusu *ToMV* kmeň P0 z Holandska a kmeň PV-0135 z Nemecka. Inertným abrazívom na mechanické narušenie pletiva bol karborundový prášok. Narušené miesto bolo potierané inokulačnou zmesou vytvorenou z rozdrvených symptomatikých listov v tmivom roztoku pH 7. Na 21. deň po inokulácii boli rastliny hodnotené podľa kritérií CVPO (The Community Plant Variety Office). V našom hodnotení do kategórie rastlín so symptómami boli zaradené rastliny s jednoznačnými (náchylné) i nejednoznačnými symptómami.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Do experimentu bolo celkom zaradených 192 rastlín. Kmeňom P0 bolo umelo inokulovaných 62 rastlín a zvyšných 130 rastlín kmeňom PV-0135 z Nemecka (Tab. 1). Po umelej inokulácii sme hodnotili počet uhynutých rastlín, počet symptomatikých rastlín a počet rastlín bez symptómov. Z celkového počtu infikovaných rastlín 22,4 % rastlín po infekcii vírusmi uhynulo, 63,5 % malo symptómy a 14,1 % bolo bez symptómov. Všetky rastliny po umelej infekcii kmeňom P0 reagovali ako náchylné, pretože 27,4 % rastlín

uhynulo a až 72,6 % malo symptómy. Naproti tomu po inokulácii kmeňom PV-0135 z Nemecka bolo 20,8 % rastlín bez symptómov ochorenia (Obr. 1). Najviac takýchto rastlín (15 z 24 hodnotených, resp. z 18 prežitých rastlín, Tab. 1) bolo zaznamenaných z línie pod označením L 47/99.

Porovnať úroveň náchylnosti rastlín na napadnutie kmeňmi vírusu ToMV bolo možné iba pri líniiach L245/04, L 74/00, L 282/04, L 255/04, L 78/00, ktoré boli umelo infikované oboma kmeňmi vírusu. Vyššie percento uhynutých rastlín (27,4 %) bolo zistených po umelej infekcii kmeňom P0 v porovnaní s kmeňom PV-0135 (17,2 %). Podobne i pri rastlinách, na ktorých sa prejavili symptómy bolo zistené vyššie percento rastlín po infekcii kmeňom P0 (72,6 %) ako PV-0135 (67,2 %). Výsledky v Tab. 1 ukazujú, že všetky rastliny po infekcii kmeňom P0 reagovali ako náchylné, pričom po infekcii PV-0135 sa našlo 9 rastlín bez symptómov pri vybraných líniiach (L245/04, L74/00, 282/04, 255/04, 78/00).

Symptómy prvej nákazy sa začali objavovať 3. deň po umelej inokulácii ako drobné mozaikové škvrny, ktoré sa na 12. deň zväčšili najmä v okolí listových žiliek. Príznaky ochorenia sú slabšie pri porovnaní s vírusom TMV a aj niekoľko dní po prepuknutí ochorenia sa javia na listoch ako sotva poznateľná mozaika (Bojňanský 1962). Takéto príznaky boli pozorované na línii L 78/00 a L 245/04 po inokulácii kmeňom P0 a línii L 66/00 po inokulácii kmeňom PV-0135. Pri línii L 78/00 100% prežitých rastlín vykazovalo nejednoznačné príznaky aj po 21. dni od inokulácie. Na rastlinách so symptomatickými príznakmi sa infekcia postupne rozširovala ako mozaikové škvrny so striedaním žltých a tmavo zelených oblastí. Medzi hodnotenými líniami L 245/04, L 282/04 a L 72/00 bolo zaznamenaných niekoľko rastlín bez symptómov (Tab. 1). Rastliny majú vytvorené mechanizmy na ochranu proti vírusovej infekcii a môžu zastaviť replikáciu a šírenie vírusu počas infekčného cyklu (Sanseverino *et al.*, 2010). Systémová infekcia sa prejaví aj na plodoch ako mozaika. Otázka prenosu vírusu semenom bola predmetom viacerých výskumov. Vírus nepreniká do embrya, zostáva na povrchu semena a po vysiati je zdrojom infekcie mladých rastlín. Sherf a MacNab (1986) uverejnili, že semeno infikovaných rastlín je zdrojom primárneho inokula a viac ako 50% semien infikovaných plodov môže niesť vírus.

ZÁVER

Z testovaného súboru pozostávajúceho zo šľachtiteľských línii rajčiaka jedlého f. Zelseed bolo možné selektovať rastliny, u ktorých sa po umelej infekcii vírusom *ToMV* neobjavili symptómy a vznikol predpoklad, že tieto rastliny môžu byť zdrojom odolnosti voči vírusu. Infekcia rastlín oboma vírusmi naznačuje, že prísnejšia selekcia rastlín sa dosiahla po umelej infekcii rastlín kmeňom P0. Na potvrdenie geneticky podmienenej odolnosti rastlín voči vírusu je však nevyhnutné pretestovať minimálne dve až tri následné semenné generácie. Ochrana pred šírením vírusov spočíva v zabezpečení čistoty priestorov, náradia a odstránení pozberových zvyškov rastlín, ale najúčinnjšie je pestovanie odolných rastlín. Keďže sú známe zdroje génov rezistencie, účinnou cestou prenosu a detekcie je molekulárne šľachtenie.

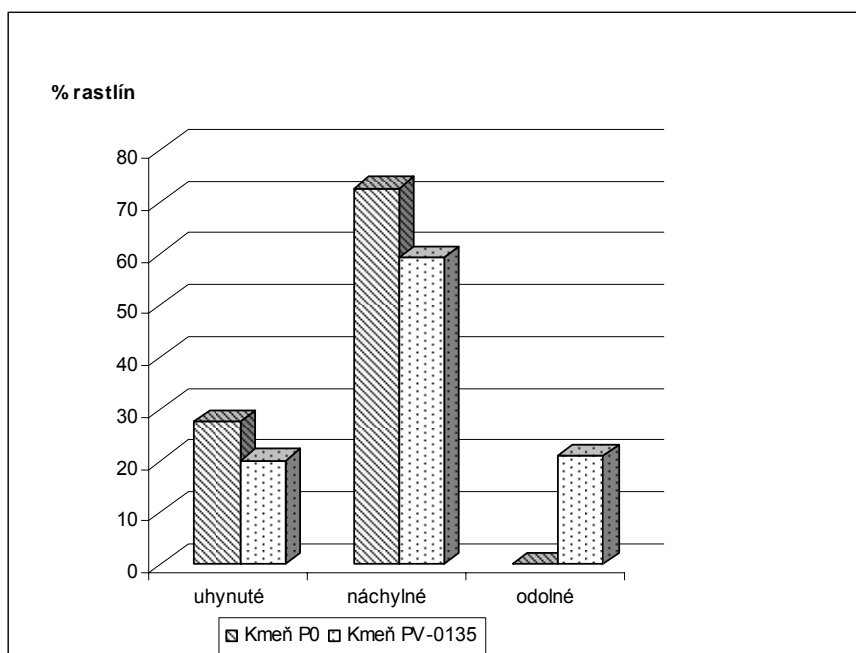
Pod'akovanie: Táto štúdia vznikla vďaka podpore v rámci OP Výskum a vývoj pre projekt: *Prenos efektívnych postupov selekcie a identifikácie rastlín do šľachtienia ITMS : 26220220142, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja a projektu MP a RR SR 2005 UO 27/050 02 06/050 02 06.*

LITERATÚRA

- BOJŇANSKÝ V. a kol.: Vírusové choroby rastlín. Slov. naklad. pôdohosp. lit., Bratislava, 1963, 539 s.
- DEMPSEY, D. A., WOBBE, K. K., KLESSIG, D. F. 1993. Resistance and susceptible responses of *Arabidopsis thaliana* to turnip crinkle virus. *Phytopathology* 83:1021- 1029.
- FLETCHER, J. T., MacNEILL, B. H.: The identification of strains of tobacco mosaic virus from tomato crops in Southern Ontario. *Canadian Journal of Microbiology*, 1971, 17(1): 123-128, 10.1139/m71-021
- LANFERMEIJER, F. C., DIJKHUIS, J., STURRE, M. J. G., HAAN, P., HILLE, J.: Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene *Tm-2²* from *Lycopersicon esculentum*. In: *Plant Mol. Biol.*, 2003, 52, s. 1037-1049.
- LANFERMEIJER, F. C., WARMINK, J., HILLE, J.: The products of the broken *Tm-2* and the durable *Tm-2²* resistance genes from tomato differ in four amino acids. In: *J. Exp. Botany*, 2005, 56, s. 2925-2933.
- Natural Resistance Mechanism of Plants to Viruses. Edited by Loebenstein, G., Carr, J. P. : Springer, 2006, ISBN-10, 1-4020-3780-5, 532 s.
- OMORI T., MURATA, M., MOTOYOSHI, F.: Molecular characterization of RAPD and SCAR markers linked to the *Tm-1* locus in tomato. In: *Theor. Appl. Genet.*, 1996, 92, s. 151-156.
- SANSEVERINO, W., ROMA, G., SIMONE, M. D., FAINO, L., MELITO, S., STUPKA, E., FRUSCIANTE, L., ERCOLANO, M. R. 2010. PRGdb: a bioinformatics platform for plant resistance gene analysis. *Nucleic Acid Research*. 38:D814-D821.
- SCHUERGER, A. C., HAMMER, W.: Effects of Temperature on Disease Development of Tomato Mosaic Virus in *Capsicum annuum* in Hydroponic Systems. In: *Plant Disease*, 79, 9, 1995, s. 880-885.
- SHERF, A., MacNAB, A.: *Vegetable Disease and Their Control*. 1986, ISBN 0-471-05860-2, 736 s.

Tabuľka 1: Reakcia línií rajčiaka jedlého na umelú infekciu vírusom *ToMV* kmeňom P0 a PV-0135

Označenie testovaných rastlín	Hodnotenie napadnutia rastlín					
	Kmeň P0			Kmeň PV-0135		
	Počet uhynutých rastlín	Počet symptomatických rastlín	Počet rastlín bez symptómov	Počet uhynutých rastlín	Počet symptomatických rastlín	Počet rastlín bez symptómov
L 245/04	4	8	0	3	5	4
L 74/00	7	5	0	4	8	0
L 282/04	2	10	0	0	8	4
L 255/04	1	13	0	2	7	1
L 78/00	3	9	0	1	11	0
L 72/00				6	16	2
L 47/00				4	19	1
L 66/00				6	3	15
Spolu	17	45	0	26	77	27

Obrázok 1: Porovnanie reakcie rajčiaka jedlého na umelú infekciu kmeňmi P0 a PV-0135 vírusu *ToMV* na základe hodnotenia (uhynuté, náchylné a odolné rastliny)

Adresa autorov:

Ing. Valéria Šudyová, PhD., CVRV Piešťany – VÚRV, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany; ¹Ing. Svetlana Šliková, PhD, CVRV Piešťany – VÚRV, Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany; E-mail: sudyova@vurv.sk; slikova@vurv.skIng. Sabína Rusnáková, Zelseed, spol. s r. o., Horná Potôň 1269, 930 36 Horná Potôň; E-mail: rusnakova@zelseed.sk

INDEX

B

Benediková Daniela	46
Benková Michaela	60
Beyroutiová Maja El	35

Č

Černý Ivan	39
Čertík Milan	74
Čiřová Iveta	49, 63

Ď

Ďurechová Dominika	65
Duřinský Roman	35

F

Faragó Juraj	67, 70, 84,
Faragová Natálie	70
Fejér Jozef	57

G

Gálusová Terézia	31
Gregová Edita	53
Gruřová Daniela	57
Gubiřová Marcela	74
Gubiř Jozef	74

H

Hanková Andrea	24
Hauptvogel Pavol	35, 53
Henychová Alena	20, 80, 84
Hudcovicová Martina	74

J

Jařková Katarína	86
Jezerská Zuzana	53
Jeřek Josef	80

K

Kadlíková Michaela	12
Klempová Tatiana	74
Klířová Lenka	74
Kochanová Zuzana	86
Korbelová Erika	28
Kraic Ján	74
Kriřanová Klára	7
Krofta Karel	20
Křen Jan	12
Kúdela Otakar	28

L

Libantová Jana	65
Luxová Miroslava	86

M

Martinek Petr	12
Matuříková Ildikó	31
Matuříková Katarína	24
Mátyás Martin	39
Mendel Lubomír	49
Mészáros Patrik	31
Mihálik Daniel	74
Mihalčík Peter	70
Michalcová Veronika	35
Michálková Ivana	67

N

Nesvadba Vladimír	20, 80, 84
Neudert Lubomír	12

P

Pastirčák Martin	82
Piršelová Beáta	31
Polončíková Zdenka	20, 80
Psota Vratislav	7
Pšenáková Ivana	67, 84

O

Ondreičková Katarína	74
----------------------	----

R

Roháčik Tibor	28
Rückschloss Lubomír	24
Rusnáková Sabína	88

S, ř

Sabo Miroslav	35
Sachambula Lenka	7
Sedláková Barbora	86
římková Lenka	86
řálamon Ivan	57
řlíková Svetlana	88
řudyová Valéria	88
řvec Miroslav	35

V

Veverková Alexandra	39
---------------------	----

Z, ř

Zacharová Lenka	84
řofajová Alřbeta	43

Názov: **Nové poznatky z genetiky a šľachtenia poľnohospodárskych rastlín.
Zborník z 19. medzinárodnej vedeckej konferencie.**

Editor: Valéria Šudyová

Recenzenti/typografia/technická úprava: prof. RNDr. Zdenka Gálová, CSc., SPU Nitra
Jarmila Poništová

Vydanie: prvé

Vydavateľ: Centrum výskumu rastlinnej výroby Piešťany
Bratislavská cesta 122, 921 68 Piešťany

Rok vydania: 2011

Počet strán: 90 strán

Tlač: CVRV Piešťany

Formát: A4

Náklad: 25 ks

Nepredajné/Určené pre vlastnú potrebu.

ISBN 978-80-89417-41-4

